

Eliminering af kartoffel virus X i kartoffelsorten Dianella

Ved *Mogens Christensen*

820. beretning fra Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur

Nærværende beretning omhandler forsøg vedrørende termoterapi og meristemkultur med kartoffelsorten Dianella udført ved virologisk afdeling på Statens plantepatologiske Forsøg.

Forstanderne ved Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur

Under arbejdet på at fremskaffe virusfrit plantemateriale af værdifulde sorter, der formeres ad vegetativ vej, har det ofte været umuligt gennem udvalg i det forhåndenværende plantemateriale at finde virusfrie planter.

Ved termoterapi eller meristemkultur samt ved en kombination af disse to metoder er det imidlertid både i udlandet (1, 2, 3, 5, 6, 9 og 10) og herhjemme (4, 7, 8, 11 og 12) lykkedes at eliminere virus fra sådan totalt virusinficeret plantemateriale.

Dette gælder således for flere vira hos både træ- og urteagtige planter, heriblandt kartoffelen.

Igennem adskillige år har der her i landet været stor interesse for at fremskaffe planter af kartoffelsorten Dianella, som var fri for kartoffel virus X (K VX).

Først prøvede man ved Studsgård, om det var muligt i den forhåndenværende bestand af Dianella at finde planter, der var fri for K VX, men dette viste sig at være umuligt, hvilket vil sige, at denne sort var totalt inficeret med K VX.

I årene 1954-56 søgte man ved Statens plantepatologiske Forsøg (virologisk afdeling) forgæves at inaktivere K VX ved kemo- og termoterapeutiske behandlinger.

I 1961-62 forsøgte man samme sted at eliminere K VX i Dianella gennem meristemkulturer, men det mislykkedes, idet ingen af meristemterne udviklede sig til planter.

I 1966 genoptog man ved virologisk afdeling forsøg på at fremskaffe virusfrie Dianella, idet man kombinerede termoterapeutiske behandlinger med meristemkultur, og dette har nu resulteret i fremkomsten af et mindre antal K VX-frie Dianella.

Materialer og metodik

Fra Dianella-knolde blev der den 26/10-1966 udskåret øjestiklinger, som blev bragt ud af hvilestadiet ved nedsænkning 15 min. i 1 p.p.m. gibberelinsyreopløsning. Forspiringen af øjestiklinger foregik ved 24°C i mørke og ved høj luftfugtighed. Den 3/11 blev de forspirede øjestiklinger plantet i Jiffy-potter nr. 425; den 10/11 var der udviklet ca. 3 cm høje planter, som blev sat til varmebehandling.

Varmebehandlingsrummet (5,0 × 1,9 m og 1,7 m højt), der var indrettet i et væksthus, var ret primitivt både med hensyn til opbygning og tekniske installationer, men det fungerede alligevel tilfredsstillende. Opvarmningen skete ved elektriske varmeovne, der blev styret af Danfoss rumtermostater (Type ST-VT). For at opnå så jævn temperatur i rummet som muligt blev luften bragt i cirkulation ved hjælp af ventilatorer. Belysningen bestod af 65 Watt lysstofrør, der gav en lysintensitet på ca. 4500 lux., belysningen var kontinuerlig hele behandlingsperioden igennem.

I varmebehandlingsperioden lå temperaturen ret konstant på 37°C ± 1°C. Luftfugtigheden var der ingen mulighed for at regulere, men den relative fugtighedsgrad var hele forsøgsperioden igennem meget konstant på ca. 20 pct.

Varmebehandlingen varede så længe, som planterne tålte den, hvilket vil sige 18-19 døgn; en del af planterne var da allerede døde, og efter 20 døgn forløb var der ingen overlevende planter.

Efter 18-19 døgn varmebehandling blev meristemmer udpræpareret og anbragt på næringssubstrat i rørglas.

Udpræpareringen af meristemmer foregik under

mikroskop ved $25 \times$ forstørrelse, og foruden det apikale meristem blev der medtaget 1 à 2 primordier (bladanlæg).

Som næringssubstrat anvendtes Gösta Nielsens modifikation af Berthelots næringsopløsning i 19×150 mm rørglas, hvori der var anbragt et sammenrullet stykke filtrerpapir, der tjente dels som støtte for meristemerne og dels som væge for opsugning af næringsvæsken.

Meristemkulturerne, der blev etableret i slutningen af november 1966, anbragtes ved $22-24^{\circ}\text{C}$ og kontinuerligt belyst med lysstofrør (ca. 1000 lux.).

Efter 9 måneders forløb (slutningen af august 1967) var det meste af vandet fordampet fra næringsopløsningen; en del af de meristemer, der endnu var i live, blev derfor overført til nye rørglas med samme næringssubstrat.

Efter yderligere 4 måneders forløb (begyndelsen af januar 1968) var endnu ingen af meristemerne begyndt at udvikle sig, de blev derfor alle overført til et næringssubstrat med en væsentlig anden sammensætning (Kassanis substrat). De meristemer, der herefter i løbet af januar-april 1968 udviklede sig til småplanter, blev pottet i jord i gradvis større potter.

Undersøgelse for indhold af K VX blev foretaget ved:

1. Infektionsforsøg til *Gomphrena globosa*, *Nicotiana glutinosa* og *Nicotiana tabacum* (Sam-sun og Xanthi).

2. Ad serologisk vej.

3. Ved elektronmikroskopi.

Den videre opformering af de K VX-frie planter foregik ved aflægere (udløbere).

Gösta Nilssons modifikation af Berthelots næringsopløsning

Indhold pr. 1000 ml

500,0	mg	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
125,0	-	KNO_3
125,0	-	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
125,0	-	KH_2PO_4
0,61	-	$\text{MnSO}_4 \cdot 1\text{H}_2\text{O}$
0,25	-	KJ

0,025	-	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
0,025	-	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
0,05	-	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
0,025	-	H_3BO_3
50,0	-	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{FeN}_2\text{NaO}_8$
1,0	-	thiamin
5,0	-	adenin
200,0	-	caseinhydrolysat
1,0	-	alfanaftyleddikesyre
1,0	ml	kokusmælk
20,0	g	sucrose

Næringsopløsningen steriliseres i rørglas ved autoklavering.

Kassanis næringssubstrat

Indhold pr. 1000 ml

10,0	g	Agar
20,0	-	sucrose
1,0	-	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
0,5	-	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
1,0	-	KCl
125,0	mg	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
125,0	-	KH_2PO_4
0,57	-	H_3BO_3
0,36	-	MnCl_2
0,625	-	ZnCl_2
0,268	-	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
0,252	-	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
7,20	-	Fe-EDTA
0,10	-	thiamin
0,80	-	pyridoxin
0,80	-	nicotinamid
0,10	-	gibberelinsyre

Næringssubstratet steriliseres i rørglas ved autoklavering.

Resultater

Efter overførsel til Kassanis's næringssubstrat (13 måneder efter meristemkulturerne etablering) begyndte nogle af meristemerne hurtigt at vokse til og udvikle sig til småplanter, som kunne overføres til småpotter og anbringes i væksthush.

Den første plante fra meristemkulturerne blev således pottet den 19/1-1968, og indtil 1. maj d. å. havde 7 af de oprindelige 100 meristemer udviklet sig til planter.

Af de 7 planter viste de 2 sig allerede ved den første serologiske prøve at være K VX-inficerede,



Fig. 1. Dianella; tv. stærkt svækket plante efter 3 ugers varmebehandling, th. ubehandlet plante. Dianella; to left highly weakened plant after 3 weeks of heat-treatment, to right untreated plant. Foto J.B.

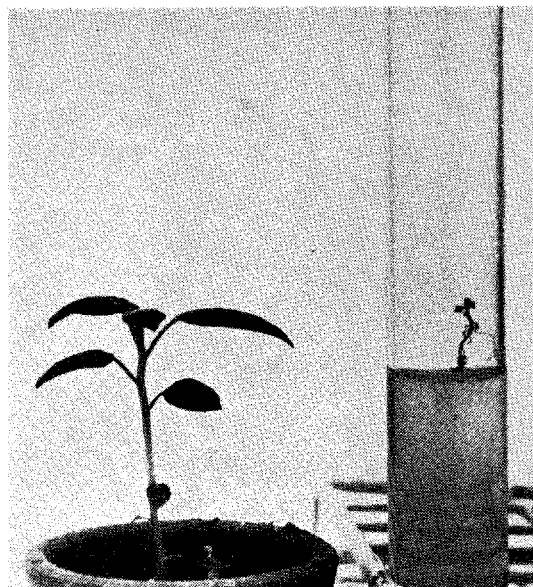


Fig. 2. Dianella; meristemplanter, th. 18 måneder efter udpræparering af meristemet, og umiddelbart før potning, tv. 1 måned efter potning. Dianella; meristem-plants, to right, plantlet 18 months after excising of the meristem, and just before potting. To left, plant one month after potting. Foto J.B.



Fig. 3. Dianella; meristemplante 2 måneder efter potning med udløbere (aflæggere) rede til afskæring og potning. Dianella; meristem-plant 2 months after potting with stolons ready for cutting and planting. Foto J.B.

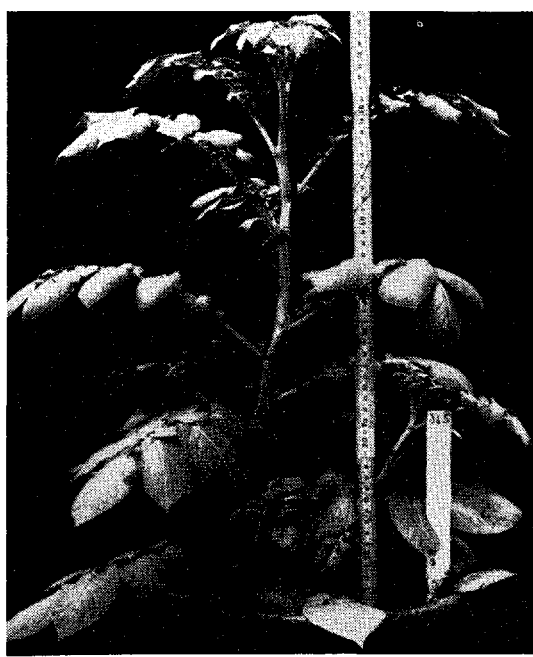


Fig. 4. Dianella; meristemplante 3 måneder efter potning. Dianella; meristem-plant 3 months after potting. Foto J.B.

mens det i de 5 planter ved gentagne infektionsforsøg og serologiske prøver ikke har været muligt at påvise K VX. Ved elektronmikroskopiske undersøgelser viste det sig yderligere, at to af disse 5 planter overhovedet ikke indeholdt virus, medens 3 planter indeholdt viruspartikler, der var ca. 750 m μ lange, hvilket svarer til længden af kartoffel virus A.

De 5 K VX-frie planter har været opformeret ved Statens plantepatologiske Forsøg, således at der nu rådes over godt 100 K VX-frie planter. Den videre opformering vil blive foretaget i væksthuse ved Statens plantepatologiske Forsøg og på statens forsøgsstation, Tylstrup.

Sammen drag

Ved kombination af termoterapi og meristemkultur er det lykkedes at fremskaffe et mindre antal planter af kartoffelsorten Dianella, som er fri for kartoffel virus X.

SUMMARY

Elimination of Potato Virus X in the Potato Variety Dianella

From the potato variety Dianella which is totally infected with potato virus X, clones free from this virus have been obtained by a combination of heat treatment and meristem culture.

LITTERATUR

1. *Kassanis, B.*: The use of tissue cultures to produce virusfree clones from infected potato varieties. *Ann. appl. Biol.* 45 (1957), 422-427.

2. *Kassanis, B. and A. Varma*: The production of virus-free clones of some British potato varieties. *Ann. appl. Biol.* 59:3 (1966):447-450.
3. *Kassanis, B.*: Plant Tissue Culture. Methods in Virology vol. 1. 537-566. Academic Presse New York and London 1967.
4. *Kristensen, H. Rønde og A. Thomsen*: Chrysanthemum-viroser. *Tidsskr. f. Planteavl* 62:4 (1958), 627-669.
5. *Morel, G. og C. Martin*: Querison de Pommes de terre atteintes de maladies à virus. *C. R. Acad, agric. Fr.* 41:10 (1955), 472-475.
6. *Nilsson, G. I.*: Phiolophora wilt of carnation *Dianthus caryophyllus L.* The behaviour of the pathogene *Phiolophora cenrescens (WR)* van Beyna in the host and in the soil. Thesis Cornell University for the degree of Doctor of Philosophy. (Ikke publiceret).
7. *Paludan, N.*: Inaktiveringsforsøg med virusinficeret nellikemateriale. *Månedsoversigt over plantesygdomme* 412 (1964) 83-88.
8. *Paludan, N.*: Undersøgelser vedrørende nellikeviroser. *Tidsskr. f. Planteavl* 69:1 (1965) 755-758.
9. *Quak, F.*: Meristeemcultuur, Gecombineerd met Warmtebehandeling voor het Verkrijgen van Virusvrije Anjerplanten. *Tijdschr. over Plantenziekten, Jaarg. 63 - 1957, 13-14.*
10. *Quak, F.*: Heat treatment and substances inhibiting virus-multiplication in meristem culture to obtain virus-free plants. *Proceedings of the XVth International Horticultural Congress Nice 1958, vol. 1:144-148.*
11. *Thomsen, A.*: Termoterapeutiske behandlinger af nelliker. *Horticultura* 15:5 (1961): 136-137.
12. *Thomsen, A.*: Frugttræ-vira inaktiveret ved termoterapi. *Tidsskr. f. Planteavl* 72:2, 141-152.