

Vatukat ja mustaherukat vaaroilta tallessa kryotankissa



Kryosäilytyksestä elvytettyjä mustaherukan "Mortti" taimia kasvihuonekasvatuksessa.

Perinteisessä kasvullisessa kenttäsäilytyksessä geenivarakasvien säilymistä uhkaavat vaihtelevat talvet ja taudit sekä tuholaiset. Kenttäkokoelmien ylläpito edellyttää myös hoitotoimenpiteitä. Kryosäilytyksessä välttämättömiä ylläpitotoimia ovat vain pitkäaikaissäilytystankkiin nestetyypeä syöttävän säiliön vaihto noin kolmen viikon välein ja nestetyypin pinnan tason tarkkailu, joka sekun tapahtuu pääasiassa automaattisesti.

Kryopankkikokoelma mahdollistaa kantojen kustannustehokkaan pitkäaikaissäilytyksen ja säilymisen erilaisissa kriisioloissa. Nestetyppisäilytys ei vaadi aineistojen hoitoa

tai ylläpitoa eikä edes sähköä, vaan tankissa oleva nestetyppi pitää säiliön kylmänä useita viikkoja sähkökatkon sattuessa.

Kryosäilytys soveltuu kasvullisesti lisättävien geenivarojen pitkäaikaissäilytykseen

Monilla puutarhakasveilla kasvullinen lisäys vaikkapa pistokkaista, juurenpaloista tai solukkoiljelmistä on välttämätöntä lajikeitouden turvaamiseksi. Laukaan kryopankki keskittyy kasvullisesti lisättävien puutarhakasvien kylmäsäilytykseen joko solukkoiljelmistä eristettynä

Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskuksen Laukaan toimipaikassa on toiminut vuodesta 2006 alkaen Laukaan kryopankki, jossa kasveja säilytetään kryotankissa nestetyypin kaasufaasissa. Tankin noin $-170 - -180$ °C kylmyydessä kasvien elintoiminnot pysähtyvät. Ne ovat säilytettävissä ilman hoitotoimenpiteitä ja elvytettävissä jälleen vuosien jälkeen.

TEKSTI JA KUVAT: Anna Nukari ja Saija Rantala/ MTT:n arkisto

in vitro -aineistona tai lepotilaisina silmuina. Kasvupisteen sisältävät aineistot esikäsitellään kuivatuksen tai sokeri- ja suojaliuoskäsitelyjen avulla kestämaan äärimmäistä kylmyyttä ja suljetaan tiiviisti pieniin muovisiin kryoputkiin. Tämän jälkeen näytteet upotetaan aineistotyyppistä riippuen nestetyypin joko mahdollisimman nopeasti tai vasta kontrolloidun hitaan esipakastamisen jälkeen. Kummallakin menetelmällä pyritään välttämään rakenteita rikkovien jääkiteiden muodostumista aineiston solukoihin.

Pitkäaikaissäilytettävät hedelmä- ja marjakasvien kannat valitsee kansallisen kasvigeenivaraohjelman

Hedelmät ja marjat -työryhmä, joka päivittää kansallisesti arvokkaiden ja pitkäaikaissäilytykseen valittavien kasvikantojen lajikohtaisia listoja eli mandaattilistoja. Mandaattilistoille pääsyn perusteena voi olla esimerkiksi kotimainen jalostusalkuperä, viljelyhistoria Suomessa tai geneettinen erityislaatuisuus. Omat kasvi-geenivaraohjelmia toimeenpanevat geenivararyhmänsä on myös viherakentamisen kasveilla, vihanneksilla, yrteillä ja rohdoksilla sekä pelto- kasveilla. Myös näiden lajiryhmien osalta kryosäilytys soveltuu erityisesti kasvullisesti lisättäville aineistoille, kuten koristepensaslajeille.

Kansallisia kokoelmia säilytetään ensisijaisesti kasvullisesti kenttä- tai ruukkukokoelmina. Kryosäilytys toimii varmuuskokoelmana, josta kasvullisia kokoelmia voidaan tarvittaessa täydentää ja uusia. Kryosäilytykseen otettavan aineiston tulisi olla mahdollisimman laadukasta, lajikeaitoa, kasvintervehdeltään ensiluokkaista ja tuoretta, jotta aikanaan sulatuksen jälkeen aineiston toipuminen on mahdollisimman hyvää ja aineiston käytettävyyden paras mahdollinen. Kryosäilytys otetaan eri kasvilajeilla käyttöön sitä mukaa, kun lajille soveltuvat kryosäilytysmenetelmät saadaan testattua. Menetelmänkehitystyö kulkee siis käsi kädessä tai oikeammin askeleen pitkäaikaissäilytystyön edellä. Pariaikaa MTT Laukaassa ovat käynnissä tutkimukset omenan ja viherrakentamisen kasvien lepotilaisten silmujen kryosäilytykseen soveltuvista menetelmistä.

Vatukka- ja mustaherukkakannat Laukaan kryopankissa

Kansallisesti arvokkaista vatukka- ja mustaherukkageenivaroista on jo luotu turvakokoelmat MTT:n Laukaan kryopankkiin. Työ aloitettiin 2006 vatukoiden emokasvien virustestauksella, jonka perusteella varmuuskokoelmasta rajattiin pois vadelman kääpiökasvuviroosille



Kryosäilytyksestä elpyviä mustaherukan "Brödtorp" silmuja.

alittiit kannat. Vadelman kääpiökasvuviroosi on erityisen hankala kasvitauti, sillä se ei ole puhdistettavissa kasveista perinteisesti käytetyin menetelmin kuten versonkärkien lämpökäsittelyn avulla. Lisäksi se leviää siitepölyn välityksellä, eli saastuneita aineistoja ei voida käyttää esimerkiksi perinteisessä jalostuksessa.

Mustaherukkakantojen osalta eri maiden säilytysvastuita kartoitettiin vuosina 2007-2011 Herukan geenivarojen pohjoiseurooppalaisen ydinkokoelman perustaminen ja turvaaminen -hankkeessa (Ribesco). Valinnat tehtiin morfologisen karakterisoinnin sekä viljelyllisten, historiallisten tai kulttuuriarvojen perusteella tavoitteena mahdollisimman laaja geneettinen vaihtelu. Kukin maa kantaa säilytysvastuun omista kansallisesti arvokkaista geenivaroistaan, mikä vähentää aineistojen päällekkäistä säilytystä. Hankkeen yhteydessä talletettiin Laukaan kryopankkiin varmuuskokoelmia sekä suomalaisten että ulkomaisten mustaherukkakokoelmien lepotilaisista silmuista.

Ribesco -hankkeen jälkeen Suomen kansalliselle säilytysvastuulle kuuluvien mustaherukan kantojen kryosäilytystä jatkettiin uudella hankerahoituksella. "Taimituotannon kilpailukyvyyn parantaminen kotimaisia geenivaroja käyttäen" hankkeen ensimmäisessä osassa kehitettiin vuosina 2009-2011 herukoiden solukkolisäys- ja kryosäilytysmenetelmiä ja toisessa osassa 2011-2014 toteutettiin mustaherukoiden mandaattikokoelman puhdistus ja kryosäilytys. MTT Piikkiön vanhasta kenttäkokoelmasta otetut pistokastaimet testattiin suonenkato viruksen osalta ja lämpökäsiteltiin puhtaan lisäysaineiston saamiseksi. Tämän



jälkeen lämpökäsitellyistä aineistoista tehtiin solukkoviljelmät, joista aseptisesti eristettiin *in vitro* -silmuja pakastettaviksi kryopankkiin. Lisäksi herukoiden varmuuskokeelmaa täydennettiin kryosäilyttämällä myös kasviuoneelta kerättyjä lepotilaisia silmuja.

Seitsemän viime vuoden aikana on kryosäilytetty yhteensä 42 kantaa MTT:n vatukkakokeelman ja vadelman kansallisen mandaattilistan kantoja sekä 25 kantaa mustaherukan kansalliselta mandaattilistalta. Aineistojen tuleva toipuminen kryosäilytyksestä varmistettiin sulattamalla yksi tai useampi kontrolliputki kustakin pakastuserästä ja tarvittaessa tehtiin lisäpakastuksia. Näiden jo pakastettujen vatukka- ja herukkakokeelmien lisäksi kryopankissa on mm. runsaasti mansikkalajikkeita ja joitakin viherrakentamisen kasveja. Kaikkiaan Laukaan kryopankin tankissa olisi tilaa koko MTT:n kasvullisesti lisättävälle kasvigeenivarakokeelmalle eli yli 25 000 kryoputkelle.

Kryomenetelmien mahdollisuuksia: kryoterapiaa ja kasvullisten kokoelmien uudentamista

Pitkäaikaissäilytyksen lisäksi nestetyypellä voi olla toisenlaisiakin käyttösovelluksia kasvigeenivaratyössä. Kryoterapia on kasveilla uusi puhdistusmenetelmä, jossa nestetyypen äärimmäistä kylmyyttä hyödynnetään tuhoamaan virusten mahdollisesti saastuttamat kasvupistettä ympäröivät solukot kuten lehtiaiheet. Vain kasvitaudeista puhdas kasvupiste jää henkiin ja siitä voidaan solukoli-säysmenetelmin kasvattaa uusia terveitä taimia. Kryoterapiamenetelmiä voidaan jatkossa soveltaa vadelman kääpiökasvuviroosin kaltaisten virus-tautien puhdistamiseen kasveista.

Kryopankkiin talletetut putket ja niiden paikatiedot ovat tietokannossa ja aineistot ovat jäljitettävissä ja käytettävissä kansallisen kasvigeenivarao-

ohjelman Hedelmät ja marjat -työryhmän alaisuudessa, Laukaan kryopankin menettelyohjeen mukaisesti. Kryosäilytetty noin 10 000 solukolisätyn hankasilmun laajuinen vatukka-aineisto ja sekä *in vitro* -aineistona että lepotilaisina silmuina kryosäilytetty herukka-aineisto voivat toimia mm. kenttäkokeelmien vastaavien kantojen varakokeelmina. Ensimmäinen Piikkiön kasvullisesta kenttäkokeelmasta talvivaurioiden vuoksi kokonaan kadonneen vadel-

malajikkeen uusiminen kryotankista sulatettavalla aineistolla on valmistella. Mandaattilistojen muuttuminen ja päivittyminen on jo aiheuttanut osan nyt pakastetuista kannoista poistumisen jatkossa kokonaan kenttäsäilytyksestä ja toisaalta luo lisäpakastustarpeita vielä tulevaisuudessakin. Vaikka kansallisten vatukka- ja mustaherukkageenivarojen pääkokoelma on saatu talletettua kryopankkiin, lajien kryosäilytystä tullaan tarvittaessa jatkamaan ja täydentämään.



Mustaherukkalajikkeen "Mortti" lepotilainen silmu valmiina kryosäilytykseen.



Mustaherukan "Marski" verso seitsemän viikkoa kryosäilytyksestä sulatuksen jälkeen.