

# HAPUKIRSI (*Prunus cerasus* auct.) SORTIDE SÄILITAMINE TEMPERATUURIL +4 °C *IN VITRO*

V. Vasar

Katseklassikultuuride säilitamine temperatuurivahemikus 0...15 °C on sageli kasutusel taime geneetiliste ressursside ning viirusvaba taime materjali säilitamisel *in vitro*. Madalal temperatuuril säilitamist kasutatakse ka tootmislaborites, kui taime paljundamist tuleb ajutiselt turunõudlusest sõltuvalt vähendada (Aitken-Christie, Singh, 1987). Viljapuude mikrovrõrseid hoitakse sageli kuumade suvekuude jooksul säilitusrežiimil (juunist septembrini), seevastu talvekuudel paljundatakse intensiivselt. Varakevadel mikrovrõrseid juurutatakse ning istutatakse ümber mittesteriilsesse kasvustruktuuri. Hästitoimiva kasvatamissüsteemi tarvis on oluline teada taime materjali käitumist *in vitro* säilitustingimustes, samuti ka mikrovrõrsete paljunemisvõimet pärast säilitusperioodi.

Eesti Taimebiotehnika Uurimiskeskuses EVIKA uurisime hapukirsi säilitamise võimalusi madalal temperatuuril. Eriline tähelepanu oli pööratud erinevate sortide käitumisele säilitustingimustes.

## Materjal ja meetodika

Uurimuses kasutati lähtematerjalina EVIKA geenipangas olemasolevaid hapukirsisorte. Katsetes oli 5 sorti: 'Diemitzer Amarelle', 'Schattenmorelle', 'Läti madalkirss', 'Hindenburg' ja 'Ljubskaja'. Hoogsalt paljunevad võrsepuhmad jaotati väiksemateks võrsekogumikeks ning istutati spetsiaalsele, EVIKA-s väljatöötatud hapukirsi paljunemiseks sobivale toitesegule EVIKA-IV-MA. Klaasanumatena kasutati 250 ml koonuskolbe. Igas katsevariantis oli 7 kolbi ning igasse kolbi istutati 6 puhmakest. 11. katsepäeval allutati taime materjal katsetingimustele, vastavalt katsevariantidele:

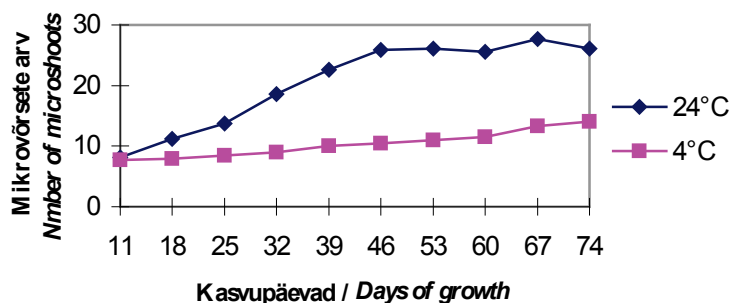
1. temperatuur +24 °C, päeva pikkus 16 h, valgustugevus umbes 2000 luksit (paljunemisrežiim);
2. temperatuur +4 °C, päeva pikkus 16 h, valgustugevus umbes 1000 luksit (säilitusrežiim).

Iga 7 päeva järel loeti paljunevad mikrovrõrseid ning mõõdeti nende pikkus. 74 päeva möödumisel viidi hapukirsi mikrovrõrseid tavalistesse kasvutingimustesse (temperatuur +24 °C, päeva pikkus 16 h, valgustugevus umbes 2000 luksit), et kontrollida mikrovrõrsete elujõulisust pärast säilitusperioodi lõppu.

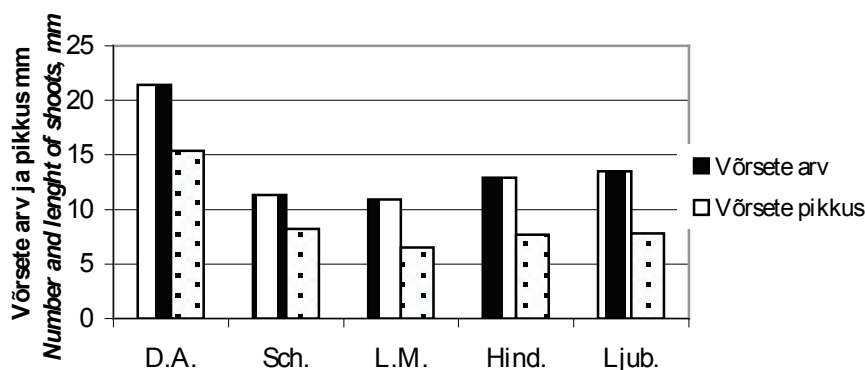
## Tulemused ja arutelu

Kõigi sortide mikrovrõrseid paljunesid +24 °C juures hoogsalt kuni 46. katsepäevani (joonis 1). Alates 46. päevast mikrovrõrsete paljunemine ning pikkuskasv lakkas. See oli tõenäoliselt põhjustatud toitekomponentide ammendumisest söötmes. Aktiivselt kasvavaid viljapuude mikrovrõrseid tuleks jagada väiksemateks, 2...3-võrsealisteks puhmakesteks ning istutada värsketele toitesegule 3...5-nädalase intervalliga (Wilkins, Dodds, 1983). Viljapuude *in vitro* paljundamine eeldab võrsekogumike regulaarset rekultiveerimist, mis on tihti liigselt aeganõudev ja ebamajanduslik. Liiasi kasvab sagedaste ülekannetega ka somaklonaalsete variatsioonide tekkimise risk paljundatavas materjalis (Larkin, Scowcroft, 1981) ning saastumise oht. Seetõttu vajavad mikrovrõrseid tegelevad laboratooriumid töö otstarbekamaks korraldamiseks, aga ka geenipanga säilitamiseks hästitoimivat ja usaldusväärset mikrovrõrsete *in vitro* säilitamise meetodikat.

Meie katsevaatlused näitasid, et pärast 74 säilituspäeva +4°C juures oli 100 % mikrovrõrsetest elujõulised. Eksplantaatide välimus oli normaalne kogu katseperioodi vältel, võrseid ja lehti säilitasid oma roheline värv, vahesel arvul arenesid juurde adventiivvõrseid. Võrseid ei muutunud nekrootiliseks ega klaasistunud.



**Joonis 1.** 5 sorti keskmine mikrovrõrsete arv erineva temperatuuri korral kasvuperioodil  
**Figure 1.** Average number of microshoots at different temperature regimes during the growing period



D.A.– 'Diemitzer Amarelle'; Sch.– 'Schattenmorelle'; L.M.– 'Läti madalkirss'; Hind.– 'Hindenburg'; Ljub.– 'Ljubskaja'

**Joonis 2.** Hapukirsi sortide mikrovõrsete arv ja pikkus 74. katsepäeval

**Figure 2.** The number and length of microshoots of sour cherry varieties on the 74th experimental day.

Mikrovõrsete käitumises hapukirsi sortide vahel usutavaid erinevusi ei täheldatud ( $F_{\text{võrsete arv}} 1,9 < F_t$ ;  $F_{\text{võrsete pikkus}} 0,9 < F_t$ ). Siiski võib öelda, et sordi 'Diemitzer Amarelle' mikrovõrsetel tekkis  $+4\text{ }^\circ\text{C}$  juures veidi rohkem külgvõrseid kui ülejäänud sortidel (joonis.2). Pärast säilitusperioodi lõppu olid mõnede sortide, nagu 'Diemitzer Amarelle' ja 'Schattenmorelle', mikrovõrsed võimelised juurduma koheselt pärast  $+24\text{ }^\circ\text{C}$  tingimustesse tagasiviimist, seevastu näiteks sordi 'Ljubskaja' mikrovõrsed vajasisid kohanemiseks ning kasvukiiruse taastumiseks kuni 14 päeva pikkust aklimatiseerumisperioodi. Katseklaasikultuuri viidud organite kudede kasv ja morfogenees *in vitro* sõltub kõige enam genotüübist. Sortide reaktsioon madalale kasvutemperatuurile võib olla vägagi erinev (Orlikowska, 1992). Paljud genotüübist sõltuvad kasvuerinevused tulenevad taime genotüübi ja kasvukeskkonna (toitekeskkond, füüsikalised kasvutingimused, jms.) vastastikusest mõjust (George, 1993).

On äärmiselt raske ette ennustada erinevate kultuuride ja sortide käitumist katseklaasikultuurina. Iga genotüüp võib vajada erinevaid tingimusi nii hoogsaks kasvuks kui säilitamiseks. Meie tulemused näitavad, et hapukirsi mõnede sortide mikrovõrsed säilivad elujõulistena  $+4\text{ }^\circ\text{C}$  juures vähemalt 74 päeva. Pärast kasvuks sobivatesse tingimustesse tagasiviimist on nad võimelised hoogsalt paljunema ning moodustama juuri.

## Kirjandus

- Aitken-Christie J., Singh A. P. Cold storage of tissue culture. In: Bonga J. M. ja Durzan D. J. (Eds.) Cell and Tissue Culture in Forestry, Vol. 2, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, p. 285...304, 1987.
- George E. F. Plant Propagation by Tissue Culture, Part 1. Exegetics Ltd., U.K., 1993. – 547 p.
- Larkin P. M., Scowcroft W.R. Somaclonal variation – a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. Theor. Appl. Genet., vol. 60, p. 197...214, 1981.
- Orlikowska T. Effect of *in vitro* storage at  $4\text{ }^\circ\text{C}$  on survival and proliferation of two apple rootstocks. – Plant Cell Tiss. Org. Cult., vol. 31, p. 1...7, 1992.
- Wilkins C. P., Dodds J. H. Tissue culture propagation of temperate fruit trees. In "Tissue Culture of Trees," (J. H. Dodds, ed.). The AVY Publishing Company, Inc., Connecticut, p. 56...79, 1983.

## Storage of Sour Cherry (*Prunus cerasus* auct.) Microshoots at a Temperature of $+4\text{ }^\circ\text{C}$

V. Vasar

Summary

In the Estonian Plant Biotechnical Research Centre EVIKA the experiments to determine the effect of low temperature storage *in vitro* on the sour cherry (*Prunus cerasus* auct.) varieties were carried out. The experiments included 5 varieties of sour cherry: 'Diemitzer Amarelle', 'Schattenmorelle', 'Läti madalkirss', 'Hindenburg' and 'Ljubskaja'. Cultures were maintained at the temperatures of  $+24\text{ }^\circ\text{C}$  and  $+4\text{ }^\circ\text{C}$ . At  $4\text{ }^\circ\text{C}$  all the explants survived after 74 days of storage. After storage period in the conditions of  $24\text{ }^\circ\text{C}$  'Diemitzer Amarelle' and 'Schattenmorelle' immediately started to proliferate. 'Ljubskaja' needed the acclimatization period up to 14 days before normal proliferation.