

Dværgsyge og klorotisk spætning hos chrysanthemum. Etablering af sunde chrysanthemumplanter og køleopbevaring af chrysanthemum, nelliker og pelargonier i rørglas

Chrysanthemum stunt and chlorotic mottle. Establishment of healthy chrysanthemum plants and storage at low temperature of chrysanthemum, carnation and pelargonium in tubes

Niels Paludan

INDHOLDSFORTEGNELSE

	Side
Resumé	350
Summary	350
Indledning. <i>Introduction</i>	351
Metode. <i>Method</i>	352
Inaktiveringsforsøg. <i>Inactivation experiments</i>	352
Opbevaringsforsøg. <i>Storage experiments</i>	352
Resultater. <i>Results</i>	352
Inaktiveringsforsøg. <i>Inactivation experiments</i>	352
Varmebehandlings indflydelse på inaktiveringen af chrysanthemum dværgsygevirus (CDV) og chrysanthemum klorotisk spætningvirus (CKSV). <i>The influence of the heat treatment on the inactivation of Chrysanthemum stunt virus (CSV) and Chrysanthemum chlorotic mottle virus (ChCMV)</i>	352
Meristemstørrelse, meristemvarmebehandling og auxinindflydelse. <i>The influence of the size and the heat treatment of meristem-tips and the influence of auxin on the virus inactivation</i>	353
Meristemstørrelsens indflydelse på inaktiveringen af CDV og CKSV. <i>The influence of the size of the meristem-tips on the inactivation of CSV and ChCMV</i>	353
Meristemvarmebehandlings indflydelse på inaktiveringen af CDV og CKSV. <i>The influence of the heat treatment of meristem-tips on the inactivation of CSV and ChCMV</i>	354
Auxin 2,4 D's indflydelse på inaktiveringen af CDV og CKSV. <i>The influence of 2,4 D on the inactivation of CSV and ChCMV</i>	354
Opbevaringsforsøg med stiklingeplanter i rørglas. <i>Storage experiments with plants in tubes</i>	354

Chrysanthemum	354
Lavtryksopbevaring ved 1° og 6°C igennem 4 måneder. <i>Hypobaric storage at 1° and 6°C, respectively, over a period of 4 months</i>	354
Opbevaring af chrysanthemumstiklinger og -rodede planter ved 5 temperaturer igennem 5 måneder. <i>Storage of cuttings and plants of chrysanthemum at 5 different temperatures over a period of 5 months</i>	355
Nelliker. <i>Carnation</i>	355
Lavtryksopbevaring ved 1° og 6°C igennem 4 måneder. <i>Hypobaric storage at 1° and 6°C over a period of 4 months</i>	355
Opbevaring af nelliker ved 1° og 3°C igennem 13 måneder. <i>Storage of carnation at 1° and 3°C over a period of 13 months</i>	356
Pelargonier. <i>Pelargonium</i>	357
Orienterende opbevaringsforsøg ved 5 temperaturer igennem 7 måneder. <i>Pilot storage experiments at 5 different temperatures over a period of 7 months</i>	357
Opbevaring af pelargonier ved 4 temperaturer igennem 6 måneder. <i>Storage of pelargonium at 4 different temperatures over a period of 6 months</i> ...	357
Diskussion. <i>Discussion</i>	358
Konklusion. <i>Conclusion</i>	358
Litteratur. <i>Literature</i>	358

Resumé

Chrysanthemum dværgevirus findes overalt, hvor der dyrkes chrysanthemum. Angreb forårsager kvalitetsforringelse i form af dværgvækst. Chrysanthemum klorotisk spætningvirus, der forårsager en hæmmet vækst, er derimod kun lidt udbredt i kulturen. Etablering af sunde planter har været forsøgt med varierende resultater og som oftest med negativ effekt.

Muligheden for en sikrere fremstilling af sunde chrysanthemumplanter er derfor blevet forsøgt ved varmebehandling og meristemkultur. Endvidere er muligheden for en opbevaring af stiklingeplanter af chrysanthemum, nelliker og pelargonier blevet forsøgt i rørglas ved lave temperaturer og ved lavtryk.

Chrysanthemum dværgevirus (CDV) er blevet inaktiveret i stigende grad med aftagende meristemstørrelse i forbindelse med glødning af den anvendte scalpel. Apikale meristemer har givet flest CDV-frie planter.

Varmebehandling af såvel moderplanter som meristemplanter i rørglas har ikke haft nogen indflydelse, ligesom auxin (2,4 D) i næringsmediet ikke har påvirket inaktiveringen af CDV.

Chrysanthemum klorotisk spætningvirus (CKSV) er kun blevet inaktiveret i 1 tilfælde ved tilsvarende behandlinger.

Opbevaring af planter i rørglas ved lave temperaturer har vist sig mulig for nelliker i op til 1 år, for chrysanthemum foreløbig igennem 5 måneder og for pelargonier i op til 7 måneder, og plantematerialet var stadig egnet til videre stiklingeproduktion.

Lavtryksopbevaring har ikke forbedret muligheden for opbevaring af nelliker og chrysanthemum.

Nøgleord: Chrysanthemum, viroider, inaktivering, prydblplanter, køleopbevaring, lavtryksopbevaring.

Summary

Chrysanthemum stunt virus (CSV) is widespread wherever chrysanthemum cultures are grown, causing severe stunt and deterioration in quality. Chrysanthemum chlorotic mottle virus (ChCMV),

causing a slight reduction in growth, occurs only to a limited extent. Establishment of healthy plants has been carried out with divergent results, and in many cases without success.

A more safe method of producing healthy chrysanthemum plants has been carried out by heat treatment and meristem-tip cultures. Furthermore storing of chrysanthemum, carnation and pelargonium plants in tubes at low temperatures as well as hypobaric conditions has been attempted.

CSV has been inactivated increasingly with the decreasing size of the meristem-tip in connection with disinfection of the scalpel, making it redhot between the individual meristem-tips. Meristem-tips from the terminal buds have given the greatest number of CSV-free plants.

Heat treatment of either the mother plants or the meristem-tip plants in tubes had no certain influence, nor had the addition of auxin (2,4 D) to the nutrient solution.

ChCMV has only been inactivated in one single plant by similar treatments.

Storage of plants in tubes at low temperature has been possible, comprising carnation during one year, chrysanthemum temporary during five months and for pelargonium during seven months.

The stored plant material has still been suitable for cutting production after further culturing at optimal conditions.

Hypobaric storage has not been any advantage either for carnation or chrysanthemum.

Key words: Chrysanthemum, viroids, inactivation, ornamentals, cool storage, hypobaric storage.

Indledning

Chrysanthemum dværagsyge og klorotisk spætning er begge virussygdomme, der hører til viroidgruppen med »nøgen« nукleinsyre, og de adskiller sig således fra de øvrige kendte virussygdomme i chrysanthemum (*Diener & Lawson, 1973, Hollings & Stone, 1973, Romaine & Horst, 1975*).

Chrysanthemum dværagsygevirus (CDV) er udbredt overalt i chrysanthemumkulturer og forårsager ødelæggelse af kvaliteten i form af alvorlig dværgvækst (*Klinkowski, 1968, Misra & Singh, 1975, Horst et al., 1977*).

Chrysanthemum klorotisk spætningvirus (CKSV) har en begrænset udbredelse og effekt, og kun i få sorter, der reagerer med bladsymptomer og med en svag, men dog målelig vækstreduktion (*Dimock et al., 1971, Oertel, 1973, Paludan, 1972, 1974a, Horst et al., 1977*).

Et latent infektiøst agent, der beskytter mod CKSV efter 8 dages inkubationstid, er blevet påvist ved krydsbeskyttelsesforsøg (*Horst, 1975*).

Fremstilling af CDV-frie chrysanthemum ved hjælp af varmebehandling og meristemkultur har været forsøgt med varierende resultater. I de fleste tilfælde er det kun lykkedes at eliminere viruset i få planter uafhængig af de udførte behandl-

ger (*Hollings & Stone, 1970, Oertel, 1978, Paludan, 1974d*). I andre tilfælde er der opnået en virusinaktivering tilsyneladende i forhold til varigheden af den udførte behandling (2–5 måneders varmebehandling i forbindelse med meristemkultur) eller afhængig af den anvendte sort (*Paludan, 1971, 1974a, Bachelier et al., 1976*).

Inaktivering af CKSV er blevet forsøgt i mindre omfang omfattende varmebehandling og meristemkultur, uden at der hidtil er opnået positive resultater (*Paludan, 1974a, Oertel, 1978*).

Muligheden for at inaktivere sfæriske og stavformede vira ved dyrkning af meristemer i rørglas over en længere periode ved 18°, 22° og 30°C er blevet beskrevet af *Walkey et al. (1969, 1972)* og *Paludan (1974b)*.

Tiltrækning af virusfrie kartoffelplanter ved dyrkning af meristemer på næringsmedium tilsat auxinet 2,4 D er blevet beskrevet af *Quak (1961)*.

I forsøg på at kunne producere viroidfrie chrysanthemum og opnå en større sikkerhed i dette arbejde, er der i årene 1974–78 på Institut for Plantepatologi, Virologisk afdeling, blevet udført kombinationer af varmebehandling og meristemkultur, omfattende forskellige temperaturer, vækstmedier og meristemstørrelser (*Paludan, 1974d, 1975, 1977*).

I forbindelse med dette arbejde er muligheden for at kunne opbevare patogenfrie planter af chrysanthemum, nelliker og pelargonier i rørglas blevet forsøgt, dels ved lave temperaturer, dels ved lavtryksopbevaring (Paludan, 1978, Jensen & Rasmussen, 1979).

Metode

Inaktiveringsforsøg

Chrysanthemumsorterne, der blev anvendt til de udførte forsøg, omfattede 'Mistletoe', der var inficeret med CDV og 'Deep Ridge', der var inficeret med CKSV. Virustestning blev foretaget ved podning til sunde planter af sorterne 'Deep Ridge', 'Fanfare' og 'Mistletoe' med symptomregistrering efter 1 og 2 måneders forløb. Meristemplanter, der ikke reagerede i indikatorplanterne ved første testning, blev atter testet efter yderligere 2 måneders kultur. De meristemplanter, der stadig ikke reagerede ved de udførte podninger, blev dyrket videre igennem 1 år til observation for symptomer fra eventuelt svækkede virusformer. Det anvendte plantemateriale stammede fra den plantepatologiske afdeling på Cornell Universitet.

Moderplanterne blev varmebehandlet inden meristemskæring, dels ved konstant temperatur på 37°C, dels ved varierende døgntemperaturer på henholdsvis 20° og 34°C.

Meristemerne blev skåret i størrelserne 0,2, 0,25 og 0,5 mm med eet eller to bladanlæg fra både top- og sideskud.

Rørglaskulturer af meristemer blev dels varmebehandlet ved temperaturerne 22°, 27° og 30°C, dels dyrket i vækstmedier tilsat 0,1 og 0,2 mg auxin 2,4 D pr. l.

I forsøgene fra 1974 og 1975 blev det anvendte scalpelblad dyppet i sprit og flamberet mellem de enkelte skæringer, hvilket er normal praksis. I de senere forsøg er der blevet foretaget en glødning af scalpelbladet mellem de enkelte skæringer.

Opbevaringsforsøg

Forsøg med opbevaring af stiklingeplanter i rørglas har været udført i termostatstyrede klimarum $\pm 1^\circ\text{C}$, dels ved forskellige lave temperaturer

(1° og 3°C uden belysning, 6°, 9° og 12°C med belysning på ca. 2.500 lux (lysstofrør »Cool White« TLD 30w/33 (Philips) med 640w/m²), dels ved lavtryk ved 1° og 6°C uden belysning i et lavtryksanlæg, som er beskrevet af Jensen og Rasmussen (1979).

Det anvendte stiklingemateriale stammede fra meristemplanter, hvor udviklede stængler blev skåret i stykker, henholdsvis i topstiklinger med eet eller flere udviklede blade og i stængelstiklinger med normalt eet udviklet blad. Stiklingerne blev under sterile forhold placeret i rørglas med et egnet medium (se senere) tilsat agar og lukket med sterilt polypropylen (parafilm). Stiklingerne, der blev dyrket uden flytninger til friskt medium gennem hele forsøgsperioden, fik normalt lov til at udvikle begyndende skud- og rodvækst ved 20°C og 16 timers belysning, inden opbevaringsforsøget blev startet.

Plantematerialets skud- og rodudvikling blev registreret ved forsøgets start og jævnlige i opbevaringsperioden, hvor nyvæksten blev målt i mm.

Resultater

Inaktiveringsforsøg

Varmebehandlingens indflydelse på inaktiveringen af CDV og CKSV

CDV og CKSV er i 1974 og 1975 blevet forsøgt inaktiveret ved en kombineret varmebehandling af såvel moderplanterne før meristemskæring, som af de skårne meristemer i rørglas.

Moderplanterne blev varmebehandlet, dels ved varierende døgntemperaturer på 34°C i 16 timer efterfulgt af 20°C i 8 timer, dels ved 37°C døgnet igennem. Planterne blev belyst hele døgnet.

De skårne meristemer blev straks placeret ved henholdsvis 22°C (normal temperatur), 27°C og 30°C, med 16 timers belysning.

Meristemerne blev skåret i en størrelse af 0,25 mm med eet eller to bladanlæg. Scalpelbladet blev flamberet mellem skæringen af de enkelte meristemer.

Resultaterne fremgår af tabel 1, hvor enkelte af forsøgsbehandlingerne er blevet slået sammen i grupper p.g.a. manglende udslag.

Tabel 1. Inaktiveringsforsøg med CDV og CKSV ved varmebehandling af såvel moderplanter som meristemer
Inactivation of CSV and ChCMV by heat treatment of both mother plants and meristem-tips

Moderplanter		Meristemplanter					
Temp.	Døgn	Temp.	I alt	Antal virusfrie efter antal døgn			
				60	105	150	Pct. af i alt
<i>CDV i 'Mistletoe'</i>							
20–34°C	60	30°C	22	0	0	1	1,4
»	90	»	21	0	0	0	
»	180	»	28	0	0	0	
37°C	75	22–27°C	78	1	1	1	2,9
»	120	»	61	0	–	1	
<i>CKSV i 'Deep Ridge'</i>							
20–34°C	60	30°C	99	0	0	0	0
»	90	»	114	0	0	0	
»	180–210	»	214	0	0	0	
37°C	21	22–27°C	141	0	0	0	0,4
»	85	»	93	0	0	1	
»	120	»	21	0	0	0	

CDV er blevet inaktiveret i 1,4 pct. af meristeme-erne, hvor moderplanterne har været varmebe-handlet med varierende temperaturer (20°–34°C), og i 2,9 pct. hvor moderplanterne har stået ved 37°C.

En forlængelse af varmebehandlingstiden har derimod ikke resulteret i virusfrie planter, og en efterfølgende varmebehandling af meristemerne ved 27°C og 30°C har, uanset behandlingstiden, heller ikke givet positivt udslag.

CKSV er kun blevet inaktiveret i 1 enkelt plante.

Det må konstateres, at ingen af de undersøgte forsøgsbehandlinger har haft nogen reel indfly-delse på inaktivering af såvel CDV som CKSV.

Varmebehandlingsens indflydelse på etablering af meristemplanter er blevet beregnet.

For sorten 'Mistletoe', inficeret med CDV, etableredes 12 pct. planter af i alt 600 meristemer skåret af moderplanter, behandlet ved varierende døgn-temperaturer på 20°–34°C i 60–120 døgn ef-terfulgt af 30°C af meristemplanter i 60–150 døgn. Varmebehandlingen har først haft skadelig virk-ning efter 180 døgn behandling.

Etablering af planter ved temperaturkombina-tionen 37°C og 22°–27°C i samme antal døgn har tilsvarende været 38 pct. af i alt 520 meristemer.

For sorten 'Deep Ridge', inficeret med CKSV, har de tilsvarende værdier for etablering af plan-ter været henholdsvis 71 pct. (af 600 meristemer) og 40 pct. (af 650 meristemer).

Meristemstørrelse, meristemvarmebehandling og auxinindflydelse

I 1977 og 1978 er muligheden for at inaktivere CDV og CKSV blevet undersøgt, dels ved for-skellige meristemstørrelser, dels ved varmebe-handling af etablerede meristemplanter og ende-lig ved dyrkning i næringsmedium tilsat auxinet 2,4 D.

Ved skæring af meristemerne blev scalpelbla-det opvarmet til glødning mellem skæring af de enkelte meristemer.

Meristemstørrelsens indflydelse på inaktiverin-gen af CDV og CKSV

Chrysanthemummeristemer blev skåret i størrel-serne 0,2, 0,25 og 0,5 mm, hvor den mindste stør-

relse bestod af kuppelen og det første bladanlæg.

De opnåede resultater fremgår af tabel 2.

Tabel 2. Inaktiveringsforsøg med CDV i sorten 'Mistletoe' med varierende meristemstørrelse
Inactivation of CSV in the variety 'Mistletoe' using different sizes of meristem-tips. (2/2 mens CSV inactivated in 2 plants out of a total number of 2 plants)

Meristemstørrelse i mm	Meristemplanter		
	antal virusfrie af i alt i meristemer fra		Pct. virusfrie
	topskud	sideskud	
0,2	2/2	12/19	66,7
0,25	12/29	11/75	22,1
0,5	6/26	0/16	14,3
Pct. virusfrie	35,1	20,9	

Meristemets størrelse havde stor indflydelse på inaktiveringen af CDV. Ligeledes havde placeringen indflydelse på antallet af virusfrie planter, der – som gennemsnit af alle 3 størrelser – udgjorde 35 pct. fra apikale meristemer og 21 pct. fra meristemer i bladhjørner.

Forsøg med inaktivering af CKSV i sorten 'Deep Ridge' har været gennemført på lignende måde som for CDV. Det lykkedes ikke at inaktivere CKSV i henholdsvis 21 meristemplanter skåret i størrelsen 0,2 mm, 55 meristemplanter skåret i 0,25 mm eller i 20 planter skåret i størrelsen 0,5 mm.

Meristemvarmebehandlings indflydelse på inaktivering af CDV og CKSV.

Meristemerne blev alle skåret 0,25 mm store i december måned. Efter 3 ugers vækst, med en plantestørrelse på mellem 0,5 og 2,5 cm, blev meristemerne flyttet til et klimarum med 26°C. Temperaturen blev i dette klimarum gradvis hævet (4°C hveranden dag) til 34°C. Denne temperatur blev anvendt i de første 3 måneder, hvorefter den blev hævet til 37°C i den følgende måned. Temperaturerne blev holdt gennem 16 timer i døgnet med belysning efterfulgt af 20°C i mørke.

Kun meristemplanter med normal udviklet vækst tålte denne varmebehandling. De behandlede meristemer blev pottet op efter henholdsvis 1, 2, 3 og 4 måneders behandling.

CDV blev kun inaktiveret i 1 af i alt 54 etablerede meristemplanter (1 af 23 meristemplanter varmebehandlet i 90 døgn), og CKSV blev ikke inaktiveret i nogen af i alt 125 etablerede meristemplanter.

Den udførte varmebehandling efter meristemskæring har således ikke haft nogen indflydelse på inaktivering hverken af CDV eller CKSV.

Auxin 2,4 D's indflydelse på inaktivering af CDV og CKSV.

Meristemer i størrelsen 0,25 mm blev placeret i medier tilsat henholdsvis 0, 0,1 og 0,2 mg auxin 2,4 D pr. l.

På grund af vækststoffets kraftige kallusfremmende virkning blev meristemerne imidlertid kun dyrket i 2,4 D-medierne igennem den første måned, hvorefter meristemerne blev flyttet til normalt anvendte medier.

CDV blev inaktiveret i 1 af i alt 12 etablerede meristemplanter fra medier tilsat 2,4 D, og i 6 af 13 fra kontrolmedium uden 2,4 D.

CKSV blev ikke inaktiveret i 19 meristemer dyrket i medier med 2,4 D, og heller ikke i meristemer dyrket i kontrolmedium.

Tilsætning af 2,4 D har således ikke haft nogen effekt på inaktiveringen af hverken CDV eller CKSV.

Opbevaringsforsøg med stiklingeplanter i rørglas

Opbevaringsforsøg med planter i rørglas er påbegyndt i 1978 omfattende plantearterne chrysanthemum, nelliker og pelargonier.

Chrysanthemum

Lavtryksopbevaring ved 1° og 6°C igennem 4 måneder

Lavtryksopbevaring er gennemført ved 760, 47,5 og 20 mm Hg ved henholdsvis 1° og 6°C igennem 4 måneder uden belysning. Plantematerialet bestod af stiklinger i rørglas (lukket med parafilm) af sorten 'Mistletoe' med begyndende skud- og rodvækst dyrket i et modificeret medium beskrevet

af Adams (1972), med 0,1 mg IBA pr. liter. Hvert forsøgsled omfattede henholdsvis 8 topstiklinger og 12 stængelstiklinger.

Resultaterne fra opbevaring ved 1°C fremgår af tabel 3.

Tabel 3. Lavtryksopbevaring af chrysanthemumplanter i rørglas ved 1°C efter 4 mdr.
Hypobaric storage of chrysanthemum in tubes at 1°C during 4 months

mm Hg	Materiale ¹⁾	Skudvækst		Rodvækst 1-3 ²⁾	Bladfarve
		højde i alt (mm)	tilvækst (pct.)		
760	T	35	97	2,1	lysegrøn
	S	18	27	2,6	»
47,5	T	72	371	2,0	grøn
	S	28	170	2,7	»
20	T	80	376	2,9	»
	S	34	198	2,9	»

¹⁾ T = topstiklinger. S = stængelstiklinger.

²⁾ 1 begyndende rodudvikling.

2 moderat rodudvikling.

3 kraftig rodudvikling.

Planter opbevaret ved 1°C under lavtryk havde en betydelig større tilvækst end planter opbevaret ved normalt atmosfærisk tryk. Der var forskel på plantematerialet, idet topstiklingerne havde en tilvækst på 3-4 gange og stængelstiklingerne omkring 2 gange. Rodvæksten har stort set været ens i alle forsøgsleddene.

Bladenes farve var bedre under lavtryk, men den kraftige nyvækst var bleg til næsten hvid. Forurening af svampe eller bakterier forekom i ca. 10 pct. af rørglassene.

Samtlige planter opbevaret ved 6°C blev forurenede under lavtryksopbevaringen allerede efter 1 måneds forløb, og dette medførte en væksthæmning og senere død hos flere planter. Forsøgsresultaterne kan derfor ikke anvendes. Årsagen til forureningen skyldes højst sandsynligt et stort smittetryk fra rådne plantemateriale, som blev opbevaret i samme rum. Dette i forbin-

delse med trykudligning, hver gang der blev åbnet for forsøget for inspektion og registrering, har medført en ind sugning af forurenede luft ind under parafilmen.

Normalt tryk ved 6°C var ikke velegnet til opbevaring af stiklinger, idet planterne fik brune blade, bløde stængler og døende toppe.

For at undersøge om plantematerialet fra lavtryksopbevaringen ved 1°C kunne anvendes til videre stiklingeproduktion, blev dette anbragt ved normalt tryk, først ved 6°C i 20 døgn (mørke) og derefter ved 20°C i 10 døgn med 16 timers belysning.

Skuddene, der strakte væksten og udviklede mørkegrønne blade, var velegnede til stiklingeproduktion. Længden af skuddene blev, som et gennemsnit af top- og stængelstiklinger, målt til 53 mm ved normalt tryk og 78 mm ved lavtryk.

Opbevaring af chrysanthemumstiklinger og -rodde planter ved 5 temperaturer

Opbevaringsforsøg er igennem 5 måneder udført ved 1° og 3°C i mørke og 6°, 9° og 12°C med 16 timers belysning, dels med stiklinger sat direkte på køl, dels med stiklinger med begyndende skud- og rodvækst (planter) efter 1,5 måned ved 12°C. Hvert forsøgsled bestod af 6 topstiklinger og 43 stængelstiklinger. Resultaterne fremgår af tabel 4.

Stiklinger sat direkte på køl var svækket både i skud- og rodvækst ved 1° og 3°C. Stængelstiklinger hensat ved 1°C tålte slet ikke behandlingen, idet kun 10 af 43 stiklinger (23 pct.) udviklede en meget svag og tynd skudvækst.

Topstiklinger var længere end stængelstiklinger, og væksten øgedes svagt med temperaturen. Bladfarven var bedst ved belyste planter.

Etablerede planter opbevaret ved 6° eller 9°C med belysning udviklede sig bedst.

Nelliker

Lavtryksopbevaring ved 1° og 6°C igennem 4 måneder

Lavtryksopbevaring er gennemført ved 760, 47,5 og 20 mm Hg ved henholdsvis 1° og 6°C uden belysning igennem 4 måneder. Plantematerialet bestod af stiklinger af sorten 'CC White Sim' med

Tabel 4. Opbevaring af henholdsvis chrysanthemum-stiklinger og -planter i rørglas ved 5 temperaturer efter 5 måneder

Storage of cuttings and plants of chrysanthemum in tubes at 5 different temperatures during 5 months

Temperatur	Materiale ¹⁾	Skudvækst		Rodvækst		Bladfarve
		højde i alt mm		1-3 ⁴⁾		
		stiklinger ²⁾	planter ³⁾	stiklinger	planter	
1°C	T	24	53	0	2	lysegrøn
	S	1	53	0	2	»
3°C	T	78	101	2	2	»
	S	20	82	1	2	»
6°C	T	89	54	3	3	grøn
	S	67	63	3	3	»
9°C	T	70	64	3	3	»
	S	59	53	3	3	»
12°C	T	92	107	3	3	»
	S	70	82	3	3	»

¹⁾ T: topstiklinger. S: stængelstiklinger.

²⁾ nystukne stiklinger.

³⁾ stiklinger med begyndende skud- og rodvækst.

⁴⁾ 1: begyndende rodvækst.

2: moderat rodvækst.

3: kraftig rodvækst.

begyndende skud- og rodvækst, dyrket i rørglas i et sammensat næringsmedium bestående af Knop's makronæringsstoffer (80 pct.), MS 1962 mikronæringsstoffer (33 pct.) og med jern som NaFeEDTA (40 mg/l) samt følgende organiske stoffer (mg/l): Caseinhydrolysat 1000, Glycin 2, Meso Inositol 100, Nikotinsyre 0,5, Pyridoxin HCl 0,5, Thiamin HCl 0,1 og IBA 1. Hvert forsøgsled bestod af henholdsvis 8 topstiklinger og 12 stængelstiklinger. Resultaterne fra opbevaring ved 1°C fremgår af tabel 5.

Bedømt efter 4 måneders opbevaring ved 1°C var der ikke nævneværdig forskel mellem normalt tryk og lavtryk. Planterne så godt ud med bleggrønne til grønne blade. Planter fra normalt tryk var dog lidt tyndere i væksten. Pct. tilvækst var lidt større ved lavtryk. Rodvæksten øgedes svagt gennem forsøgsperioden.

Tabel 5. Lavtryksopbevaring af nellikeplanter i rørglas ved 1°C efter 4 måneder

Hypobaric storage of carnation plants in tubes at 1°C during 4 months

mm Hg	Materiale ¹⁾	Skudvækst		Rodvækst 1-3 ²⁾	Bladfarve
		højde i alt (mm)	tilvækst (pct.)		
	S	25	15	2,0	lysegrøn
47,5	T	39	29	2,0	grøn
	S	32	20	1,8	»
20	T	41	26	2,0	grøn
	S	27	31	1,6	»

¹⁾ T: topstiklinger. S: stængelstiklinger.

²⁾ 1: begyndende rodvækst.

2: moderat rodvækst.

3: kraftig rodvækst.

Opbevaringen ved 1°C og lavt tryk gennemførtes uden alvorlig forurening, men denne var alligevel større end normalt, nemlig 5 pct. ved 760 mm Hg og 33 pct. ved lavt tryk. Opgørelsen blev foretaget 20 døgn (ved 6°C i mørke) efter forsøgets afslutning.

Efter yderligere 3 uger ved 20°C, med 16 timers belysning pr. døgn, var samtlige planter grønne og ideelle til f.eks. potning med ca. 5 cm top og moderat rodudvikling.

Lavtryksopbevaring er således ikke nogen fordel for opbevaring af nellikeplanter, og forureningsmæssigt et større problem end ved normalt tryk.

Planterne, opbevaret under lavtryk ved 6°C, var alle forurenede allerede efter 1 måneds forløb, og den normale vækst blev hæmmet, eller planterne døde.

Opbevaring ved normalt tryk og 6°C viste sig helt uegnet, idet planterne fik brune blade og en meget tynd vækst.

Opbevaring af nelliker ved 1° og 3°C igennem 13 måneder

Opbevaringsforsøg er udført ved 1° og 3°C uden belysning gennem 13 måneder. Plantematerialet

bestod af etablerede stiklinger i rørglas af sorten 'CC White Sim' med begyndende skudvækst (gns. 30 mm) og rodvækst (karakter 1,9). Hvert forsøgsled bestod af henholdsvis 20 topstiklinger og 35 stængelstiklinger. Resultaterne fremgår af tabel 6.

Tabel 6. Opbevaring af nellikeplanter i rørglas ved 1° og 3°C igennem 13 måneder
Storage of carnation plants in tubes at 1° and 3°C during 13 months

Temperatur	Materialer ¹⁾	Skudvækst		Rodvækst 1-3 ²⁾	Bladfarve
		højde i alt (mm)	tilvækst (pct.)		
1°C	T	39	36	2,6	bleggrønne med hvidlige topblade
	S	44	49	2,8	
3°C	T	56	81	2,9	bleggrønne til helt klorotiske. Ved opførelsen, efter 4 til 7 måneders opbevaring, viste de fleste planter alligevel en strækningsvækst med friske grønne stængler, der kunne anvendes til skæring af stiklinger. I gennemsnit produceredes 1,1 stikling pr. moderplante.
	S	56	112	2,7	

¹⁾ T: topstiklinger. S: stængelstiklinger.

²⁾ 1: begyndende rodvækst.

2: moderat rodvækst.

3: kraftig rodvækst.

Tilvæksten, efter 13 måneders opbevaring, steg med temperaturen og var størst for stængelstiklinger. Der var ikke stor forskel i den totale længde, som maksimalt androg 5,6 cm.

Rodvæksten var ret kraftig, uafhængig af behandlingerne.

Efter 4 måneders opbevaring så planterne generelt fine ud med ingen eller kun begyndende nyvækst. Planter fra topstiklinger var mere grønne end dem fra stængelstiklinger. Nyvæksten var bleggrøn. Efter 8 og 13 måneders opbevaring var planterne bleggrønne og nyvæksten gullig.

Stiklingeproduktionen er målt efter henholdsvis 4, 8 og 13 måneders opbevaring omfattende 36 planter i rørglas af både top- og stængelstiklinger. Efter opbevaringsperioden blev materialet gradvist flyttet til 12°C med 16 timers lys pr. døgn med 1 uge ved henholdsvis 6° og 9°C.

Efter 3 måneder ved 12°C blev det totale antal stiklinger pr. plante (rørglas) optalt, og dette var

efter 4, 8 og 13 måneders opbevaring henholdsvis 3,9, 5,4 og 4,9 ved 1°C og tilsvarende 4,5, 6,1 og 4,5 ved 3°C.

Pelargonier

Orienterende opbevaringsforsøg ved 5 temperaturer igennem 7 måneder

Orienterende undersøgelser med opbevaring af pelargoniemeristemer i rørglas ved 5 forskellige temperaturer er gennemført i 1978 med sorten 'Springtime Irene', dyrket i rørglas i et modificeret MS 1962-medium af Horst *et al.* (1975), med 50 mg kokosmælk pr. liter.

Resultaterne viste, at planterne ikke tålte en opbevaring i mørke ved 1° og 3°C, idet bladene blev kuldeskadede, blygrå og visnede med plantens død til følge.

Tilvæksten ved 6°, 9° og 12°C med 16 timers belysning pr. døgn var stigende med stigende temperatur. Planterne så ikke godt ud, idet de ældre blade efterhånden visnede, og de øvrige var bleggrønne til helt klorotiske. Ved opførelsen, efter 4 til 7 måneders opbevaring, viste de fleste planter alligevel en strækningsvækst med friske grønne stængler, der kunne anvendes til skæring af stiklinger. I gennemsnit produceredes 1,1 stikling pr. moderplante.

Opbevaring af pelargonier ved 4 temperaturer igennem 6 måneder

Pelargonestiklinger i rørglas med begyndende skud- og rodvækst er forsøgt opbevaret ved henholdsvis 6°, 9°, 20°C og ved varierende drivhustemperatur mellem 18° og 25°C. Planterne blev belyst i 16 timer i døgnet undtagen for planter i drivhus, der fik tilgængeligt dagslys varierende fra 8 til 16 timer.

Plantematerialet, omfattende 50 planter pr. forsøgsled, var helt ensartet ved forsøgets start, med normalt udviklede, grønne til lysegrønne blade.

Resultaterne efter 6 måneders opbevaring fremgår af tabel 7.

Planterne hensat ved 6° og 9°C klarede sig igen med delvis grønne stængler, lysegrønne topblade og visne bundblade. I gennemsnit producerede disse planter henholdsvis 4,9 og 5,3

Tabel 7. Opbevaring af pelargonieplanter i rørglas ved 4 temperaturer og 8–16 timers belysning igennem 6 måneder

Storage of pelargonium plants in tubes at 4 temperatures with 8–16 hours illumination during 6 months

Temperatur	Skudvækst (gns.)		Rodvækst 1–3 ¹⁾	Pct. levende planter	Bladfarve
	højde i alt (mm)	tilvækst (pct.)			
6°C	39	26	1	98	klorotiske
9°C	41	60	2	94	lysegrønne
20°C	45	75	3	14	brune
18–25°C	40	36	0	0	brune

1) 1: begyndende rodvækst.

2: moderat rodvækst.

3: kraftig rodvækst.

stiklinger pr. plante (rørglas). Ved de højere temperaturer ødelagdes næsten alle planter i løbet af de 6 måneder.

Diskussion

De gennemførte forsøg viser, at CDV-inaktivering er afhængig af, dels hvor lille et meristem, der bliver skåret, dels meristemets placering.

Endelig spiller desinfektionsmetoden sikkert også en rolle, men denne er endnu ikke forsøgs-mæssigt undersøgt. CDV er uhyre smitsomt og kan derfor let overføres under selve udpræpareringen, således, at en eventuel inaktiverende virkning fra forsøgsbehandlingen tilsløres eller udebliver. Dette kan være en rimelig forklaring på de hidtil opnåede, meget varierende resultater angående CDV-inaktivering. Vurderingen af disse er imidlertid vanskelig p.g.a. manglende informationer om alle enkeltheder bl.a. om desinfektionsmetoden af det anvendte værktøj.

Med en effektiv desinfektion er det muligt, at man ved nye forsøg også kan opnå en virkning af varmebehandling, som ikke har kunnet påvises i de her beskrevne. *Dunez* fra Frankrig, som har opnået positive resultater, gløder scalpellen mellem de enkelte skæringer (personlig meddelelse).

Opbevaringsresultaterne af prydplanter i rørglas åbner store muligheder for etablering og vedligeholdelse af en patogenfri plantesamling. Ved et nøje planlagt og gennemført udvalgsarbejde, omfattende type- og blomstringskontrol, kan denne prydplantesamling opbygges til at omfatte de mest værdifulde genetiske anlæg, og herfra vil det senere være muligt at levere materiale til en videre opformering for erhvervet.

Konklusion

Det har været muligt at inaktivere CDV, men reelt ikke CKSV.

Faktorerne, der har været medvirkende til inaktiveringen, har omfattet meristemstørrelsen, plantematerialet og muligvis desinfektionsmetoden. Ved at skære apikale meristemer, maksimalt 0,2 mm store, og gløde scalpellen mellem hver skæring, er CDV-frie chrysanthemum blevet etableret fra CDV-inficerede planter.

Det har været muligt at opbevare nelliker, chrysanthemum og pelargonier i rørglas igennem foreløbig en halv til en hel dyrkningssæson. Faktorer, der indvirker på opbevaringen, omfatter plantearten og dens udvikling og næringsmediet, men især temperaturen i forbindelse med belysning. Etablerede planter af chrysanthemum og nelliker kan opbevares ved 1°C uden belysning igennem et halvt til eet år. Pelargonier har overlevet ved 6°C eller 9°C med svag belysning igennem et halvt år. De opbevarede chrysanthemum- og nellikeplanter kan hurtigt opformeres efter en videre dyrkning under optimale vækstbetingelser.

Litteratur

- Adams, A. N.* (1972): An improved medium for strawberry meristem culture. *J. hort. Sci.* 47, 263–264.
- Bachelier, J. C., Monsion, M. & Dunez, J.* (1976): Possibilities of improving detection of Chrysanthemum stunt and obtention of viroid-free plants by meristem-tip culture. *Acta Horticulturae* 59, 63–69.
- Diener, T. O. & Lawson, R. H.* (1973): Chrysanthemum Stunt: A viroid disease. *Virology* 51, 94–101.
- Dimock, A. W., Geissinger, C. M., & Horst, R. K.* (1971): Chlorotic Mottle: A newly recognized disease of Chrysanthemum. *Phytopathology* 61, 415–419.

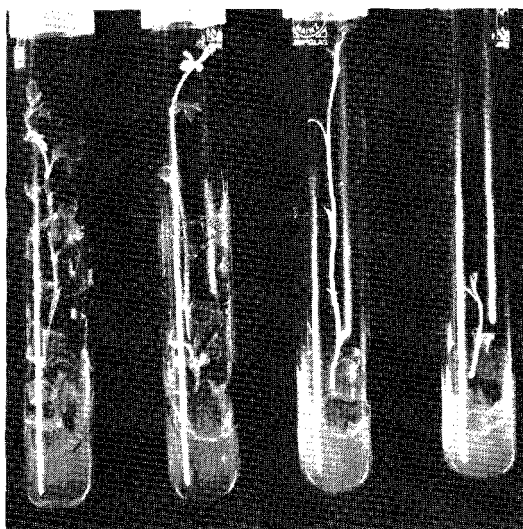


Fig. 1. Chrysanthemumplanter efter 5 måneders opbevaring henholdsvis ved (fra venstre) 9° og 6°C med belysning og 3° og 1°C i mørke.

Chrysanthemum plants after 5 month storage at (from left to right) 9° and 6°C with illumination and at 3° and 1°C in darkness, respectively.

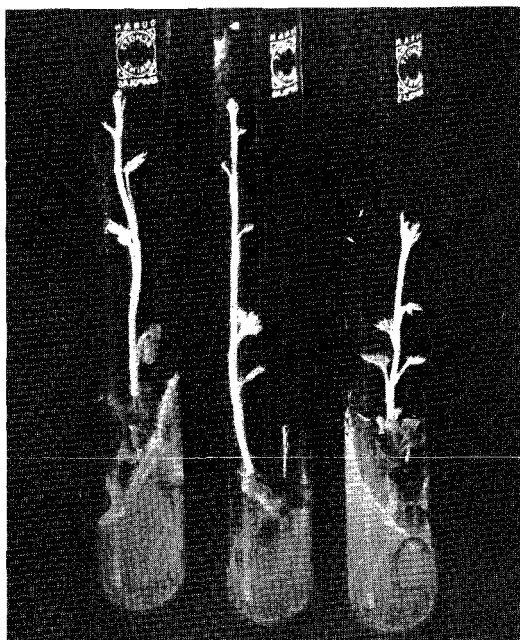


Fig. 2. Chrysanthemumplanter efter 4 måneders opbevaring ved henholdsvis (fra venstre) 20, 48 og 760 mm Hg ved 1°C i mørke.

Chrysanthemum plants after 4 month storage at (from left to right) 20, 48 and 760 mm Hg at 1°C in darkness.

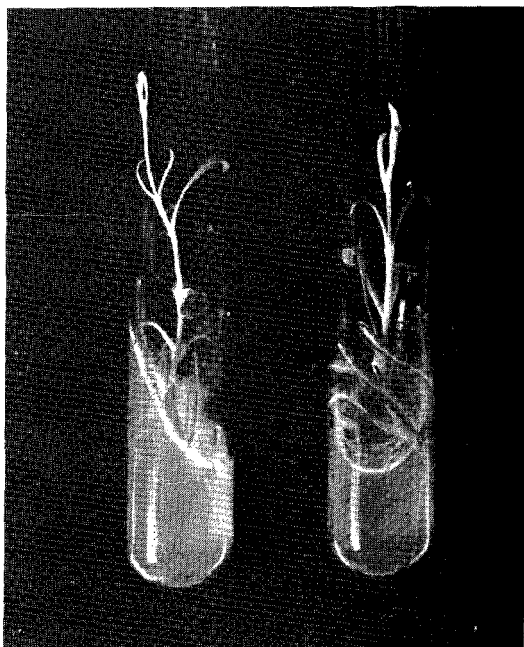


Fig. 3. Nellikeplanter efter 1 års opbevaring ved (fra venstre) 3° og 1°C i mørke.

Carnation plants after 1 year storage at (from left to right) 3° and 1°C in darkness.

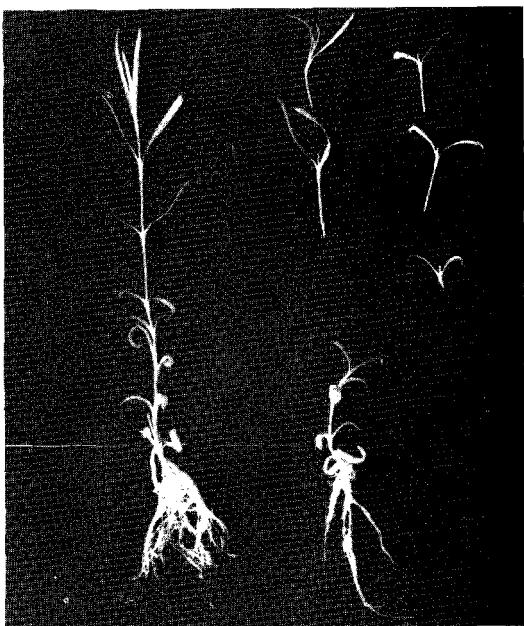


Fig. 4. Nellikeplante og -stiklinger efter 1 års opbevaring ved 1°C efterfulgt af 3 måneder ved 12°C med belysning.

Carnation plant and cuttings after 1 year storage at 1°C followed by 3 month at 12°C with illumination.



Fig. 5. Pelargonieplanter fra stængel- (t.v.) og topstiklinger efter 3½ måned ved 12°C med belysning. *Pelargonium* plants from stem cuttings (left) and top cuttings after 3½ month at 12°C with illumination.

Foto: J. Begtrup

- Hollings, M., & Stone, Olwen M. (1970): Attempts to eliminate chrysanthemum stunt from chrysanthemum by meristem-tip culture after heat treatment. *Ann. Appl. Biol.* 65, 311–315.
- Hollings, M., & Stone, Olwen M. (1973): Some properties of chrysanthemum stunt, a virus with the characteristics of an uncoated ribonucleic acid. *Ann. Appl. Biol.* 74, 333–348.
- Horst, R. K. (1975): Detection of a latent infectious agent that protects against infection by Chrysanthemum Chlorotic Mottle Viroid. *Phytopathology* 65, 1000–1003.
- Horst, R. K., Smith, S. H., Horst, H. T. & Oglevee W. A. (1975): *In vitro* regeneration of shoot and root growth from meristematic tips of *Pelargonium × hortorum* Bailey. *Acta Horticulturae* 59, 131–141.
- Horst, R. K., Langhans, R. W. & Smith, S. H. (1977): Effects of Chrysanthemum Stunt, Chlorotic Mottle, Aspermy and Mosaic on flowering and rooting of Chrysanthemums. *Phytopathology* 67, 9–14.
- Jensen, H. E. Kresten & Rasmussen, P. Molls (1979): Lavtryksoptbevaring af stiklinger. I. Principper og indledende forsøg. *Tidsskr. Planteavl* 82, 623–632.
- Klinkowski, M. (1968): *Pflanzliche Virologie*, Band II. Akademie Verlag, Berlin, 210–211.
- Misra, A. K. & Singh, B. P. (1975): Floral studies of virus-infected Chrysanthemum. *Indian Phytopathology* 28, 293–294.
- Oertel, Claus (1973): Vergleichende Charakteristik des Aspermie-, des B-, des Chlorotic Mottle- und des Stunt-Virus im Gesunderhaltungsprogramm der Chrysanthemen. *Nachr.-Bl. Pflanzenschutzdienst DDR* 27, 61–65.
- Oertel, C. (1978): Virus Freimachung bei gärtnerischen und landwirtschaftlichen Kulturen. *Fortschrittsberichte für die Landwirtschaft und Nahrungsgüterwirtschaft* 16, 36–47.
- Paludan, Niels (1971): Etablering af virusfrie meristemkulturer af havebrugsplanter. *Tidsskr. Planteavl* 75, 387–410. (Engl. Summary).
- Paludan, Niels (1972): Viroser hos pryddplanter. *Plantesygdomme i Danmark* 89, 26–27. (Engl. Summary).
- Paludan, Niels (1974a): Klorotisk spæning og dværgsyge hos Chrysanthemum. *Infektionsforsøg, termoterapi og meristemkultur. Tidsskr. Planteavl* 78, 85–90. (Engl. Summary).
- Paludan, Niels & Begtrup, J. (1974b): Indflydelse af termo- og meristemterapi på nellikenervemosaik virus i meristemer bedømt ved elektronmikroskopi og symptomregistrering. *Tidsskr. Planteavl* 78, 547–555. (Engl. Summary).
- Paludan, Niels (1974c): Establishment of virusfree chrysanthemum. *Proceedings of the XIV. International Horticultural Congress, Warszawa*, 226.
- Paludan, Niels (1974d): Viroser hos pryddplanter. *Plantesygdomme i Danmark* 91, 31–32. (Engl. Summary).
- Paludan, Niels (1975): Viroser hos pryddplanter. *Plantesygdomme i Danmark* 92, 30–31. (Engl. Summary).
- Paludan, Niels (1977): Viroser hos pryddplanter. *Plantesygdomme i Danmark* 94, 29–30. (Engl. Summary).
- Paludan, Niels (1978): Viroser hos pryddplanter. *Plantesygdomme i Danmark* 95, 31–32. (Engl. Summary).
- Quak, F. (1961): Heat treatment and substances inhibiting virus multiplication in meristem culture to obtain virus-free plants. *Advac. Hort. Sci. Appl.* 1, 144–148.
- Romaine, C. P. & Horst, R. K. (1975): Suggested viroid etiology for Chrysanthemum Chlorotic Mottle Disease. *Virology* 64, 86–95.
- Walkey, D. G. A., Fitzpatrick, Janet & Woolfitt, Judith M. G. (1969): The inactivation of virus in cultured shoot tips of *Nicotiana rustica* L. *J. gen. Virol.* 5, 237–241.
- Walkey, D. G. A. & Cooper, Valerie C. (1972): Some factors affecting the behaviour of plant viruses in tissue culture. *Physiological Plant Pathology* 2, 259–264.

Manuskript modtaget den 21. december 1979