

KARTULISORDI 'EBA' MERISTEEMKLOONIDE SAAGIKUSE JA SELLE VARIEERUVUSE UURIMISE TULEMUSI

V. Rosenberg

Sissejuhatus

Taimebiotehnoloogia meetodite kiire areng on avanud uued võimalused sordiaretures ja seemnekasvatases. Vegetatiivselt paljundatavate kultuuride seemnekasvatus või istikute tootmine tänapäeval ei ole mõeldav ilma taimebiotehnoloogia meetoditeta. Näiteks kartuli, maasika, vaarika, nelgi, krüsanteemi jt. liikide viirusvaba istutusmaterjali tootmise üheks vältimatuks lülks on meristeemmeetod ja mikrokloonimine. Meristeemmeetod seisneb lühidalt järgmises. Taime pungast eraldatakse algkoe- e meristeemi lõik, mida kultiveeritakse *in vitro* uue taime regenereerimise eesmärgil. Nii saadud taimi paljundatakse samuti *in vitro* regenerandi jagamise teel, mida nimetatakse mikrokloonimiseks.

Eeltoodud meetodite kasutamine ei toimu kõikjal täpselt ühtemoodi, vaid siin on palju võimalusi. Selleks, et meristeemtaim oleks tõepoolest viirustest ja teistest kahjustajatest vaba, kasutatakse enne meristeemi eraldamist ja kultiveerimist mitmeid võtteid nagu soojusravi e. termoteraapiat, kemoteraapiat või kiiritust. Samuti on mikrokloonimisel palju võimalusi. Sellest, milliseid võtteid ja kuidas kasutatakse, sõltub tehnoloogia odavus, lihtsus ja kogu efektiivsus.

Teaduskeskuse EVIKA kartuli viirustest tervendamise süsteem erineb mitmeti mujal kasutatavatest. Põhlisteks erinevusteks võib lugeda järgnevat: meristeem eraldatakse ainult rohelistelt taimedelt, mis on enne läbinud soojusravi e termoteraapia. Iga meristeemilõigu järglaskonda säilitatakse ja käsitletakse eraldi meristeemkloonidena, enne meristeemtaimede paljundamist seemnekasvatusele võrreldakse meristeemkloone põllul ja selekteeritakse morfoloogiliste tunnuste ning majanduslike omaduste põhjal parimad.

Tervendussüsteem koosneb kolmest tsüklist, mis omakorda koosnevad reast etappidest. Oluline on ka see, et igal etapil pööratakse erilist tähelepanu valikule. Tähelepanekud näitasid, et meie süsteemi järgi tervendatud seemnekartul oli suurema saagikusega ja erines lehemädanikku nakatumise poolest põldudel. Sellise informatsiooni saime ka Venemaalt Moskva ja Tomski oblastist, kus meie lepingupartnerid kasvasid samaaegselt EVIKA-s ja Venemaal tervendatud samade sortide seemet. See viis meid mõttele alustada meristeemkloonide erinevuste põhjalikumat uuringut. Praeguseks on uuritud enam kui 30 kartulisordi üle 300 meristeemklooni.

Uurimistulemused näitasid, et meristeemkloonide saagikus varieerub arvestatavas ulatuses ja on stabiilse iseloomuga (Rosenberg, 1995, 1997). Kartuli-lehemädaniku resistentsuse uurimine näitas, et meristeemkloonid erinesid *in vitro* taimede tasemel ja põllul (Rosenberg, Talvoja, 1995; Rosenberg jt., 1996; Talvoja, 1996). Ka viirusresistentsuse poolest on meristeemkloonidel tuvastatud erinevusi (Agur jt., 1996).

Käesolevas töös oli eesmärgiks uurida sordi 'Eba' meristeemkloonide põhjal, kas on seoseid meristeemkloonide saagikuse ja mõne meristeemi tunnuse vahel, kas on seoseid emataime ja meristeemkloonide omaduste vahel. Eesmärgiks oli leida seoseid meristeemkloonide ja mõnede tegurite vahel, millest võiks sõltuda saagikuse varieeruvus. Nende seoste tundmine võimaldab tulemusi suunata ja kasutada taolist fenomeni efektiivsemalt kartuli sordiaretures ning seemnekasvatases.

Sort 'Eba' valiti uurimistööks seetõttu, et katsete algusperioodil oli see Eestis kasvatamiseks rajoonitud sort. Hilisemad tulemused on näidanud, et 'Eba' on koekultuuris labiilsem ja seega osutus heaks mudeliks mitmete seaduspärasuse uurimisel.

Materjal ja meetodika

Meristeemkloonid (ühe meristeemilõigu järglaskond) pärinesid teaduskeskuse EVIKA tervendussüsteemi kohaselt (Rosenberg jt., 1996) termoteraapia läbinud roheliste taimede pungadest. Tabelis 1 on toodud punga paiknemine võrsel, meristeemilõigu suurus ja kultiveerimise aasta. Meristeemklooni (MK) 295 emataim pärines Hollandist toodud seemnematerjalist. Samast lähtematerjalist pärinevad algselt ka kõik hiljem tehtud meristeemkloonid. MK 3373 ja 3471 pärinesid sama mugula erinevalt võrselt.

MK 996, 999, 9000 pärinesid EVIKA-s tervendatud ja 2 aastat seemnepõllul kasvanud valikpesa mugulaist (Kuusalu põld). Pesas oli 117 mugulat. Kõik meristeemkloonid, mille esimene nr. on 3373 ja 996, pärinesid vastavate meristeemkloonide katseklaasis paljundatud ja termoteraapia läbinud emataimedest. Meristeemkloonid kontrolliti enne katsematerjali paljundamist kartuliviiruste X, S, M, Y, KL suhtes Eksperimentaalbioloogia Instituudis.

Katseid alustati ainult viirusvaba II põlvkonna meristeemmugulatega. Need olid paljundatud ja kasvatatud EVIKA tehnoloogia järgi (Rosenberg jt., 1996). Kõikide meristeemkloonide taimi säilitati ka *in vitro*. Põldkatsete toimusid Saku katsepõldudel. Iga katseeriati alustati meristeemtaimedest kasvatatud II põlvkonna mugulatega, mida kasutati selles seerias kolm aastat, s.t. II...V mugulpõlvkonnani. Katsed rajati neljas korduses. Kuni 1996. aastani oli katselapil 90 taime, hiljem 40 taime. Agrotehnika tase ja mullastik erines aastati. Põllul ei tehtud taimekaitseteid, sest uuriti ka meristeemkloonide haiguskindlust. Koristamisel kaaluti mugulad, arutati pesa keskmine mass. Saaki (t/ha) arvestati pesa massi ja taimede arvu (57 000 taime ha-l) järgi. Põllul kirjeldati ka sordi morfoloogilisi tunnuseid ja hinnati taimiku ühtlikkust.

Tulemused ja arutelu

Katsetulemuste põhinäitajad on toodud tabelis 1. On näha, et esineb üksikuid teistest märgatavalt suurema saagikusega meristeemkloone. Need esinevad kõikides gruppides, sõltumata emataimedest. Siin ei ilmne seos emataime ja meristeemklooni saagikuse vahel. Mõneti üllatavad olid tulemused siis, kui valiti spetsiaalselt suuresaagiline pesa, milles oli 117 mugulat. Selliseid põõsaid oli 2,8 ha II põlvkonna seemnepõllul 11. Need paistsid silma eriti rohke võrsete ja mugulate arvu poolest, mis varieerus 56-st 117-ni. Sorditunnuste poolest ei erinenud need põõsad ülejäänud taimikust.

Saagikuse potentsiaali ja selle seose edaspidiseks uurimiseks tehti MK 3373 ja 996 uued meristeemkloonid. Meristeemid eraldati katseklaasist kasvupotti istutatud ja 7 nädala jooksul soojusravi läbinud emataimedelt. Saagikus varieerus mõlema emataimede meristeemkloonidel. MK 3373 oli seni suurima saagikusega, kuid selle järglaste hulgas ei olnud emataimedest suurema saagikusega meristeemkloone. Viiest MK 3373 järglasest oli vaid üks samasuguse saagikusega, ülejäänud neli olid madalama saagikusega. Emataim 996 oli väiksema saagikusega, kuid selle järglaskonnas esines kaks suuresaagilist MK-d. Emataime 3373 järglaskonna saagikuse varieeruvus oli mõnevõrra väiksem kui 996 järglaskonnal.

Tabel 1. Kartulisordi 'Eba' meristeemkloonide võrdluse tulemused
Tabel 1. Comparison result of meristemic clones of the variety 'Eba'

Meristeem- klooni nr.	Meristeemi kultiveerimise aasta	Meristeemi paiknemine võrsel	Meristeemi- lõigu suurus mm	Saak t/ha	Põldkatsete läbiviimise aastad
<i>Number of meristemic clone</i>	<i>Year of cutting meristem</i>	<i>Location of meristem on shoot</i>	<i>Size of meristemic cut mm</i>	<i>Yield t/ha average of 3 years</i>	<i>Years of field tests</i>
295	1981	TK	0,5	28,5	1986, 1987, 1988
3373	1983	TK	0,2	47,5	
3471	1983	TL	0,5	44,0	
3373	1983	TK	0,2	36,7	1989, 1990, 1991
996	1986	LK	0,3	24,6	
999	1986	LKT	0,3	23,1	
1000	1986	LKT	0,3	23,5	
3373	1983	TK	0,2	27,7	1995, 1996, 1997
3373/329	1991	TL	0,3	24,3	
3373/330	1991	TK	0,3	24,2	
3373/331	1991	ÕK	0,3	27,0	
3373/333	1991	ÕK	0,3	17,8	
3373/335	1991	T	0,3	18,7	
996	1986	LKT	0,3	16,8	
996/427	1991	TL	0,3	27,3	
996/430	1991	TL	0,3	17,2	
996/434	1991	TL	0,3	28,5	
996/435	1991	ÕK	0,3	16,9	

Meristeemi paiknemise tähistete seletus:

TK – võrse tipu kõrval
LK – varre lehekaenlas
ÕK – õisiku kõrval

TL – tipu lähedal
LKT – varre lehekaenla võrse tipp
T – peavõrse tipp

Nende andmete põhjal saab järeldada, et meristeemkloonide saagikuse varieerumine ei sõltu otseselt emataimedest. Meristeemklooni saagikuse erinevuse püsivat iseloomu näitab MK 3373. Viimastes katseseeriates oli MK 3373 saagikus väiksem kui esimestel aastatel. Selle põhjal ei saa väita, et meristeemklooni 3373 saagipotentsiaal on vähenenud.

Tõenäoliselt on põhjus selles, et muudel aastatel oli kogu katsepõllu saagikus väiksem. Fakti kontrollimiseks korraldatakse uued katsed. Tabelis toodud andmete põhjal ei ole näha olulisi seoseid meristeemkloonide saagikuse, meristeemi võrsel paiknemise ja eraldatud meristeemi suuruse vahel. Küsimused vajavad edaspidi veel põhjalikumat uurimist.

Suurema saagipotentsiaaliga 'Eba' meristeemkloonide taimed olid selgete välistunnustega: rohkem varsi, tühtlasem elujõulisem taimik, varajasem ja intensiivsem õitsemine. Sordi 'Eba' suurema saagikusega meristeemkloonid tärkasid varem, varred olid jämedamad, lehed laiemad. Madalama saagikusega meristeemkloonide taimik oli ebahütlane ja õied kuivasid sageli enne avanemist, eriti põuasel ajal. Ka tärkliisisalduse poolest olid 'Eba' meristeemkloonid erinevad. Viie aasta keskmisena oli kõige kõrgem tärkliisisaldus MK 999-I ja kõige madalam 3373-I, vahe 1,8%.

Mutatsioonide ja variatsioonide esinemine või nende esilekutsumine taime koekultuurides on viimastel aastatel pälvunud üha enam tähelepanu (Lombardi jt., 1994; Larkin, Banus, 1995). Nendele nähtustele püütakse leida seletust molekulaarbioloogilisel tasemel. Käesolevas uurimistöös on uuritud kartuli meristeemkloone seni peamiselt agronoomilisest seisukohast. Meie tulemused on äratanud laiemat huvi, kuna sellise uurimistöe kohta mujal andmed puuduvad.

Märkimisväärne on tõsiasi, et parimate majanduslike omadustega meristeemkloonidel ei esinenud kõrvalkaldeid morfoloogilistest sorditunnustest.

Kokkuvõte ja järeldused

Uurimistöe näitas, et meristeemkloonide erinevused olid arvestatava ulatusega ja stabiilse iseloomuga. Ei saa kindlalt väita, et suuresaagilistelt emataimedelt saab ka suuresaagilisi meristeemjärglasi. Meristeemkloonide saagikuse, meristeemi võrsel paiknemise, eraldatud meristeemilõigu suuruse vahel ei ilmnenud selgeid seoseid.

Uurimistulemused näitasid, et kartuli seemnekasvatuse seisukohalt on tingimata vajalik meristeemkloonide võrdlemine enne nende paljundamist seemnekasvatusele. Muidu võib juhtuda, et paljundatakse madala saagipotentsiaaliga algmaterjali. Selliseid ilminguid on esinenud kartuli, maasika ja lillede koekultuuri materjali paljundamisel.

Seni ei ole teada selle nähtuse põhjendust ega osata sellest teadlikult hoiduda. Tõenäoliselt siin võib olla tegemist meristeemkloonide erinevustega. Ei ole välistatud ka variatsioonide tekkimine koekultuuris. Variatsioonid võivad olla agronoomilisest seisukohast positiivsed või negatiivsed. Positiivsete variatsioonide avastamine või oskus neid esile kutsuda võimaldab parandada seemne- või istutusmaterjali kvaliteeti. Samuti võib kiirendada aretusprotsessi.

Käesoleva uurimistöe väärtuslikumad tulemused seisnevad selles, et tõestati meristeemkloonide saagikuse erinevuse stabiilsus ja ulatus.

Kirjandus

- Agur M., Kollist Ü., Tikk E., Soon K. Kartuli aretus – lähtematerjali viirusresistentsuse tõstmise tehnoloogilistest võimalustest. – Kaasaja meetodid sordiaretus, Jõgeva, lk. 73...85, 1996.
- Larkin P. J., Bauks P. M. Exploiting Somaclonal Variation – Especially Gene Introgression from Alien Chromosomes. – Current Issues in Prant Molecular and Cellular Biologi, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p. 225...234, 1995.
- Lombardi D. A., Augelini P., Festa F. P., Raimo F. Somaclonal Variation in *Nicotiana Tabacum* L. – VIIIth International Congress of Plant Tissue and Cell Culture. Firenze, p. 123, 1994.
- Rosenberg V. Results, showing possibilities of meristem method for improving some characteristics of potato varieties. – Current Issue in Plant Molecular and Cellular Biology, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p. 423...426, 1995.
- Rosenberg V. Research on yield capacity of meristem clones. – EAPR Joint Agronomy-Utilization Conf., Halmstad, Sweden, p. 34...35, 1997.
- Rosenberg V., Kotkas K., Särekanno M. Meristeemmeetod ja mikrokloonpaljundus kartuli seemnekasvatuses Eestis. – Põllumajandus, nr. 7/8, Tallinn, lk. 4...6, 1996.
- Rosenberg V., Kotkas K., Talvoja P. The research of differences of potato meristem clones on the resistance to *Phytophthora infestans* on the field and *in vitro* conditions. – 13th Triennial Conf. of the European Association for Potato Research. Veldhoven, The Netherlands, p. 413...414, 1996.
- Rosenberg V., Talvoja P. Meristeemkloonide erinevused. – Põllumajandus, nr. 12, lk. 5, 1995.

Talvoja P. Kartuli meristeamkloonide lehemädaniku *Phytophthora infestans* (Mont. de Bary) resistentsuse uurimine. – Eesti teadlaste kongress 96, ettekannete kokkuvõtted, Tallinn, lk. 384, 1996.

The Variation of Yielding Ability of Meristem Clones of Potato Variety ‘Eba’

V. Rosenberg

Summary

15 meristem clones of variety ‘Eba’ were tested. The meristem clones were obtained from same and from different mother-plants. Before isolation of meristems all mother-plants passed the virus eradication system created in EVIKA.

The yield of meristem clones and some characteristics of meristem are given in table 1. Current results show that meristem clones differ on their productiveness, disease resistance and on some extent also on dry matter content, but the variation of yield does not depend on location or size of meristemic cut.

There was no interaction between mother-plant and yielding ability of meristem clones.

Up to now we have not observed convincing interaction between characteristics of meristem and traits of meristem clones. But the results clearly indicate that with the help of scientific selection of meristem clone it is possible to improve quality of seed potato and to correct some traits of varieties.