

Statens plantepatologiske Forsøg (H. Ingv. Petersen)

Virologisk afdeling (H. Rønde Kristensen)

2800 Lyngby

Klorotisk spætning og dværgsyge hos chrysanthemum Infektionsforsøg, termoterapi og meristemkultur

*Chrysanthemum chlorotic mottle and stunt
Infection trials, thermotherapy and meristem-tip culture*

N. Paludan

Resumé

Ved anvendelse af indikatorsorten 'Deep Ridge' er chrysanthemum-klorotisk spætning (CKS) i 1972 blevet påvist i ældre materiale af sorten 'Mistletoe'. Karakteristiske symptomer i form af klorotisk spætning og senere gullig, markant klorose udvikledes efter 40 døgn forløb i 'Deep Ridge'. CKS blev overført både ved podning og saftinokulation, sidstnævnte dog kun med stor vanskelighed.

Det er ikke lykkedes at eliminere CKS ved varmebehandling og meristemkultur i sorten 'Mistletoe', men derimod chrysanthemum-dværgsyge-virus (CDV). Plantematerialet har holdt sig sundt m.h.t. CDV siden meristemplanterne blev etableret i 1969 (Paludan 1971). CDV er blevet isoleret fra viruskomplekset ved hjælp af saftinokulation til 'Mistletoe' og 'Deep Ridge' i de tilfælde, hvor CKS ikke blev overført.

Summary

By applying the indicator variety 'Deep Ridge' chrysanthemum chlorotic mottle (CCM) has been found in Denmark (1972) in old plant material of the variety 'Mistletoe'. Characteristic symptoms as chlorotic mottle and later on marked yellow chlorosis (variagation) was developed in 'Deep Ridge' within 40 days.

CCM was successfully transmitted by grafting and sap inoculation, the latter, however, only with great difficulties.

Heat treatment up to 150 days followed by meristem-tip culture has been carried out with 'Mistletoe' plants originally infected with CCM and chrysanthemum stunt virus (CSV). No elimination was however, achieved regarding CCM.

It was still impossible to show the presence of CSV in the meristem plants established in 1969 (Paludan 1971).

CSV has been isolated from the complex CSV+CCM by means of sap inoculation to 'Mistletoe' and 'Deep Ridge' in the cases, where chlorotic mottle was not transmitted.

Indledning

I 1971 blev der fra Amerika (*Dimock et al.*) beskrevet en ny sygdom »chlorotic mottle« i chrysanthemumsorten 'Yellow Delaware' med en karakteristisk gul mosaik i bladene.

I 1972 er sygdommen blevet påvist i Danmark i chrysanthemumsorten 'Mistletoe'. De amerikanske såvel som danske undersøgelser af sygdommen bliver her beskrevet under navnet »Klorotisk spætning« (CKS).

Udenlandske undersøgelser (*Dimock et al.* 1971)

Symptomudvikling

Symptomudviklingen i sorten 'Yellow Delaware' har været følgende:

- I: Svag spætning eller mosaik i de unge blade.
- II: Alm. klorose i de nye blade som regel efter spætning i hjertebladene.
- III: Dværgvækst.
- IV: Forsinkelse af blomsterudvikling.

Efter podesmitte af sorten 'Yellow Delaware' har symptomudviklingen i de enkelte planter været følgende: Første 2-3 udviklede blade normalt mørkegrønne; efterfølgende 2 blade med nerve-lysning og spætning; dernæst et par blade med skarpt afgrænsede gule og grønne områder og endelig jævnt gule blade med svag grøn pigmentering. Symptomerne i de enkelte blade ændres ikke med tiden.

Udvikling af symptomer i en gruppe af planter har varieret på et givet tidspunkt og yderligere fra tidspunkt til tidspunkt. Planter fra nogle sorter har således på et tidspunkt været meget klorotiske for efter en til to ugers forløb igen at se helt sunde ud, for så atter senere at vise kraftige symptomer. Ofte har moderplanter og rodede stiklinger været helt symptomløse, mens kraftige symptomer pludselig udvikledes efter udplantning.

Overføring ved saftinokulation

Saftoverføring fra inficerede til sunde planter af sorten 'Yellow Delaware' er ikke lykkedes, hvorimod dette var tilfældet, hvor den meget følsomme sort 'Deep Ridge' blev anvendt som infektor. Overføringen lykkedes både ved saft- og tørino-

kulation (med og uden stødpudetilsætning) med en høj infektionsprocent i indikatorsorterne 'Deep Ridge' og 'Yellow Delaware'. Symptomudviklingen tog fire uger fra inokulationstidspunktet. Derimod lykkedes det ikke at overføre patogenet med saft til følgende indikatorplanter: *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn., *Petunia hybrida* Vilm., *Nicotiana glutinosa* L., *N. clevelandii* Gray., *N. tabacum* L. og *Tetragonia expansa* Murr.

Overføring ved podning

Sygdommen er også blevet overført med op til 100 pct. ved podning (skud- og vævspodning) til chrysanthemum, hvor symptomerne udvikledes efter en måneds forløb. Symptomudviklingen varierede meget fra næsten sundt udseende planter til gul klorose og dværgagtig vækst.

Vektorer

Sygdommen har tilsyneladende ingen vektorer.

Elektronmikroskopiske undersøgelser

Det har ikke været muligt at påvise viruslignende partikler i inficeret plantemateriale eller observere strukturaftigelser i tyndsnitspræparater.

Temperatur og symptomudvikling

Forsøg med inficerede planter anbragt ved forskellige dag- og nattemperaturer viste, at de kraftigste symptomer og den korteste inkubationstid på 12-15 dage er opnået ved henholdsvis 26 og 21 °C. Både højere og lavere temperaturer forsinkede og hæmmede symptomudviklingen.

Sortsmodtagelighedsforsøg

En lang række af de alm. handelssorter i U.S.A. er blevet undersøgt for modtagelighed ved topodning til inficerede planter af 'Yellow Delaware'. Symptomerne blev opgjort efter 9 ugers forløb og resultaterne fremgår af tabel 1.

De symptomløse sorter viste sig alle at være latent inficerede. Disse sorter kan derfor optræde som symptomløse smittebærere og udgøre en smittefare i chrysanthemumkulturen.



Fig. 1. Chrysanthemumsorten 'Deep Ridge' 45 døgn efter podning med klorotisk spætning.
The chrysanthemum variety 'Deep Ridge' 45 days after grafting with chlorotic mottle.

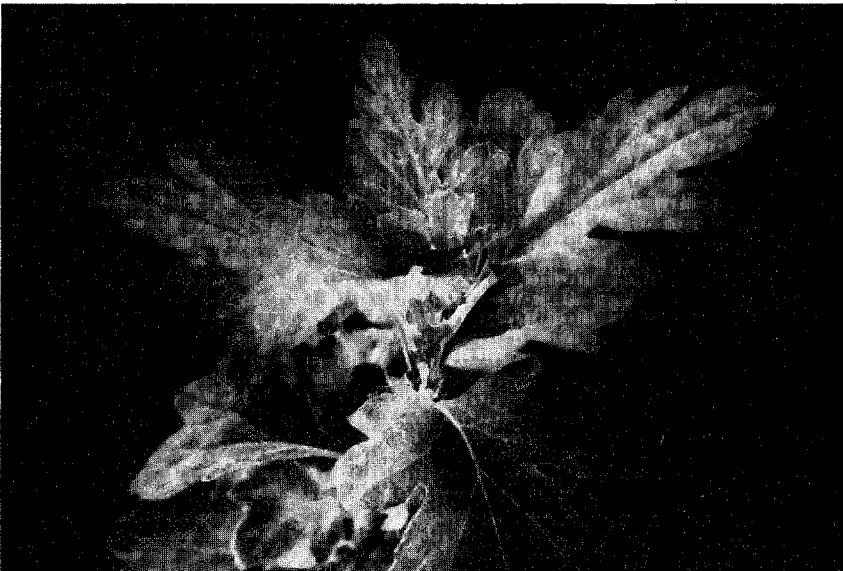


Fig. 2. Nervelysning i 'Deep Ridge' 45 døgn efter podning med dværge-syge-virus.
Vein clearing in 'Deep Ridge' 45 days after grafting with stunt virus.



Fig. 3. Variation i bladpigmentering i ens behandlede stiklingeplanter af 'Deep Ridge' inficeret med klorotisk spætning.
Variability in development of leaf pigment in cuttings of 'Deep Ridge' infected with chlorotic mottle.



Fig. 4. Meristemplanter af sorten 'Mistletoe' (fra v. til h.): I. Dværgsygevirus ikke inaktiveret. II. Sund (CDV-inaktiveret). III. Sund plante kontrolpodet med dværgsygevirus
Meristem plants of the variety 'Mistletoe' (left to right): I. Stunt virus not eliminated. II. Healthy (CSV-eliminated). III. Healthy plant grafted with stunt virus as control. Foto: J. Begtrup.

Tabel 1. Symptomudvikling i chrysanthemumssorter inficeret med CKS

Symptomer	Sorter
Markeret spætning efterfulgt af alm. klorose	'Blue Ridge', 'Deep Ridge', 'Delaware', 'Tinker Bell', 'Yellow Delaware'
Markeret spætning og klorose med symptomløs nyvækst	'Dark Red Star', 'Giant Betsy Ross', 'Hurricane', 'Tcecap', 'Mandalay', 'Rosey Nook', 'Ruby Mound', 'Torch'
Klorotisk spætning, nervelysning og meget mild klorose	'Knob Hill', 'Matador', 'Mermaid', 'Red Cap', 'Winter Carnival', 'Zonta'
Ingen synlige symptomer	'Albatross', 'Blue Chip', 'Bright Golden Anne', 'Fanfare', 'Fred Shoemith', 'Good News', 'Indianapolis No. 4', plus 18 havearter.

Tidligere danske undersøgelser

Plantematerialet, der har været brugt ved de her omtalte forsøg, blev i 1969 anvendt i inaktiveringsforsøg, idet materialet bl.a. var inficeret med chrysanthemum-dværgsyge-virus. Ved disse forsøg lykkedes det at inaktivere CDV ved meristemkultur både med og uden forudgående varmebehandling. Varmebehandlingen resulterede i en højere pct. meristemplanter uden CDV (*Paludan* 1971). Det er disse meristemplanter, der nu er blevet testet for CKS, efter at dette patogen er blevet påvist i det oprindelige materiale.

Metode

Infektionsforsøg er blevet udført dels ved saft- og tørinokulation og dels ved skudpodning. Varmebehandling og meristemkultur er udført som beskrevet af *Paludan* (1971). Plantemateriale af indikatorsorten 'Deep Ridge' er modtaget fra Cornell University, USA i 1972.

Resultater

Infektionsforsøg

Udførte infektionsforsøg med bl.a. indikatorsorten 'Deep Ridge' viste, at gammelt stammateriale

af sorten 'Mistletoe' var inficeret med CKS. CKS blev overført både ved podning og saftinokulation til 'Deep Ridge', i hvilken der udvikledes gul klorose efter henholdsvis 40 og 50 døgn (fig. 1). Overføring med inficeret plantesaft lykkedes kun til en af i alt ni anvendte indikatorplanter. Tilstedeværende dværgsyge-virus blev derimod overført hver gang, og på denne måde lykkedes det at isolere CDV fra komplekset CKS+CDV.

Kontrolpodning med CDV fremkaldte nervelysning i 'Deep Ridge' (fig. 2). Komplekset CKS+CDV fremkaldte ingen specifikke CKS symptomer i indikatorsorterne 'Fanfare' og 'Mistletoe'. Væksten i sidstnævnte sort var dog hæmmet i forhold til infektion med CDV alene.

Ved opformering af 'Deep Ridge' inficeret med CKS har der, inden for samme plantemateriale, vist sig en stor variation i stiklingeplanternes bladpigmentering (fig. 3). Planternes vækstkraft stod i forhold til klorosens udbredelse: Jo kraftigere klorose, jo svagere vækst. Planter med helt gule blade opnåede således kun en vis størrelse, hvorefter væksten standsede.

Meristemkultur

Tidligere varmebehandlede meristemplanter (1969) (fig. 4) fra chrysanthemumsorten 'Mistletoe', inficeret med både CKS og CDV, er i 1972 blevet testet for CKS ved podning til 'Deep Ridge'. Da meristemplanterne oprindeligt var blevet rensset for CDV, blev de som en ekstra sikkerhed yderligere testet for dette virus ved podning til sorten 'Mistletoe'. Sidste symptomaflysning blev foretaget 2 måneder efter podningen. Resultaterne fremgår af tabel 2.

Konklusion

Chrysanthemum klorotisk spætning (CKS) er for første gang blevet påvist i chrysanthemum i Danmark. CKS er blevet overført ved podning og saftinokulation til indikatorsorten 'Deep Ridge', der har reageret med spætning og gul klorose efter ca. 40 døgn forløb. CKS er ikke blevet elimineret ved langtids varmebehandling efterfulgt af meristemkultur.

Chrysanthemum-meristemplanter befriet for

Tabel 2. Testning af meristemplanter for chrysanthemum-klorotisk spætning (CKS) og chrysanthemum-dværgsyge-virus (CDV)
Testing of meristem plants for chrysanthemum chlorotic mottle (CCM) and chrysanthemum stunt virus (CSV)

Meristemplanter <i>Meristem plants</i>	Varmebehandling <i>Heat treatment</i>		Symptomer i indikatorsorterne <i>Symptoms in indicator varieties</i>		Infektion med <i>Infection with</i>	
	nr.	°C	døgn <i>days</i>	'Deep Ridge'	'Mistletoe'	CKS <i>(CCM)</i>
7443	30	150	gul klorose <i>yellow chlorosis</i>	ingen <i>none</i>	+	0
7450	»	»	»	»	+	0
6997	33	120	»	»	+	0
7454	»	150	»	»	+	0
6620	38	60	»	»	+	0
6968	»	90	»	»	+	0
Kontrol <i>Control</i>	ubehandlet <i>untreated</i>		gul klorose <i>yellow chlorosis</i>	gule 2 mm pletter <i>yellow 2 mm spots</i>	+	+

dværgsyge-virus i 1969 har vist sig stadig at være sunde efter 3 års forløb.

Paludan, N. (1971). Etablering af virusfrie meristemkulturer af havebrugsplanter. Tidsskr. f. Planteavl 75: 387-410.

Litteratur

Dimock, A. W., C. M. Geissinger and R. K. Horst (1971). Chlorotic Mottle: A newly recognized disease of chrysanthemum. Phytopath. 61:4: 415-419.

Manuskript modtaget 27/7-73