

Massale vegetatieve vermeerdering van *Sulcorebutia* species mogelijk via in vitro cultuur

PROF. DR. R.L.M. PIERIK, H.H.M. STEEGMANS, M. MOLENDIJK, J.T. DESSENS EN E.J. VAN DER ZEEUW

Inleiding

Het vegetatief vermeerderen van tal van tuinbouwgewassen op kunstmatige voedingsbodems heeft in Nederland en elders grote opgang gemaakt; in 1987 houden zich hier alleen al in Nederland circa 65 commerciële laboratoria mee bezig; deze produceren in 1987 naar schatting 50 miljoen planten in kweekbuizen. Opvallend is, dat er zowel in Nederland als in het buitenland bijna geen cactussen op voedingsbodems worden vermeerderd.

Wat is in vitro cultuur?

Onder in vitro cultuur verstaan we het kweken van planten of delen daarvan op kunstmatige voedingsbodems onder steriele omstandigheden (alle micro-organismen worden uitgesloten); we noemen het in vitro cultuur, omdat deze speciale cultuur aanvankelijk alleen in glazen buizen en kolpjes werd bedreven. Een van de belangrijkste toepassingen van in vitro cultuur is het snel vegetatief vermeerderen van planten. Ook planten die langs de normale weg (stekken, enten, oculeren, scheuren, enz.) moeilijk of niet vermeerderd kunnen worden, zijn soms in vitro te vermeerderen.

Het massaal vermeerderen van *Sulcorebutia*-soorten in vitro

Omdat er nog relatief weinig bekend was over hoe men cactussen in vitro vegetatief kan vermeerderen, hebben wij na overleg met Ir. L.E. Groen van het Laboratorium voor Plantentaxonomie van de Landbouw Universiteit besloten om als modelplanten enkele *Sulcorebutia*-soorten te kiezen: Groen stelde ons plantmateriaal afkomstig van de natuurlijke standplaatsen in Bolivia ter beschikking, waarmee wij aan de slag gingen. Wij hebben voornamelijk gewerkt met verschillende ecotypen van *Sulcorebutia alba* Rausch (fig. 1); ook werd enig onderzoek verricht met *S. flavissima* Rausch en *S. mentosa* Ritter. In het onderstaande zullen wij kort beschrijven, hoe men *Sulcorebutia*-soorten zeer snel in vitro kan vermeerderen.

Technische realisatie

Uit enkele moederplanten van bovengenoemde soorten hebben wij eerst weefsels geïsoleerd met het primaire doel om areolen aan zo'n stukje weefsel te activeren, waardoor nieuwe cactuslichamen in vitro ontstaan. Het uitgangsmateriaal wordt voor de isolatie op voedingsbodems als volgt uitwendig gesteriliseerd: na dompeling in alcohol 70% gedurende enkele seconden wordt gesteriliseerd in 10% bleekwater gedurende 15-20 minuten; tenslotte wordt nagespoeld (3x) met gesteriliseerd kraanwater. In een steriele entkast worden daarna met steriele mesjes de gedode weefsels weggesneden, waarna stukjes weefsel met enkele areolen worden geïsoleerd op de voedingsbodems. Dit plaatsen geschiedt met het wondweefsel naar beneden en de areolen naar boven. Na de isolatie verhuizen de kweekbuizen naar kleine kweekkamers, waar constant een temperatuur heerst van 25°C; de belichting (16 uur per dag) geschiedt met zwak TL-buizen licht (4 W/m²).

De voedingsbodem

Het spreekt vanzelf, dat de samenstelling en de voedingsbodem van zeer groot belang is voor de activatie van areolen en voor de groei van het jonge cactuslichaam, dat uit een areool kan ontstaan. Voor de specialisten geven wij hier het voedingsmedium, waarop wij areolen van *Sulcorebutia*'s optimaal activeren; Murashige en Skoog macro- en microzouten (behalve ijzer), NaFeEDTA 25 mg/l, saccharose 3%, de cytokinine BA 0,8 mg/l, Daischin Agar (een stolmiddel) van de firma Brunschwig uit Amsterdam 0,7%; de pH van het medium wordt voor autoclaveren (steriliseren van voedingsbodems) ingesteld op 5,5.

Hoe worden areolen geactiveerd?

Het zal duidelijk zijn, dat wij door allerlei stoffen te toetsen een medium hebben ontwikkeld, waarop althans de *Sulcorebutia*'s goed gedijen. De stof BA (een afkorting voor 6-benzylaminopurine) speelt een zeer bijzondere rol. Dit plantenhormoon is evenals andere stoffen met gelijkwaardige werking (zoals kinetine, PBA, zeatine, enz.) in principe in staat om areolen te activeren, Wat doet BA nu precies? Om deze vraag te beantwoorden, moeten we teruggaan naar de complete plant: hierin worden vele (soms zelfs alle areolen) in rust gehouden door een ander plantenhormoon (auxine), dat voornamelijk geproduceerd wordt in het hoofdvegetatiepunt en in de eventueel aanwezige andere vegetatiepunten. Indien we in een kunstmatig systeem (in ons geval in vitro cultuur) de auxinebron wegnemen (er zijn geen groeiende vegetatiepunten meer) en tegelijkertijd het hormoon BA doseren in de juiste concentratie, kunnen areolen gaan uitlopen. Gebleken is, dat o. a. *Sulcorebutia*'s precies de regels volgen zoals boven is beschreven: indien de auxineproductie wegvalt doordat we in vitro isoleren en we doseren BA in de juiste concentratie, dan gebeurt exact wat we willen: massale areoolactivatie.

Opzet van de *Sulcorebutia*-vermeerdering

Uit enkele jonge cactuslichamen, ontstaan op moederplanten, die in de kas zijn opgekweekt, worden eerst weefselstukjes geïsoleerd. In vitro realiseert men vervolgens areoolactivatie met BA. Zodra een areool voldoende is geactiveerd, wordt het jonge cactuslichaam op een voedingsbodem zonder hormonen (BA en auxine) overgezet (Fig. 2); op dit medium groeit het jonge plantje snel uit tot een echte cactus. Uit in vitro gekweekte grotere cactussen worden vervolgens weer weefselstukjes met enkele areolen geïsoleerd, er vindt weer areoolactivatie plaats, enz. Dit kan men eindeloos herhalen. De aldus verkregen cactussen kunnen eenvoudig beworteld worden (Fig. 3), zelfs op een medium zonder een bewortelingshormoon (auxine).

Enkele resultaten

1. Omdat de door ons gebruikte moederplanten gelukkig inwendig geen microörganismen bevatten, was de steriele isolatie van *Sulcorebutia*'s relatief eenvoudig. Ons is gebleken, dat dit bij talrijke andere cactussoorten niet het geval is, waardoor men soms zeer lastig tot steriele kulturen komt.

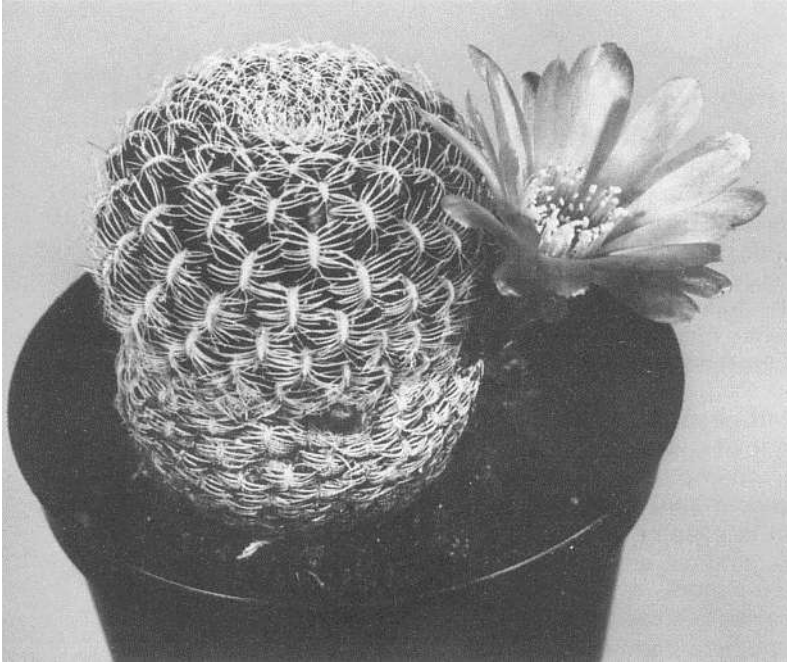


Fig. 1. Bloeiende *Sulcorebutia alba* Rausch

Fig. 2. Een jonge cactus ontstaan na areoolactivatie (links) bereikt in vitro na 7 weken op een medium zonder regulatoren de grotte die in de rechter kweekbuis is te zien

Fig. 5. De invloed van plantenhormonen op de areoolactivatie. Boven: zonder hormonen. Midden: activatie met 1 mg/l kinetine. Onder: activatie met 0.5mg/l BA.

Fig. 2

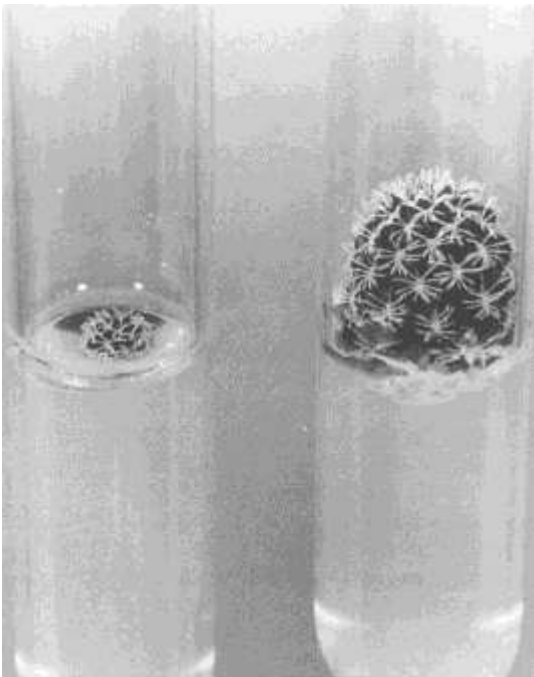
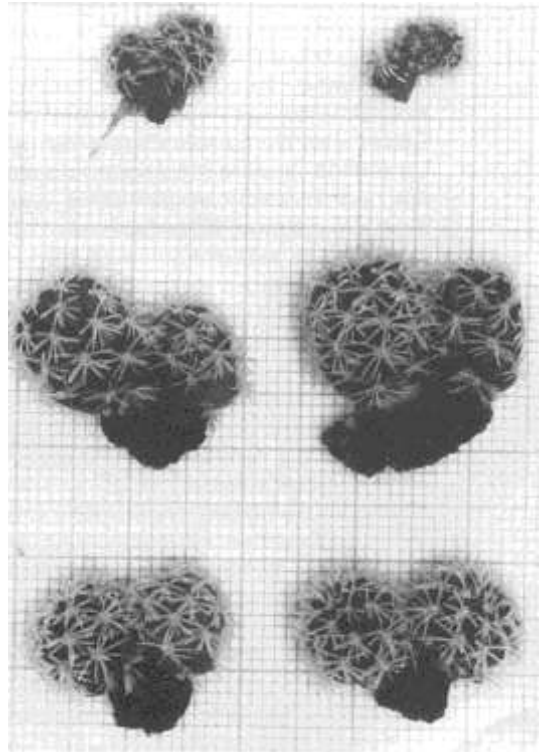


Fig. 5



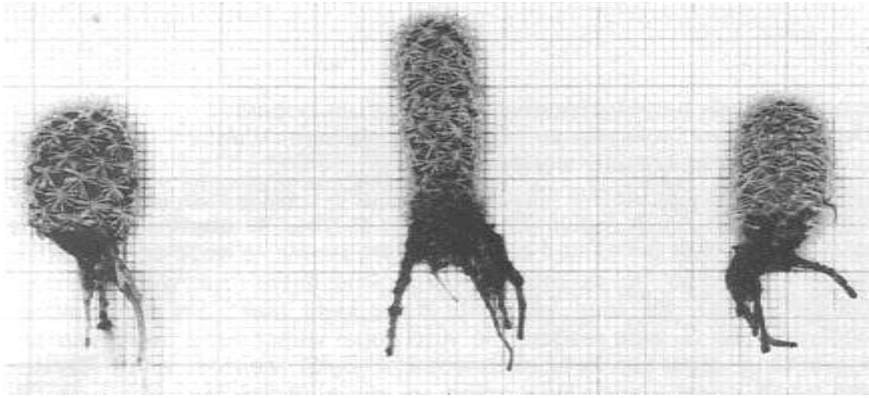


Fig. 3. Beworteling van *Sulcorebutia* in vitro, verkregen op een medium zonder plantenhormonen.

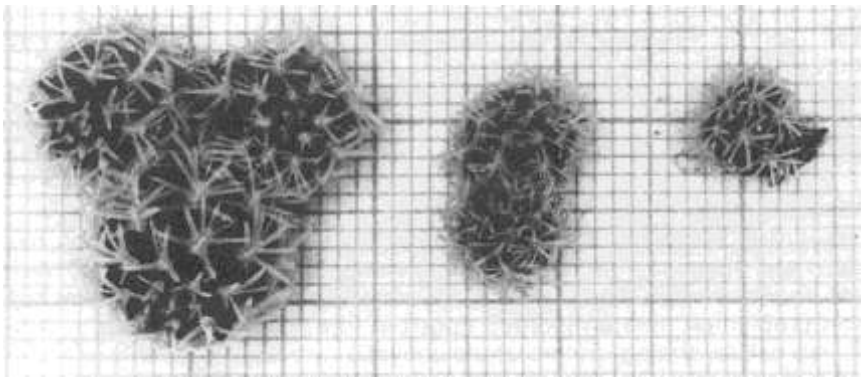


Fig. 4. Areoolactivatie met BA. Van rechts naar links weefselstukjes met respectievelijk 1, 2 of 3 areolen. De beste areoolactivatie vindt plaats met 3 areolen per weefselstukje.

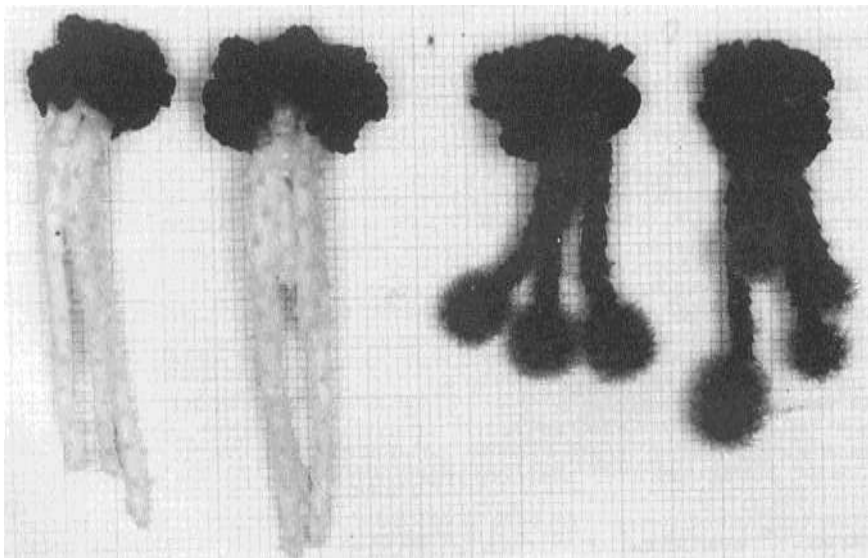


Fig. 6. De vormgeving van cactussen die in vitro uit areolen zijn ontstaan, wordt sterk beïnvloed door het licht/donker klimaat. Rechts: areoolactivatie na 3 weken donker, gevolgd door 4 weken licht. Links: areoolactivatie na 7 weken continu donker.

2. De positie van het weefselstukje in de moedercactus bepaalt mede de mate areoolactivatie: basale (aan de bases) weefselstukjes reageren slechte, dan terminale (aan de top, bij het vegetatiepunt), dit is in tegenstelling met hetgeen aan de plant in grond gebeurt Weefselstukjes uit jonge cactuslichamen reageren beter dan uit oudere.
3. De beste areoolactivatie verkrijgt men, wanneer weefselstukjes met 3 areolen erop geïsoleerd worden (Fig. 4),
4. De areoolactivatie (aantal areolen, dat uitgroeit; groei van het jonge cactuslichaam) is bij de *Sulcorebutia*'s relatief goed te sturen (Fig. 5); de dosering van het BA luistert echter wel erg nauw; te hoge concentraties BA leiden snel tot het optreden van abnormaliteiten (o.a. waterigheid en callusvorming), die men vaak niet meer kwijt raakt. De verschillende ecotypen van *S. alba* reageren in vitro nogal verschillend (mate van callusvorming, groei van het cactuslichaam). Bij *S. mentosa* en *S. flavissima* treedt nogal wat callusvorming op, die hinderlijk is.
5. De groei van de cactussen op Daischin-agar verloopt veel beter dan op Difco Bacto-agar.
6. Door bij de isolatie een korte periode donker te geven en erna weer licht, kan men de vormgeving van de ontstane cactussen duidelijk beïnvloeden (Fig. 6).
7. Areoolactivatie wordt bevorderd door lage lichtintensiteit en hoge temperatuur (27°C), terwijl hoge lichtintensiteit (8-12 Wm⁻²) en lage temperatuur (21°C) deze verzwakt.

Slotbeschouwing

De resultaten die wij met *Sulcorebutia*'s verkregen hebben, kunnen niet zonder meer toegepast worden op allerlei andere cactussoorten; dat heeft recent onderzoek ons reeds geleerd. Voor andere cactussoorten zullen nog tal van problemen moeten worden opgelost (o.a. het steriel isoleren, remming van callusvorming, betere areoolactivatie, enz.) alvorens massale toepassing mogelijk is. De auteurs stellen het op prijs om van de lezers reacties te ontvangen op dit artikel.

Laboratorium voor Tuinbouwplantenteelt
Landbouwniversiteit

Postbus 30
6700 AA Wageningen

Dit artikel werd in **Succulenta** 66-10 (1987) (bldz. 218-222) gepubliceerd.
Overgenomen met de toelating van de schrijver en de uitgever.
