

# KARTULISORTIDE SÄILITAMINE MERISTEEMTAIMEDENA *IN VITRO*

K. Kotkas

Viimastel aastatel on maailmas suurt tähelepanu hakatud pöörama taimede geenipankade loomisele ja arendamisele. Säilitamist vajavad kasutuses olevad sordid, vanad sordid ja kohalikud vormid, spetsiaalne geneetiline fond jne. Eriti suurt geneetilist kadu on muutused looduses ja põllumajanduses põhjustanud vegetatiivselt paljundatavatele kultuuridele. Järjest enam ohustab neid ka viiruste kuhjumine. Taimebiotehnoloogia arenguga on avanenud uued taimede tervendamise ja *in vitro* geenipangas säilitamise võimalused. *In vitro* süsteem võimaldab säilitada haigusvaba materjali väikeses mahus ja seda kontrollitavates laboratoorses tingimustes, kaitsta geenipanku keskkonna kahjulike mõjude, viirus jt. infektsioonide kuhjumise eest. Seni ei ole teada, kui pikalt saab taimi säilitada *in vitro*, millised tegurid võivad muutusi esile kutsuda, kuidas neid vältida ja kuidas vähendada kulutusi *in vitro* säilitamisel.

Traditsiooniline kartulisortide säilitamise viis on säilitamine kollektsiooniaedades, kus igal aastal pannakse seemnemugulad maha, kasvatatakse ja koristatakse uued mugulad ja need säilitatakse. *In vitro* meetodid on loonud uued võimalused. Uurimiskeskustes, kus tegeldakse ainult materjali säilitamisega, on levinud kartulisortide säilitamine nn. mikromuguladena, s.o. keskmiselt 5 mm läbimõelduga mikromuguladena katseklaasis. Selliste mikromugulate saamiseks lisatakse toitesegule taimede kasvu reguleerivaid aineid ja taimede erinevates kasvufaasides muudetakse toitesegu koostist ning valgus- ja temperatuuritingimusi. Katseklaasid koos seal moodustunud mikromugulatega säilitatakse tavalistes külmkappides 1...1,5 aastat. Sellise säilitusviisi probleem on, et kõik sordid ei moodusta katseklaasi tingimustes mugulaid ja vajadusel ei saa mugulatest kiiresti taimi.

Teaduskeskuses EVIKA kogutakse ja säilitatakse kartulisorte, -vorme ja aretusnumbreid meristeemtaimedena *in vitro*. Taimede säilitamine on võrreldes mikromugulate säilitamisega töömahukam, kuid taimi saab igal ajal nii uurimistöö kui seemnekasvatuse algmaterjali kasutamise eesmärgil paljundada. Säilitatavad sordid ja kloonid tervendatakse viirushaigustest EVIKA süsteemi järgi. Iga 1,5...2 kuu järel uuendatakse kollektsioon mikropistikutega paljundades. 01.01.1997. a. seisuga oli kartuli geenipangas 371 sorti, aretist ja vormi ning 541 meristeemklooni 95 sordist. Vanimad meristeemtaimed kollektsioonis on aastast 1977. Praegu ei ole veel teada, kui kaua saab kartulisorte selliselt säilitada, ilma et tekiks kõrvalekaldeid sordiomadustest.

1995. a. alustati Eesti Teadusfondi toetusel uurimistööd kartuli geenipanga alal. Töö eesmärk on uurida meristeemtaimede *in vitro* säilitamise tingimusi, välja selgitada tegurid, mis mõjutavad taimede regenereerumist mikropistikutest ja taimede uuele toitesegule üleandmise intervalli pikkust. Eesmärk on välja töötada spetsiaalsed toitesegud ja kasvutingimused, mille juures on tagatud taimede optimaalne areng, produktiivsus ja pikem uuenduse intervall. Samaaegselt hinnatakse põldkollektsioonides uuritavate tegurite ja pikaajalise *in vitro* säilitamise mõju sortide morfoloogilistele tunnustele ja majanduslikele omadustele. Eesmärk on välja selgitada, kui kaua on võimalik säilitada kartulisorte meristeemtaimedena *in vitro* nii, et ei ilmneks negatiivseid kõrvalekaldeid. Samuti püütakse välja selgitada tegurid, mis võivad muutusi esile kutsuda, ning nende vältimise võimalused.

## Materjal ja meetodika

*In vitro* tasemel uuriti taimede regeneratsiooni ja kvaliteeti sõltuvalt toitesegu koostisest ning valgus- ja temperatuuritingimustest taimede regenereerumisel ja säilitamisel. Katses oli 6 toitesegu varianti ning taimede regeneratsioon ja säilitamine toimus 2 erineva valgus- ja temperatuurire<sup>o</sup> iimi tingimustes. Kontrollvariandi toitesegu oli EVIKA kartulitaimede paljundamise toitesegu. Uuritavaid toitesegu komponente (kinetiin, suhkur, agar-agar) lisati vastavalt katseskeemile. Mikropistikutest taimede regeneratsioon toimus re<sup>o</sup> iimil: 16 tundi valges temperatuuril 23...25 °C ja 8 tundi pimedas temperatuuril 18...20 °C.

Regenereeruvaid taimi vaadeldi ja mõõdeti kahel korral: 10. ja 20. päeval pärast mikropistiku toitesegule istutamist. Mõõdeti varte ja juurte pikkus, loeti sõlmevahed ning arvatati juurduvad ja täisväärtuslike taimede protsent. Pärast viimast vaatlust paigutati pooled taimed taimede säilitamise re<sup>o</sup> iimile: 16 tundi valge ja 8 tundi pime, temperatuur stabiilselt 4 °C. Sõltuvalt taimede arengust erinevatel toitesegudel säilitati taimi 4 °C juures 1,5...2 kuud. Katse viidi läbi 10 EVIKA geenipangas säilitatava sordi meristeemtaimedega.

Taimede põllule istutati 4 toitesegu ja 2 kasvutingimuste variandis kasvanud taimedest à 20 taime (kokku 240). Kogu geenipangast istutati põllule 350 sordi 416 kloon, à 10 taime (kokku 4160 taime). *In vitro* kasvanud taimi kasvatati kaks nädalat enne põllule istutamist plastikrullis. Taimede aklimatiseerimine, põllule istutamine ja hooldamine toimus EVIKA esimese põlvkonna seemnemugulate avamaal kasvatamise meetodika järgi.

Kasvuperioodil hinnati taimede juurdumist, sorditunnuseid, -tüüpilisust, haiguste esinemist; koristamisel loeti mugulad, kirjeldati nende kuju, suurust, ühtlikkust, hinnati saagikust.

## Tulemused ja arutelu

Taimede regeneratsiooni kiirus mikropistikutest ja sellest tulenevalt uuele toitesegule ülekandmise intervalli pikkus sõltus toitesegule lisatud kinetiini, suhkru ja agar-agar sisaldusest, samuti sordist. Paremad tulemused saadi toitesegul, mis sisaldas kinetiini 0,2 mg/l, suhkrut 20 g/l ja Bacto agarit 6 g/l. Taimed olid kompaktsed, tumedama rohelise värvusega ja paljude juurealgetega. Antud toitesegul ja säilitustingimustel (16 tundi fotoperiood  $3000 \text{ lx s}^{-1} \text{ m}^{-2}$  ja temperatuuril  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ) pikenes taimede ülekandmise intervall 1,5...2 kuu võrra, ilma et taimede kvaliteet ja produktiivsus oleks muutunud. Selgusid toitesegu uued komponendid (kasvuained, vitamiinide ja mineraalainete kontsentratsiooni vähendamine), mis vajavad edasist katsetamist.

Taimede ja mugulate visuaalsel vaatlusel ei täheldatud kõrvalekaldeid sortide morfoloogilistest tunnustest. Katsetulemustes puudus statistiliselt usutav suhe mugulate arvu, toitesegu koostise, taimede regeneratsiooni ja säilitustingimuste vahel. Meristeemtaimede saak sõltus enam kasvutingimustest ja harimisvõtetest kui *in vitro* tingimustest ja säilitusperioodi pikkusest. Esialgu võib öelda, et enam kui 15 a. kartulisortide säilitamine meristeemtaimedena *in vitro* ei ole märgatavalt mõjutanud sortide morfoloogilisi ja majanduslikke omadusi (tabel).

**Tabel.** Vanimate *in vitro* säilitatavate meristeemtaimede saak / *Yield of the oldest preservable meristem plants in vitro*

Sort <i>Cultivar</i>	Meristeemi lõikamise aasta <i>Year of meristem cut</i>	Mugulaid taime kohta / <i>Tubers per plant</i>		
		1993	1994	1995
‘Ora’	1977	10,0	9,5	6,8
‘Rector’	1978	5,8	6,8	7,3
‘Dalia’	1979	8,8	15,7	11,9
‘Xenia’	1981	9,4	8,3	11,9

*In vitro* geenipangas säilitatavat geneetilist materjali saab kasutada:

- sordiaretuse lähtematerjalina, teaduslikes uurimistöodes, seemne ja istikute terve lähtematerjali kasvatamisel, põldkollektsoonide loomisel kooliaedades;
- kui on vaja kasutusele võtta sorte, mida praegu ei kasutata, aga tulevikus neid mõne toote, kasutus- või viljelusviisi puhul vajatakse.

Uurimistööd jätkatakse ja sellealane koostöö toimub Jõgeva SAI, Rahvusvahelise Taimede Geneetiliste Ressursside Instituudi (IPGR), Põhjamaade Geenipanga ja Rahvusvahelise Kartulikeskusega (IPC).

## The Storage of Potato Varieties *in vitro* as Meristem Plants

K. Kotkas

Summary

The regeneration of plants and time of multiplication cycle were influenced by a content of medium, photoperiod conditions and also by a genotype. The best results were obtained by using the medium with kinetin 0.2 mg/l, sucrose 20 g/l and Difco Bacto agar 6 g/l. In that case and at the 16:8 photoperiod ( $3000 \text{ lx s}^{-1} \text{ m}^{-2}$ ) and the temperature of  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ , the multiplication period was prolonged by 1.5...2 months. The preservation of potato genetic resources *in vitro* as meristem plants even more than 15 years had no influence on the yielding capacity and characteristics of varieties. The yield of meristem plants was more influenced by climatic and cultivation conditions than by time and preserving conditions *in vitro*.