



EESTI VABARIIK

PATENDIAMET

(11) **EE-EP 1 597 965 B1**(51) Int. Cl.
A01H 5/00 (2006.01)(12) **EESTIS KEHTIVA EUROOPA PATENDI
PATENDIKIRJELDUSE TÕLGE**

(10) Registreeringu number:	E008347	(73) Patendiomanik:
(11) Patendikirjelduse tõlke number:	EE-EP 1 597 965	Seminis Vegetable Seeds, Inc. 800 North Lindbergh Blvd., St. Louis, MO 63167, US
(30) Prioriteediandmed:	19.05.2004 US 850077	(72) Leiutise autorid:
(96) Euroopa patenditaotluse esitamise kuupäev:	25.04.2005	van den Bosch, Franciscus G.J.M. Achterdorp 1, 4041 GJ Kesteren, NL
(96) Euroopa patendi- taotluse number:	05103316.5	Boon, Meinardus P. Drieboomlaan 290, 1624 BV Hoorn, NL
(97) Euroopa patendi väljaand- misest teatamise kuupäev:	12.06.2013	(74) Patendivolinik:
(97) Euroopa patendi number:	EP 1 597 965	Leevi Markus Patendibüroo Käosaar & Co OÜ Tähe 94, 50107 Tartu, EE
Patendikirjelduse tõlke esitamise kuupäev:	03.09.2013	
Patendikirjelduse tõlke avalikustamise kuupäev:	16.12.2013	

(54) **Brokolitüüp, mis on kohandatud lihtsamaks koristamiseks**

Brokolitüüp, mis on kohandatud lihtsamaks koristamiseks

LEIUTISE VALDKOND

Käesolev leiutis on seotud taimearetuse ja uute taimede arendamise valdkonnaga ja on konkreetsemalt seotud uue ja erineva, lihtsamalt koristatava brokoli tüübi aretamisega. Võimaldatakse uus brokolitaimede kasvutüüp, seda kasvutüüpi omavate brokolitaimede valmistamise meetodid ja selle tüübi koristamise meetodid.

TEHNIKA TASE

Brokoli on Vahemere piirkonnast pärit taim ja seda on kasvatatud Itaalias vähemalt Rooma impeeriumi aegadest saadik. See oli lemmikjuurvili Roomas, kus aretati välja sort nimega Calabrese (pärit Calabria piirkonnast). Enne Calabrese sordi kasvatamist sõid roomlased lillat brokolit, mis muutus keetmisel roheliseks.

16. sajandil muutus brokoli populaarseks üle Euroopa ja seda kasvatati 18. sajandi lõpuks ka Ameerika Ühendriikides. Kuid brokoli muutus Ameerika Ühendriikides majanduslikult tähtsaks põllukultuuriks alles pärast Teist maailmasõda. Brokoli muutus Ameerika Ühendriikides populaarseks 20. sajandi lõpus ja viimasel ajal on esile tõstetud selle kasulikkust tervisele. Hetkel on Ameerika Ühendriigid maailma suurim brokolikasvataja ning suurem osa sellest brokolist turustatakse värskel kujul. Juhtivad brokolitootjad on California (ligikaudu 90 protsenti saagist), Arizona, Texas ja Oregon. Brokolit kasvatatakse ulatuslikult ka Hispaanias, Põhja-Euroopas, Kesk-Ameerikas ja Austraalias. Brokoli on koos kapsa, lillkapsa, rooskapsa, nuikapsa, naeri, sinepi ja hiina kapsaga perekonna *Cruciferae* liige. Sõna brokoli tuleb itaaliakeelsest sõnast *brocco*, mis tähendab oksaharu, täpsemalt sõnast *broccolo*, mis on sõna *brocco* deminutiivvorm ja tähistab kapsa võrset. *Broccoli* on mitmuse vorm ja see tähistab *Brassica oleracea* selle vormi arvukaid võrseid.

Brokolit on mitut tüüpi, millest kõige populaarsem on võrseline/itaalia brokoli, mis hõlmab tüüpi Calabrese, *Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cymosa* Duch. (nime on heaks kiitnud Ühenduse sordiamet (CPVO)). Peabrokolil

on mitu tunnust, mida sagedamini omistatakse lillkapsale (üheks näiteks on populaarsust koguv romaani lillkapsas). Tõeline Calabrese tüüp on lihttüüp paljude teiseste peadega (algavad lehekaenaldest). Pead jagunevad samuti väiksemateks osadeks, mis ei moodusta ühtset pead. Veel ühel brokolil, milleks on itaalia

5 lillnaeris („*broccoli rabe*” või „*broccoli raab*“), on lahtised rohelised võrsepead (pigem nagu lahtine brokoli kui lillkapsas), mida koristatakse ja süüakse värskelt koos ümbritsevate lehtedega.

Morfoloogiliselt on lillkapsas ja peabrokoli sarnased. Ent brokolitaimel on roheline pea ning pikem ja peenem õievars kui lillkapsal. Kui brokolitaimi põhiline otsmine

10 pea ära koristatakse, siis sunnib see peamise tüve allpool olevaid lehekaenla võrseid kasvatama väiksemaid päid, mida saab samuti koristada. Paljude kaasaegsete brokolitüüpide aretus on keskendunud peatüüpidele, mis on aretatud kasvatama üksikut, suurt pead taime teljel, vähendades teiseste peade hulka, kuigi mõnedes piirkondades koristatakse põhilise pea koristamise järel ka

15 teiseseid päid, mida mõnikord nimetatakse „spargelbrokoliks“.

Kuigi brokoli ja lillkapsas võivad botaaniliselt väga lähedaselt seotud olla, on nende toitainesisaldus üsna erinev. Brokoli on lillkapsast selles osas parem, et see sisaldab 60% rohkem C-vitamiini ja 60 korda rohkem karotiini. Brokoli on hea C-vitamiini allikas. Sõltuvalt valmistamisviisist võib söögiks valmistatud brokolis olla

20 125% rohkem C-vitamiini kui värskes apelsinis. Samuti sisaldab brokoli klorofüllil all olevatest karotinoididest pärit A-vitamiini, veidi rauda ning E- ja K-vitamiini (<http://www.innvista.com/health/foods/vegetables/broccoli.htm>). Brokoli sisaldab ka vähivastaseid glükosinolaate nagu 4-metüülsulfnüülbutüül ja/või 3-metüülsulfinüülpropüül, mille sisaldust on võimalik tõsta aretuse või rekombinantse

25 DNA tehnoloogiaga (vt EP 1 069 819 B1).

Kõige laialdasemalt kasvatatav brokoli sort on Marathon, mis on keskmise kuni hea tugevusega ning mille pea kõrgus on umbes 40-50 cm üle maapinna ja võrastiku kõrgus umbes 60-70 cm. Koristusküpsus on keskmisest hiliseni (suvel 70 päeva alates istutamisest) koos teiseste peadega. Pea värvus on hall/roheline

30 ja see on keskmise kupli kujuga. Peas olevad pähikud on peened, varre läbimõõt on keskmine, olles mõnevõrra aldis varreõõnsusele ja sellel sordil on keskmine vastupanuvõime ristõieliste ebajahukastele (*Peronospora parasitica*). Marathon

sobib kõige paremini kultiveerimiseks jahedal aastaajal (sügis, talv) ning taime tihedus varieerub 40 000 kuni 80 000 taimeni hektari kohta. Enamik brokolisorte kasvavad kõige paremini sõmerates muldades, mis hoiavad vett. Liivastes muldades on niisutamine taimede optimaalse kasvamise ja õige peasuuruse tagamise ja külgvõrsete arengu seisukohalt oluline. Õiepead (võrsebrokoli söödav osa) arenevad vastavalt õhutemperatuurile ning suve kuumuses võivad juulis küpsevad brokoli pead kasvatada õisi ja seemneid palju kiiremini (neli kuni kuus päeva), kui taimed, mis küpsevad jahedamatel kevade- ja sügisperioodidel. Heakvaliteedilised brokolipead peavad olema suletud, tumerohelised ja tihedad (kollaseid kroonlehti ei paista). Samuti on brokoli puhul heaks omaduseks selle pea sügavroheline ühtlane värv. Brokoli pead „rohetuvad“ vastavalt päikesevalguse hulga, mis jõuab peade kroonini, milleks on brokoliõitega kaetud brokolipea pealmine pind. Kõigil praegustel kaubanduslikel peabrokoli sortidel on kõrge kuppel, mis varjab vähemalt osa peast, eriti krooni servas, mille tõttu koristatud brokolipeade välisservad on kolletunud ja vahel on ulatuslikult kolletunud isegi krooni keskel olevad õied. Brokolit istutatakse harilikult 30 000 kuni 40 000 taime hektari kohta, kuigi Põhja-Ameerikas istutatakse brokolit sageli suurema tihedusega, 40 000 kuni isegi 100 000 taime hektari kohta. Suuremate tiheduste puhul kasvatavad brokolitaimed väiksemad pead. Sarnaselt teistele lehtkapsa viljadele saab brokolit põllule panna otsekülvi või istutamisega. Paljud tegurite, nt mullatüüp, orgaanilise aine sisaldus ja mullaniiskus, koostoime mõjutab kasvamaminekut ja tärkamist. Ühtlasemat aga ka varasemat brokolit saab selle kasvuhoones kasvatatud istikute ümberistutamisega. Taolisi istikuid saab istutada põllule aprilli lõpus, kuigi taimi tuleb enne nende välja panemist karastada.

Brokoli söödavaks osaks on avanemata õitsevad pead. Brokolipead on tundlikud paljude defektide suhtes, mis võivad olla seotud kliimaatiliste või kasvuliste kõrvalekalletega, kuigi mõned näivad olevat sordiga seotud. Paljusid defekte saab ära hoida taime õigel etapil koristamisega, et selle pead ei küpseks üle. Üleküpsenud viljal on täheldatav õie edasijõudnud areng koos peade kolletumisega. Üleküpsenud taimedel on sageli ka kiulised varred.

Õigel ajal koristamine ja hilisem korrektne käsitlemine on brokoli puhul äärmiselt oluline, sest see on kergestiriknev kaup. Just sel põhjusel on küpsemise ühtlus ja kontsentreeritud koristamine brokolisortide kõige tähtsamaks peetavad omadused.

5 Koristatud brokoli jahutatakse sageli kohe pärast koristamist jääpakkide või vesijahutusega. Brokolit, mida jahutatakse ja säilitatakse temperatuuril 32° F (0 °C) ja 95 kuni 100 protsendise suhtelise niiskuse juures, saab ladustada 10 kuni 14 päeva. Kuid kui brokolit ladustatakse nii kaua, siis hakkab see kaotama oma tumerohelist värvi ja tugevust, mis mõjutab selle turustatavust.

10 Kuna koristamine on siin kõige kallim üksik viljeluse operatsioon, siis on tähtis selle kulud minimaalsed hoida. Praegune trend on koristada ainult põhilised otsapead ja seda harilikult käsitsi. Koristamisel kasutatakse teatud mehaanilisi abivahendeid, kuid täielikku mehaanilist koristamist ei ole tarvitusele võetud. Uute, ühtlasemate hübriidide kasutuselevõtt on võimaldanud kasvatajatel teostada põllu koristamine kahe või kõige rohkem kolme käsitsilõikamisega.

15 Uurimuses, mis jälgis koristusi aastatel 1985-1990 Ameerika Ühendriikides, märgiti brokoli lõikamiseks ajaks suurusjärg 60 töötundi hektari kohta. Lõikamise, pakkimise, vedamise/jahutamise kogukuludeks oli \$ 2125/ha, mille juures ainuüksi lõikamise kuluks oli \$ 500/ha. Koristamise tööjõukulud on kaugelt üle 50 % kogu brokoli kasvatamise tööjõukuludest.

20 Brokoli käsitsi koristamiselt masinkoristusele üleminek võib vähendada seda töötarvet olulisel määral. Kuid hiljutine uuring jõudis erinevate sortide, istutamise aegade kasvatamistehnoloogiate ja koristusmeetodite katsetamisega järeldusele, et kiire mehaaniline brokoli õisikute, või peade, koristamine annab võrreldes traditsioonilise mitmeastmelise käsitsikoristamisega (korduv koristamine 6 kuni 8
25 korda) saagikuse vähenemise sordist sõltuvalt suurusjärgus 49 % kuni 60 %. Välja pakuti esimeste peade käsitsi koristamist ja seejärel teiseste peade mehaanilist korjamist, et vähendada saagikuse kadusid, mis on siiski suurusjärgus umbes 23% (Dellacecca, V. 1996, New agrotechniques to promote broccoli picking. Acta Hort. (ISHS) 407: 347-352). Üks mehaanilise lõikusmasina tegevust piirav tegur on
30 brokolisortide fenotüüpiline välimus ja ühetaolisuse puudumine küpsena (Casada, J.H.; Walton, L. R.; Bader, M. J. (1988) Single pass harvesting of broccoli, Am Soc

- Agr Eng Microfiche Collect. (fiche # 88-1041) lk 11; Bon, T. A. (1997) Senior design project development of a non-selective broccoli harvester, American Society of Agricultural Engineers No. 97-1018, lk 17). Üldiselt on töödeldaval brokolil laiem aktsepteeritav küpsemisvahemik kui värskel, turul pakutaval brokolil,
- 5 mis nõuab ühtlasemat toodet (Shearer, S. A.; Jones, P. T.; Casada, J. H.; Swetnam, L. D. (1991). A cut-off saw mechanism for selective harvest of broccoli. Transactions of the American Society of Agricultural Engineers 34 (4): 1623-1628). Seetõttu peetakse sobivate brokolitaimede valimist küpsuse ühetaolisuse saavutamiseks üheks oluliseks teguriks mis tahes brokoli lõikusmasina projekti
- 10 edus (Bon, T. A., 1997). Brokoli koristamist, kas siis käsitsi või masinaga, on võimalik hõlbustada ka pikendatud kasvulaadiga, mille puhul pea ulatub esile üle brokolilehestiku üldise tasandi (Baggett, J.R., Kean, D., & Kasimor, K. (1995). Inheritance of internode length and its relation to head exertion and head size in broccoli, J. Am. Society of Hort Sci. 120 (2): 292-296).
- 15 Siin on täiendavaks probleemiks see, et brokoli koristamisel tuleb eraldatud pea külge jäänud lehed käsitsi eemaldada. Selle töö tegemine mehaaniliselt on täiendavaks takistuseks koristamise täieliku mehhaniseerituse arendamisel. (Casada J.H., Shearer, S. A. and P. T. Jones (1991) Development of a mechanized selective harvester for cole crops, Am Soc of Agr Engineers.
- 20 Albuquerque, New Mexico, June 23-26, 1991, Paper # 91 - 1018, lk 17). Seega on brokolitaimede mehaanilise lehetustamise lisamine lõikusmasina konstruktsiooni hetkel käsitlemisel olev teema, lootuses, et lehetustamise operatsiooni edukas rakendamine lõikusmasinas parandab koristamise ja pakkimise üldist efektiivsust (Bon, T.A., 1997).
- 25 Mehhaniseeritud koristamise edukas arendamine parandaks oluliselt koristamise ja pakendamise üldist efektiivsust (Bon, T. A., 1997). Kuid katsed töötada välja brokoli lõikusmasinat ei ole tänapäevaste brokoli taimetüüpide juures olnud edukad, osalt paljude samaaegsete probleemide tõttu, mis tuleb lahendada brokolitaimede mehhaniseerimisega kohandamisel. Ühes artiklis esitatakse see
- 30 probleem vajadusena valida taimed, mille pead on korralikult maapinna kohal, millel lehtede asend on avatum ja mille lehed on pea alumisest osast korralikult eraldunud (või paljastavad selle). (Chou broccoli: La recolte mecanique devient

possible, in UNILET Informations, #107-Janvier 2001). Hetkel on aretamise kogukonna jaoks osutunud ületamatuks probleemiks arendada välja brokolitaimetüüp, mis üheaegselt pakuks mitmeid nimetatud lahendusi kaubanduslikult vastuvõetavas kontekstis.

- 5 Kuigi on saadud mõned brokolitaimed, millel on mõõdukalt „kõrgenenud pea“ (RH), siis on neil taimedel ka mitmeid puudusi, eriti just pealuste suurte lehtede näol, mis varjutavad ja kolletavad pea ning teevad ka mehaanilise koristamise mitteteostatavaks, saagikuse kadu alumiste peade kaalu tõttu (tõenäoliselt kõrgema varre tõttu, mis vähendab energiat, mis oleks kasutatav õisiku arenguks)
- 10 ja ühtse kasvulaadi puudumine.

ÜLDISED DEFINITSIOONID

- „Kasvutüüp“ või „tüüp“ tähistab taime morfoloogilisi (fenotüüpilisi) omadusi, nt taime kogupikkus, lehtede olemasolu/puudumine, suurus ja asend, pea kõrgus, pea suurus/kaal, jne. „Kasvutüüp“, mis sobib 100 % mehaaniliseks koristuseks“
- 15 tähistab taime, millel on küpsena omadused, mis võimaldavad 100 % mehaanilist koristamist (ilma vajaduseta koristatud pea varrelt lehti eemaldada).

- „100 % mehaaniline koristamine“ tähistab käesolevaga brokolitaimede põllu koristamise meetodit, kasutades mehaanilisi vahendeid (lõikusmasin brokoli otsmise pea lõikamiseks eelistatavalt kindlaksmääratud asukohast lehtedeta varre
- 20 küljest. Eriti pole vaja just lõigatud pea ja varre lehetustamist ning mehaanilise koristamisega ei kaasne olulist tootluse kadu, nagu seda on täheldatud tehnika tasemes (vt eespool). Selles definitsioonis on selgelt välistatud vahendid, mis hõlmavad käte abil eraldamist (nt isegi noa või sarnase eseme kasutamist).

- „Kõrgenenud pea“ või „väljaulatuv pea“ viitab siin taime kasvutüübile, mille puhul
- 25 õisik („pea“; avanemata õienuppudega õied) areneb välja taime lehekupli kohal. Pea kroon tõuseb vähemalt umbes 5, 10, 15, 20, 25 või rohkem sentimeetrit üle lehekupli. „Kroon“ tähistab pea kõige ülemist osa. „Allpool pead“ tähistab õisikust madalamale jäävat ala, s.t. rohelist, avanemata õiepungi.

- Väljendeid „kõrgemal kui lehekuppel“ ja „kõrgemal kui lehekupli kõige ülemine
- 30 leht“ kasutatakse samaväärselt ja need viitavad kupli kõige ülemise lehe tipu kohal

olevale alale, kui tõmmata horisontaalne joon põllul olevate suurte rohelistele lehtede kohale.

„Praktiliselt lehtedeta“ või „lehtedeta“ tähistab suurte lehtede puudumist, kusjuures „suured lehed“ on lehed, mille lehe pindala on küpses etapis umbes 20, 25, 30 või rohkem ruutsentimeetrit. „Praktiliselt lehtedeta vars“ tähistab seega vart, mille varre küljes ei ole suuri lehti piirkonnas vähemalt umbes 5, 10, 20, 25, 30 või rohkem sentimeetrit allpool pead või vähemalt umbes 15, 20, 25, 30, 40 või rohkem sentimeetrit allpool krooni. Varrel võib esineda väiksemaid lehti või lehevarsi, kuid eelistatud teostuses on vars lehekupli kohal asuvas alas igasugustest lehtedest ja/või lehevartest puhas. Siin on oluline märkida, et lehtedeta vars võib olla osaliselt nähtavalt ümbritsetud kupli lehtede poolt, kusjuures need lehed on varrega ühendatud siiski altpoolt (lähemal mullale). Lehtedeta varre lõikamisel lõigatakse need lehed ära, kuid kuna need ei ole varrega ühendatud, siis ei sega need mehaanilist koristust (koristatud pea ja varre lehtedest vabastamine pole vajalik).

Termin „brokolitaim“ tähistab brokolitaimi üldiselt [liigid *Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cymosa* Duch.], s.t. hõlmates brokolisorte, aretusliine, sisearetatud liine, hübriide, jne.

Väljendit „sort“ kasutatakse käesolevaga kooskõlas UPOV konventsiooniga ja see viitab ühe madalaima teadaoleva botaanilise taksoni sees olevale taimerühmale, kusjuures seda rühma saab defineerida tunnuste väljendamisega, mis lähtuvad antud genotüübist või genotüüpide kombinatsioonist, saab eristada mis tahes muust taimerühmast vähemalt ühe nimetatud tunnuse väljendamisega ja mida peetakse selle muudatusteta (stabiilseks) paljundamiseks sobivuse seisukohalt üksuseks.

„Ühetaolisus“ tähistab taimede põldu, mis on oma fenotüüpilise välimuse ja arengu osas ühesugused, eriti just taime küpsemise, pea kõrguse, lehtedeta varre, pea kolletumise puudumise, jms osas. Koristatud taimed on seetõttu ühetaolised oma küpsemise, välimuse, säilivusaja, tugevuse, jms osas. Ühetaolisus ei välista loomulikult teatud variatsiooni taimede lõikes, kuid ühtse vilja variatsioon on minimaalne. Sõltuvalt mõõdetud omadusest on põllu keskmine taimedevaheline

variatsioon eelistatavalt alla 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, veelgi eelistatumalt alla 1%. Samuti võimaldab mehaaniline koristamine koristatud brokolitaimede ühetaolise (kindlaksmääratud) varrepikkuse.

5 „Kolletumine“ või „värvikaotus“ viitab varjutamisest tingitud kollastele õiepungadele peas (nt krooni servades) või üksikõites (õiepungade kobarad). Pea või üksikõis, millel „kolletumist praktiliselt ei ole“ või „kolletumine puudub“, tähistab pead või üksikõit, millel on alla 10 %, eelistatavalt alla 5 %, veelgi eelistatumalt 2,5 %, kõige eelistatumalt üldse mitte kolletumist selle küpses etapis (s.t. koristamisel).

10 „Säilitusaeg“ tähistab perioodi pärast koristamist, mille jooksul taimi (pea ja/või vars) saab säilitada ilma kvaliteedi languseta, nt värvikaotus ja tugevuse langus. Säilitusaeg sõltub taime geneetilisest struktuurist ja ladustamistingimustest nagu temperatuur, suhteline niiskus, valgus, jne. Temperatuuril 0 °C ja 95-100 % suhtelise niiskuse juures on säilivusaeg eelistatavalt vähemalt 10 päeva, veelgi eelistatumalt vähemalt 13, 14, 15 päeva või enam.

15 „Koristatud taim“ või „koristatud brokoli“ või „koristatud pea“ tähistab eraldatud brokolipead, mis sisaldab kogu lehtedeta varre lõiku või selle osa. Lõikusmasinat saab eelistatavalt seada lõikama kindlal kõrgusel (kaugus sentimeetrites) maapinna kohal nõnda, et lõigatud pea küljes oleva lehtedeta varre pikkus saaks koristatud vilja puhul olla kindlaksmääratud ja ühetaoline (lehtedeta varre pikkus
20 võib olla näiteks 5, 10, 15, 20, 25 cm või rohkem).

Objektile viitamine ainsuses ei välista võimalust, et tegemist võib olla rohkem kui ühe objektiga, kui kontekst selgelt ei nõua, et tegemist oleks tingimata ühe objektiga. Objekti nimetamine ainsuses tähendab seda, et tegemist on vähemalt ühe objektiga.

25 Terminit „sisaldab“ tuleb tõlgendada kui nimetatud osade, etappide või komponentide olemasolu loetlemist, ent see ei välista ühe või enama täiendava osa, etapi või komponendi olemasolu. Taim, mis sisaldab teatud tunnust, võib seega sisaldada täiendavaid tunnuseid.

30 Iga kord kui viidatakse leiutise taimedele, tuleb mõista, et sellega hõlmatakse ka taimeosaid (rakud, koed, seemned, eraldatud osad nagu pead ja/või varred),

taimede järelpõlve, mis säilitab vanemate eristavad tunnused (eriti just kõrgem pea ja lehtedeta vars), näiteks seemneid, mis saadakse iseviljastumise või ristamisega, nt hübriidseeme (saadakse kahe sisearetatud vanemliini ristamisega), hübriidtaimed ja sellest pärit taimeosad.

5 LEIUTISE KOKKUVÕTE

Käesolev leiutis võimaldab brokolitaimet, mis hõlmab väljaulatuvat pead, mille kroon on kõrgemal kui lehekuppel ja mis kaalub vähemalt umbes 200 grammi, kui seda istutatakse tihedusega 40 000 taime hektari kohta, mida iseloomustab see, et vähemalt 25 sentimeetri ulatuses nimetatud taime kroonist allapoole ei kasvata see taim lehti või lehevarsi, mille pindala oleks suurem kui umbes 30 ruutsentimeetrit, kusjuures see taim on tähistusega 970195 sisearetatud brokolitaimet seemne järelpõlv, kusjuures selle seemne proov on deponeeritud tähistusega NCJMB 41216. See taim on kohandatud koristamise hõlbustamiseks ning selle tunnusteks on väljaulatuv pea, kusjuures nimetatud brokolipea krooni pind on kõrgemal kui lehekuppel ja selle koristatav pea kaalub vähemalt umbes 200 grammi, kui seda istutatakse tihedusega 40 000 taime hektari kohta, mida iseloomustab see, et koristatav pea hõlmab varrest ülemist 25 sentimeetrit, mida mõõdetakse kroonist varrel oleva löikepunktini.

Leiutis võimaldab täiendavalt taolistest brokolitaimedest koristatud ja toodetud brokolitaimed (pea ja/või vars ja nende ühtlane kogumine).

Samuti võimaldatakse seemned taoliste taimede kasvatamiseks aga ka seemned, mis saadakse taoliste taimede ristamisest ja/või isetolmlemisest, kusjuures seemnetest kasvatatud taimed omavad kõrgemat pead ja praktiliselt lehtedeta vart. Ühes teostuses võimaldatakse hübriidbrokoli seemned ja hübriidtaimed, millel on kõrgem pea ja praktiliselt ilma lehtedeta vars. Veel ühes teostuses võimaldatakse sisearetatud brokoli seemned ja taimed, millel on kõrgem pea ja praktiliselt ilma lehtedeta vars. Samuti võimaldatakse koristatud brokoli, mis saadakse taoliste taimede põllu mehaanilise koristamisega.

Ühes eelistatud teostuses on brokolitaimedel lehtedeta ala piki vart nõnda, et 25 sentimeetri ulatuses taime kroonist ei ole praktiliselt lehti või lehevarsi, mille

pindala oleks suurem kui umbes 30 ruutsentimeetrit, eelistatavalt mitte suurem kui umbes 20 ruutsentimeetrit.

- Ühes veelgi täiustatumas teostuses brokolitaimedel praktiliselt puuduvad 25 sentimeetri ulatuses taime kroonini lehed või lehevarred, mille pindala oleks suurem kui umbes 10 ruutsentimeetrit, kusjuures kõige eelistatum oleks, kui taolisel taimel ei kasvaks üldse lehti või lehevarsi 25 sentimeetri ulatuses taime kroonini.

- Lehtede või lehevarte pindala saab hinnata või mõõta käsitsi või elektrooniliste seadmetega, nagu lehepindala indeksmõõtmiste seadmed, nt LAI-2000 taimekupli analüsaator tootjalt LI-COR Inc. (<http://www.licor.com>).

Veel ühes eelistatud teostuses ulatub brokolitaimi kroon vähemalt 10 cm kõrgemale kui kupli kõige ülemine leht, veelgi eelistatumalt vähemalt umbes 15 sentimeetrit kupli kõrgeimast lehest kõrgemale ja kõige eelistatumalt vähemalt umbes 25 sentimeetrit (või rohkem) kupli kõrgeimast lehest kõrgemale.

- Ühes eelistatud teostuses kasvatab brokolitaim vähemalt 250 grammi kaaluva pea, veelgi eelistatumalt kaalub see umbes 350 grammi.

- Ühes erinevas eelistatud teostuses kasvatab brokolitaim koristatava pea kaaluga vähemalt umbes 120 grammi, kui see istutatakse tihedusega 80 000 taime hektari kohta, veelgi eelistatumalt kaaluga vähemalt umbes 150 grammi ja kõige eelistatumalt kaaluga vähemalt umbes 200 grammi, kui seda istutatakse sellise tihedusega.

- Leiutis võimaldab samuti rohkelt selliseid brokolitaimi, mida saab brokolipõllul kasvatada. Eelistatud teostuses küpsevad praktiliselt kõik taimed ühel ajal ja veelgi eelistatumalt kasvavad küpsed taimed praktiliselt sama kõrgeks, s.t. taimed on kogupikkuse, küpsemise aja ja kõrgeimast lehest kõrgemate varre fenotüüpide osas ühesugused.

Käesoleva leiutise taimed saadakse brokolivilja loomise meetodiga, mis hõlmab hulga brokolitaimede kasvatamise ja brokolitaimede peade mehaanilise koristamise etappi, kusjuures taimi iseloomustab nende väljaulatuv pea, mille

kroon on kõrgemal kui lehekuppel ja see koristatav pea kaalub vähemalt umbes 200 grammi, kui seda istutatakse tihedusega 40 000 taime hektari kohta, mida iseloomustab see, et koristatav pea hõlmab ka varre ülemist 25 sentimeetrit, mis mõõdetakse taime kroonist allapoole ja mille puhul mehaanilised vahendid

5 hõlmavad peade eraldamist ja valikuliselt vahendeid eraldatud peade kogumiseks.

Ühes eelistatud teostuses kasvatab brokolitaim ühtlaselt rohelist pea, millel praktiliselt puudub kolletumine üksikõite servas, kusjuures suurusjärgus umbes 10 % või väiksemal üksikõite pinnal on täheldatav muutus ühtlasest rohelisest kollaseks.

10 Mehaanilised vahendid võivad täiendavalt sisaldada vahendeid peade haaramiseks ja peade juhtimiseks eraldusvahenditesse, veelgi eelistatumalt juhitakse eraldusvahendid läbi hulga brokolitaimede praktiliselt püsival kõrgusel mullapinna kohal.

Vahendid ja kogumisvahendid eraldamisvahendite liigutamiseks läbi

15 brokolitaimede hulga võimaldatakse eelistatavalt koos.

Kõrgenenud pea ja lehtedeta varre fenotüübi võib üle kanda ka teistele brokolitaimedele, nt erinevad brokolisordid. Käesolev leiutis ei ole piiratud konkreetse brokolisordiga, vaid on rakendatav praktiliselt kõigile brokolisortidele. Võimaldatakse nii sisearetatud kui hübriidtaimed, millel on käesoleva leiutise

20 tunnused.

Leiutis võimaldab ka leiutise brokolitaimede seemned ja kõik sellest saadud taimed või taimeosad või järelpõlve: märgistusega 970195 sisearetatud brokolitaimede seeme, mille proov on deponeeritud liitumisnumbriga NCIMB 41216 ja mille deponeerimiskuupäev on 28. aprill 2004.

25 Käesolevaga kirjeldatakse veel taimi või taimeosaid või nendest saadud järelpõlve: sisearetatud taim märgistusega 932779, mille seemne proov on deponeeritud Budapesti lepingu kohaselt NCIMB-s (Aberdeen, Šotimaa) liitumisnumbriga NCIMB 41218, deponeerimiskuupäevaga 28. aprill 2004; sisearetatud brokolitaimede seeme märgistatud 970249, mille proov on deponeeritud

30 liitumisnumbriga NCIMB 41219 ja mille deponeerimiskuupäev on 28. aprill 2004.

Käesolev leiutis võimaldab täiendavalt hübriidbrokoli seemne, mille üheks või eelistatavalt mõlemaks vanemaks on käesoleva leiutise sisearetatud taim, nt taim, mis on kasvatatud deponeeritud seemnest (või selle järelpõlvest, nt saadud isetolmlemisest) aga ka brokolitaimi või selle osad, mis saadakse

5 hübriidseemnest.

Käesolevaga kirjeldatakse veel tähistusega SVR 4 hübriidbrokoli taimi seemet, mille proov on deponeeritud liitumisnumbriga NCIMB 41214 ja mille deponeerimiskuupäev on 28. aprill 2004; tähistusega SVR 1 hübriidbrokoli taimi seemet, mille proov on deponeeritud liitumisnumbriga, mille proov on deponeeritud

10 liitumisnumbriga NCIMB 41215 (SVR 1) ja mille deponeerimiskuupäev on 28. aprill 2004 ja tähistusega SVR 5 hübriidbrokoli taimi seemet, mille proov on deponeeritud liitumisnumbriga NCIMB 41217 (SVR 5) ja mille deponeerimiskuupäev on 28. aprill 2004.

Eelistatud teostuses võimaldab leiutis hulga taolisi brokolitaimi istutatud

15 brokolipõllul aga ka taoliselt põllult koristatud brokolipead ja/või varred. Koristatud taimede kogum on kaalu, varrepikkuse ja muude tunnuste osas ühetaoline.

Leiutis hõlmab täiendavalt taolisi brokolitaimi või selle osasid, mida on täiendavalt modifitseeritud, kuid mis säilitavad leiutise eristavad tunnused. Neid võib näiteks muuta selliselt, et need sisaldaksid ühte või enamat transgeeni, mis on

20 rakendatavalt ühendatud brokolitaimi toimivate regulatoorsete elementidega või saab neid antud valdkonnas teadaolevate meetodite abil muteerida (keemiline või radioaktiivne töötlus). Teise võimalusena saab teadaolevate aretusmeetoditega teostada ühe või enama täiendava tunnuse introgressiooni.

Leiutis hõlmab leiutise taimede järelpõlve, mis säilitab vähemalt fenotüüpilised

25 tunnused (kasvutüüp), muutes need 100 % mehaaniliselt koristatavaks, nt järelpõlv, mis saadakse isetolmlemise, ristamise, tagasiristamisega või topelthaploidliinid, mis on valmistatud leiutise taimedest, jne.

Tunnused, mis muudavad brokolitaimi saajaprotsendiliselt koristatavaks, on kõrgeenenud pea ja lehtedeta vars. Need omadused on eelistatavalt seotud

30 brokolipea kaaluga vähemalt umbes 200 g, 250 g, 300 g või enam, mis on

istutatud 40 000 taime/ha või vähemalt umbes 120 g, 130 g, 140 g, 150 g, 200 g või enam, mis on istutatud 80 000 taime/ha.

„Pea kaalu“ saab lihtsalt määrata, kui kasvatada taimed vastaval tihedusel (nt 80 000 või 40 000 taime/hektar) nende küpsuseni ja seejärel eraldada pea umbes 16 cm kauguselt taime kroonist ja eraldatud pea kaaluda.

Käesolevaga avalikustatakse ka rakud, rakukultuurid, koed, organid, õietolm, mikrospoorid, seemnealged või koekultuur, mis saadakse leiutise taimede või brokoliseemne rakkudest. Koekultuur sisaldab rakke või protoplaste mis tahes taimeraku koest, nt lehtede, õietolmu, embrüote, juurte, juuretippude, tolmucapeade, õite, vilja ja seemnete või muude taimeosade koest aga ka taolisest koekultuurist regenereeritud brokolitaimest.

LEIUTISE ÜSIKASJALIK KIRJELDUS

Siin kasutatud tehnilised või teaduslikud terminid omavad nende harilikku tähendust, mis on antud valdkonna asjatundjate poolt aktsepteeritud, kui seda pole käesolevaga teisiti märgitud. Botaaniliste terminite kirjeldused on kättesaadavad antud teemat käsitlevatest arvukatest tekstidest. Vt näiteks Hickey, M., and King, C., (2001). Cambridge Illustrated Glossary of Botanical Terms, Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Käesolev leiutis võimaldab brokolitaimed, mis omavad uut kasvutüüpi, mis muudab need taimed 100 % mehaanilise koristamise jaoks sobivaks. Uudne kasvutüüp on illustreeritud mittepiiravatel joonistel. Joonisel Fig 1 on näidatud liini General (Seminis Seeds) harilik brokolitaim. Joonisel Fig 2 on näidatud näidetes valmistatud brokolitaim (antud juhul hübriidtaim SVR1). Joonistel Fig 1 ja Fig 2 toodud taimed kasvatati põldkatses sarnastes tingimustes. Joonistel Fig 1 ja 2 on kaamera poolel paiknevad lehed ära lõigatud, et paremini näidata vastavate taimede kasvulaadi. Nagu siin on näha, erinevad nende kahe brokolitaime kasvutüübid kõrgenenud pea ja lehtedeta varre osas oluliselt.

Koristatud brokolipea osad hõlmavad üksikõite kobaraid, mille tipud moodustavad ülemise, sügavrohelise ja üldjoontes kumera pinna, mida käesolevaga

nimetatakse ka krooniks. Harilikult koristatakse brokoliga ka varre osa, mis toetab üksikõite kobarat ja mis moodustab osa brokoli söödavast peast.

Leiutis võimaldab ühes teostuses taimed (nt sisearetused ja/või hübriidid), mis on kohandatud 100 % mehaaniliselt koristuseks ja millel on nii kõrgelt väljaulatuv
5 pea (kõrgenenud pea) ning puudub lehtede areng pea all oleval varrel (lehitus; vt joonis Fig 2) ja eelistatavalt ka minimaalne peakaal (vt eespool). Kuigi tehnikatasemes on mõnedel brokolitaimedel, nt sordid nagu Caravel ja Corvet, mõnevõrra kõrgem pea, on nendel taimedel siiski valdavalt suured lehed kinnitunud varrele otse allpool pead. Seega ei ole neil lehtedeta vart. Samuti
10 eksisteerivad lillakad võrsuvad sordid, millel on puhmjad kõrgenenud pead, millel on samuti palju lehti pea all oleval varrel. Varrel olevate lehtede tõttu ei ole tehnika taseme taimed 100 % mehaaniliselt koristatavad, kuna need vajaksid varre edasist lehetustamist ja sellega kaasneks oluline saagikuse kadu koristamise ajal.

Käesolevaga kirjeldatud brokolitüüp muudab võimalikuks brokolipõllu mehaanilise
15 koristamise, kusjuures selle brokolitaimetunnuseks on taimekupli kohal asetsev pea ja lehtede ja lehekeste puudumine vahetult pea all oleval varrel. Leiutise taimed on ühtsed nii küpsemise kui pikkuse osas ning kasvatavad kaubanduslikult vastuvõetavaid päid.

Ühtse brokolitaimede põllu kasvatamise ja koristamise meetod, mis hõlmab taime
20 kõrgenenud pead ja lehtedeta vart peast allpool, sisaldab põllule leiutise taime seemnete istutamist või taimeidude ümberistutamist, taimede kasvatamist kuni need on koristamiseks sobivad ja brokoli tipuosa ja lehtedeta varre kindlaksmääratud osa koristamist, rakendades 100 % mehaanilist koristamist. Valikuliselt võimaldatakse vahendid eraldatud brokoli kogumiseks, koristatud
25 brokoli ladustamiseks ja/või sorteerimiseks ja/või pakendamiseks. Eelistatavalt on antud meetodi toode värskest koristatud brokoli, mis on valmis müügiks või laialisaatmiseks supermarketitesse, köögiviljapoodidesse, jne. Ühe võimalusena saab koristatud brokolit ka töödelda.

Kasutada saab lõikusmasinat, mis on kohandatud spetsiaalselt kõrgelt
30 väljaulatuvate peatüüpide koristamiseks, millel on lõikamisvahendid (nt üks või enam tera) peade eraldamiseks kindlaksmääratud varrepunktis ja kupli kohal ja

millel on valikuliselt ka vahendid eraldatud peade kogumiseks ja edasitoimetamiseks.

Harilikul brokolil on tavaliselt suured lehed ja lehevarred, mis kasvavad varrest üles kuni pea alumise osani. Täiustatud taimedel on ainult mõned väga väikesed

5 lehed samas kohas pea all.

Meetod leiutise kasvutüübi edasikandmiseks teistele brokolitaimedele kasutab tavapäraseid aretustehnoloogiaid ja sellise järelpõlve valimist, mis säilitab vanemate kasvutüübi, s.t. mis säilitab vähemalt tunnused, mis muudavad taimed 100 % mehaaniliselt koristatavaks. Vanemliinidena saab kasutada näiteks NCIMB-
10 i deponeeritud taimi või nendest tuletatud taimi, mis säilitavad nende taimede kasvutüübid.

Nimetatud meetod hõlmab järgmist:

- brokolitaim (või taimeseemne) saamine, mis on 100 % mehaaniliselt koristatav, s.t. sisaldab tunnusena nii väljaulatuvat pead kui lehtedeta vart

15 - nimetatud taime (või seemne) kasvatamine õitsemiseni

- nimetatud taime ristamine brokolitaimega, mis ei ole 100 % mehaaniliselt koristatav (s.t. millel ei ole tunnusena väljaulatuvat pead ja/või lehtedeta vart)

- valikuliselt täiendav ristamine eespool toodud ristandi järelpõlvega

20 - eespool toodud ristandi(te) selektsioon väljaulatuva pea ja/või lehtedeta varre tunnuse osas, hinnates pea kõrgust, lehtede eksisteerimist varrel ja/või varrel olevate lehtede pindala, ja

- taimede valimine, mis on 100 % mehaaniliselt koristatavad (s.t. sisaldavad tunnusena vähemalt väljaulatuvat pead ja lehtedeta vart lähtetaimes vastaval defineeritule).

25 Selekteerimine hõlmab ühte või enamat tehnilist etappi, nt manuaalsete ja/või visuaalsete mõõtmiste teostamine. Käesolev meetod sisaldab valikuliselt ka selekteerimisetappe, nt eraldatud peade kaalumise ja/või kolletumise hindamine küpses etapis, mille järel valitakse taimed, millel on soovitud peakaalu ja/või värviomadused.

Meetod hübriidbrokoli taimede kasvatamiseks, mis on 100 % mehaaniliselt koristatavad, hõlmab kahe (eelistatavalt sisearetatud) leiutise taime ristamist ja hübriidseemnete koristamist. Saadud seemnetel ilmneb kasvamisel uudne kasvutüüp, eriti just kõrgeenenud pea ja lehtedeta vars vastavalt kirjeldusele. Ühes

5 teostuses hõlmab meetod leiutise sisearetatud taimede isas- ja emasvanemate ridade põllule istutamise, taimede õitsemiseni kasvatamise ja seemnete tärkamiseni kasvatamise ja emasvanemate reast hübriidseemne koristamise etappe. Nimetatud meetod väldib eelistatavalt igasugust emasvanemate isetolmlemise toimumist, et saada 100 % puhtad hübriidseemned (vt allpool).

- 10 Kaubanduslike brokoli hübriidide arendamine hõlmab homosügootsete sisearetatud vanemliinide arendamist antud valdkonnas hästi tuntud meetodite abil. Harilikult ühendatakse kõrgekvaliteediliste hübriidtaimede aretamiseks kaks või enam iduplasma allikat või geenifondi. Soovitavad sisearetatud või vanemliinid aretatakse pideva valiku teel, mille järel toimub mitu põlvkonda isetolmlemist kuni
- 15 liinid on piisavalt ühetaolised. Teise võimalusena saab kasutada tolmucapead või mikrospoori kultuuri (millele järgneb kromosoomi dubleerimine topelthaploidliinide saamiseks, nimetatakse ka DH-liinideks), millele järgneb parimate aretusliinide valimine ja järelpõlve testimine erinevates hübriidkombinatsioonides.

- Parimaid hübriid tulemusi andnud sisearetatud liinide tuvastamise järel saab
- 20 hübriidseemet toota lõputult, ehk seni, kuni säilitatakse sisearetatud vanemate homogeensus ja homosügootsus. Termin „sisearetatud brokolitaim“ hõlmab ka selle taime mis tahes üksikut geenikonversiooni. Termin „üksiku muudetud geeniga taim“ viitab siin kasutatuna brokolitaimedele, mida aretatakse taimearetuse tehnoloogiaga, mida nimetatakse tagasiristamiseks, mille puhul
- 25 sisearetatud taime praktiliselt kõik soovitud morfoloogilised ja füsioloogilised omadused regenereeritakse lisaks ühele geenile, mis viiakse tagasiristamise meetodiga doonorvanemalt sisearetatud taimesse.

- Mastaapse hübriidseemne tootmise korral saab kasutada erinevaid risttolmlemise süsteeme, mis põhinevad isesteriilsusel, või teise võimalusena ka tsütoplasmalisel
- 30 isassteriilsusel (CMS). Need tehnikad on antud valdkonnas hästi teada. Hübriidvanemate (sisearetatud liinid) suuremastaabiline kasv saavutatakse isetolmlemisega, mida vajadusel hõlbustatakse CO₂ kontsentratsiooni tõstmisega,

et ületada omavahelist ühildamatust või õiepungade käsitsi tolmutamisega. Taoline suuremastaabiline sisearetatud liinide kasv teostatakse harilikult kasvuhoones. See vanemliini seemne tootmise praktika tagab hea kvaliteediga seemne ja haiguste kontrolli. Leiutise sisearetatud brokolitaimed hõlmavad näiteks brokolitüüpe 970192 (Joonis Fig. 4), 932779, 970249, PLH42 (Joonis Fig. 5) ja 970195 ja nende seemneid ja nendest tuletatud saadusi. Joonisel Fig 3 on näidatud põlvnemistabel, mis jälgib 970195 arendamisel tehtud valikuid.

Kaubanduslik hübriidseeme toodetakse avapõllul seemnete (emas)vanemate ja tolmeldaja (isas)vanemate ridade vaheldumisi istutamisega, kui seemne vanema CMS-i isesteriilsus välistab isetolmlemise ja tagab hübriidse F1 seemne koristamise antud valdkonnas tuntud meetoditega. Hübriidseemne tootmise meetod hõlmab seega ühes teostuses uudse kasvutüübiga emas- ja isasvanemate ridade kasvatamist ja emasvanemate ridadest hübriidseemnete koristamist.

Brokoli hübriidseemnete tootmiseks kasutab kaasaegne süsteem CMS-i, mille introgressioon teostati *Brassica oleracea*-sse rõikast (Ogura, H. (1968). Studies on the new male sterility in Japanese radish, with special reference to the utilization of this sterility towards practical raising of hybrid seed. Mem Fac Agric Kagoshima Univ. 6: 39-78).

Seega võimaldatakse ka leiutise sisearetatud brokolitaimed, mis on isassteriilsed ja sobivad kasutamiseks emasvanematena hübriidseemne tootmises. Ühes teostuses on sisearetatud brokolitaimed isassteriilsed tsütoplasmalise isalissteriilsuse tõttu, nt ogura cms või polima cms. Taolisi taimi saab valmistada antud valdkonnas teadaoleva info abil. Veel ühes teostuses on leiutise taim isassteriilne tänu ühele või enamale transgeenile, mis pakub isassteriilsuse integreerimist nende genoomi, nagu seda kirjeldatakse näiteks tekstis EP 0,344,029 või US 6,509,516 või US 5,789,566.

Väljaulatuva peaga brokoli vanemliini puhul on täheldatud kõigi tunnuste ühetaolisust ja stabiilsust. Vanemliine on säilitatud punga tolmeldamisega (kolme deponeeritud homosügootse liini hübriidvanemate isesteriilsuse puhul) või CMS seemne vanemate puhul on neid tolmeldatud selle säilitaja poolt, ja on istutatud

piisava hulga põlvkondade kaupa, jälgides hoolikalt taimetüübi ühetaolisust, et tagada homosügootsus ja fenotüüpiline stabiilsus.

Väljaulatuval brokolitüübil on pea kõrgel lehekupli kohal. Samuti pole brokolil suuri lehti varre selles piirkonnas, mis jääb vahetult pea alla ja seetõttu saab seda
5 koristada varre tasandil selliselt, et seda ei sega lehed, kaasa arvatud lehevarred, mis mitte ainult ei hõlbusta käsitsi korjamist, vaid teeb võimalikuks ka selle vilja tõhusa ja kiire mehaanilise koristamise, mis mõlemal juhul säästab tööjõukulusid. Tavalist brokolit saab koristada ainult käsitsi, mis muudab selle nii aeganõudvaks kui kulukaks, sest toode asub sügaval vilja sees ja selle lehed tuleb veel lisaks
10 lehe küljest käsitsi eraldada.

Brokoli pakub ühetaolisust ka muudes omadustes, mis suurendavad kiire koristuse puhul saagikust, kaasa arvatud brokoli küpsemise ajastus ja kasvukarakteristikud taimel aga ka pea väljaulatumise (tõstetud pea) tunnus. Märgistusega 970192 (plh26/plh33) brokoli sisearetuse liini kogu pea ja/või üksikõied, mis on esitatud
15 joonisel Fig 4, näitavad neid tunnuseid.

Uute taimede täiendav eelis on värvi ühetaolisus, s.t. brokolitaimed kasvatavad päid, mis ulatuvad kuplist välja ja on päikesevalgusele paljastatud rohkemal ja pidevamal määral kui tavalised brokolitaimed, mis annab tootele ühtlaselt sügavrohelise värvi ja mille krooni servades kolletumist praktiliselt ei esine.
20 Väiksem kuppel tähendab seda, et valgus jõuab paremini peade kõikidele külgedele aga ka üksikõitele, muutes selle ühtlaselt rohelisteks, erinevalt harilikust brokolist, mis on roheline ja kollaste äärtega, mis on lehekupli servadega varjatud. See on brokolitöötlejate poolt väga soovitud omadus.

Kolletumise puudumine tähendab, et koristatud pead, isegi kui neid külgedelt
25 vaadata, on ühtlaselt sügavrohelist värvi ja on krooni servadest väga vähe või üldse mitte heledamad või kollakamad. See käib ka üksikõite kohta, mille servades on palju vähem kolletumist. On täheldatud, et väljaulatuva peaga taimede poolt kasvatatud brokolipeades on alla umbes 10 %, eelistatavalt alla 5 % üksikõite servadest näha muutust ühtlasest rohelistest kollaseks. Kolletumise ulatust saab
30 hinnata näiteks visuaalsel teel ja seda võrreldakse eelistatavalt sobivate

kontrolltaimedega nagu tehnika taseme taimed, millel puudub väljaulatuva pea tunnus.

5 Käesoleva leiutise sisearetuse või hübriidtaime koekultuurist saadud brokolitaime regeneraadis on kasutatud meetodeid, mis on brokoli koekultuuri regenereerimise valdkonnas hästi tuntud ning lisaks saab neid meetodeid kasutada brokoli või muudetud brokoli *in vitro* regenereerimiseks (vt nt Ameerika Ühendriikide patent nr 5,188,958, Moloney, et al., February 23, 1993).

10 Väljaulatuva peaga brokolitüübi aretamine algas sooviga aretada brokolitaime, mida oleks lihtsam käsitsi või mehaaniliselt koristada ja millel oleks hea taimekasvatustlik kohastumine. Käsitsi või mehhaanilise koristamise seisukohalt oli eesmärgiks brokolipead kandva peavarre pikendatud kasvulaad ja väljaulatuv osa lehekupli kohal. Seda tunnust defineeritakse kui pea väljaulatumist. Muud koristamise lihtsustamise seisukohalt oluliseks peetavad omadused olid peakõrgus ja lühikesed lehevarred, mis hõlbustavad pea väljaulatumist kupli
15 kohale. Veel üheks tunnuseks valiti peakõrgus.

JOONISTE LOETELU

Joonisel Fig 1 on näidatud hariliku brokoliliini General (Seminis Seeds) tüüpiline kasvulaad. Joonisel Fig 2 on näidatud hübriidliini SVR1 kasvulaad. Joonis Fig 3 on põlvnemistabel, mis näitab märgistusega 970195 leiutise taime arengut. Joonis Fig
20 4 näitab märgistusega 970192 sisearetatud brokolitaime. Joonis Fig 5 näitab märgistusega PLH42 sisearetatud brokolitaime. Joonis Fig 6 näitab märgistusega SVR 1 hübriidbrokoli taime. Joonis Fig 7 näitab märgistusega SVR 4 hübriidbrokoli taime kasvamas põllul. Joonis Fig 8 näitab märgistusega SVR 5 hübriidbrokoli taimi kasvamas põllul.

25 Järgmiste näidete eesmärgiks on leiutist illustreerida, mitte aga piirata.

NÄITED

Näide 1 – Taimede aretamine

Kasutada oli nii firma enda kui avalikult kättesaadavaid uuringuliinid, millel oli tõstetud pea (RH) tunnus. Näiteks Oregoni Riikliku Ülikooli (OSU) brokoliaretuse

programmil olid mõõdukalt tõstetud peaga liinid ja mitmed lisandused hangiti OSU aretusprogrammist. Need liinid olid tähistatud kui OSU-102 ja OSU-111. Need lisandused andsid ebarahuldava peasuuruse ja üldise pea kvaliteedi ja kasvasid lehed varrele otse selle pea alla, muutes taolised liinid kaubanduslikult kasutatavate hübriidide vanematena ebasobivaks. Paremini tõusnud pea tunnuste ja suuremate vartevaheliste pikkuste seleksioon tõi järjekindlalt kaasa peade madalama kaalu (Baggett, et al., 1995). Käesolev leiutis on leidnud sellele probleemile lahenduse, nagu seda siin järgnevalt kirjeldatakse.

Aretusprojekti alguses valitud firma enda lisandused kandsid tähistusi DH-MRE-7, DH MRD1-1, GM1-6, B19, DH E-47, EC-2, SH2, EC-2, SH-2, DH M-84, HCH, GB-7, HBH-6 ja DH GV-37. Kõik need liinid olid parimad vanemliinid, mis aretati välja Seminise aretusprogrammis ja mida kasutati kaubanduslike hübriidide tootmiseks juba 1970. aastatel. Need liinid valiti vähemalt osaliselt selleks, et kompenseerida defekte, mida täheldati OSU-liinide viljade omadustes. Firma enda liinid olid väga hea üldise kombineerumisvõimega, vastupanuga haigustele, eriti ebajahukaste (*Peronospora parasitica*), näitasid juba suhteliselt head RH-jooni, lühikesi lehti pea ümber, head peakõrgust ja peakõrguse ühetaolisust aga ka vastupanu pehmele baktermädanikule (*Erwinia* ja *Pseudomonas* bakterid). Iga nimetatud liini põhijooned on lühidalt esitatud tabelis 1.

20 Tabel 1

Lisandus või liini number	Kirjeldus
OSU-102	Võrdle OSU-111, veidi elujõulisem
OSU-111	Väike taim, keskmine RH, lehed varrel, suur pähik
DH-MRE-7	vastupanuvõime ristõieliste ebajahukastele, peen pähik
DH MRD1-1	vastupanuvõime ristõieliste ebajahukastele, peen pähik
GM1-6	Suhteliselt hea tõstetud pea, peen pähik, hea kombineerumisvõime, kasutatakse paljudes Seminise kaubanduslikes hübriidides (Corvet, Cruiser, jne), lehed varrel allpool pead.
B19	Varajasus, kombineerumisvõime, kasutatakse Seminise kaubanduslikes hübriidides.

Lisandus või liini number	Kirjeldus
DH E-47	Toob sisse pea kaalu ja värvi
EC-2	Suhteliselt kõrge pea, suur pähik
DH GV-37	Tugevus ja pähiku kvaliteet
SH-2	Kombineerumisvõime, geneetiline kaugus, värv, elujõulisus, niiske mäda vastupanuvõime
HBH-6	Varajasus
DH M-84	Väike pähik, pea kvaliteet, tugevus
HCH	Võrdle HBH6
GB-7	Tugevus ja pähiku kvaliteet

Tähistus DH märgib topelthaploidi ja viitab sellele, et see liin on aretatud kas läbi tolmucapea kultuuri või mikrospoori kultuuri, millele järgnes kromosoomi dubleerimine. Paremates RH liinides oli üldiselt nõrk (OSU) või keskmine (GM1.6, EC2) pea kvaliteet. Parema kvaliteediga liinides, s.t. hea tugevus, pähiku suurus, värv, ristõieliste ebajahukastele vastupanuvõime, jne, puhul RH tunnus tavaliselt puudus. Puudusid liinid, mis ühendaksid RH tunnuse ja sobiva kvaliteedi ning liinid, mis lisasid allpool pead lehtede puudumise omaduse, et anda sellele väljaulatuv ilme.

Neid liine on pidevalt ristatud ja selekteeritud erinevates kombinatsioonides alates 1980. aastatest. Iga ristandi järelpõlve taimed (F1) valiti oma fenotüüpilise välimuse järgi pea esile tõstmiseks koos soodsate taimekasvatustlike omadustega peade tunnuste kõigi teiste oluliste taimekasvatustlike tunnuste jaoks. Parimate perekondade valitud taimed ristati uuesti teiste perekondade valitud taimedega. Mõnikord teostati kahe ristamistsükli vahel valitud taimede iseviljastamine ühe või kahe põlvkonna ulatuses (F2, F3), et saada liinide parem ühetaolisus. Nende liinide parimad taimed ristati uuesti. Seda aretusprotseduuri tuntakse kui modifitseeritud perekonna seleksioon, nagu seda kirjeldatakse taimearetuse standardõpikutes, s.t., Allard, R. W., Principles of Plant Breeding (1960) New York, NY, Wiley, pp 485; Simmonds, N. W., Principles of Crop Improvement (1979), London, UK, Longman, lk 408; Sneep, J. et al., (1979) Tomato Breeding (lk 135-171): Breeding of Vegetable Crops, Mark J. Basset, (1986, koostaja), The Tomato

crop: a scientific basis for improvement, by Atherton, J. G. & J. Rudich (koostajad), Plant Breeding Perspectives (1986); Fehr, Principles of Cultivar Development Theory and Technique (1987) New York, NY, MacMillan.

Selektsiooniprogrammi kestel valiti mitmed häid omadusi näitavad liinid, mille
5 tähiseks sai PLH, ja sellega seoti järjekorra number. Üllatuslikult selgus, et tõstetud peaga brokolitüübi puhul esines saagikuse kadu väga vähe või üldse mitte. See on mõnevõrra üllatav, kui arvestada varre lisapikkust, mis on vajalik raske pea välja toomiseks lehestikust. Ainult pärast aastatepikkust ristamist ja selektsiooni koos ühe või kahe põlvkonna isetolmlemisega suudeti näidata, et
10 geneetilist ühendust, mis eksisteeris pea väljaulatumise ja kehvade taimekasvatustlike omaduste ja pea kvaliteedi omaduste vahel, oli võimalik lõhkuda.

Progress oli igas põlvkonnas alati väike ja põlvkondade lõikes raskesti kvantifitseeritav. Hetkel parimad saadaolevad liinid hõlmavad järgmisi: 970195
15 (põhineb selektsioonil PLH 2546 ja PLH 33 ristandist), 970192 (valitud PLH 26 ja PLH 33 ristandist), 970249 (valitud DH M 84 ja MRD 6 ristandist), 932779 (valitud PLH 10 ja DC3EC6 ristandist) ja PLH 42 (valitud DC3EC6 ja PLH 10) ristandist. Liinide 932779, 970249 ja 970195 seeme on NCIMB deposiidi aineks. PLH 10 oli ise valik HBH 6 ja OSU-111 ristandist. Põlvnemine, mis näitab liini 970195
20 arengut, on kokku võetud tabelis Fig 3, näidates ristamiste ja selektsioonide tüüpilisi seeriaid, mida taimede aretamises teostatakse. Märgistusega 970192 (plh26/plh33) brokoli sisearetuse liini kogu pea ja/või üksikõied, mis on esitatud joonisel Fig 4, näitavad pea väljaulatumise tunnust sisearetatud liinis. Selle brokoli liini pea väljaulatumise puhul on paljude aastate kestel täheldatud kõigi tunnuste
25 ühetaolisust ja stabiilsust. Seda on aretatud ja hoitud õiepungade tolmutamisega viie põlvkonna jooksul, pöörates suurt tähelepanu taimetüübi ühetaolisusele, et tagada homosügootsus ja fenotüüpiline stabiilsus. Selle teisendtunnuseid ei ole täheldatud ega ka ette näha. Sisearetatud 932779 ja 970249 omavad sarnaseid tõstetud pea tunnuseid. Nende liinide aretus ja hoidmine oli analoogiline liinile
30 970195. PLH 42 (Joonis Fig 5) omab vastavalt leiutisele head pea väljaulatuvust ning väheseid väikseid lehti pea all oleval varrel. Seda on aretatud ja hoitud õiepungade tolmutamisega kuue põlvkonna jooksul, pöörates suurt tähelepanu taimetüübi ühetaolisusele, et tagada homosügootsus ja fenotüüpiline stabiilsus.

- Selle teisendtunnuseid ei ole täheldatud ega ole ka ette näha. Liinil 932779 on samasugune taust nagu liinil PLH42. See on varakult küpsev liin, millel on hea pea väljaulatuvus ja hea kvaliteediga pea koos korraliku pähiku ja tugevusega ja hulk väiksemaid lehti pea all oleval varrel. Vastupanuvõime ristõieliste ebajahukastele on väga kõrge ja pea värv on tumeroheline.

Näide 2 – Väljaulatuva peaga brokolihübriidi valmistamine

- Hübriidkombinatsioonide valmistamiseks on kasutatud eelistatud sisearetatud liine. SVR 1 valmistati PLH42 x DH PLH13 ristamisega (Joonis Fig 6). Sellel on mõned äärmusliku RH tunnused, äärmiselt varajane, äärmiselt tume värv, peen pähik, hea kuumuse taluvus, hea niiske mädaniku taluvus, hea ühetaolisus, vastupanuvõime ristõieliste ebajahukastele, peen vars, mõned lehed allpool pead, pea kaal 250-300 grammi istutamistihedusega 40 000 taime hektari kohta, hea kliima ja aastaaegadega kohanemise võime. Pea all on väga vähe ja väikese pindalaga lehti.

- SVR4 valmistati PLH26/PLH33 x NjaECB ristamisega (Joonis Fig 7). Sellel on hea pea väljaulatuvus, keskmine küpsemisaeg, poolkroon, suhteliselt suur pähik, pea kaal 300-350 g istutamistihedusega 40 000 taime hektari kohta, puhtama varrega kui SVR1.

- SVR5 valmistati PLH2546/PLH33 x NjaECB ristamisega. Selle küpsemine on sarnane SVR4, tugevalt haruline pea, keskmiselt tõstetud pea, samuti puhtam vars kui SVR1, pea kaal 350-400 grammi istutamistihedusega 40 000 taime hektari kohta, äärmiselt roheline üksikõie värv, täielikult roheline üksikõis, rohkem töötlemise/pähiku eraldamise tüüp (Joonis Fig 8).

Näide 3 – Väljaulatuva peaga brokoli koristamine

- Brokolitaimede põld kasvatatakse küpsuseni ja pead koristatakse mehaanilisel teel peade haaramise, eraldamise ja eraldatud peade kogumisega konveierile. On leitud, et brokolitaimede põllult saab sellisel viisil koristada suurt kogust brokolipäid, hoides kokku käsitsikoristamise aega ja kulusid. Väljaulatuva pea tunnus koos väheste või üldse puuduva lehestikuga allpool pead võimaldab

mehhaniseeritud koristaja kasutamist ilma brokolipäid kahjustamata või lõikusmasinat rikkumata.

DEPONEERIMISE INFO

Eespool avalikustatud Seminis Vegetable Seeds firma sisearetatud ja hübriidsete brokoliliinide deposiit on tehtud NCIMB Ltd-is, 23 St. Machar Drive, Aberdeen AB24 3RY. Kõigi deposiitide kuupäev oli 28. aprill 2004. NCIMB liitumisnumbrid sisearetatud liinidele 932779, 970249 ja 970195 on vastavalt NCIMB 41218 NCIMB 41219 ja NCIMB 41216. Hübriidbrokoli seemne SVR 4, SVR 1 ja SVR 5 NCIMB liitumisnumber on vastavalt NCIMB 41214, NCIMB 41215 ja NCIMB 41217.

Patendinõudlus

1. Brokolitaim, mis hõlmab väljaulatuvat pead, millel kroon on kõrgemal kui lehekuppel ja mis kaalub vähemalt 200 grammi, kui seda istutatakse tihedusega 40 000 taime hektari kohta, **mida iseloomustab see, et** vähemalt 25 sentimeetri
5 ulatuses nimetatud taime kroonist allapoole ei kasvata see taim lehti või lehevarsi, mille pindala oleks suurem kui 30 ruutsentimeetrit, kusjuures see taim on tähistusega 970195 sisearetatud brokolitaimse seemne järelpõlv, kusjuures selle seemne proov on deponeeritud tähistusega NCIMB 41216.
2. Taim vastavalt eelnevale punktile, mis **erineb** selle poolest, et nimetatud taim
10 kasvatab ühtlaselt rohelist pea, millel praktiliselt puudub kolletumine krooni servas.
3. Taim vastavalt üskõik millisele eelnevale punktile, mis **erineb** selle poolest, et nimetatud taim on sisearetatud taim või hübriidtaim.
4. Üskõik millisele eelnevale punktile vastava taime seeme, mis **erineb** selle
15 poolest, et nimetatud seeme on sellise brokolitaimse kasvatamiseks, mis hõlmab väljaulatuvat pead, millel kroon on lehekuplist kõrgemal ja mis kaalub vähemalt 200 grammi, kui seda istutatakse tihedusega 40 000 taime hektari kohta, **mida iseloomustab see, et** vähemalt 25 sentimeetri ulatuses nimetatud taime kroonist allapoole ei kasvata see taim lehti või lehevarsi, mille pindala oleks suurem kui 30
20 ruutsentimeetrit.
5. Üskõik millisele punktile 1 kuni 3 vastavate taimede eraldatud brokolipea, mis saadakse lehtedeta varre lõikamisega kindlaksmääratud asukohast allpool pead.
6. Üskõik millisele punktile 1 kuni 3 vastavate brokolitaimede hulk, mida kasvatatakse brokolipõllul.
- 25 7. Brokolitaimede hulk vastavalt punktile 6, mis **erineb** selle poolest, et praktiliselt kõik nimetatud taimed küpsevad samal ajal ja mille puhul nimetatud küpsed taimed kasvavad praktiliselt sama kõrgeks.

FIG 1



FIG 2



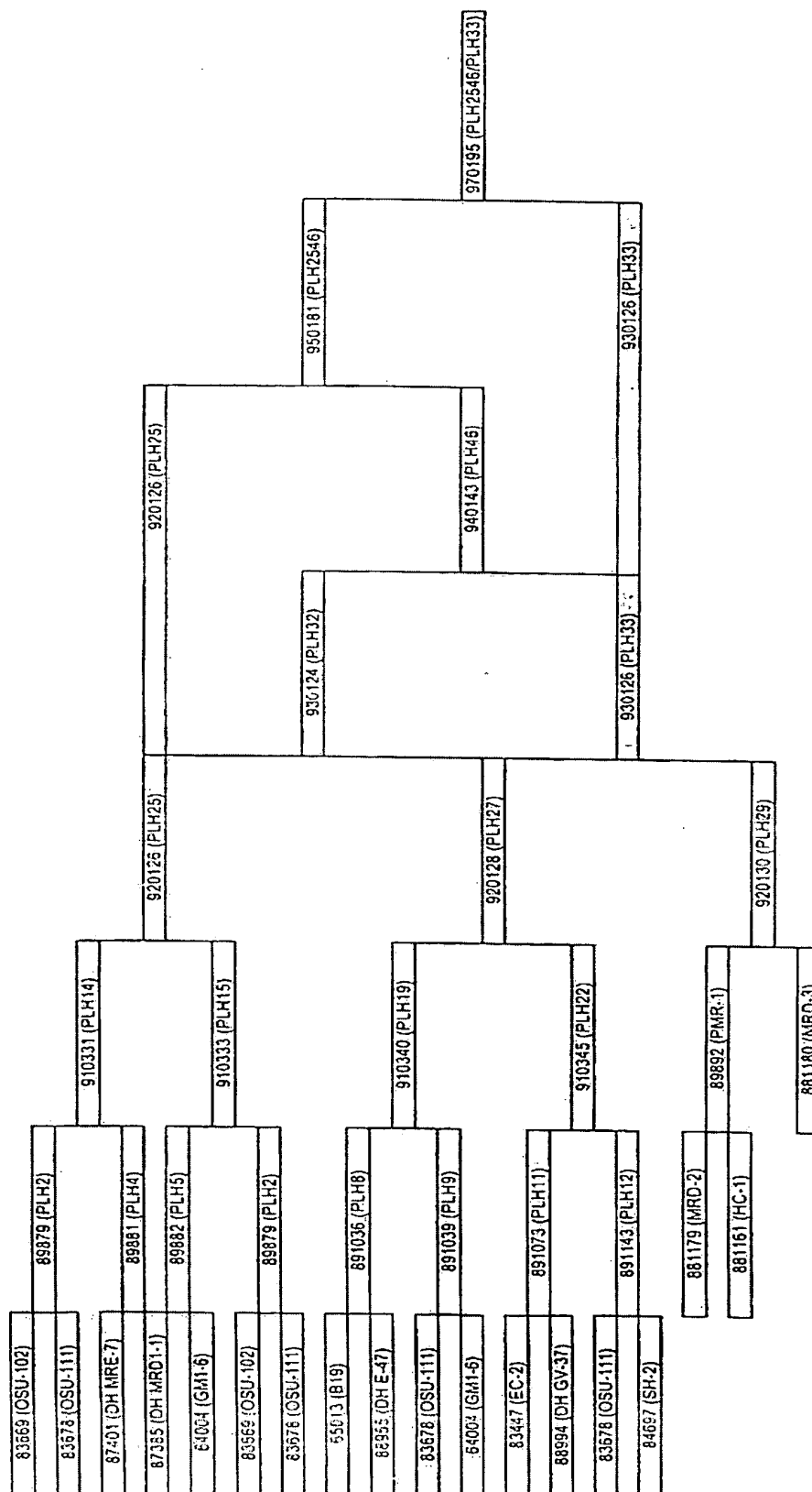


FIG 4



FIG 5



FIG 6

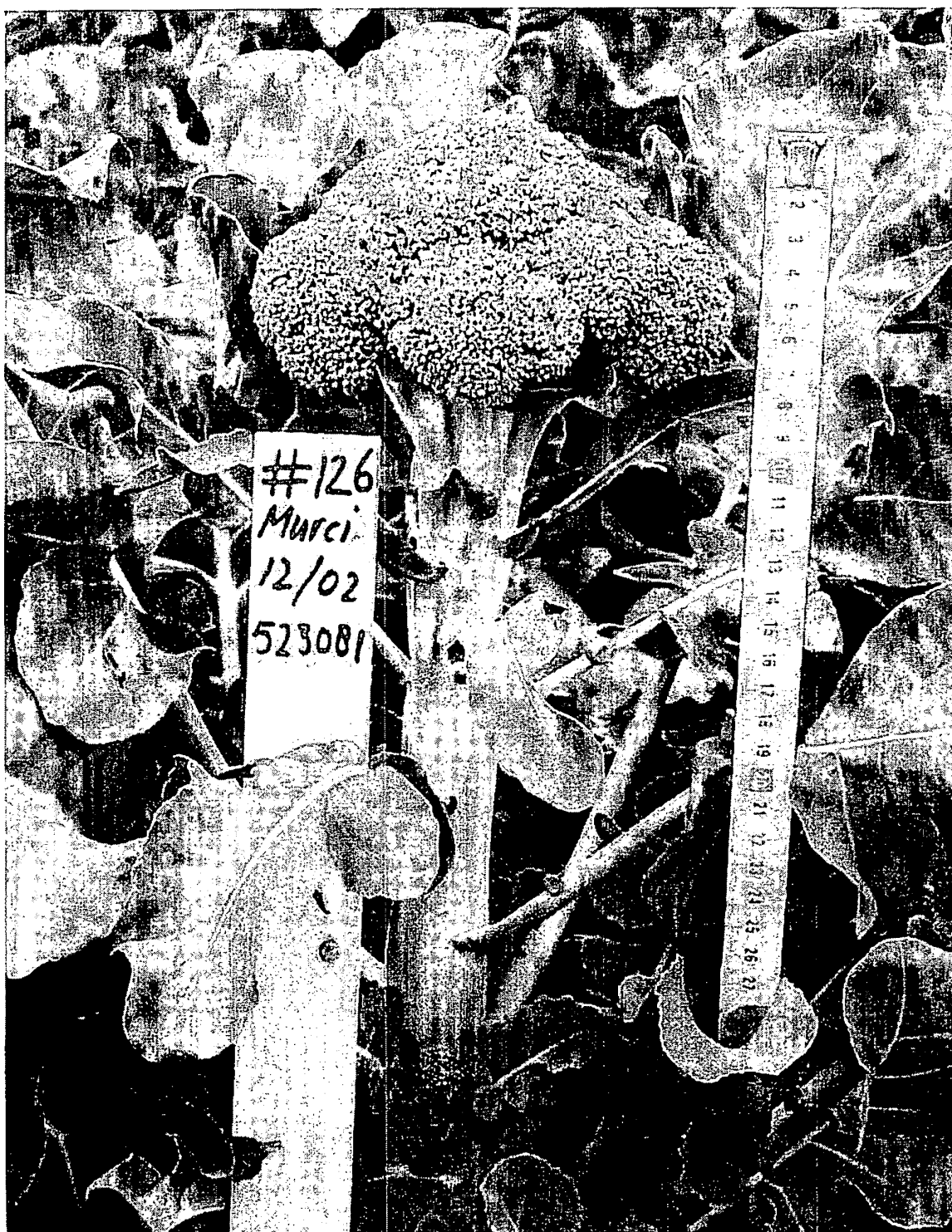


FIG 7



FIG 8

