A
1
R
22

122+123:53
Standaard nr.
3528

PROEFSTATION VOOR DE GROENTEN- EN FRUITTEELT ONDER GLAS TE NAALDWIJK

BIBLIOTHEEK
Proefstation voor de Groenten- en
Fruitteelt onder Glas te Naaldwijk.

Organenkultuur tomaat 1967.
Project C 4.

Invloed bedam, vloeistof, buizen, erlenmejers en parafilm.

V.van Ravestijn.

Naaldwijk, 15 januari 1970.
No. 320/1970.

223 1987 - opnieuw

Inleiding

Deze serie proeven is een tijdje onderbroken geweest. Nu opnieuw dit onderzoek ter hand is genomen, is in de eerste plaats gezocht naar een verbtering van de methodiek. Dit betrof het gebruik van erlemijers en buizen, het toepassen van een vaste bodem of een vloeistof en tenslotte de invloed van parafilm over de wattenprop heen als extra afsluiting.

Proefopzet

De proef vond in 20-voud plaats, hetgeen wil zeggen, dat per behandeling 20 bloemen werden gebruikt. De te gebruiken bloemen werden één dag vóór het ontsmetten en uitplanten 1 seconde getrild om ervan verzekerd te zijn, dat van goed bestoven bloemen werd uitgegaan.

Bij het verzamelen van de bloemen in steriele petrischalen werden de bloemsteeltjes onder de abeissie-laag afgesneden en even met het snijvlak in paraffineolie gedoopt. Dit werd gedaan om uitdroging tegen te gaan en het indringen van de ontsmettingsvloeistof te voorkomen. Het ontsmetten vond in erlemeijers met ingeslepen stop plaats. Er werd 10 minuten met 10% chloorkalk ontsmet door de erlemeijers met chloorkalk en bloemen te schudden. Na deze 10 minuten werden de bloemen 3 x in steriel water uitgespoeld, tussen steriel filtreerpapier gedroogd, boven de abeissielaag afgesneden en uitgeplant op één van de hieronder beschreven omstandigheden.

1. Bloemen in erlemeijers op een bodem. Alleen watten
2. Bloemen in erlemijers op een bodem. Bovendien met parafilm afsluiten.
3. Bloemen in erlemeijers met vloeistof. Alleen watten.
4. Bloemen in erlemeijers met vloeistof. Bovendien afsluiten met parafilm.
5. Bloemen in buizen op een bodem. Alleen watten.
6. Bloemen in buizen op een bodem. Bovendien afsluiten met parafilm.
7. Bloemen in buizen met vloeistof. Alleen watten.
8. Bloemen in buizen met vloeistof. Bovendien afsluiten met parafilm.

Van deze proefopzet werd het volgende overwogen. Erlemeijers

staan gewoonlijk verder uit elkaar, dus meer licht. Erlenmeijers hebben tevens een groter persvlak, dus kan op een sterkere verdamping en vochtwegging van de voedingsbodem gerekend worden dan bij buizen. Parafilm een waterdamp niet maar O_2 wel doorlaten. Dus verscherping van uitdrogen (verhoging van de osmotische waarde). Een vloeistof leek eenvoudiger op te maken te zijn. Wellicht bij vloeistof minder lucht bij het bloemsteeltje, want bij agar-bodems maakt men een opening, waarop schouring kan optreden hetgeen de luchttoevoer zal bevorderen.

Het aanbrengen van de bloemen op de vloeistof werd in de erlenmeijers met behulp van een glazen staafje met een oogje (voor het steeltje) en een haakje (voor de bovenkant van de erlenmeijer) gedaan. Dit was praktisch niet uitvoerbaar, waarbij al bij het inzetten de meeste bloemen verongelukten.

In de buizen met vloeistof werd een andere methode gevolgd. Omdat de buizen zoveel smaller zijn dan de erlenmeijers kon in de buizen een filtreerpapiertje worden „geklemd". Dit filtreerpapiertje werd vooraf voorzien van een centrisch gelegen openingetje om het bloemsteeltje doorheen te steken. Het filtreerpapier werd met de voedingsvloeistof mee-geautoclaveerd. Dit bleek een veel betere werkwijze te zijn, waarbij het ook mogelijk was de juiste hoogte ten opzichte van de vloeistofstand te regelen, hetgeen bij de erlenmeijers vrijwel onmogelijk was.

De voedingsbodem en de voedingsoplossing hadden eenzelfde samenstelling. Alleen werd bij de beden 15 g/l Bacto-agar gebruikt om het geheel te doen stollen. De samenstelling van de voedingsmedia is in bijlage 1 opgenomen.

Resultaten

In deze proef traden weer vele verontreinigingen op. Hierdoor kon het een en ander moeilijk met elkaar worden vergeleken. Zonder meer kwam naar voren, dat het gebruik van vloeistof in erlenmeijers met de hier gebezigde werkwijze volkomen waardeloos was. De overige resultaten staan verkort hieronder vermeld.

Behandeling	Aantal bloemen	% verontr.	% callus	% wortelv.	% groei vruchtbeg.
1	20	65	80	15	25
2	20	95	5	0	15
3	5	100	0	0	0
4	6	70	0	0	0
5	20	65	50	5	0
6	20	75	0	10	15
7	20	80	5	0	0
8	20	100	0	0	5

Weinig valt hieruit te concluderen. Men krijgt de indruk, dat op de vaste bodems eerder uitgroei plaats vond dan op de vloeistof. Er werden niet alleen meer vruchtjes gevormd, maar de vruchtjes groeiden ook iets beter uit. Wel bleek het in een enkel geval mogelijk te zijn ook op buizen met vloeistof vruchtvorming te krijgen.

Behandeling 7 en 8 werden 2 keer ingezet. Bij de 2e inzet bleken minder verontreinigingen op te treden. Waarom dit zo was is niet te achterhalen. De bloemen werden geplant op een restantje buizen van de 1e inzet. De ontsmetting vond ook op dezelfde wijze plaats.

Behandeling	Aantal bloemen	% verontr.	% callus	% wortelv.	% vruchtbeg.
7	20	15	15	0	55
8	20	25	10	0	50

De neiging tot uitgroei was hier dus duidelijk beter, maar slechts een enkel vruchtje bleef doorgaan met het uitgroeien. De uiteindelijk bereikte grootte van de vruchtjes is in bijlage 2 opgenomen. Aangezien dit slechts enkele vruchtjes betrof, is hiervan niets met zekerheid te stellen.
Achterin dit verslag zijn enkele foto's opgenomen.
Hierbij krijgt men een indruk van de grootte van de uitgroei van de vruchtjes, terwijl tevens de vorming van callus op de slippen in beeld is gebracht. Van dit callus op de kalkslippen zijn ook microtoomcoupes gemaakt. Hieruit blijkt, dat de

buitenste cellagen (epidermis en vooral het chlorenchym en parenchym) zich sterk strekken. Ook celdelingen zag men bij het parenchymatische gedeelte optreden. Het callus liep tot diep in het weefsel door. Naar het scheen, tot aan het phloëem. Het phloëem zelf leek niet mee te doen. De vorming van het callus vond plaats aan de kant van het buitenphloëem (tomaat heeft bicollaterale vaatbundels).

<u>Samenvatting</u>

Het uitplanten van bloemen in een erlenmeijer met vloeistof bleek in deze proef niet goed uitvoerbaar te zijn. In buizen met vloeistof werd hiervoor een bruikbare oplossing gevonden (filtreerpapieren bruggetjes). Verder zijn de uitkomsten niet betrouwbaar door de vele verontreinigingen.

Men kreeg de indruk, dat erlenmeijers geen betere resultaten gaven dan buizen. Daarom zal voorkeur aan het gebruik van buizen de voorkeur worden gegeven (minder ruimte + de mogelijkheid van het gebruik van vloeistof). Bovendien leek een vaste bodem iets betere resultaten te geven dan een vloeibaar voedingsmedium. Het gebruik van parafilm leek eveneens gunstig.

Het meest moeilijke is echter een goede ontsmetting te vinden.

De proefnemster,

Wil van Haverstijn.

Bijlage 1.

De voedingsoplossing en bodem bestaan beide uit :

I.	$Ca(NO_3)_2 . 4 H_2O$	500 mg/l
	KNO_3	125 mg/l
	$MgSO_4 . 7 H_2O$	125 mg/l
	KH_2PO_4	125 mg/l
	Fedta	3 mg/l Fe^{+++}
	Thianine (aneurine-hydrochloride, vit. B_1)	1 mg/l
	L.cysteïne - hydrochloride	10 mg/l
	Saccharose	50 mg/l

II. Per liter van bovengenoemde oplossing 1 ml van de volgende spoorelementenoplossing :

H_2SO_4 sg. 1,83	0,5 ml/l
$MnSO_4 . 4 H_2O$	5000 mg/l
$ZnSO_4 . 7 H_2O$	500 mg/l
H_3BO_3	500 mg/l
$CuSO_4 . 5 H_2O$	25 mg/l
$Na_2MoO_4 . 2 H_2O$	25 mg/l

III. De pH op 4.2 stellen.

IV. De bodem stollen met 15 g/l Baeto-agar

V. Bodem en voedingsoplossing beide steriliseren op 1 atm. gedurende 15 minuten.

Geplant behandelingen 6 + 7 + 8 op 13/6-1967
behandelingen 2 t/m 5 op 14/6-1967
Opnieuw geplant behandelingen 7+8 op 6/7-1967.

Bijlage 2.

Grootst gemeten grootte van de vruchtjes (doorsnede)

Behandeling 1	3 vruchtjes, waarvan na 46 dagen 1 vruchtje 6,4 mm groot is en na 81 dagen 2 vruchtjes resp. 5,2 mm en 7,4 mm groot zijn.
Behandeling 2	2 vruchtjes, waarvan na 46 dagen 1 vruchtje 3,9 mm groot is en na 95 dagen 1 vruchtje 9,1 mm groot is.
Behandeling 5	2 vruchtjes, waarvan na 32 dagen deze resp. 4,4 mm en 5,8 mm groot zijn.
Behandeling 6	2 vruchtjes, waarvan na 60 dagen 1 vruchtje 8,3 mm groot is en na 83 dagen 1 vruchtje 10,0 mm groot is.
Behandeling 7 2° inset	3 vruchtjes, waarvan na 26 dagen 1 vruchtje 4,1 mm groot is en na 81 dagen 1 vruchtje 6,3 mm groot is en na 131 dagen 1 vruchtje 9,0 mm groot is
Behandeling 8 2° inset	5 vruchtjes, waarvan na 41 dagen 1 vruchtje 4,1 mm groot is en na 52 dagen 1 vruchtje 3,6 mm groot is en na 130 dagen 3 vruchtjes resp. 9,5 mm; 10,3 mm en 19,0 mm groot zijn.



Foto 1.

Vruchtje gegroeid op voedingsbodem (behandeling 3)
Groen 21/6-1967.



Foto 2

Als foto 1, maar later opgenomen (Behandeling 3)
Rood 18/9-1967.



Foto 3.

Vruchtje gegroeid op voedingsoplossing op „filtreerpapier bruggetje"
(Behandeling 8)
Hood 16/10-1967



Foto 4.
Callus op kalkslippen.

68/5

Foto 5.
Callus plek op klokslippen



68-1

Foto 6
Callusplek op kelkslip
iets dichter bij dan
bij foto 5.

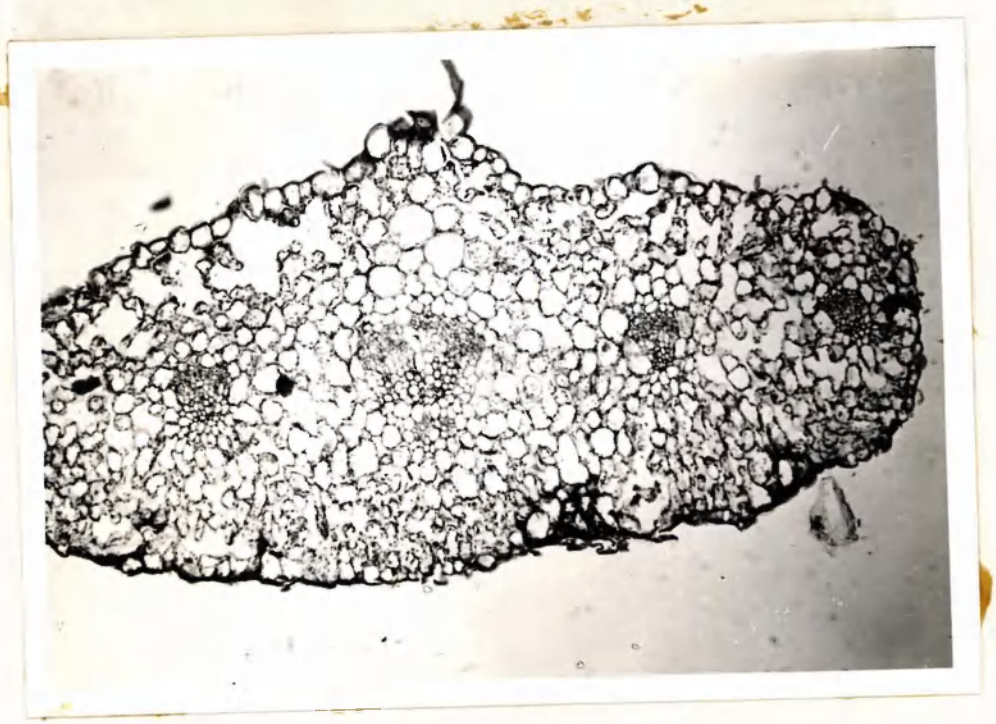


Foto 7.
Vrijwel geen callus op de kelkslip.

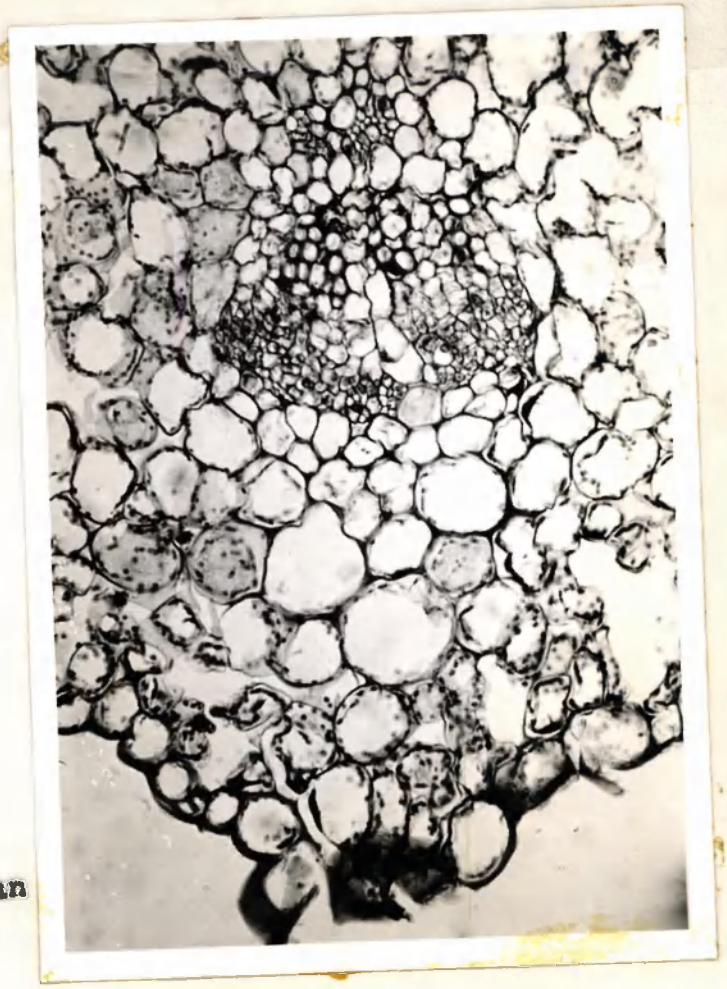


Foto 8.
Zelfde preparaat als van foto 7.
sterkere vergroting.

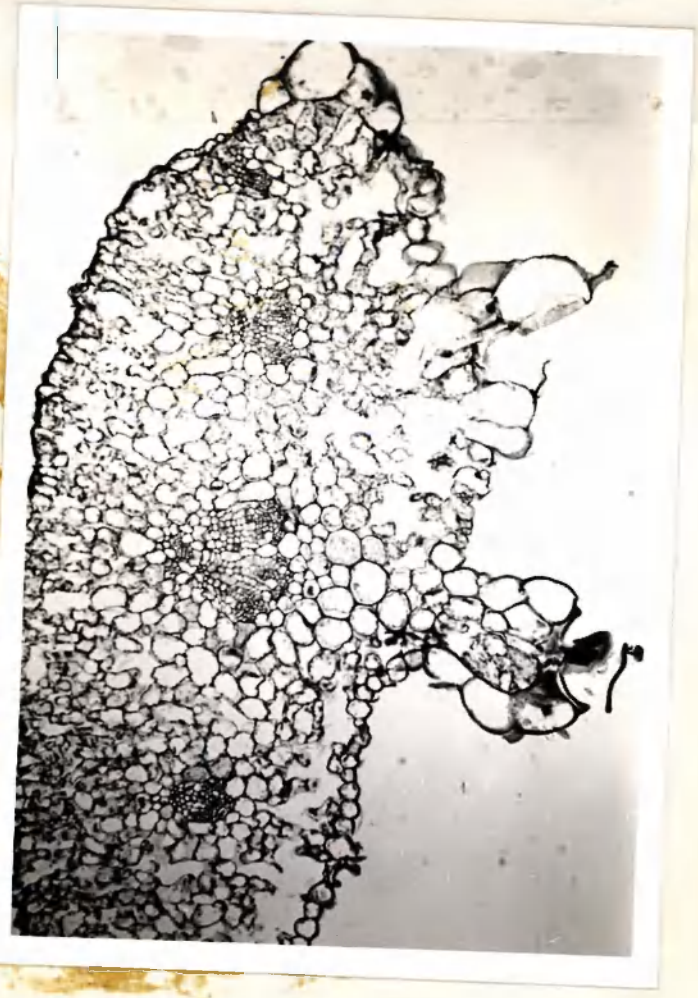


Foto 9.

Iets callus.
Bij foto 10 en 11 zelfde preparaat bij sterker vergroting.



Foto 10



Foto 11

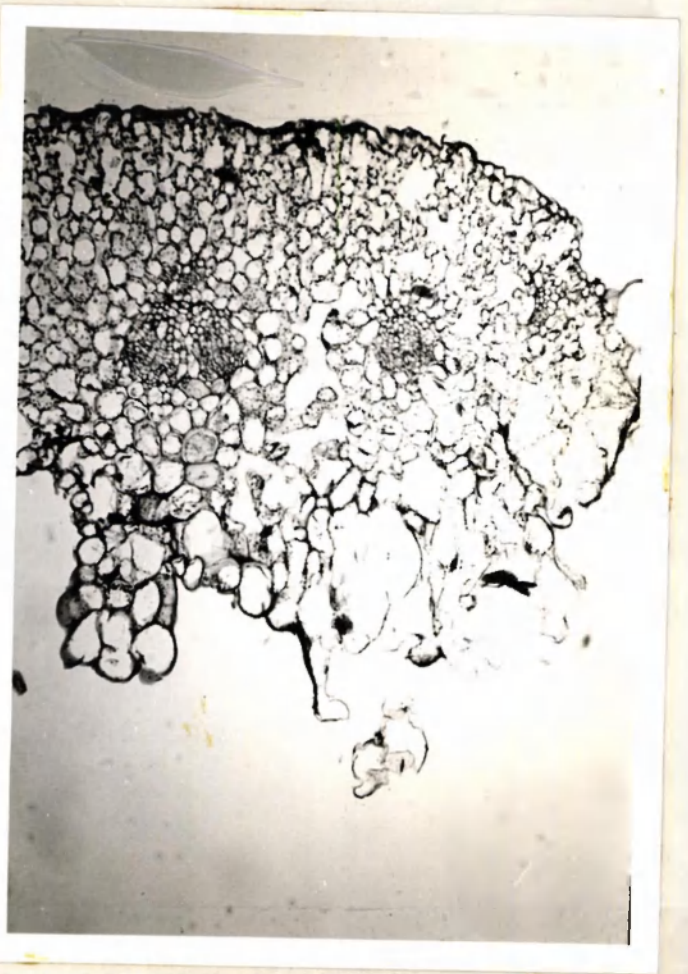


Foto 12

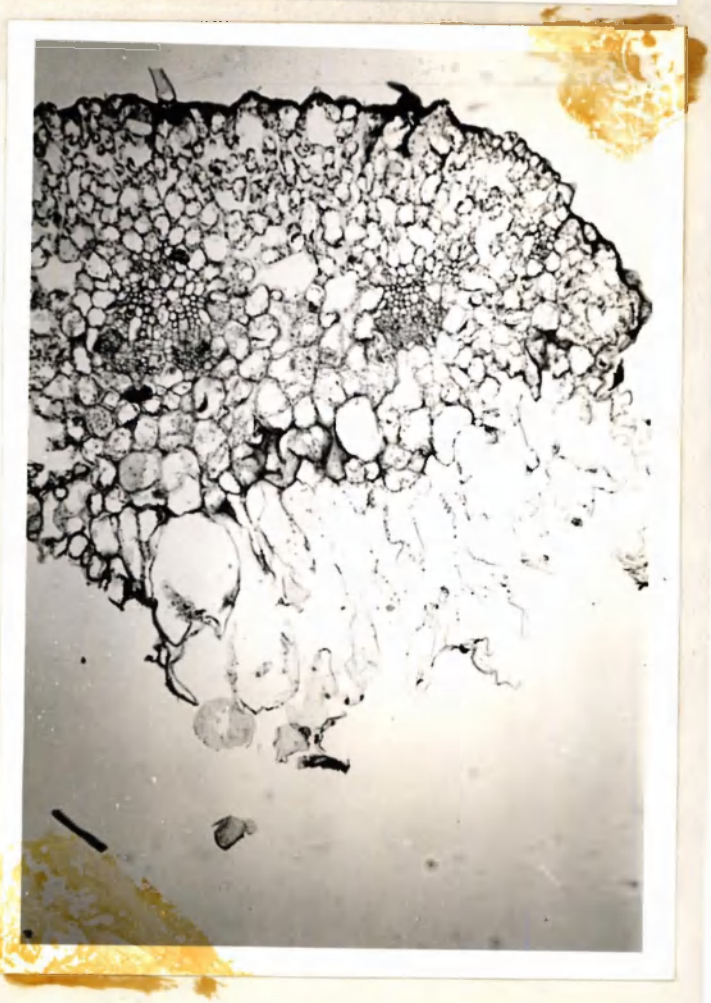


Foto 13

Foto 12 en Foto 13
meer callus op de kelk-
slippen.
Beide foto's van hetzelfde
preparaat.
Foto 13, grotere vergroting.

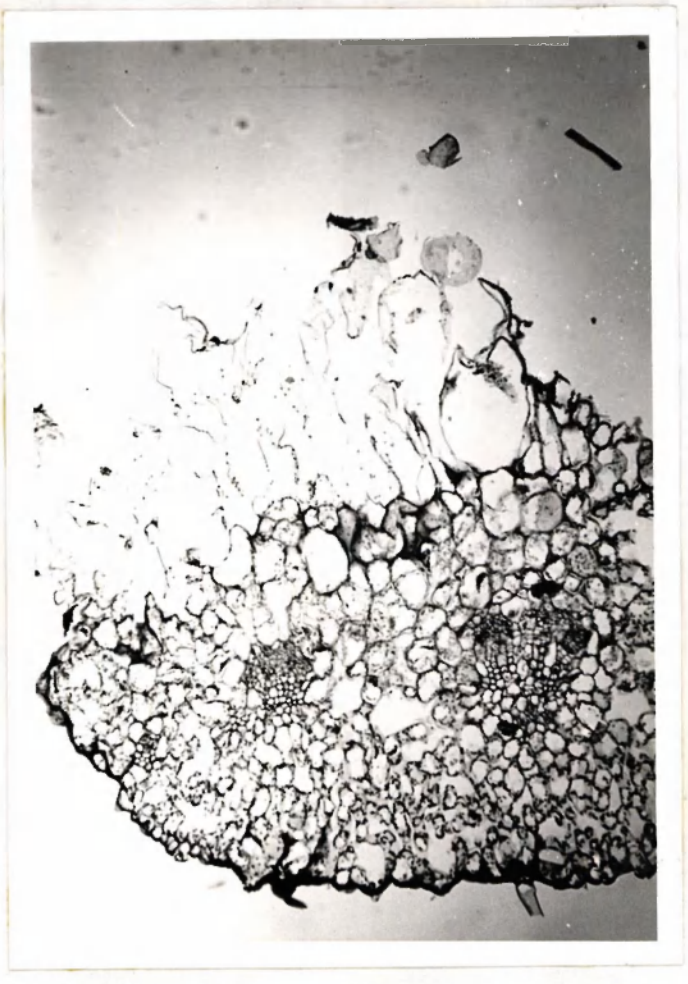


Foto 14.

Zelfde callusplek als van de voorgaande foto's maar meer naar het centrum gesneden

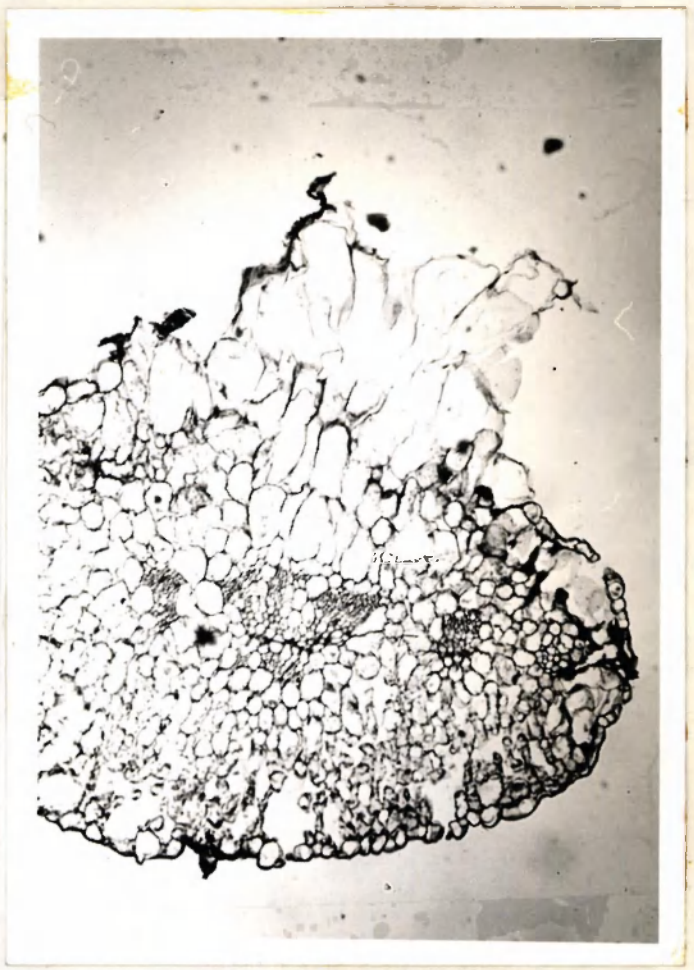


Foto 15

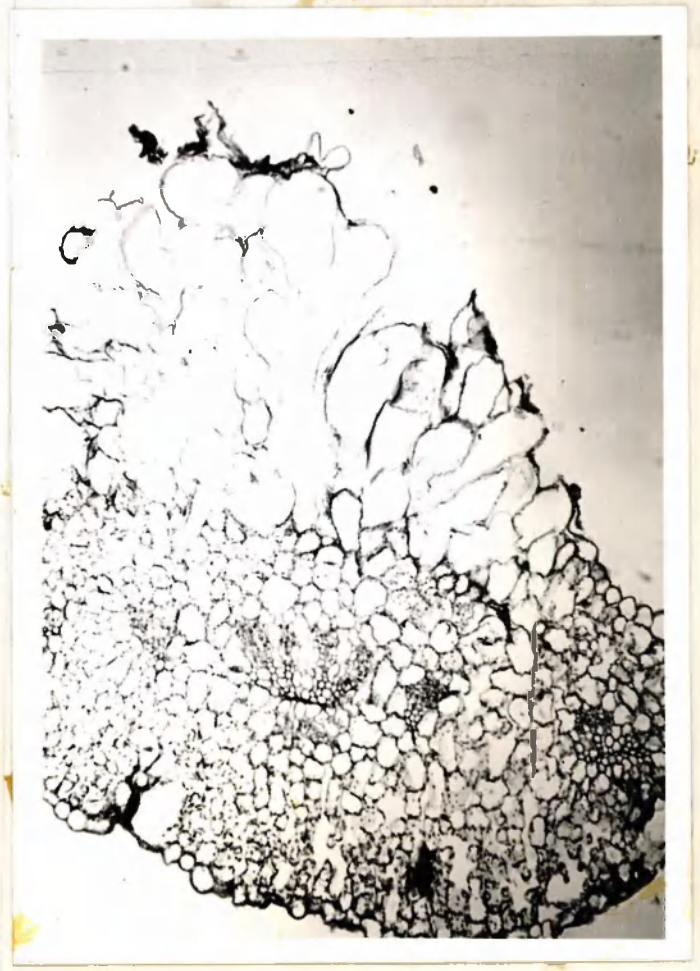


Foto 16

Foto 15 en Foto 16
Een wallusplek op een kelkslip op diverse diepten gesneden.

Foto 17

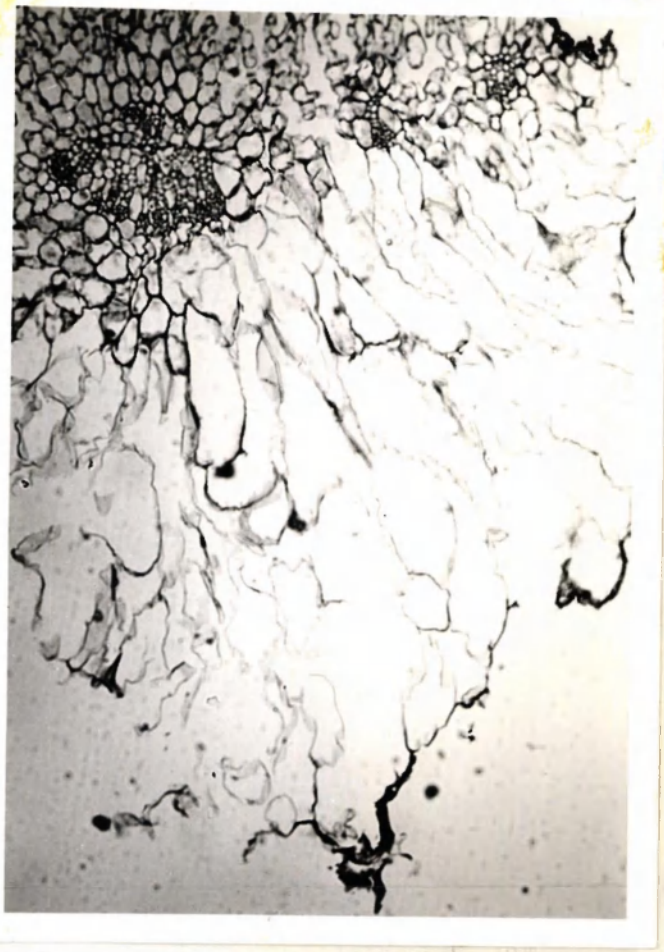


Foto 18.

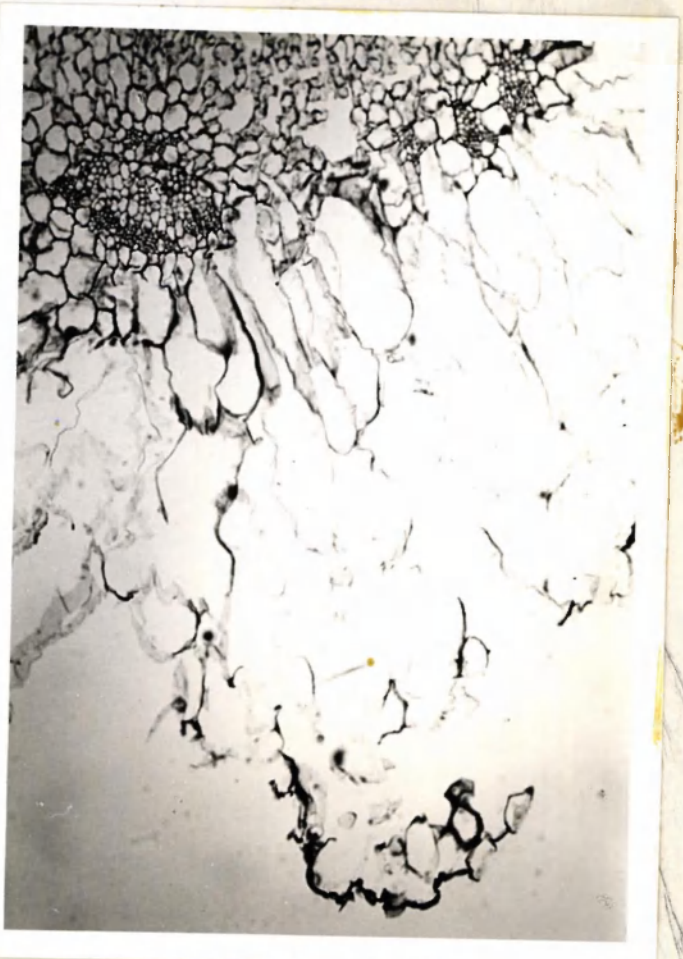


Foto 17 en 18.

Een callusplek op een kalkslip op diverse diepten gesneden.



Foto 19.
Een callusplek op een kelkslip op diverse diepten gesneden.

Bijlage 3 A
(Bls. 11)

Negatief nummer	Foto no.	Licht	Tijd	Vergr.		Preparaat glas	
22044-1	15	10/50	1 sec.	4 x		637	1
22044-2	16			4 x			2
22044-3	17			4 x			3
22044-5	19			4 x			5
22044-4	18			4 x			4
22044-6	12			4 x	selfde		7
22044-7	13			10 x	selfde		7
22044-8	14			4 x			7
22044-9	7			4 x			8.1
22044-10	8			10 x			8.1
22044-11	9			4 x			8.3.4.
22044-12	11			10 x			
22044-13	10			10 x			

Film Kodak Panatomic x 16 din (32 ASA)
belicht als 15 din.

Oculair 12,5 x nil ± 4-5 mm hoger
Opname datum : 7 november 1969
Gefixeerd op 21 juni 1967.

Negatief nummer	Foto no	datum	
20.681	1	21/6-1967	behandeling 3
20.755	2	18/9-1967	behandeling 3
20.818	3	16/10-1967	
22.072 0	4	21/6-1967	
68/5	5	21/6-1967	
68/1 6	21/6-1967		