

# TERVENDATUD KARTULITAIMEDE SAAGIKUS *IN VITRO* JA KILERULLIS PALJUNDAMISEL

K. Kotkas

Eestis toimub seemnekartuli algmaterjali tervendamine, saagikuse ja haiguskindluse suurendamine ja sellealane uurimistöo EPMÜ Taimebiotehnoloogia Uurimiskeskuses EVIKA. Tervete taimede paljundamine biotehnoloogiliste võtete abil on tänapäeval saanud taimekasvatuse lahutamatuks osaks.

Levinum on kartulitaimede paljundamine mitmesuguste pistikutega, mis on saadud idu või varre vähemalt ühe lehealgega lõikudest (idu-, varre-, tipu- ja võrsepistikud) (Goodwin *et al.*, 1980; Bryan *et al.*, 1981). Varre- ja tipupistikuid võib lõigata tavalisest kartulitaimest või *in vitro* tingimustes kasvanud taimest. Viimaseid nimetatakse mikropistikuteks. Seemnekasvatuse ja uute sortide algmaterjali massilisel paljundamisel on maailmas enim levinud tervendatud taimede paljundamine mikropistikutega *in vitro* steriilsetes laboratoorsetes tingimustes (Mastenbroek, Eising, 1987; Jones, 1988).

*In vitro* kartulitaimed lõigatakse ühe või kahe lehealgega lõikudeks, mis kantakse uuele toitesegule. Mikropistikute lehekaenlas asuvast pungast regenereerub uus taim. Taimede regeneratsiooni kiirus ja kvaliteet sõltub eeskätt toitesegu koostisest, valgus- ja temperatuuritingimustest, samuti sordi eripärasest. Meie oma katsetes oleme ühest katseklaasitaimest saanud 5–12 mikropistikut. Arvestades, et iga 20 päeva järel saab igast taimest lõigata vähemalt 6 uut pistikut, võime teoreetilise arvestuse kohaselt saada ühest taimest poole aastaga 1,67 mln. taime (Kotkas, 1984).

Paljude spetsialistide arvates on *in vitro* taimed nõrgad ja vajavad väljaistutamisel hoolikat käsitsemist. Seetõttu on uuritud võimalusi, kuidas juba katseklaasis saada mugulaid. Toitesegude ja kasvutingimustega kombineerides indutseeritakse taimede lehekaenlas mugulate moodustumine, mille tulemusena saadakse mikromugulad, keskmiselt üks kuni kaks 0,2 grammist või väiksemat mugulat taime kohta (Hussey, Stacey, 1984; Estrada, Dodds, 1986; Garner, Blake, 1989; Nowak, Asiedu, 1992). Mõnede autorite andmetel on saadud ka 0,4 grammiseid ja suuremaid mugulaid (Rossell *et al.*, 1987; Lillo, 1989). Sellistest mikromugulatest kasvatatakse taimed, mis istutatakse seemnemugulate tootmiseks kasvuhoonesse (Coperland, 1990).

Kartulitaimede *in vitro* mikropistikutega või -mugulatega paljundamine eeldab laboratoorseid tingimusi vastava aparatuuri ja kemikaalidega. Seetõttu on antud meetodid keerulised, töömahukad ja suhteliselt kallid. Nende meetodite laialdase kasutamise kaasaegne suur elektrienergia kulu ja rohke kemikaaliderikas heitvesi toob kaasa keskkonna saastamise.

Eestis alustas V. Rosenberg kartuliseemne kasvatamise algmaterjali tervendamise, selle paljundamise ja kasvatamise probleemide teaduslikke uurimusi 1966. a. Esimeseks tervendatud taimede paljundamise tehnoloogiaks oli taimede mikrokloonimine *in vitro* (Rosenberg, 1981), mida kasutati ka seemnekasvatamajandites aastatel 1980–1987. Edasistes uurimustes seati eesmärgiks luua sellised taimede paljundamise meetodid, mis oleksid efektiivsed, lihtsad, seemnekasvatavate poolt laialdaselt kasutatavad ja ei saastaks loodust. Vastavalt meie poolt loodud tehnoloogiale (Rosenberg, Kotkas, 1986) paljundatakse kartulitaimi mikropistikutega kilerullis turbasubstraadil.

## Materjal ja meetodika

Uurimistöo eesmärgiks oli kilerullis paljundamise tehnoloogia täiustamine, eeskätt esimese põlvkonna taimede produktiivsuse suurendamine. Teaduskeskuses EVIKA aastatel 1994–1996 läbi viidud katsetes uuriti tervendatud meristeemtaimede mugulate arvu, suuruse ja ühtlikkuse kujunemist sõltuvalt taimede paljundusviisist. Samuti uuriti tipu- ja varrepistikute arengut ning kvaliteeti kilerullis paljundamisel, sõltuvalt juurdumispuulbri Juka 4 kasutamisest.

Katsetes kasutati teaduskeskuse EVIKA geenipanga 4 sordi ('Berber', 'Varajane kollane', 'Lasunak', 'Vigri') taimi. Sordid valiti kartulisortide pikaajalise *in vitro* geenipangas säilitamise alaste uurimuste ja põldkollektsioonide hindamise tulemuste põhjal. Sorditüüpiliselt on need erineva kasvuaja, mugulate arvu ja suurusega sordid. Taimedest mugulate kasvatamisel oli teada, et suhteliselt vähe, aga suuri mugulaid on sordil 'Varajane kollane', arvuliselt enam ja keskmise seemnefraktsiooni suurusega (60–80 g) moodustub mugulaid sordil 'Vigri'. Sortide 'Berber' ja 'Lasunak' mugulate arv on olnud sarnane; 'Berber' on varajane ja ka kiire taimedest mugula moodustumisega; 'Lasunak' on hiline, suhteliselt lehemädanikukindel ja taimedest kasvatamisel võib moodustuda suuri mugulaid.

Taimede paljundamise variandid (kõikidel aastatel istutati katsetaimed põllule 10. juuni paiku) on järgmised.

1. Taimi paljundati *in vitro* mikropistikutega ja kasvatati enne põllule istutamist 2 nädalat kilerullis.

2. Katseklaasist istutati taimed (05.–06. mai) kilerulli ja seejärel (19.–20. mai) võeti taimel tipupistikud (tipulõik, keskmiselt 2 cm), mis juurutati kilerullis.

3. Katseklaasist istutati taimed (05.–06. mai) kilerulli ja seejärel (19.–20. mai) võeti taimel varrepistikud (varrelõik ühe lehealgega), mis juurutati kilerullis.

4. Kilerulli (05.–06. mai) istutatud taimi lõigati pealt (19.–20. mai) kuni viimase leheni. Taimest alles jäänud juureosa koos ühe lehealgega (nn kontsud) jäeti kilerulli edasi kasvama. Kolme nädala pärast arenesid 'kontsudest' taimed, mis istutati põllule.

5. Kilerulli (14.–15. aprill) istutatud taimi lõigati esimest korda pealt (28.–29. aprill) kuni viimase leheni. Taimest allesjäänud osa, nn. kontsud, jäeti kilerulli edasi kasvama. Kolme nädala pärast arenesid 'kontsudest' taimed, mis lõigati (19.–20. mai) uuesti pealt kuni viimase leheni. Allesjäänud 'kontsudest' kolme nädala pärast arenenud taimed istutati põllule.

Viimase paljundustsükli (19.–20. mai) ajal töödeldi pooled tipu- ja varrepistikud ning 26.–27. mail pooled *in vitro* taimed enne kilerulli istutamist juurdumispulbriga Juka 4. Nädal pärast kilerulli istutamist hinnati taimede arengut, loeti juured ja lehed (sõlmevahed); mõõdeti juurte pikkus ja taimede kõrgus; arvatati juurdumise protsent.

Igast paljundamise variandist istutati põllule 20 taime neljas korduses, kokku 1600 taime. Juurdumispulbriga Juka 4 töötlemata variandist istutati põllule 1., 2., 3. paljundusvariandi taimedest igatühist 20 taime 4 korduses, kokku 960 taime. Vao laius oli 70 cm ja taimede vahekaugus vaos 20 cm. Taimede kilerullis hooldamine, aklimatiseerimine, avamaale istutamine, muldamine ja koristamine toimus EVIKA kartulitaimede paljundamise ja esimese mugulpõlvkonna avamaal kasvatamise metoodika järgi. Kasvuaegselt hinnati taimede arengut; koristamisel loeti ja kaaluti mugulad ning hinnati nende ühtlikkust.

## Tulemused ja arutelu

Kartuli meristeemtaimede produktiivsus sõltus paljundusmeetodist, paljunduskordade arvust kilerullis ja juurdumispulbri Juka 4 kasutamisest. Suurem kogus optimaalse suurusega mugulaid saadi 1., 4., 5. paljundusvariandi taimedelt juurdumispulbri Juka 4 kasutamisega.

Kasutades juurdumispulbrit Juka 4 kilerullis paljundamisel, moodustus tipu- ja varrepistikutel 1,7–2,5 korda enam juuri (tabel 1).

**Tabel 1.** Juurdumispulbri Juka 4 mõju pistikute arengule kilerullis

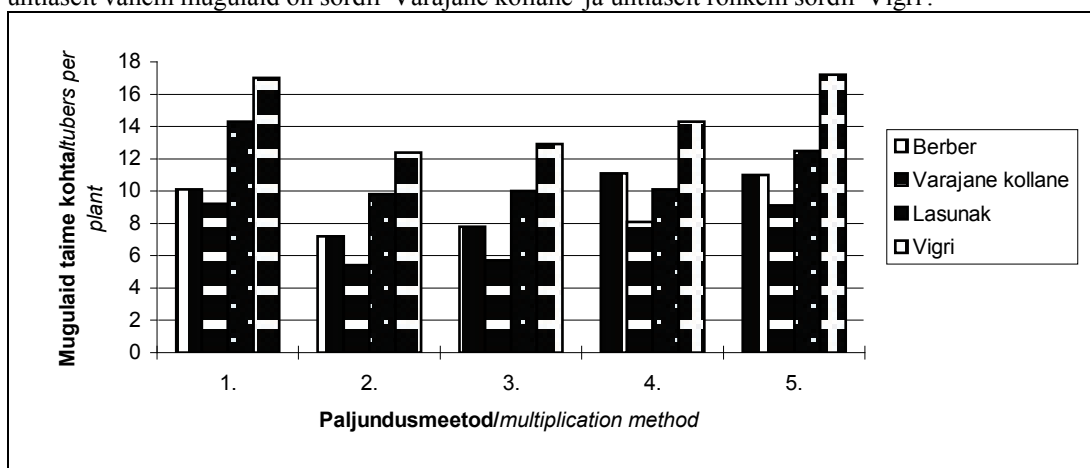
**Tabel 1.** *The influence of the rooting powder Juka 4 on the development of cuttings in the plastic rolls*

Variant	Sort	Juured		Juurumine	Taimede kõrgus	Sõlmevahede arv
		<i>Roots</i>		<i>Rooting</i>		
		arv	pikkus cm	%	cm	number of
		<i>number length cm</i>			<i>nodes</i>	
Pulbriga	'Berber'	7,0	1,9	98	3,4	3,6
	'Varajane kollane'	9,4	2,1	100	4,2	4,5
	'Lasunak'	8,5	1,9	100	3,9	4,0
	'Vigri'	10,0	1,3	100	3,8	5,0
Pulbrita	'Berber'	1,5	0,6	48	2,2	2,1
	'Varajane kollane'	3,0	0,8	77	2,8	3,0
	'Lasunak'	4,0	1,1	60	2,3	3,5
	'Vigri'	4,8	0,9	77	2,4	3,8

Sõlmevahede arv iseloomustab taime paljunduskoeffitsienti, mida rohkem on lehealgeid, seda enam pistikuid saab ühest taimest lõigata. Juurdumispulbri kasutamisel moodustus pistikutel enam ja suuremaid lehealgeid, olenevalt sordist 0,5–1,5 paljunduskõlblikku pistikut. Samuti oli juurdumispulbriga töödeldud pistikute areng ja juurdumine ühtlasem ning seda kõikide sortide korral. Pulbri mittekasutamisel sõltus pistikute juurdumine sordist. Paremini juurdusid sortide 'Varajane kollane' ja 'Vigri' pistikud, vähem ja ebahühtlaselt moodustus juurealgeid sordi 'Berber' pistikutel. Juurdumispulbri kasutamine mõjutas kilerullis tipu- ja varrepistikutega paljundatud taimede arengut ja juurdumist enam kui katseklaasitaimede oma.

Taimede saagikus sõltus paljundusmeetodist ja sordi eripärast enam kui juurdumispulbri kasutamisest. Sõltuvalt sordist olid katseklaasist paljundatud (variant 1) ja kilerullis 1–2 korda pealt lõigatud (variandid 4, 5) taimedel 1,8–2,6 korda enam mugulaid taime kohta kui kilerullis lihtsalt tipu- ja varrepistikutega paljundatud (variandid 2,3) taimedel. Pealt lõigatud taimed kasvavad kilerullis ajaliselt kauem, nende juuresüsteem on tugevam ja selle tulemusena moodustub enam mugulaid kui keskmiselt 3 nädalat kilerullis kasvanud tipu- ja

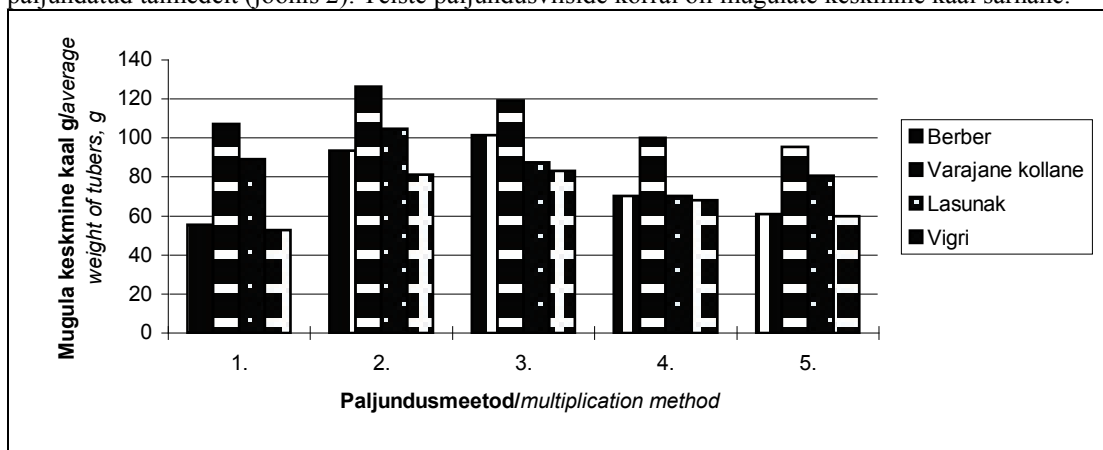
varrepistikutel. Jooniselt 1 nähtub, et paljundusviis on mõjutanud mugula arvu sarnaselt kõikide sortide korral, ühtlaselt vähem mugulaid on sordil 'Varajane kollane' ja ühtlaselt rohkem sordil 'Vigri'.



**Joonis 1.** Paljundusmeetodi mõju mugulate arvule taime kohta

*Figure 1. The influence of multiplication method on the number of tubers per plant*

Mugulate keskmine kaal sõltus rohkem sordi eripärast, paljundusviisist ja vähem juurdumisulbri kasutamisest. Kõikide sortide korral saadi kaaluliselt raskemad mugulad kilerullis tipu- ja varrepistikutega paljundatud taimedelt (joonis 2). Teiste paljundusviiside korral oli mugulate keskmine kaal sarnane.



**Joonis 2.** Paljundusmeetodi mõju mugulate keskmisele kaalule

*Figure 2. The influence of multiplication method on the average weight of tubers*

## Kokkuvõte

Katsest selgus, et tervendatud kartulitaimede mugulate arv taime kohta ja mugulate keskmine kaal sõltus rohkem taimede paljundusmeetodist, lõikamiskordade arvust, sordi eripärast ja vähem juurdumisulbri Juka 4 kasutamisest. Juurdumisulbri kasutamise positiivne efekt ilmnes kilerullis kvaliteetsete taimede saamisel, mis omakorda tagas taimede ühtlasema juurdumise ja arenemise põllul. Produktiivsemaks osutusid 1., 4., 5. paljundusvariandi taimed. Tervendatud kartulitaimede kui seemnekasvatuse algmaterjali paljundamine kilerullis on lihtne, odav ja loodust vähem saastav. Taimede paljunduskoeffitsient on kilerullis paljundamisel tänu sellele, et taimi saab mitu korda pealt lõigata, suurem kui katseklaasis paljundamisel.

Seemnekartuli algmaterjali tervendamine ja selle paljundamine on vajalik kõikjal, kus kartulit kasvatatakse. Mikropaljunduse meetodid on kaasaja saavutus, pakkudes järjest uusi võimalusi kartuli saagikuse ja kvaliteedi parandamiseks. Teaduslike uurimiste eesmärk on muuta paljundusmeetodid efektiivsemaks, vähendades kulutusi energiale ja tööjõule, et maksimaalselt ära kasutada meristeemmeetodil tervendatud algmaterjali saagipotentsiaali. Seemnekartuli tervendatud algmaterjali massilise paljundamise tähtsus on järjest suurenenud. Näiteks Euroopas on võrreldes 1993. aastaga paljundatud materjali (taimed, mikro- ja minimugulad) koguarv suurenenud kaks korda: 10-lt miljonilt 20-le. O. R. Fionnbarri (1998) andmetel oli 1997. aastal Euroopas taimebiotehnoloogiaga tegelevaid laboreid kokku 504, neist 97 ehk 19 % tegeles kartuli koekultuuridega.

## Kirjandus

- Bryan J. E., Jackson M. T., Melendez N. G. 1981. Rapid multiplication techniques for potatoes. International Potato Centre, Lima, Peru: 16.
- Coperland R. B. 1990. Yield and disease levels in progeny of field-grown mini- and microtubers. Abstracts of the 11th Triennial Conference of EAPR, Edinburgh, UK: 450–451.
- Estrada R. P., Dodds J. H. 1986. Induction of *in vitro* tubers in a range of potato genotypes. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 7: 3–10.
- Fionnbharr O. R. 1998. Importance of potato tissue culture in Europe. Development of integrated systems for large scale production of elite plants using *in vitro* techniques. Abstracts of Conference on Potato seed production by tissue culture, Brussels, Belgium: 2.
- Garner N., Blake J. 1989. The induction and development of potato microtubers *in vitro* on media free of growth regulating substances. Annals of Botany 63: 663–674.
- Goodwin P. B., Kim Y. C., Adisarwanto T. 1980. Propagation of potato by shoot-tip culture. 1. Shoot multiplication. Potato Research 23: 9–18.
- Hussey G., Stacey N. J. 1984. Factors affecting the formation of *in vitro* tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). Annals of Botany 53: 565–578.
- Jones E. D. 1988. A current assessment of *in vitro* culture and other rapid multiplication methods in North America and Europe. American Potato Journal 65: 209–220.
- Kotkas K. 1984. Varremeristeemi meetodil tervendatud kartulitaimede mikropistikutega paljundamist mõjutavad tegurid. Vabariiklik noorteadurite võislustöö. Saku, 47.
- Lillo C. 1989. A simple two-phase system for efficient *in vitro* tuberization in potato. Norwegian J. of Agric. Sci. 3: 23–27.
- Mastenbroek I., Eising J. 1987. Optimum production of tubers from *in vitro* plantlets. Abstracts of the 10th Triennial Conference of EAPR, Aalborg, Denmark: 123–124.
- Nowak J., Asiedu S. K. 1992. Gelling agent and light effects on *in vitro* tuberization of potato cultivars. American Potato Journal 69: 461–670.
- Rosenberg V. 1981. Sposob polutsenie posadosnovo materjala kartofelja i sreda dlja razmnozenija regenerirovannõh rastenii. SU Autoritunnistus nr. 1025373.
- Rosenberg V., Kotkas K. 1986. Sposob razmnozenija posadosnovo materiala kartofelja v kulture tkani. SU Autoritunnistus nr. 15013118.
- Rossell G., F. G. De Bertholdi, Tizio R. 1987. *In vitro* mass tuberization as a contribution to potato micropropagation. Potato Research 30: 111–116.

### **The Productivity of Disease-Free Potato Plants Obtained by Propagation *in vitro* and an Plastic Rolls**

K. Kotkas

Summary

The potato, a vegetatively propagated crop, requires healthy disease-free planting material. The micropropagation is a clonal multiplication method and one way to increase the amount of pathogen-free material rapidly. At present the *in vitro* plantlets and microtubers are commonly used for speeding up multiplication at the start of seed programme. The effectiveness, energy expenditure, and the degree of pollution of the environment differ much in each method.

In Estonia according to the technology developed in Research Centre EVIKA, the multiplication is carried out in plastic rolls. The multiplied plants are not always with same productivity and seed tubers with uniform size. In the test-fields of the first generation the influence of 5 multiplication methods, rooting powder Juka 4, and 4 genotype on the number and size of seed tubers was studied.

By the using of rooting powder Juka 4 the tip- and stem-cuttings had 1.7–2.5 times more roots. The amount of tubers per plant and size was more influenced by the method of multiplication, genotype, as a rooting powder. The *in vitro* plants and plants multiplied 1–2 times in plastic rolls had 1.6–2.8 times more tubers per plant as plants obtained from tip- and stem-cuttings. In seed production fields the average number of tubers per plant has been 6.5–9.0 and it is per more as a half million plants.