

Alfred TIITS

УДК 575.24

## KARTULI KLOOROPLASTMUTANTIDEST

Isetolmlemisseemikute kaudu kartulisortide päriliku viirusnakkuse uurimisel kasutati võimaliku aktiveerijana N-nitroso-N-metüülkarbamiidi (Tiits, 1983), hiljem ka (1,4-bis)diasoatsetüülbutaani, gammakiiri jt. mutageene. Mutageeni mõju aga päriliku viirusnakkuse aktiveerijana ei täheldatud. N-nitroso-N-metüülkarbamiid (NMK) mõjus märgatavalt seemikute välispildile, kusjuures mõju sortide järgi on väga erinev. Kui ühtede kartulisortide seemikutel ei ilmunud kasvatamise jooksul mingeid väliselt märgatavaid kõrvalekaldeid, siis teiste sortide seemikute seas oli taimi, mille lehtedel esines heledamaid piirkondi. Eriti rohkesti, ligi 100%-liselt, oli selliseid taimi sordi 'Stina' seemikute hulgas. Ühed taimed olid peaaegu valged, teised (enamik) kirjud (joon. 1), kolmandad aga rohelised või vaid väheste väikeste heledamate laikudega. Valged seemikud olid eluvõimetud; mõnesentimeetrise taimena nad hävisid. Mõned nendest siiski taastusid maa-alusest osast normaalrohelisena või väheste valgete laikudega. Rohelise-valgekirjud taimed aga kasvasid tärkamisest alates hoogsalt, kusjuures hiljem moodustunud lehtedel heledate laikude arv vähenes ning lõpuks võis ladvas täheldada täiesti normaalrohelisi lehti (*virescens*; vt. Калам, Орав, 1974). Kõik see vääris tähelepanu, sest kartuliseemikutel ei olnud kloroplastmutatsioone uuritud, kuigi seda on tehtud tubaka- ja tomatiseemikute juures (Burk, Stewart, Dermen, 1964; Hosticka, Hanson, 1984). Kartuli puhul on uuritud mutageenide mõju mugulate kudedele (Асеева, Яшина, 1968; Simmonds, 1969).

### Metoodika

Kartulisordi 'Stina' seemne töötlemisest NMK-ga (0,04%-line vesilahus, 22 tundi) saadud mutantsete taimede lehtede normaalroheliste, heleroheliste ja valgete piirkondade kudesid uuriti valgusmikroskoobi abil. Kasutati nii vette sisestatud käsitsi tehtud lõike kui ka värvitud (*safranin-fastgreen*) parafiinlõike.

Seemikutelt, mille muguljärglaskonnas kloroplastmutantsus säilis, võeti seemet, seda nii isetolmlemisest kui ka ristlusest. Et näha kloroplastmutantsuse pärandatavust nii munaraku kui tolmutera kaudu, siis tehti ristlused retsiprookselt sordi 'Amex' kõrge fertiilsusega seemikuga 'Ams 53', mis on normaalroheliste lehtedega. Tolmu kogumist, õite kastreerimist, isoleerimist ja tolmeldamist tehti kartuli aretustöös kasutataval viisil.

Külvid tehti kõigepealt Petri tassidesse niiskele filterpaberile. Idandid istutati 10 cm läbimõeduga pottidesse. Seemiktaimi kasvatati talvel lisavalgustusega kasvuhoones seni, kuni nad andsid 10—15 mm läbimõeduga mugulad. Seemikute muguljärglasi aga kasvatati katsepõllul 70 cm vahe- dega vagues, kus taimede vahe oli 60 cm.



0,04% -lise NMK-ga töödeldud kartulisordi 'Stina' seemnest kasvanud taimede kõige alumistel lehtedel täheldati teravapiirilisi valgeid piirkondi, keskrides aga esines valgetel laikudel heleroheline üleminekuriba. Mikroskoopilisel uurimisel ilmnas, et valgetel laikudel oli nii sammaskude kui ka kobekude klorofüllita. Helerohelistes piirkondades oli sammaskude normaalne ja kobekude kas täiesti või osaliselt klorofüllita. Normaalarohelises osas oli aga nii sammu- kui kobekude roheliste plastiididega.

Teatavasti on kartuliseemiku arenemise algul meristeemis ainult kaks kihti —  $L_1$  ja  $L_2$ , kolmas ( $L_3$ ) tekib hiljem (Klopper, 1967). Lehe mesofüll kujuneb meristeemikihtidest  $L_2$  ja  $L_3$ . Sellest lähtudes tuleb arvata, et mutageen NMK toimib osaliselt idu meristeemikihi  $L_2$  rakkudele (proplastiididele) ning algul esinevad lehtedel seetõttu rohelise kõrval valged piirkonnad. Sedamööda, kuidas muteerunud plastiididega rakud  $L_2$ -s translokatsiooniga teel asendatakse normaalproplastiide sisaldavate rakkudega ja reduplikatsiooniga tekib viimastest ka normaalproplastiididega  $L_3$ -kiht (Bergann, Bergann, 1962), esinevad lehtedel kõrvuti valged, helerohelised ja normaalrohelised piirkonnad ning lõpuks kujunevad lehed, milles on kogu ulatuses normaalsete plastiididega mesofüll.

Toodu järgi võiks arvata, et kartulisordi 'Stina' seemne NMK-ga töötlemine mõjus idurakkude proplastiididele, mitte aga idurakkude genoomile. Kinnitada saab seda oletust mutantsete taimede mugul-, eriti aga generatiivjärglaskonna kloroplastmutantsuse jälgimisega.

Kartulisordi 'Stina' kõigist seemikutest, millel esines kloroplastmutantsus, kasvatati 1982. aastal muguljärglaskond. Ilmnas, et vaadeldav kloroplastmutantsus ei ole üldiselt vegetatiivjärglaskonda edasiantav, sest kõik taimed kasvasid normaalrohelistena. Siiski selgus, et kolme seemiku muguljärglaste seas esines kokku 4 puhmast, millel igaühel oli 1 või 2 kloroplastmutantset võrset: 'StsN 10'<sup>\*</sup> seas 1 heleroheliste lehelaikudega võrse; 'StsN 45' ühel puhmal 2 peaaegu täiesti valget võrset, mis hukkusid, ja teisel puhmal 2 võrset, mille lehtedel olid valged ja helerohelised piirkonnad (joon. 2); 'StsN 56' seas 1 valgete laikudega võrse. Nagu nende juhuslikult ettetulnud kloroplastmutantsete võrsete lehtede mikroskoopilise uurimisega selgus, pärines mutantsus kas  $L_2$ -kihist või  $L_2$ - ja  $L_3$ -kihist või ainult  $L_3$ -kihist. Järelikult seemikul 'StsN 45' kujunes kahes mugulas (teistel eespool nimetatud seemikutel ühes mugulas) osa silmi (meristeeme) mutantsete proplastiididega rakkudest.

'StsN 45' kirju lehestikuga elujõulistel võrsetel (tähistusega 'StsN 45c') kujunesid valgete ja/või heleroheliste piirkondadega (sektoritega) õiekroonid ja marjad. 'StsN 56' kirjul võrsel ('StsN 56c') aga normaalse värvusega õiekroonid ja marjad. Kuna need osutusid isefertiilseteks, siis saadi nii isetolmlemisemeet kui ka seemet 'StsN 45c' ristlusest 'Ams 53-ga' kloroplastmutandi generatiivjärglaskonna kasvatamiseks.

'StsN 45c' isetolmlemisest saadud 500 seemnest tuli algul 341 idu-taime. Normaalseteks taimedeks kasvas nendest ainult 190. Ülejäänud taimed hukkusid (osa nendest — ca 10% — oli valgete idulehtedega). 190 üleskasvanud taimest oli 14 taime kirju lehestikuga (joon. 2). Teatavasti on generatiivse pärandamise võime ainult meristeemi  $L_2$ -kihil. Järelikult ümberkorraldusprotsess, mis enamiku 'Stina' seemikute puhul viis mutantsete proplastiididega rakkude küllalt kiirele kadumisele, ei jõudnud 'StsN 45c' puhul lõpule isegi teisel vegetatsioonil ja mutantsed plastiidid ilmnnesid generatiivjärglaskonnas.

Algsete mutantsete taimedega ('Stina' seemikud) võrreldes olid 'StsN 45c' seemnest kasvanud taimed üldiselt analoogilised, ainult selle vahega,

\* St = 'Stina', s = seemik, N = N-nitroso-N-metüülkarbamiid. Kui seemiku kloonil säilib kloroplastmutantsus, siis on lisaks veel täht c.





Joon. 1. *Virescens* 'Stina' ühel seemikul.



Joon. 2. Pärandatud kloroplastmutantsus kartuliseemikul 'StsN45cs9'.



et mutantsus esines nende kasvades kauem, s.t. päris rohelised lehed ilmusid alles taimede kujunemise lõpupoole, tipuosas. Ilmselt toimusid viimastel taastavad ümberkorraldused meristeemis aeglasemalt kui 'Stina' seemikutel. See võis tingitud olla isetolmlemisseemikute nõrgenemisest II põlvkonnas (I<sub>2</sub>). Lõpptulemus osutus aga samaks: 1984. aastal olid ka nende muguljärglaste lehed normaalroheline, s.t. kloroplastmutantsus kadunud.

Tunduvalt eluvõimelisemad taimed saadi ristlusest 'StsN 45c' × 'Ams 53'. Seemikuid saadi 92% ulatuses (250 seemnest 230 seemikut). Normaalroheline isataime mõju kloroplastmutantsete taimede suhtarvule märgata ei olnud: see oli umbes samasugune kui isetolmlemisseemikute puhul, nimelt 12%. Võib-olla avaldus isataime mõju selles, et kloroplastmutantset seemikud kasvasid suhteliselt kiiresti normaalroheliseks.

Eelmisega samasugusel hulgal eluvõimelisi taimi saadi ka ristlusest 'Ams 53' × 'StsN 45c'. Retsiprookseid kombinatsioonist erinevalt ei esinenud kloroplastmutantseid seemikuid selle kombinatsiooni puhul, kus emataimeks oli normaalne ja isataimeks kloroplastmutantne taim.

Viimasest võib järeldada, et kartulisordi 'Stina' seemne NMK-ga töötlemisest kujunenud kloroplastmutantsus ei ole genoomne. See, olles väheselt pärandatav ainult emataime poolt, on ilmselt tsütoplasmaliselt määratletud, s.t. tingitud muutustest teatud osa plastiidide DNA-s. Plastiidide ülekande emastaimelt munarakku ja sealt uude taimi on küll harilik, kuid sellele vastupidi *Solanum*, *Nicotiana* ja mitme teise taimeperekonna valminud õietolmutterades plastiide ei esine (Burk jt., 1964; Clauhs, Grun, 1977). Järelikult ei saa ka plastiidselt määratletud kloroplastmutantsus uude taimi üle kanduda. Kui kloroplastmutantsus oleks genoomne, siis see kanduks uude taimi üle ka õietolmutteraga.

Ka kloroplastmutantsuse suhteliselt vähene kandumine järglaskonda ja kerge kadumine ontogeneesi vältel räägib tsütoplasmalise päritolu kasuks.

Kloroplastmutantsuse pärilikkust esines ka 'StsN 56c' isetolmlemisseemikute seas, nimelt 2% ulatuses, kuid klorofüllil muutus kadus äärmiselt ruttu (seemiku 4. või 5. leht oli juba täiesti normaalne).

Kartulisordi 'Stina' NMK-mutantsete seemikute kohta märgitagu veel seda, et mõõdukalt kirjute lehtedega taimede seas esines küllalt arvukalt tugeva kasvuga taimi, kusjuures ka mugulate kogus taimi kohta oli suurem kui 'Stina' töötlemata seemnest kasvatatud taimedel. Kuna kloroplastmutantsus kuulub letaalmutantsete hulka, siis rakkude mosaiiksuse korral võis vallanduda omapärane heteroos (Реммельг, 1966; Авдеев, 1983). Kui kartulit kasvatatakse seemne külvist, nagu seda tehakse lõuna-poolsetes maades, siis saaks seda heteroosi kasutada.

Kokku võttes öeldagu, et NMK on mõningate kartulisortide seemnele tugeva mõjuga, ta toimib idude proplastiididele, põhjustades kloroplastmutantsuse ja kimäärsuse. Muutus enamasti kaob, kuid säilimise korral on maternaalselt vähesel määral pärandatav ainult järgmisse põlvkonda.

## KIRJANDUS

- Bergann, F., Bergann, L. Über Umschichtungen (Translokationen) an den Spößscheiteln periklinaler Chimären.—Züchter, 1962, 32, 110—119.
- Burk, L. G., Stewart, R. N., Dermen, H. Histogenesis and genetics of a plastid-controlled chlorophyll variegation in tobacco.—Amer. J. Bot., 1964, 51, 713—724.
- Clauhs, R. P., Grun, P. Changes in plastid and mitochondrion content during maturation of generative cells of *Solanum* (Solanaceae).—Amer. J. Bot., 1977, 64, 377—383.
- Hosticka, L. P., Hanson, M. R. Induction of plastid mutations in tomatoes by nitrosomethylurea.—J. Hered., 1984, 75, 242—246.
- Klopfer, K. Methods of demonstrating and breeding chimerical potato clones.—In: Induced Mutations and their Utilization. Erwin-Baur-Gedächtnisvorlesungen IV, 1966. Berlin, 1967, 305—309.



- Simmonds, N. W. Variegated mutant plastid chimeras of potatoes.—*Heredity*, 1969, 24, 303—306.
- Tiits, A. Viirusnakkuste esinemine kartuli seemik- ja muguljärglaskonnas. 2. Andmeid sortide 'Zeeuwse blauwe' ja 'Stina' isetolmlemisseemikute kohta.—*ENSV TA Toim. Biol.*, 1983, 32, 90—92.
- Авдеев Ю. И. Генетические особенности летальных мутации и перспективы их использования в селекции на примере томатов. — *Генетика*, 1983, 19, 1876—1886.
- Асеева Т. В., Яшина И. М. Вегетативные мутации картофеля. — *Генетика*, 1968, 3, 145—164.
- Калам Ю., Орав Т. Хлорофильная мутация. Таллин, 1974.
- Реммельг Х. Влияние гамма-облучения семян на морфогенез и наследственность сортов и межсортных гибридов томатов, конских бобов и астр. Автореф. канд. дис. Таллин, 1966.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia  
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Toimetuse saabunud  
28. XII 1984

Альфред ТИИТС

### О ХЛОРОПЛАСТНЫХ МУТАНТАХ КАРТОФЕЛЯ

Семена нескольких сортов картофеля, обработанные N-нитрозо-N-метилмочевинной, продуцировали сеянцы с хлорофильными нарушениями. У сеянцев сорта 'Стина' наблюдалась значительная пестролистность, в основном на раннем этапе развития растений.

Генетический гибридологический анализ одного мутантного сеянца, который сохранял пестролистность во втором поколении, показал, что хлорофильная мутация наследовалась редко и только через материнское растение (цитоплазматическая наследственность).

Alfred TIITS

### ON THE CHLOROPLAST MUTATIONS OF POTATOES

The seeds of some potato varieties treated with nitrosomethylurea (NMU) produced seedlings with chlorophyll deficiency. The highest variegation rate was obtained among the seedlings of the variety 'Stina'. Variegation appears mostly in the younger stage of seedlings.

Genetic hybridological analysis of one variegated seedling which was also variegated in the second vegetation, verified the low frequency of chlorophyll-deficient plants only maternally (cytoplasmically).