

(19) DANMARK



Patentdirektoratet
TAASTRUP

(12) PATENTSKRIFT

(11) 167640 B1

(21) Patentansøgning nr.: 6698/87

(51) Int.Cl.5

A 01 G 7/00

A 01 H 4/00

(22) Indleveringsdag: 18 dec 1987

(41) Alm. tilgængelig: 19 jun 1988

(45) Patentets meddelelse bkg. den: 06 dec 1993

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 18 dec 1986 JP 299964/86

(73) Patenthaver: *Mitsui Petrochemical Industries, Ltd.; 2-5 Kasumigaseki 3-chome; Chiyoda-ku; Tokyo 100, JP

(72) Opfinder: Hikaru *Yamagata; JP, Waichirou *Kawarabayashi; JP, Shigeru *Takahashi; JP

(74) Fuldmægtig: Firmaet Chas. Hude

(54) Fremgangsmåde til formering af løgplanter

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

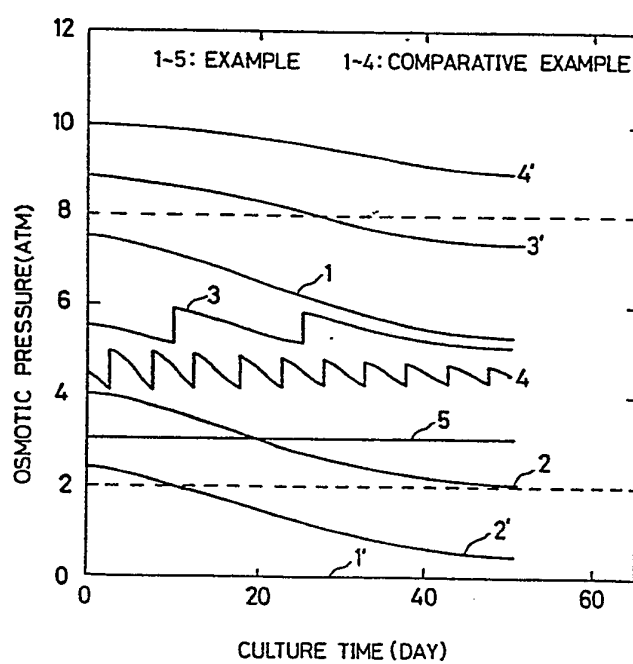
6698-87

Fremgangsmåde til formering af løgplanter, ved hvilken froplanter af løgplanterne formeres ved at anvende vævskulturer på vævsstykker eller dyrkede celler af løgplanter under anvendelse af et flydende kulturmedium, idet osmotiske tryk af kulturopøsningen holdes på 2 til 8 atmosfærer i hovedsagen i hele vævskulturperioden. Formen af småløgene og løgene er udmærket, væksten er stabil, og der kan fås mange froplanter af høj kvalitet med god virkningsgrad sammenlignet med den sædvanlige fremgangsmåde.

fortsættes

6698-87

FIG.3



Den foreliggende opfindelse angår en fremgangsmåde til formering af løgplanter, ved hvilken frøplanter af løgplanterne formeres ved anvendelse af vævsdyrkning til vævsstykker eller dyrkede celler af løgplanterne under anvendelse af flydende kulturmedium.

Der er forskellige slags løgplanter, f.eks. *Lilium*, blandt hvilke *L. longiflorum*, *L. speciosum*, *L. elegans* osv. har vundet yndest til udsmykning som havebrugsplanter og endvidere *L. laneifolium*, *L. auratum* osv., der har været anvendt som foder og fødeliljer. Løgplanterne har hidtil været formeret ved at dele løgplanteskæl, udnytte bulbiller, så frø osv. Disse formeringsmetoder kræver imidlertid store områder og meget arbejdskraft, og endvidere har der været problemer med henblik på reduktion af frøplanternes væksthastighed eller nedsættelse af blomsterkvaliteten af planter på grund af udbredelsen af virussygdom i de senere år. For at overvinde disse problemer er der foretaget flere undersøgelser af formering af frøplanter ved vævsdyrkning af planter. F.eks. beskriver offentliggjort japansk patentansøgning nr. Sho 55-15734 en fremgangsmåde til at formere et stort antal *Lilium*planter ved at danne og formere småløg fra vævsstykker af liljeplanter under anvendelse af et fast kulturmedium, omplante og derpå dyrke dem i flydende kulturmedium. Da et fast agarmedium har været anvendt på det første stadium af vævsdyrkingen ved denne metode, kræver det imidlertid meget arbejdskraft til kulturen og effektiv udnyttelse af rummet til kulturbeholderen er vanskelig, hvilket fører til nedsættelse af effektiviteten af dyrkingen.

På baggrund af ovenstående har de foreliggende ansøgere allerede foreslået en fremgangsmåde til at formere liljefrøplanter ved at anvende et flydende kulturmedium fra begyndelsen af kulturen, i hvilket en oxygenholdig gas trænger igennem, således at kulturmediets kapacitetskoefficient for oxygenbevægelse (KLa) holdes på et niveau inden for et forud bestemt interval, jvf. japansk patentansøgning nr. Sho 60-128348. Denne fremgangsmåde kan give en fordel ved, at frøplanterne kan for-

meres med høj effektivitet sammenlignet med den sædvanlige metode. De foreliggende opfindere har endvidere forbedret denne metode og undersøgt en metode til at formere en stor mængde frøplanter, der ikke er begrænset kun til liljeplanter, men
5 også til løgplanter i almindelighed, og som er i stand til at formere frøplanterne mere effektivt og med mere udmærket form af småløgene og løgplanterne og med udmærket kvalitet og stabilitet.

Opfindelsen er baseret på den konstatering, at det foregående
10 formål kan opnås ved følgende metode. Det vil sige, at den foreliggende opfindelse angår en fremgangsmåde til formering af løgplanter, ved hvilken frøplanter af løgplanter formeres ved anvendelse af vævsdyrkning til vævsstykker eller dyrkede celler af løgplanter i et flydende kulturmedium, hvilken frem-
15 gangsmåde er ejendommelig ved, at det osmotiske tryk af kulturopløsningen holdes på 2 til 8 atmosfærer i hovedsagen i hele vævsdyrkningsperioden ved, at det osmotiske tryk reguleres ved tilsætning af et middel til regulering af det osmotiske tryk.

20 Disse og andre formål og fordelagtige træk ved den foreliggende opfindelse vil fremgå nærmere af følgende beskrivelse i forbindelse med tegningen, hvor

fig. 1 er et fotografi af løg af *L. longiflorum* fremkommet ved dyrkningsmetoden ifølge opfindelsen,

25 fig. 2 er et fotografi af løg af *L. longiflorum* fremkommet ved et sammenligningseksempel 1, i hvilket det osmotiske tryk af kulturmediet holdes på 0 atmosfære under dyrkningsperioden,

fig. 3 er en kurve, der viser ældningsændringen af det osmotiske tryk af kulturmediet under dyrkning i eksemplerne ifølge
30 opfindelsen og i sammenligningseksempler.

De løgplanter, der anvendes til vævsdyrkningen ifølge opfindelsen, er de planter, der har skælagtige løg som organer, hvilke løg indbefatter løg med flagede skæl og laminare skæl. Løgplanterne indbefatter specielt Liliumpplanter såsom L. longiflorum, L. speciosum, L. elegans, L. laneifolium, L. auratum osv. Fritillariaplanter, såsom F. camtschaticensis, F. imperialis, F. thunbergii, F. japonica osv. Hippeastrum hybridum (Hippeastrum-plante), Narcissusplanter, såsom N. pseudo-narcissus, T. gesneriana med forskellige varieteter (tulipanplanter), H. orientalis (hyacintplanter), Alliumplanter, såsom A. schoneoprasum, A. ascalonicum, A. cepa, A. sativum, A. chinense, A. fitsulosum, A. giganteum osv., idet liljeplanterne er de foretrukne blandt disse.

Ifølge opfindelsen kan vævsdyrkningen for en løgplante udføres ved at anvende vævsstykker eller dyrkede celler af planten. Vævsstykkerne kan indbefatte specielt de vævsstykker af løgplanter, der fremstilles ved fint at udskære skiver af væv af skudapex, stilke, blade, blomster, frø, løg, småløg, skæl, rødder osv. Disse vævsstykker anvendes i reglen efter sterilisering med natriumhypochlorit, ethanol eller en flamme. Sådanne steriliseringsmetoder kan dog være unødvendige, hvis det drejer sig om aseptisk dyrkede løgplanter. Hvor det drejer sig om formering af frøplanter af løgplanter, der ikke lider af sygdomme og virus, kan endvidere som kulturmateriale anvendes de førnævnte vævsstykker fremkommet af væv nær apikalpunktet eller vævsstykker af løgplanterne fremkommet af væv nær apikalpunktet. De dyrkede celler, der kan anvendes til vævsdyrkningen for løgplanter ifølge den foreliggende opfindelse, er udifferentierede amorfe celler fremkommet af vævsstykkerne ved vævsdyrkning på kendt måde.

Ifølge opfindelsen dyrkes vævsstykkerne eller de dyrkede celler af løgplanterne, der er beskrevet ovenfor, under betingelser, ved hvilke det osmotiske tryk af kulturopløsningen holdes i intervallet fra 2 til 8 atmosfærer i hovedsagen under hele vævskulturperioden.

Ved vævsdyrkningen under anvendelse af flydende kulturmedium, der hidtil har været anvendt, er det osmotiske tryk i det friske kulturmedium lige efter starten af dyrkningen i reglen så høj som fra 4 til 10 atmosfærer, men det osmotiske tryk
5 nedsættes gradvis, fordi vævsstykkerne eller de dyrkede celler forbruger næringsbestanddelene i kulturmediet under kulturdykningsforløbet. Ved den hidtil kendte vævsdyrkning for løgplanter lægges der ikke særlig vægt på det osmotiske tryk under dyrkningsperioden, og det osmotiske tryk på det senere
10 stadium af dyrkningen er ret nedsat sammenlignet med det ved det foregående stadium af dyrkningen, dvs. det nedsættes i reglen fra 0 til 1 atmosfære.

De foreliggende opfindere har foretaget en undersøgelse af dyrkningsbetingelserne, især relationen mellem det osmotiske tryk af kulturmediet og vævsdyrkning af løgplanter, og antallet af løg, der dannes ved dyrkningen, eller kvaliteten, såsom
15 formen af småløgene, vækststabiliteten osv., og har fundet, at kvaliteten af frøplanterne, der fås ved dyrkningen, påvirkes meget af det osmotiske tryk af kulturopløsningen under vævsdyrkning. Det vil sige, at hvor det drejer sig om vævsdyrkning
20 til løgplanter, især i det sidste trin af dyrkningen, når dyrkningen udføres på den sædvanlige måde, ved hvilken det osmotiske tryk af kulturmediet er så lavt som mindre end 2 atmosfærer, er formen af de fremkomne løg og småløg af løgplanter ikke ofte den ensartede kugleform, men har form som
25 vist f.eks. på fig. 2, der er ringere både i form og med hensyn til kvalitet. Hvis dyrkningen udføres som tidligere under det osmotiske tryk af det flydende kulturmedium, har det endvidere også vist sig at vandindholdet af småløgene eller løgene
30 ne i reglen er så høj som 80 til 95%.

Hvis endvidere løgplanterne anvendes til vævsdyrkning samtidig med, at man forøger det osmotiske tryk af kulturopløsningen til over 8 atmosfærer, reduceres antallet af dannede løg, og den følgende vækst er dårlig og giver kun dårlig kvalitet.
35 Hvor det drejer sig om dyrkning, der udføres samtidig med at

det osmotiske tryk af kulturopløsning holdes fra 2 til 8 atmosfærer i hovedsagen over hele dyrkningsperioden som ifølge den foreliggende opfindelse, har det på den anden side også vist sig, at vandindholdet i småløgene eller løgene, som fremkommer, er så lavt som 70 til 80%.

Det antages, der er en relation mellem det osmotiske tryk af kulturopløsningen anvendt til vævstyrkning af lögplanter og vandindholdet af småløgene eller løgene, som fås ved dyrkningen. Det formodes endvidere, at der også er en vis relation mellem vandindholdet og kvaliteten, såsom formen af småløgene eller løgene, vækststabiliteten osv.

Af de ovenfor beskrevne grunde bliver der ved vævstyrkning til lögplanter ifølge den foreliggende opfindelsen anvendt dyrkning samtidig med, at det osmotiske tryk af kulturopløsningen holdes fra 2 til 8 atmosfærer i hovedsagen over hele vævstyrkningsperioden. I hovedsagen hele vævstyrkningsperioden vil i dette tilfælde blive nærmere beskrevet senere.

Det flydende kulturmedium, der anvendes ifølge opfindelsen, omfatter de kulturmedier, der indeholder uorganiske bestanddele som næringsbestanddelene, carbonkilder og plantehormoner som væsentlige bestanddele samt additiver, såsom vitaminer, aminosyrer og midler til regulering af det osmotiske tryk.

Den uorganiske bestanddel til kulturmediet kan indeholde f.eks. de uorganiske salte, der indeholder sådanne grundstoffer som nitrogen, phosphor, kalium, natrium, calcium, magnesium, svovl, jern, mangan, zink, bor, molybdæn, chlor, jod og kobolt. De kan indbefatte specielt sådanne forbindelser som kaliumnitrat, natriumnitrat, ammoniumnitrat, ammoniumchlorid, kaliumchlorid, calciumchlorid, kaliumhydrogenphosphat, natriumdihydrogenphosphat, mangniumsulfat, magnesiumchlorid, natriumsulfat, ferrosulfat, ferrisulfat, mangansulfat, kobbersulfat, natriummolybdat, molybdæntrioxid, kaliumjodid, zinksulfat,

borsyre og koboltchlorid.

Carbonkilderne i kulturmediet kan indbefatte f.eks. kulhydrater såsom saccharose, glucose, fructose, maltose og derivater deraf.

- 5 Plantehormoner til kulturmediet kan indbefatte f.eks. auxiner såsom naphthaleneddikesyre, (NAA), indoleddikesyre (IAA), p-chlorphenoxyeddikesyre, 2,4-dichlorphenoxyeddikesyre, 2,4-dichlorphenoxyeddikesyre (2,4-D), indolsmørsyre (IBA) og derivater deraf samt cytokinin såsom benzyladenin (BA), kinetin og
10 zeatin.

Vitaminer til kulturmediet kan indbefatte f.eks. biotin, thiamin (vitamin B1), pyridoxin (vitamin B6), pyridoxal, pyridoxamin, calciumpantotat, ascorbinsyre (vitamin C), inosit, nikotinsyre, nikotinsyreamid og riboflavin (vitamin B2).

- 15 Aminosyren til kulturmediet kan indbefatte f.eks. glycin, alanin, glutaminsyre, cystein, phenylalanin og lysin.

- Midlet til regulering af osmotisk tryk til kulturmediet kan indbefatte f.eks. uorganiske salte såsom natriumchlorid, kaliumchlorid, natriumsulfat, kaliumsulfat, calciumchlorid, calciumsulfat, natriumnitrat, kaliumnitrat, calciumnitrat, ammoniumnitrat og ammoniumchlorid, salte af organiske syrer såsom
20 natriumacetat, kaliumacetat, natriumpropionat, kaliumpropionat, natriumcitrat, kaliumcitrat, natriummaleat, kaliummaleat, natriummalonat, kaliummalonat, natriumtartrat, kaliumtartrat,
25 natriumsuccinat, kaliumsuccinat, natriumfumarat, kaliumfumarat, natriumcitrat og kaliumcitrat. Carbonhydrat, såsom saccharose, glucose, fructose, maltose, mannose, galactose, xylose, ribose, arabinose, maldose, lactose, sorbit, mannit, galacturonsyre og gluconsyre og vandopløselige højere alkoholer,
30 såsom ethylenglycol, propylenglycol, polyethylenglycol og dextrin. Midlet til regulering af osmotisk tryk kan være det samme som de ovenfor beskrevne uorganiske bestanddele og kul-

hydraterne. Endvidere kan flere af dem anvendes i kombination. Den mængde, hvori midlet til regulering af osmotisk tryk anvendes, er i reglen i intervallet fra 0 til 100 g/l til at holde det osmotiske tryk af kulturmediet i intervallet fra 2
5 til 8 atmosfærer.

Det anvendte kulturmedium indeholder i reglen fra 0,1 μ M til 100 μ M uorganiske bestanddele, fra 1 g/l til 150 g/l carbonkilde, fra 0,1 μ M til 1000 μ M plantehormoner, fra 0,1 mg/l til 150 mg/l vitaminer, fra 0 til 1000 mg/l aminosyre og midlet
10 til regulering af osmotisk tryk i det ovenfor beskrevne interval.

Kulturmediet, der anvendes til vævsdyrkningen ifølge opfindelsen, kan specielt indbefatte de kendte kulturmedier, der anvendes til vævsdyrkning, f.eks. Murashige & Skoog ('62) kulturmedium, Linsmaier og Skoog kulturmedium (RM-1965), White kulturmedium ('63), Gamborg B-5 kulturmedium, Mitsui M-9 kulturmedium, Nitch & Nitch kulturmedium osv., hvori der fortrinsvis er inkorporeret efter behov carbonkilder og plantehormoner som ovenfor beskrevet og endvidere vitaminer og aminosyrer, som ovenfor beskrevet. Sammensætningen af de kendte kulturmedier, der er nævnt ovenfor, er beskrevet f.eks. i "New Plant Tissue Culture", side 383 til 391 skrevet af Takeuchi, Jakajima, Furuya og offentliggjort af Asakura Shoten i 1979. Fortrinsvis er pH-værdien af kulturmediet fra 4,0 til 8,0.
25 Selv om lys ikke altid er nødvendigt under dyrkning, kan bedre resultater opnås, når dyrkning udføres under belysning af fra 100 til 10.000 lux. Temperaturen til dyrkningen er fortrinsvis fra 15 til 35°C.

Beskrivelsen vil blive foretaget specielt af fremgangsmåden
30 til udførelse af dyrkningen, medens det osmotiske tryk i hovedsagen i det første stadium af vævsdyrkningsperioden holdes inden for et interval fra 2 til 8 atmosfærer i kulturopløsningen omfattende det ovenfor beskrevne flydende kulturmedium.

Ifølge opfindelsen fremstilles et flydende kulturmedium, hvori næringsbestanddele og middel til regulering af det osmotiske tryk, som ovenfor beskrevet, er indeholdt i de ovenfor beskrevne koncentrationsintervaller, og det osmotiske tryk er i intervallet fra 2 til 8 atmosfærer. Det osmotiske tryk reguleres fortrinsvis ved at indstille koncentrationen af midlerne til regulering af osmotisk tryk først og fremmest kulhydrater såsom saccharose, galactose, fructose, maltose, sorbit og man-
10 ningen omfattende et frisk flydende kulturmedium fremstillet ved denne fremgangsmåde, og da det osmotiske tryk af kulturmediet nedsættes samtidig med forbruget af næringsbestanddelene, bliver aldningsændringen af det osmotiske tryk med dyrkningstiden overvåget, og det osmotiske tryk af kulturopløsningen holdes inden for det ovenfor beskrevne interval i hovedsagen gennem hele dyrkningsperioden ved tilsætning af passende mængder af næringsbestanddele og/eller middel til regulering af osmotisk tryk inden for det koncentrationsinterval, der er beskrevet ovenfor. I dette tilfælde betyder "i hovedsagen i
20 hele dyrkningsperioden" følgende: osmotisk tryk af kulturmediet uden for intervallet fra 2 til 8 atmosfærer kan tillades, hvis det inden for en periode fra begyndelsen af dyrkningen eller lige før afslutningen af dyrkningen eller i den mellemliggende dyrkningsperiode er således, at det ikke giver nogen uønsket virkning på vævskulturen af løgplanter, dvs. at det inden for en periode inden for dette interval ikke skader virkningen af den foreliggende opfindelse, således at der kan fås en form af småløgene og løgene ved dyrkningen, som er udmærket og mange frøplanter med stabil vækst og høj kvalitet.
25 Den periode, inden for hvilken virkningen ifølge opfindelsen ikke skades af et osmotisk tryk af kulturmediet uden for intervallet fra 2 til 8 atmosfærer, er i reglen ca. $\frac{1}{2}$ dag, omend den kan variere med arten af planterne.

Med hensyn til næringsbestanddelene, der sættes til kulturmediet ifølge opfindelsen, da bliver de næringsbestanddele, som
35 forbruges under vævdyrkningsperioden, suppleret eller erstattet

tet med tilsætning af næringsbestanddele og/eller middel til regulering af osmotisk tryk i en mængde tilstrækkelig til at holde det osmotiske tryk af kulturopløsningen inden for det beskrevne interval.

- 5 Som fremgangsmåde til dyrkning under opretholdelse af det osmotiske tryk af kulturopløsningen i intervallet fra 2 til 8 atmosfærer i hovedsagen over hele vævsdykningsperioden ifølge opfindelsen, er det muligt at anvende en dyrkningsmetode under fornyelse af kulturopløsningen, der er beskrevet ovenfor, ved
10 siden af den beskrevne metode. Det vil sige, at på samme måde som dyrkningsmetoden under fornyelse af kulturopløsningen som vist i japansk patentansøgning nr. Sho 61-16838 af de foreliggende ansøgere, er det også muligt at anvende en fremgangsmåde til kontinuerlig eller diskontinuerlig tilførsel af frisk flydende kulturmedium med det osmotiske tryk fra 2 til 8 atmosfærer i kulturopløsningen i kulturtanken i hovedsagen i hele vævsdykningsperioden samtidig med, at der kontinuerligt eller diskontinuerligt udtages brugt kulturopløsning fra kulturtankene for at forny kulturopløsningen i kulturtanken og derved
15 dyrke løgplanterne under opretholdelse af det osmotisk tryk af kulturopløsningen i intervallet fra 2 til 8 atmosfærer i hele vævsdykningsperioden.

Ifølge opfindelsen kan småløgene og løgene af løgplanter, der fås ved fremgangsmåden som ovenfor beskrevet, yderligere skilles i flere skæl eller skiver, og det er muligt at formere en
25 stor mængde småløg og løgene af planter med udmærket kvalitet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

Ved fremgangsmåden til vævsdykning af løgplanter ved at holde det osmotiske tryk af det flydende kulturmedium i intervallet
30 fra 2 til 8 atmosfærer i hovedsagen i hele dyrkningsperioden ifølge opfindelsen, er det muligt at opnå mange frøplanter af høj kvalitet, der har udmærket form af småløgene og løgene, og som er stabile i vækst, og som kan formeres mere effektivt sammenlignet med den sædvanlige metode.

Opfindelsen beskrives nærmere under henvisning til eksemplerne.

Eksempel 1

Løgskæl af *L. longiflorum* blev steriliseret med 70% ethanol og
5 en vandig opløsning af natriumhypochlorit (effektiv chlorkoncentration 1%) og blev så vasket med aseptisk vand. Ab aseptisk Linsmaier & Skoog kulturopløsning med pH 6,0 indeholdende 40 g/l saccharose, 0,02 mg/l naphthaleneddikesyre og 80 g/l sorbit som middel til regulering af det osmotiske tryk (sammensætningen er vist i tabel 1) blev fortyndet med 2 dele aseptisk vand til fremstilling af en dobbeltfortyndet opløsning. Når det osmotiske tryk af kulturopløsningen blev målt ved den kryoskopiske metode, var det 7,5 atmosfærer. 50 stykker af skællene og 250 ml af kulturopløsningen som ovenfor beskrevet
15 blev anbragt i en kulturtank med et gastilførselsrør (500 ml rumfang) udstyret med glasfiltre og dyrket i mørke i 50 dage ved 25°C under luftning ved at tilføre aseptisk luft med en hastighed af 3 ml/min gennem et steriliseret filter.

Der fremkom 117 stykker små løg med udmærket form, som vist på
20 fig. 1. I løbet af kulturperioden faldt det osmotisk tryk af kulturopløsningen gradvis fra 7,5 atmosfærer til 5,3 atmosfærer som vist på fig. 3. Når 50 stykker løg blev tørret ved 40°C for at undersøge vandindholdet, var det 77%. Resterende løg kan dyrkes til blomstring ved sædvanlig dyrkning og havde
25 udmærket vækststabilitet.

Tabel 1 (kulturmediumsammensætning)

Bestanddel	Koncentration (mg/l)	Bestanddel	Koncentration (mg/l)
KNO ₃	1900	m-inosit	100
NH ₄ NO ₃	1650	glycin	2
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	nikotinsyre	0,5
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	pyridoxin·HCl	0,5
KH ₂ PO ₄	170	thiamin·HCl	0,1-
Na ₂ EDTA	37,3		
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8		
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3		
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6		
H ₃ BO ₃	6,2		
KI	0,83		
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25		
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025		
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,25		

Eksempel 2

Der udføres samme fremgangsmåde som i eksempel 1 med undtagelse af, at der tilsættes 25 g/l sorbit. Som resultat blev der uddifferentieret 120 stykker småløg med udmærket form ved kultur i 50 dage. I dyrkningsperioden blev det osmotiske tryk af kulturopløsningen gradvis nedsat fra 4,0 atmosfærer til 2,1 atmosfærer, som vist på fig. 3.

Eksempel 3

Der blev udført samme fremgangsmåde som i eksempel 1 med undtagelse af, at der tilsættes 50 g/l sorbit og tilsættes sorbit i passende mængde, når det osmotiske tryk af kulturopløsningen i dyrkningsperioden nedsættes, således at det osmotiske tryk af kulturopløsningen holdes på 5,0 til 6,0 atmosfærer som vist på fig. 3. Som resultat blev der uddifferentieret 120 småløg med stabil vækst og udmærket form ved 50 dages dyrkning.

Eksempel 4

Der blev udført samme fremgangsmåde som i eksempel 1 med undtagelse af, at der tilsættes 33 g/l sorbit og anvendes 50 ml af kulturopløsningen og tilføres sorbit i passende mængde og
5 frisk kulturopløsning, således at det osmotiske tryk af kulturopløsningen er fra 4,0 til 5,0 atmosfærer i dyrkningsperioden, som vist på fig. 3, medens kulturopløsningen udtages på passende måde af den anden af kulturtankene. Som resultat uddifferentieres 119 stykker småløg med udmærket form ved
10 dyrkning i 50 dage.

Eksempel 5

Der anvendes samme fremgangsmåde som i eksempel 1 med undtagelse af, at der tilsættes 8 g/l sorbit og anvendes 50 ml af kulturopløsningen og tilføres sorbit og frisk kulturopløsning
15 kontinuerligt, således at det osmotiske tryk af kulturopløsningen holdes på 3,0 atmosfærer under dyrkningen samtidig med, at der kontinuerligt udtages kulturopløsning fra den anden af kulturtankene som i eksempel 1. Som resultat uddifferentieres 123 småløg med udmærket form ved dyrkning i 50 dage.

20 Eksempel 6

Skæl af *L. longiflorum* blev steriliseret med 70% ethanol og en vandig opløsning af natriumhypochlorit (effektiv chlorkoncentration 1%) og blev så vasket med aseptisk vand og skåret i en bredde på ca. 2 mm. Der blev udført samme fremgangsmåde som
25 i eksempel 5 med undtagelse af, at der blev anvendt 1 g udskårne skæl, og derved blev der uddifferentieret 120 til 150 småløg med udmærket form af 1 g udskårne skæl.

Eksempel 7

Dyrkningen blev udført på samme måde som i eksempel 1 med undtagelse af, at kulturopløsningen i eksempel 1 blev erstattet
30

med en fortyndet opløsning fremstillet ved at fortynde 1 x 1/3 gange Linsmaier & Skoog kulturopløsningen indeholdende 50 g/l saccharose, 0,01 mg/l naphthaleneddikesyre, 0,02 mg/l benzyladenin og 35 g/l sorbit som middel til regulering af det osmotiske tryk (osmotisk tryk 7,0 atmosfærer). Som resultat blev der uddifferentieret 123 stykke småløg med udmærket form. Det osmotiske tryk af kulturopløsningen blev gradvis nedsat fra 7,0 atmosfærer til 3,7 atmosfærer.

Sammenligningseksempel 1

10 Når dyrkningen udføres under anvendelse af steriliseret vand indeholdende 0,01 mg/l naphthaleneddikesyre (osmotisk tryk 0 atmosfære) i stedet for kulturmediet i eksempel 1, blev der uddifferentieret 107 stykker småløg. Fig. 2 viser et fotografi af de fremkomne løg. Løgenes kvalitet var ringere.

15 Sammenligningseksempel 2

Dyrkningen blev udført på samme måde som i eksempel 1 med undtagelse af, at der blev anvendt sorbit som middel til regulering af det osmotiske tryk i en mængde på 100 g/l i eksempel 1. Som resultat blev der uddifferentieret 73 stykker småløg med uhensigtsmæssig form i hovedsagen som vist på fig. 2. Under dyrkningsperioden blev det osmotiske tryk af kulturopløsningen gradvis nedsat fra 8,8 atmosfærer til 7,4 atmosfærer, som vist på fig. 3. Antallet af dannede løg blev reduceret til 38% sammenlignet med eksempel 1.

25 Sammenligningseksempel 3

Der blev anvendt samme fremgangsmåde som i eksempel 1 med undtagelse af, at der anvendes sorbit som middel til regulering af det osmotiske tryk i en mængde på 120 g/l. Som resultat blev der uddifferentieret 55 stykker småløg med uønsket form i hovedsagen som vist på fig. 2. I dyrkningsperioden blev det osmotiske tryk af kulturopløsningen gradvis nedsat fra 10,0

atmosfærer til 9,0 atmosfærer som vist på fig. 3. Antallet af dannede løg blev reduceret til 53% sammenlignet med eksempel 1.

P a t e n t k r a v .

5 -----

1. Fremgangsmåde til formering af løgplanter, ved hvilken frøplanter af løgplanterne formeres ved anvendelse af vævsdyrkning til vævsstykker eller dyrkede celler af løgplanterne under anvendelse af flydende kulturmedium, k e n d e t e g -
10 n e t ved, at det osmotiske tryk af kulturopløsningen holdes på 2 til 8 atmosfærer i hovedsagen i hele vævsdyrkningsperioden ved, at det osmotiske tryk reguleres ved tilsætning af et middel til regulering af det osmotiske tryk.
2. Fremgangsmåde til formering af løgplanter ifølge krav 1,
15 k e n d e t e g n e t ved, at vævsdyrkingen udføres under fornyende betingelser for kulturopløsningen.
3. Fremgangsmåde til formering af løgplanter ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at næringsbestanddele forbrugt under vævsdyrkningsperioden suppleres eller erstattes ved til-
20 sætning af næringsbestanddele og/eller middel til regulering af det osmotiske tryk.

FIG.1

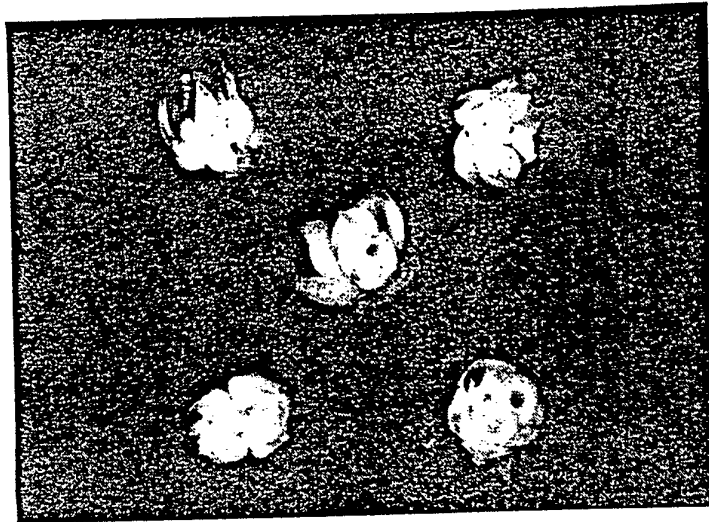


FIG.2

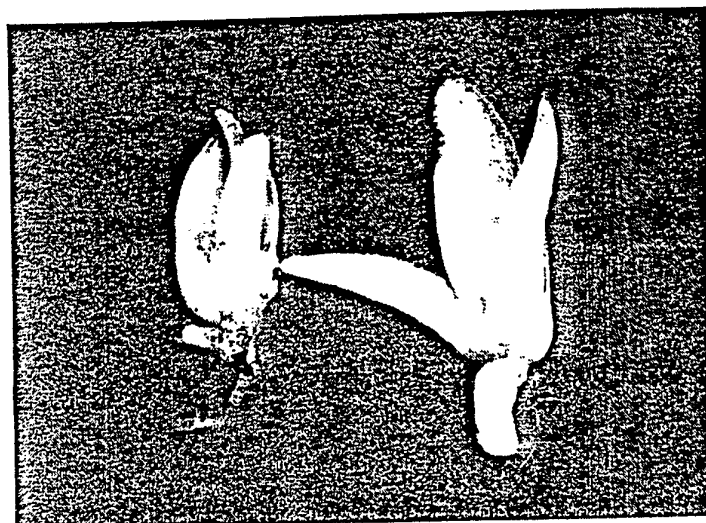


FIG.3

