

Taimekoekultuuride sötmed

Konspekti koostas: Hedi Kaldmäe
Eesti Maaülikool,
Põllumajandus- ja keskkonainstituut,
Polli Aiandusuuringute keskus

Sötmed taimekoekultuuridele valmistatakse lähtuvalt liigi ja koe iseloomust ning katse eesmärgist. Universaalseid sötmeid ei ole, on seda ainult teatud ainete osas. Sobiva variandi leidmine on paljus katse eksituse küsimus.

Sötmetes sisalduvad peamised ainete rühmad:

- mineraalained (mikro- ja makroelemendid)
- sahhariidid
- vitamiinid
- kasvuregulaatorid
- agar või muu geeli moodustaja (tardsötmed)
- “orgaanilised lisandid”

Mineraalained

Funktsioonid taimes:

N, P, K- valkude ja nukleiinhapete komponendid

Mg ja mikroelemendid – olulised ensüümide ja mitmete organelide talitluses

Ca, B- rakkestades, kaltsium olulisel kohal biomembraanide stabiliseerijana

K, Cl osmootse rõhu regulatsioonis, ensüümide aktiveerijatena

Lämmastik antakse kas NH_4^+ või NO_3^- ioonidena (KNO_3 , NH_4NO_3 ; CaNO_3)

Lämmastiku omastamine on seotud nii Mo kui Fe olemasoluga taimes (ensüümide komponendid) n kui Ca ja K vahekorraga keskkonnas. Ca soodustab NH_4^+ ioonide ja K omakorda NO_3^- ioonide omastamist. Happelises keskkonnas omastatakse rohkem NO_3^- ioone, neutraalses keskkonnas enam vähem võrdselt. Sötmetes (1,0-5,7 mM)

Fosfor antakse enamasti KH_2PO_4 kujul fosfori koguse suurendamiseks võidakse lisada ka Na soolana. Taime poolt omastatakse juurtes ja erinevalt lämmastikust ja väävlis ei redutseerita vaid seotakse orgaanilistesse ühenditesse, liigne fosfor säilitatakse vakuoolis anorgaanilisena. Sötmetes (20-60mM)

Fosfori vaegus- taimed tumerohelised sukulentsed,

Fosfori liig- viljad valmivad enneaegselt, koekultuuris kalluse ja taimede kasv pidurdatud, tavaliselt on fosfor kuhjunud taimetele kättesaamatusse vormi

Kaalium raku pH ja osmootse rõhu stabiliseerija, defitsiit sötmes võib olla vitrifikatsiooni üheks põhjuseks, pärsib samuti fosfori omastamist, kofaktor paljudes ensüümides

Magneesium Klorofüllü molekuli tsentraalelement, oluline osa ka kloroplastide pH taseme säilitamisel (koos K ioonidega, pH 6,5-7,5) Omab olulist rolli valkude tertsiaarstruktuuri säilitamisel (näit ribosoomide subühikute vahel moodustab silla. Mg liia puhul säilitatakse vakuoolis

Mikroelemendid

Tsink metalloproteiidide koostises, oluline komponent IAA sünteesi rajas (trüptofaani sünteesiks vajaliku ensüümi koostises)

Mangaan metalloproteiidide koostises, osalevad hingamisahelas, fotosünteesis

Boor ensüümide kofaktor, osaleb membraanide stabilisatsioonis

Väävel omastatakse taime poolt suhteliselt aeglaselt, redutseeritakse ja seotakse org ühenditesse, esmalt APS (adenosiinfosulfaat) ja seejärel seotakse kas sulfolipiidideks või glutatiooniks, mis omakorda tsüsteiini kaudu on kõigi valguliste komponentide eellaseks.

Raud

Vitamiinid

Tiamiin (B1) - stimuleeris herne hüpokotüüli rakkude kasvu

Püridoksiin (B6)

Nikotiinhappeamiid (PP) – stimuleerisid tomati, herne, redise juurekultuuride kasvu

Müoinositol (inositol)- osaleb aktiivselt kudede ainevahetuses, suurendab tsütokiniinide toimet, osaleb pektiinide sünteesis, IAA transpordil. Koekultuuris soodustab rakkude paljunemist, kudede diferentseerumist, aitab vältida lehtede kloroosi

Askorbiinhape- pidurdab taimekudedest söötmesse väljuvate polüfenoolide oksüdeerumist

Süsinikuallikad

Põhimõtteliselt võimalik kasutada kõiki sahhariide mille lagundamiseks taimedel on ensüümid olemas

Sahharoos (20-40 mg/l) kasutamine taimes aeglasem ja energiamahukam kui glükoosil

Glükoos (20-40 mg/l)

Kasutatakse ka fruktoosi, manniiti, laktoosi, sorbiiti

Manniit kasutusel osmootse potentsiaali säilitamisel (protoplastid)

Kasvuregulaatorid

ühendid mis väga väikestes kontsentratsioonides põhjustavad otsustavaid muutusi taimede kasvus ja arengus (kasvataatusel ka nimetused taimehormoonid, fütohormoonid, (rühmad: auksiinid, tsütokiniinid, giberelliinid, kasvuinhibiitorid)

Auksiinid: IAA indool-3-äädikhape (heteroauksiin)
IBA indool-3- vöihape
NAA naftüüläädikhape
2,4-D 2,4 diklorofenoksüädikhape

funktsioonid taimes:

1. venimiskasvu regulatsioon
2. rakkude jagunemine ja juurte moodustamine
3. apikaalne domikneerivus
4. abtsisioon
5. partenokarpsus ja ensüümiaktiivsus

Sünteesitakse taimes kiiresti kasvavates kudedes (kasvukuhikus, embrüos) ja liiguvad basipetaalselt. Koekultuuris soodustavad rakkude jagunemist, juurte moodustumist, klorofüllü sünteesi

Tsütokiniinid: kinetiin

Zeatiin
BAP bensüülaminopuriin
2iP
tidasuroon

funktsioonid taimes:

1. rakkude venimiskasv ja jagunemine
2. seemnete idanemispuhkuse katkestamine ja apikaalse domineerivuse välistamine
3. vananemise vältimine
4. ensüümide sünteesi indutseerimine
5. tRNA komponendid

Sünteesitakse juure kasvukuhikutes (ka seemnetes ja viljades), liiguvad transpiratsioonivooluga ülespoole. Koekultuuris pidurdab klorofüllü sünteesi, soodustab jagunemist ja adventiivpungade välja arenemist uuteks võrseteks.

Tervikuna toimub regulatsioon kasvuainete omavahelise interaktsiooni ja tasakaalu kaudu. Lisanduvad interaktsioonid söötme teiste komponentide ja eksplantaadis olevate endogeensete ühenditega.

Giberelliinid: GA₁...GA₉₄

Süntees taimes ei ole lokaalne, sünteesitakse paljudes kohtades, eriti intensiivselt nooremates lehtedes ja kasvavates seemnetes, ka juure tipuosas (mitte meristeemis), ei sünteesita ka võrse tipumeristeemis. Transport passiivne, kantakse edasi assimilaatide vooluga nii ksüleemis kui floemis. GA-d sünteesivad ka koekultuurid, sh kallused. Esinevad vabalt või glükosiididena (enamuses)

Funktsioonid:

1. intaktsetes taimes kutsub esile sõlmevahede pikenemise
2. stimuleerib õitsemist, indutseerib seemnete ja mugulate väljumist puhkeperioodist
3. võib asendada päevapikkuse või külma toimet õitsemisele
4. GA-d aktiveerivad nukleiinhapete sünteesi
5. stimuleerib IAA sünteesi
6. kaluuskultuuris pidurdab kalluse morfogeneesi ja võrsete teket, kui meristemoidid on juba tekkinud, siis stimuleerib võrsete arengut
7. mõnedel liikidel stimuleerib võrsete moodustumist otse eksplantaadil (begonia)
8. võib pidurdada juurdumist (mitte alati)

Retardandid:

Kõrretugevdajad CCC, paklobutrasool

Abtsiishape: ABA

Koekultuuris kasutatakse endogeense giberelliini või pikaajalise tsütokiniini toime kompenseerimiseks

Etüleeni ei kuulu otseselt söötmete koostisse kuid seda toodavad taimekoed katseklaaside kõigis arengustaadiumides. Stressitingimustes etüleeni süntees intensiivistub, mis omakorda on koekultuuris üheks vitrifikatsiooni põhjustajaks

Geelimumodustajad

Agar-punavetikatest saadud galaktoosi polüsahhariid

Agaros- agrist välja puhastatud produkt, moodustab geeli juba madalates kontsentratsioonides (0,4%)

Gelriit heteropolüsahhariid mida toodetakse bakterist *Pseudomonas elodea*, erinevalt agarist ei sisalda vabu orgaanilisi lisandeid

Tärklis

Muud substraadid

Kasutatud kirjandus:

1. Vardja, T. 2001. Taimede mikropaljundus. Harku, 241 lk
2. Miidla, H. 1984. Taimefüsioloogia. Valgus, Tallinn, 424 lk.
3. Collin, H.A, Edwards, S.,1998. Plant Cell Culture. BIOS Scientific Publishers, 158 p
4. George E. (edit) Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition Vol.1. Springer, 2008, 501 p.