

KARTULI GEENIPANGA MERISTEEMTAIMEDE PRODUKTIIVSUS SÕLTUVALT TOITSEGU KOOSTISEST JA *IN VITRO* SÄILITUSTINGIMUSTEST

K. Kotkas

Meie igapäevane elu sõltub taimedest, seetõttu võib öelda, et me kõik oleme taimede geneetiliste ressursside kasutajad. Efektiivne säilitamine tagab sortide ja aretiste säilivuse tulevastele põlvkondadele, aitab kaasa uute sortide ja taimeliikide aretamisel ning tagab inimkonna vajaduste igakülgse rahuldamise. Taimede geneetiliste ressursside säilitamiseks on erinevad tehnoloogiad, millistest igäüks esitab teatud nõudeid säilitamisele ning säilitatava materjali käsitlemisele ja kasutamisele. *In vitro* säilitamine on säilitamine steriilses, haigusvabas keskkonnas. *In vitro* meetodite kasutamine on viimase aja saavutus ja nende tähtsus järjest suureneb, eriti vegetatiivselt paljundatavate või selliste liikide, mida ei saa seemnetena talletada, säilitamisel (Lebot, 1992).

Milliseid *in vitro* säilitusviise kartuli geneetiliste ressursside säilitamisel kasutada, see on veel üheselt otsustamata. Viimastel aastatel on uurimustes enam tähelepanu osutatud põhiliselt kahele säilitusviisile: lühemaajaline säilitusviis taimedena *in vitro* ja pikemaajaline kudede jt. organite säilitamine külmutatult vedelas lämmastikus.

In vitro taimedena säilitamisel on taimed alati kättesaadavad ja materjali hukkumise võimalus on minimaalne (Withers, 1995). Tähtsaks kriteeriumiks säilitusmeetodite valimisel on sortide geneetilise stabiilsuse säilimine. Saksamaal tehtud sügavkülmutuse katsetes leiti, et 4 aasta katsetulemuste põhjal ei saa veel teha järeldusi selle kohta, kui kaua võib materjali vedelas lämmastikus hoida. Katses väljaistutatud 98 sordi regenereerunud taimi võrreldi kontrolltaimedega. Pärast külmutamist ja pikaajalist säilitamist olid regenereerunud taimed ja mugulad suhteliselt ühtlased, millest järeldati, et selline sügavkülmutus ei olnud mõjutanud sortide geneetilist stabiilsust (Schäfer-Menuhr jt., 1996).

Geneetilise stabiilsuse säilimisel ei soovitata kasutada kalluskude, millega kaasneb suurem võimalus variatsioonide tekkimiseks (Withers, 1994). Tavaliselt säilitatakse taime vegetatiivsed osad, mida kasutatakse ka antud kultuuri paljundamisel. Peamine valik tuleb teha seisukohast, kas kogutakse kogu organ või eraldatakse meristeemkude ja säilitatakse see *in vitro* (Huaman jt., 1995).

In vitro säilitusmeetodite kasutamisel on oluline teada, et erinevad liigid või isegi sordid vajavad erinevaid toitesegusid nii paljundamisel kui säilitamisel. Säilitamisel on kudede ja pistikute kasv aeglustunud või isegi peatunud. See on saavutatud toitesegu koostise muutmisega, mitmesuguste kasvuinhibiitorite kasutamisega, samuti madalamatel temperatuuridel säilitamisega.

Meie poolt läbiviidud katsete eesmärk oli uurida kartuli meristeemtaimede regenereerumist mikropistikutest *in vitro*, nende kvaliteeti ja produktiivsust sõltuvalt säilitamise toitesegu koostisest. Samuti uuriti säilitustingimuste ja -pikkuse mõju sortide morfoloogilistele tunnustele ja majanduslikele omadustele.

Materjal ja meetodika

Katsed *in vitro* ja esimese mugulpõlvkonna katsepõllul korraldati teaduskeskuses EVIKA 1997. a. Katsematerjalidena kasutati kartuli geenipangas *in vitro* säilitatava 6 kartulisordi meristeemtaimi. Katse läbiviimiseks vajaliku koguse ühtlase paljundusmaterjali saamiseks paljundati säilitatavaid taimi 3 nädalat enne katse läbiviimist.

Katsetati 6 erinevat toitesegu koostist. Kontrollvariandi toiteseguks oli EVIKA kartulitaimede paljundamise toitesegu. Teistele toitesegudele lisati vastavalt katseskeemile täiendavalt kaaliumi, kinetiini ja suhkrut. Toitesegude variandid: 1. kontrollvariant (KV), 2. KV + KNO₃ 2 g/l, 3. KV + KNO₃ 2 g/l + kinetiin 0,3 mg/l, 4. KV + KNO₃ 2 g/l + kinetiin 0,3 mg/l + suhkur 10 g/l, 5. KV + KNO₃ 2 g/l + kinetiin 0,3 mg/l + suhkur 20 g/l, 6. KV + kinetiin 0,3 mg/l + suhkur 20 g/l.

Mikropistikutest taimede regenereatsioon ja säilitamine toimus 3 erineva valgus- ja temperatuurirežiimi tingimustes. Kõigi kolme säilitusrežiimi variandi taimede esialgne regenereatsioon toimus kaks nädalat temperatuuril 22...24 °C, päeva pikkus 16 tundi. Pärast seda pandi pooled esimese ja teise variandi taimedest säilitustingimustesse 3...4 °C, päeva pikkus 16 h. Esimeses variandis hoiti taimi enne väljaistutamist säilitustingimustes 87 päeva, teises variandis 40 päeva ning kolmanda variandi taimed olid 3 nädalat taimede regenereerumise tingimustes.

Katseid alustati veebruari alguses ja taimi kirjeldati 14. päeval pärast mikropistikute toitesegule kultiveerimist; mõõdeti juurte ja varte pikkus, loeti sõlmevahed ja juured ning arvestati täisväärtuslike taimede protsenti. Taimede arengut pikaajalistes säilitustingimustes kirjeldati iga kahe nädala järel ning enne kilerulli ja avamaale istutamist.

Katsetaimed regeneratsiooni- ja säilitustingimustest istutati kilerulli 26. mail ja põllule 10. juunil. Esimese mugulpõlvkonna katsepõllule istutati 6 toitesegu ja 3 säilitustingimuste variandis kasvanud taimedest igast variandist kahes korduses à 10, kokku 360 taime. Taimede aklimatiseerimine, põllule istutamine ja hooldamine toimus EVIKA esimese põlvkonna seemnemugulate avamaal kasvatamise meetodika järgi. Kogu kartuli geenipangast istutati põllule 371 sordi 440 klooni à 10 taime (kokku 4400 taime). Kasvuperioodil hinnati taimede juurdumist, sorditunnuseid, -tüüpilisust, haiguste esinemist. Katsed koristati 19. septembril; koristamisel fraktsioneeriti mugulad kolme suurusjärku (0...49 g, 50...99 g, üle 100 g); loeti, kaaluti, kirjeldati nende kuju, suurust, ühtlikkust.

63 sorti, aretist ja kohalikku vormi hinnati UPOV-i ja Põhjamaade Geenipanga ühiste kriteeriumide järgi. Taimede kasvu ajal ja koristamisel hinnati kokku 16 tunnust.

Tulemused

Katses uuritud toitesegu komponentidest mõjutas taimede regeneratsiooni kõige enam kinetiin ja vähem kaaliumi koguse suurendamine. Kinetiiniga toitesegudel arenesid taimed aeglasemalt, kuid neil oli enam lehe- ja juurealgeid ning taimed olid tumedama rohelise värvusega, kompaktsed, tugeva varrega. Kontrollvariandi ja ilma kinetiinita toitesegudel (1,2) arenenud taimed olid välja veninud, pikkade sõlmevahedega, tipulehed heledamad. Kõikide sortide taimed reageerisid sarnaselt toitesegu koostisele.

Katseklaasist kilerulli ja 2 nädalat hiljem kilerullist põllule istutamisel olid paremini arenenud ja juurdunud kinetiiniga ning suurema suhkrisaldusega (4,5,6) toitesegudel kasvanud taimed. Kinetiinita toitesegudel arenenud taimed olid heledama värvusega, väljaveninud, mõnedel taimedel olid tipulehed närbunud ja seda eriti sortidel 'Sarme' ja 'Varajane kollane'. Põllu tingimustes juurdusid ja arenesid kõikide variantide taimed ühtlaselt.

Mugulate arv taime kohta ja mugula kaal olenesid enam sordist kui toitesegu koostisest (tabel 1). Nii oli mugulaid taime kohta olenevalt sordist 7,6...17,8 (keskmine 11,6), olenevalt toitesegu koostisest aga 10,3...11,9. 1997. a. kuiva suve tõttu olid moodustunud mugulad suhteliselt väikesed; mugula keskmine kaal varieerus 15,7 grammist ('Saturna') 41,9 grammini ('Varajane kollane'), sortide keskmine 28,5 g.

Tabel 1. Mugulate arv taime kohta sõltuvalt toitesegu koostisest

Table 1. The number of tubers per plant depending on medium content

Toitesegu <i>Medium</i>	Sort / <i>Variety</i>						Keskmine <i>Average</i>
	'Berber'	'Sarme'	'Varajane kollane'	'Ants'	'Saturna'	'Sulev'	
1.	13,6	11,9	8,0	9,4	17,9	11,0	11,9
2.	12,6	11,3	7,0	10,2	17,3	11,7	11,7
3.	13,9	11,1	8,7	8,8	17,2	11,3	10,3
4.	12,5	12,9	7,1	9,6	16,2	10,6	11,5
5.	10,7	11,3	6,5	9,1	18,0	8,3	10,6
6.	13,7	10,7	8,2	8,3	20,2	12,3	10,8

Puudus kindel seos taimede produktiivsuse ja säilitustingimuste vahel (tabel 2). Mõju mugulate arvule oli siiski märgatav sordil 'Sarme', kusjuures väljaistutamisel ja põllul oli selle sordi taimede välimus kõige ühtlasem. Mõnel juhul oli tulemus vastupidine, näiteks sordil 'Saturna'.

Tabel 2. Mugulate arv taime kohta sõltuvalt taimede säilitustingimustest

Table 2. The number of tubers per plant depending on plant preservation conditions

Säilit.-ting. <i>Preserv. Cond.</i>	Sort / <i>Variety</i>						Keskmine <i>Average</i>
	'Berber'	'Sarme'	'Varajane kollane'	'Ants'	'Saturna'	'Sulev'	
I	13,7	9,5	7,6	9,7	19,3	11,8	11,9
II	12,0	10,3	7,0	8,4	16,3	10,4	10,7
III	12,9	14,7	8,1	9,7	17,8	11,2	12,4

1997. a. kogu geenipanga 440 sordi ja klooni keskmine mugulate arv taime kohta oli 7,8. Enam mugulaid oli vanadel sortidel 'Väike verev' – 28,1, 'Svartspotaties' – 21,4; samuti kohalikel vormidel ja Eesti sortidel 'Kiusala' – 17,4, 'Mulk' – 16,0, 'Viru' – 12,3, 'Näkk' – 12,1, 'Juku' – 11,4. Nendest tulemustest võib järeldada,

et meristeemtaimede produktiivsus sõltub enam sordist ja antud aasta ilmastikust ning taimede hooldamisest kui säilitamise toitesegust ja -tingimustest. Tabelis 3 on toodud kartuli geenipanga säilikut 5 aasta keskmised näitajad mugulate arvu kohta.

Tabel 3. Kartuli geenipanga säilikut 5 aasta keskmine mugulate arv aastate lõikes
Table 3. The average number of tubers per plant of potato varieties from genebank

Aasta <i>Year</i>	Säilikut 5 aasta keskmine arv <i>Number of accessions</i>	Mugulaid taime kohta <i>Tubers per plant</i>	
		Varieeruvus <i>Variation</i>	Keskmine <i>Average</i>
1993	311	3,6...41,5	9,6
1994	347	2,9...25,5	8,3
1995	394	3,1...50,2	10,3
1996	422	2,7...28,1	7,8

Koostöös Põhjamaade Geenipanga ja Balti riikidega alustati 1997. aastal *in vitro* säilitatavate, eeskätt Eesti ja teiste Balti riikide sortide, aretiste ja kohalike vormide morfoloogiliste tunnuste hindamist ühiste näitajate järgi. Vegetatsiooniperioodil hinnati taimede kõrgust, tüüpi, kuju; varte värvumist, lehe ja sulglehekese suurust, õitsemise intensiivsust, õiekrooni värvumist, taimede kasvuaega. Koristamisel hinnati mugula kuju, silmade sügavust ja silmade põhimiku värvust; koore ja sisu värvust. Kokku hinnati 43 Eesti, 15 Läti ja 7 Leedu sorti, aretist ja kohalikku vormi.

Geenipangas säilitatava materjali morfoloogiliste tunnuste hindamine on vajalik selleks, et säilitatav geneetiline materjal oleks ühildatav rahvusvaheliselt tunnustatud kriteeriumidega, võimaldab geenipanga (Eesti päritolu materjali) laialdasema tutvustuse ja kasutuse rahvusvahelisel tasemel, võimaldab kindlaks määrata ja välja selekteerida võimalikud dublikaadid, uurida pikaajalise *in vitro* säilitamise mõju sortide geneetilisele stabiilsusele. 1998. a. kevadel hinnatakse idandite tunnused. 1997. a. säilitati EVIKA geenipangas *in vitro* kokku 371 sorti, aretusnumbrit ja rahvaselektiooni. Meristeemkloone oli 541.

Arutelu

Kartuli geneetiliste ressursside säilitamisel *in vitro* meetoditega on veel palju lahendamata probleeme ja puuduvad stabiilsed *in vitro* säilitamise tehnoloogiad. On äärmiselt oluline, et enne kasutatava tehnoloogia valimist, on vaja väga põhjalikult selgitada iga uue tehnoloogia mõju säilitatava materjali geneetilisele stabiilsusele.

Saksa teadlaste andmetel oli pärast sügavkülmutamist 150 sordi keskmine ellujäämine 80%. Olulisemaks näitajaks geenipanga säilitamise juures peeti aga nn. taimede regenereerumise protsenti. Kasutades katsetes ühesuguse koostisega toitesegu kõikidele sortidele, saadi keskmiseks regenereerumise protsendiks 40 (Schäfer-Menuhr, 1996).

Praegu peetakse meristeemtaimedena säilitamist üheks kindlamaks ja lihtsamaks meetodiks. Teadusasutustes, kus tegeldakse geenipankade alase uurimistööga, kasutatakse paralleelselt vajaliku materjali kudede säilitamisega ka meristeemtaimede säilitamise meetodid (Withers, 1995).

Kokkuvõte

Katsest selgus, et taimede regeneratsioon mikropistikutest ja kvaliteet sõltus toitesegu koostisest enam kui *in vitro* säilitustingimustest. Katsetes uuritud toitesegu komponentidest mõjutas taimede regeneratsiooni ja kvaliteeti kõige enam kinetiin, vähem kaaliumi kontsentratsiooni suurendamine.

Selgus, et geenipangas säilitatavate meristeemtaimede uuendamise intervalli (uuele toitesegule ülekandmise aeg) on võimalik pikendada taimede säilitamiseks optimaalse toitesegu väljatöötamisega. Kasutades toitesegus 0,2...0,3 mg/l kinetiini ja suurendades suhkrute sisalduse 25...30 g/l ning säilitades regenereerunud taimi säilitustingimustes 3...4 °C, päeva pikkusega 16 h, pikenes taimede uuendamise intervall kuni 100 päevani.

Taimede kvaliteeti mõjutas nii toitesegu koostis kui *in vitro* säilitusaja pikkus. Täheledatai, et kartuli geneetilise materjali säilitamiseks on temperatuur 3...4 °C madal, vajalik oleks uurida säilitamise efektiivsust mõne kraadi võrra kõrgematel temperatuuridel. Arvestama peab ka sordiliste iseärasustega.

Praeguste laboratoorsete võimaluste juures saame pikendada taimede uuendamise intervalli eeskätt toitesegu koostise muutmise ja sortide või sarnaselt reageerivate sordirühmade eripärasustega arvestamisega toitesegude väljatöötamisel.

Taimede produktiivsus ei sõltunud oluliselt sellest, millise koostisega toitesegul nad olid kasvanud või millistes tingimustes säilitatud. Ilmnes, et pikemaajaliselt (kuni 100 päeva) katseklaasis kasvanud ja madalatel temperatuuridel (3...4 °C) säilitatud taimed vajavad kilerulli väljaistutamisel enam hoold ja tähelepanu kui temperatuuril 22...24 °C 2...3 nädalat regenereerunud taimed.

Taimede ja mugulate visuaalsel vaatlusel ei täheldatud kõrvalekaldeid sortide morfoloogilistest tunnustest. Esialgu võib öelda, et selline kartuli geneetiliste ressursside säilitamine meristeemtaimedena *in vitro* ei ole mõjutanud sortide morfoloogilisi ja majanduslikke omadusi ning geneetilist stabiilsust.

Kirjandus

- Huaman Z., de la Puente F., Arbizu C. Collecting vegetatively propagated crops (especially roots and tubers). – Collecting Plant Genetic Resources. UK, University Press, Cambridge, p 457...466, 1995.
- Lebot V. Genetic vulnerability of Oceania's traditional crops. – Experimental Agriculture vol. 28, p. 309...323, 1992.
- Schäfer-Menuhr A. Cryopreservation – an alternative for the long-term storage of old potato varieties. – Abstract of Conference Papers, Posters and Demonstrations. 13th Conference of EAPR. Veldhoven, The Netherlands, p. 449...450, 1996.
- Schäfer-Menuhr A., Müller E., Mix-Wagner G. Cryopreservation – an alternative for the long-term storage of old potato varieties. – Potato Research vol. 39, p. 507...513, 1996.
- Withers L. A. New technologies for the conservation of plant genetic resources. – Proceedings of the International Crop Science Congress. Ames, USA. Crop Science Society of America, p. 429...435, 1994.
- Withers L. A. Collecting *in vitro* for genetic resources conservation. – Collecting Plant Genetic Resources. UK, University Press, Cambridge, p. 511...525, 1995.

Influence of Medium Content and *in vitro* Preservation Conditions on the Productivity of Potato Genebank Meristemplants

K. Kotkas

Summary

The regeneration of plants from microcuttings and the quality were more influenced by the content of medium as by preservation conditions. The influence of different medium components were studied (kinetin, potassium, sugar). The development of plants *in vitro* was more influenced by presence of kinetin as by increased concentration of potassium.

Using the medium with kinetin 2.0...0.3 mg/l and sugar 25...30 g/l at preservation conditions 3...4°C (day length 16 h), the multiplication cycle prolonged up to 100 days. The appearance of plants *in vitro* and in plastic rolls was influenced by medium content and by length of preservation period.

The productivity of plants was not significantly influenced by medium content and by preservation conditions. The length of multiplication cycle could be exceeded by changing medium content and by considering specificity of genotype. There were not obtained deviations on morphological and economical characteristics of genotype. By the present research it can conclude that the medium-term preservation of potato genetic resources as meristemplants *in vitro* does not influence the genetic stability of genotypes.