

**MIKROLISÄYKSEN EDUT JA HAITAT
TAIMISTOVILJELYSSÄ**



Ammattikorkeakoulun opinnäytetyö

Puutarhatalouden koulutusohjelma

Lepaan yksikkö, kevät 2013

Leena Huhtama

Leena Huhtama

LEPAAN YKSIKKÖ
Puutarhatalouden koulutusohjelma
Kasvihuone- ja taimitarhatuotanto

Tekijä	Leena Huhtama	Vuosi 2013
Työn nimi	Mikrolisäyksen edut ja haitat taimistoviljelyssä	

TIIVISTELMÄ

Opinnäytetyön tarkoituksena oli koostaa tietopaketti mikrolisäyksen eduista ja haitoista taimistoviljelyssä keskustelun pohjaksi. Työn teettäjänä oli Taimistoviljelijät ry.

Kaupallisen mikrolisäyksen etuja ovat valittujen kloonien massatuottaminen, tautivapaiden kasvien lisäys, kloonattujen emojen lisäys hybridisiementuottoa varten ja mahdollisuus taimiston ympärivuotiseen tuotantoon. Mikrolisäyksen haittoja ovat mikrolisäyslaboratorion perustamis- ja ylläpitokustannukset, suuri työmenekki ja riskit lisäyksen onnistumisessa.

Selvitettäessä mikrolisäyksen etuja ja haittoja taimistoviljelyssä sekä tuotannolliselta, taloudelliselta että jatkoviljelyn kannalta, perehdyttiin aiheesta julkaistuun kirjalliseen ja sähköiseen materiaaliin. Työn tueksi tehtiin kvalitatiivisella menetelmällä taimistoviljelyn ja mikrolisäyksen ammattilaisille teemahaastatteluja sekä yksilö- että ryhmähaastatteluina. Haastattelut ajoittuivat lokakuusta vuonna 2012 tammikuulle vuoteen 2013. Haastattelujen lisäksi käytiin keskusteluja ja saatiin tiedonantoja muiltakin taimitarha- ja mikrolisäysalan ammattilaisilta.

Haastatteluaineistoa analysoidessa mikrolisäyksen edut ja haitat osoittautuivat samoiksi kuin kirjallisuudessa esitetyt. Haittoiksi täsmentyivät mikrolisäyslaboratorion suuri erityisosaamisen, hygienian ja tilojen vaatimus sekä taimien muuntelu, mahdollinen tautiherkkyys, liikaversoisuus ja hontelo kasvu. Taimistolle ostettujen mikrolisättyjen pikkutaimien totuttamisvaihe koettiin työlääksi. Tähän toivottiin välivaiheen kasvattajaa. Mikrolisäyksen eduiksi haastatteluissa nousi taimien terveys ja tasainen laatu. Tuotanto on nopeaa ja tehokasta. Taimet ovat nopeakasvuisia ja useimmilla kasveilla runsas versonmuodostus on eduksi. Ympärivuotinen tuotanto mahdollistaa viljelyn tehostamisen ja henkilöstön jatkuvan työllistämisen.

Avainsanat Mikrolisäys, taimisto, *in vitro*, *ex vitro*, etu, haitta

Sivut 31s. + liite 1s.

Lepaa
Degree Programme in Horticulture

Author Leena Huhtama **Year** 2013

Subject of Bachelor's thesis The Advantages and Disadvantages of
Micropropagation in Nursery Production

ABSTRACT

The purpose of this study was to find out knowledge and information about the advantages and disadvantages of micropropagation in nursery production as a basis for further discussion in the Finnish nursery field. The commissioner of the thesis was Finnish Association of Nurserymen (Taimistoviljelijät ry.).

The advantages of commercial micropropagation can be summarized as: the effective mass propagation of specific clones, the production of pathogen-free plants, the clonal propagation of the parental stock for hybrid seed production and the possibility to obtain year-round nursery production. The disadvantages are the high costs of establishing facilities for micropropagation, a high labour input and various risks of failure in propagation.

The research methods used were firstly doing research into literature and articles about the subject and secondly qualitative survey research through different types of interviews. The interviews took place from October 2012 to January 2013. The interviewees were horticultural professionals involved in micropropagation and/or nursery production in Finland. In addition, several discussions took place and information was received from professionals, which were not interviewed in the actual survey.

When analyzing the survey data it was proven that the advantages and disadvantages of micropropagation were similar to those put before in literature. Concerning the micropropagation itself the disadvantages were expanded on the need for trained personnel and the high requirements for the facilities and hygiene. The risks of variation, potential susceptibility to pathogens, excessive growth of shoots and lanky growth were also listed as disadvantages. The acclimatization of purchased micropropagated shoots was found difficult and laborious. As for the advantages of micropropagation the good health, the fast and bushy growth and the constant quality of plants were pointed out.

Keywords Micropropagation, nursery, *in vitro*, *ex vitro*, advantage, disadvantage

Pages 31 p. + appendice 1p.

KÄSITTEET

adventiiviverso	(lat. adventitus = ylimääräinen), jälkiverso; kasvin verso, joka kehittyy epänormaaliin paikkaan myöhäissyntyisesti
agar	polymeeri, jota saadaan meressä elävistä punaleivistä, käytetään kasvatusalustan hyödyttämiseen; samaan tarkoitukseen voidaan käyttää myös muita aineita kuten gelriittiä ja selluloosaa
apomiktinen	kasvien siementen lisääntyminen ilman hedelmöitystä, jolloin siemenjälkeläinen on geneettisesti emonsa kaltainen
aseptinen	mikrobiton; mikrobisaastutuksen ehkäisemistä suojaamalla kohdetta ja steriloimalla ympäristöä ja välineitä
bakteeri	esitumallinen, solurakenteeltaan alkeellinen eliö; monet bakteerit ovat eläin- ja kasvitautien aiheuttajia
ex vitro	(lat. vitrum = lasi), lasista, koeputkesta; eliöstä irrallaan koeputkessa kasvatettu uusi eliö tuodaan pois <i>in vitro</i> – olosuhteista, usein lähelle eliön luonnollista elinympäristöä
homotsygootti	solu tai yksilö, jolla on samat alleelit vastinkromosomiensa geenipaikoissa
itsesiitos	itsepölytyksen seuraus; samasta yksilöstä olevien sukupuolisolujen yhtyminen
fenotyyppi fytoplasma	ilmiasu; yksilö sellaisena kuin se havainnoitsijalle ilmenee bakteerin kaltainen hyönteisten levittämä organismi, joka aiheuttaa isäntäkasvissa erilaisia kasvuhäiriöitä esim. kääpiökasvuisuutta, kukkien steriiliyttä tai kasvin kloroosia
geneettinen generatiivinen	perinnöllinen, perinnöllisyyteen liittyvä suvullinen, lisääntymiseen liittyvä; kasvin generatiivinen vaihe on kausi, jolloin kasvi kukkii ja tuottaa siemeniä
genotyyppi	peruasu; perimätyyppi, joka on yksilön vanhemmiltaan perimien kaikkien geenimuotojen kokonaisuus; päinvastoin kuin fenotyyppi, genotyyppi on muuttumaton
hybridi	kahden geneettisesti erilaisen yksilön (usein lajien välinen) risteytymisestä syntyvä jälkeläinen
in vitro	(lat. vitrum = lasi), lasissa, koeputkessa; irrotettuna eliöstä, esimerkiksi solukkoa voidaan kasvattaa koeputkessa irrallaan alkuperäisestä eliöstä
kallus	(lat. callus = känsä), aktiivisesti jakautuva erilaistumaton solukko, jota syntyy tylppysolukosta mm. haavoittumiskohtiin tai solukkoviljelyssä jo erilaistuneiden solujen alkaessa jakautua
klooni	perintötekijöiltään samanlaisten eliöiden tai solujen ryhmä eli populaatio, joka polveutuu yhdestä kantasolusta tai emoyksilöstä suvuttoman lisääntymisen kautta; esimerkiksi pistokaslisätty kasvi on emonsa klooni

Mikrolisäyksen edut ja haitat taimistoviljelyssä

kontaminaatio	mikro-organismien kasvu solukkoviljelyssä
lajike	viljelykasvien lajinsisäinen luokitteluyksikkö; lajike syntyy kasvinjalostuksessa tai valinnan kautta; lajiketta voidaan lisätä kasvullisesti tai siemenestä (F1 tai apomiktinen); lajikkeen on säilytettävä tunnistettavat ominaisuutensa viljelyssä
laji-/lajikeaito	viljelyssä ominaisuutensa ja tunnistettavuutensa säilyttävä kasvilaji tai -lajike
mikrobi	yhteisnimitys bakteereille, sienille ja viruksille
mikrovarttaminen	mikrolisätyyn perusrunkoon vartetaan versonkärkialoitus; käytetään, kun varte ei itse tuota helposti juuria
morfogeneesi	muodon kehittyminen; kasvin muodon ja elinten aiheiden synty
mutaatio	(lat. mutare = muuttaa), perintöaineen muutos; mutaatiot voivat syntyä spontaanisti tai niitä voidaan aiheuttaa keinotekoisesti
muuntelu	periytyvien tai periytymättömien erojen esiintyminen solujen pysyvissä rakenteissa
populaatio	samanaikaisesti samalla alueella olevat yksilöt, jotka kuuluvat samaan lajiin ja kykenevät lisääntymään keskenään
vegetatiivinen	suvuton, kasvullinen; vegetatiivinen lisääntyminen perustuu muuhun kuin siemeniin, esimerkiksi uusi yksilö syntyy rönstyistä, juurakoista tai varttamalla, pistokkaista tai mikrolisäyksellä
viroidi	pieni, rengasmaisesta RNA-genomista koostuva partikkeli, joka häiritsee kasvisolun normaaleja toimintoja aiheuttaen kasvitauteja
virus	DNA:ta tai RNA:ta sisältävä partikkeli, joka loisii soluissa injektoimalla geneettisen materiaalinsa solun sisään, jossa se monistuu ja lopuksi hajoittaa solun; kasvitautilien aiheuttaja
viruspuhdistus	kasvin puhdistamista sisäisistä taudinaiheuttajista, yleensä viruksista, ja tämän jälkeen puhtauden toteamista tähän tarkoitukseen soveltuvalla testausmenetelmällä

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	1
2	MIKROLISÄYS MENETELMÄNÄ.....	2
3	KASVIEN PUHDISTAMINEN TAUDINAIHEUTTAJISTA.....	5
4	MIKROLISÄYS TAIMITUOTANNOSSA.....	9
4.1	Mikrolisäyslaboratorio	11
4.2	Mikrolisäysprosessi.....	13
4.3	Viljelyn vaiheet	15
4.3.1	Emokasvin valinta ja valmistelu lisäykseen	15
4.3.2	Viljelmän aloitus	17
4.3.3	Versojen monistaminen	18
4.3.4	Juurutusvaihe.....	19
4.3.5	Taimikasvatus.....	20
4.4	Korkeat kustannukset nopean ja tehokkaan lisäyksen varjopuolena	21
4.5	Jatkokasvatus.....	22
5	POHDINTA.....	25
	LÄHTEET	28

Liite 1 Teemahaastattelun kysymykset

1 JOHDANTO

Suomen taimistojen keskipinta-ala on vajaat 3 hehtaaria. Suurimmat taimitarhat ovat Hämeen ja Uudenmaan alueella, joissa taimistojen keskiala on yli 10 ha. Suuria n. 100 ha:n taimistoja on kaksi. Euroopassa johtavat taimistotuottajamaat ovat Saksa, Ranska ja Italia, joissa on suuren kokoluokan taimistoja (500–1000 ha), mutta myös paljon pieniä perheyrittäjätaimistoja. Suomalaisten ja eurooppalaisten taimistojen erottavia seikkoja ovat paitsi suurimpien taimistojen kokoero myös rakenteellinen ero siten, että muualla on enemmän erikoistumista tiettyihin kasvilajeihin tai -sukuihin, meillä taas taimistot pitävät kukin yllä laajaa omaa valikoimaa. (Uimonen, sähköpostiviesti 4.2.2013; Matilda 2012, 69.) Tästä johtuen suurin osa suomalaisista taimitarhoista kasvattaa taimensa alusta pitäen itse eli taimia lisätään kasvullisesti ja siemenestä omalla tarhalla.

Perinteiset lisäysmenetelmät ovat toimineet hyvin vuosisatoja, mutta uudet viljelylajikkeet ja niiden kloonauksen tarve sekä markkinoiden paineet nopeaan kasvituotantoon ovat tuoneet uusia haasteita taimistoviljelijöille. Mikrolisäys on osoittautunut hyväksi lisäysmenetelmäksi monien kasvilajien ja -lajikkeiden kohdalla, joita on perinteisin menetelmin vaikeaa, hidasta tai mahdotonta lisätä. Mikrolisäyksellä on myös muita etuja, minkä tähden menetelmästä ollaan enenevästi kiinnostuneita. Suomessa on alkanut varhain 1980-luvulla Laukaan tutkimus- ja valiotaimiasemalla viruspuhdistettujen taimien tuottaminen, missä mikrolisäys on avainasemassa. Myös valiotaimien ylläpidossa mikrolisäys on osoittautunut hyväksi menetelmäksi. Mikrolisäystä käytetään Suomessa paitsi tutkimus- ja opetuslaboratorioissa myös muutamalla suuremmalla taimitarhalla kaupalliseen tuotantoon. Aivan hiljattain joitakin uusia pienempiäkin yrittäjiä on tullut tai tulossa alalle.

Koska mikrolisättyjen taimien kysyntä on Suomessa pienempi kuin Euroopassa, on harkittava tarkoin, mikä on menetelmällä saavutettu hyöty, ennen kuin suhteellisen kalliiseen laboratorioon investoidaan. Samoin mikrolisättyjä taimia ostavan taimitarhan kannattaa olla selvillä taimien ominaisuuksista verrattuna perinteisillä menetelmillä lisättyihin taimiin. Tämän vuoksi kaivataan suomenkielistä tietopakettia mikrolisäyksen eduista ja haitoista taimistoviljelyssä.

Haastattelemalla taimistoalan ammattilaisia pyritään opinnäytetyössä muodostamaan kuva mikrolisäyksen hyödyntämisestä taimitarhoilla. Haastateltavia on 12, joista viidellä on kokemusta mikrolisäyksestä laboratorioissa vähimmillään kuuden ja enimmillään 28 vuoden ajalta. Mikrolisättyjen kasvien taimitarhakasvatuksessa haastateltujen kokemusten pituudet ovat vastaavat kuin mikrolisäyksessä, keskiarvoltaan 15 vuotta. Haastateltujen kokemuksia, jotka liittyvät tekstissä käsiteltyihin aihealueisiin, tuodaan esille luvuissa 2, 3 ja 4.

2 MIKROLISÄYS MENETELMÄNÄ

Kasveja voidaan tunnetusti lisätä kahdella tapaa: kasvullisesti tai siemenlisäyksellä. Siemenlisäyksen etuna on suurien kasvimäärien tuottaminen edullisesti. Siemeniä on myös helppo kuljettaa ja useimmin säilyttää pitkiä aikoja itävyyden merkitsevästi kärsimättä. (George, Hall & De Klerk 2008, 29.) Siemenlisätyssä kasvissa ei useimmiten esiinny vanhempiensa kasvintuhoojia lukuun ottamatta siitepöly- ja siemenlevittäisiä viruksia ja viroideja (Mink 1993, 375).

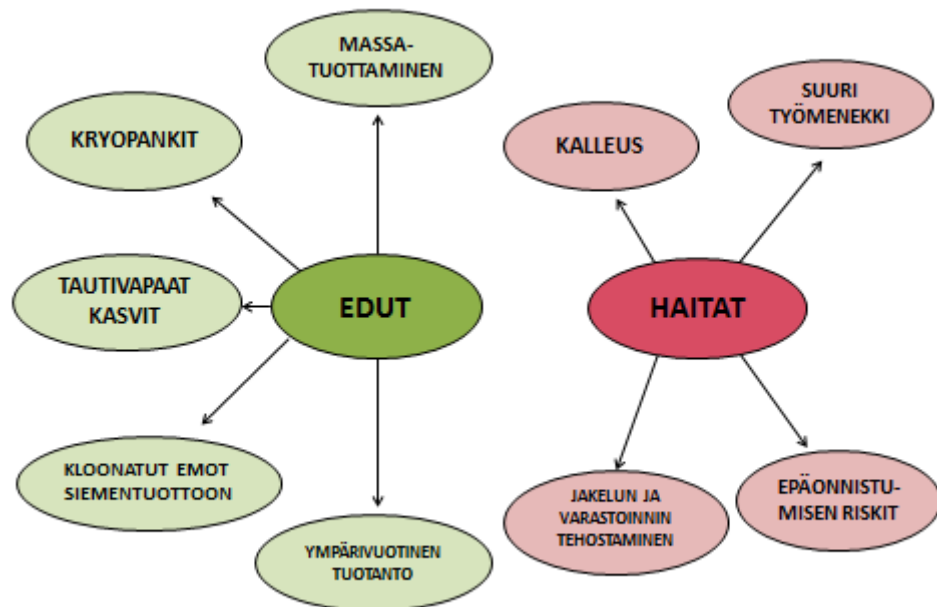
Maa- ja puutarhataloudessa halutaan kuitenkin viljellä kasvipopulaatioita, jotka ovat käytännössä mahdollisimman identtisiä keskenään. Siementaimet ovat geneettisesti erilaisia ja sellaisia siemeniä, jotka tuottaisivat samankaltaista jälkeläistöä, on joko vaikeaa tai käytännössä mahdotonta saada. Keinotekoisesti on mahdollista tuottaa esimerkiksi kahden homotsygootin vanhemman risteytyksestä F1-siemeniä, joista saadaan geneettisesti samanlainen kasvipopulaatio. Tuotantokustannuksiltaan F1-siemenet ovat kalliita. Itsepölytteisistä kasvilajeista, esimerkiksi vehnästä, ohrasta ja tupakasta, on mahdollista saada siemeniä itsesiitoksen avulla sekä joillakin kasvisuvuilla syntyy apomiktisesti emokasvin perimän omaavia siemeniä. (George ym. 2008, 29.) Taimistokasveista pihlajat (*Sorbus* spp.) tuottavat apomiktisia siemeniä (Nyman 2013). On myös ryhmä kasveja, jotka eivät tuota lainkaan itävää siementä tai tekevät siemeniä vasta pitkän nuoruusvaiheen jälkeen, jolloin kasvullinen lisäys on ainoa tuotannollisesti varteenotettava lisäystapa. (George ym. 2008, 29.)

Monet merkittävät tuotantokasvit kuten valtaosa hedelmä- ja marjakasveista sekä suuri osa koristekasveista lisätään kasvullisesti. Näistä kasveista suurin osa on nimettyjä lajikkeita. Lajikkeena myytävän kasvin pitää olla emonsa kaltainen, joten sen tuottaminen on helpointa kasvullisesti. Kasvullisia lisäystapoja on kehitetty ja käytetty jo vuosisatojen ajan. Koska näissä lisäystavoissa käytetään suhteellisen suuria kasvinosia, niitä kutsutaan makrolisäysmenetelmiksi. Nykyaikainen puutarhatutkimus on tehostanut makrolisäystä mm. kehittämällä ja ottamalla käyttöön pistokaskasvustojen sumuttamisen ja pohjalämmön, mikä on mahdollistanut pistokaskasvun onnistumisen aikaisempaa laajemmalla lajikirjolla. Mikrolisäys on myös kasvullista lisäystä, mutta siinä käytetään hyvin pieniä kasvinosia, jopa yksittäisiä soluja. Viimeaikainen tutkimusinto on selvästi suuntautunut mikrolisäykseen, jossa tuntuu avautuvan yhä enemmän uusia mahdollisuuksia kasvien monistamiseen. Kasville paras lisäysmenetelmä perustuu aina kasvilajiin ja sen ominaisuuksiin. Kun taimisto valitsee lisäysmenetelmää, pitäisi kasvilajin lisäksi ajatella viljelyn tavoitteita ja uusimpien, oikeaksi osoitettujen lisäystekniikoiden soveltamista käytäntöön. Kaupallisessa tuotannossa on tärkeitä huomioida eri lisäysmenetelmien kustannukset. (George ym. 2008, 29–30.)

Mikrolisäys ja solukkoviljely ovat biotekniikan osa-alueita. Solukkoviljely on menetelmä, jossa voidaan lisätä ja ylläpitää kasvinosia tai solukoita aseptisissä oloissa. Menetelmä perustuu totipotenssi-teoriaan, jonka

mukaan jokainen kasvin solu sisältää informaation kasvaa uudeksi kokonaiseksi kasviksi. Tämä kasvi on siten geneettisesti samanlainen kuin alkuperäinen kasvi. Mikrolisäys on solukkoviljelyn sovellus, jota käytetään kasvien lisäämiseen. Koska mikrolisäys on kasvullista lisäämistä, tällöinkin tuotettu kasvi muodostuu emokasvinsa kaltaiseksi. (Hartmann, Kester, Davies Jr. & Geneve 2011, 644–645.) Mikrolisäysmenetelmää käytetään paitsi taimien kaupalliseen lisääkseen myös tutkimuksen tarpeisiin, puhdistettujen taimien tuotantoon sekä geenivarantojen turvaamiseksi (Mikrolisäyskurssi, 2012).

Mikrolisäys on nykyään maailmanlaajuisesti tärkeä osa useiden kasvien kaupallista taimituotantoa. Kaupallisen mikrolisäyksen etuja ovat valittujen kloonien massatuottaminen, tautivapaiden kasvien lisääminen, kloonattujen emojen lisääminen hybridisiementuottoa varten ja mahdollisuus taimiston ympärivuotiseen tuotantoon. Kaupallinen tuotanto hyötyy myös kryopankeista, joissa kasvimateriaali on kloonattavassa muodossa aiempiin siemenpankkeihin verrattuna. Toisaalta mikrolisäyksen käyttöä kaupallisessa taimituotannossa voivat rajoittaa useat seikat kuten mikrolisäyslaboratorion perustamis- ja ylläpitokustannukset, suuri työmenekki, vaatimus jakelun ja varastoinnin tehokkuudesta ja riskit lisäämisen onnistumisessa (Kuvio 1). Tosin mikrolisäystä harjoittavat taimistot ja laboratoriot vaikuttavat hallitsevan paremmin lisäystekniikan kuin taloudelliset riskit. (Hartmann ym. 2011, 699–702.)



Kuvio 1. Kaupallisen mikrolisäyksen edut ja haitat Hartmannin ym. (2011) mukaan.

Hartmannin, Kesterin, Daviesin ja Geneven (2011, 699–702) mukaan perustelluinta kaupallisen mikrolisäyksen käyttö on seuraavissa tapauksissa

1. Perinteisillä lisäysmenetelmillä kasvien tuottaminen on hidasta
2. Uutuuksia pitää saada nopeasti markkinoille
3. Kasveilla, joilla on suuri markkina-arvo
4. Kasveilla, joita on kasvullisesti muutoin vaikea lisätä
5. Uhanalaisten kasvien säilyttämisessä

Suomessa mikrolisäystä alettiin hyödyntää metsätaimipuolella 1980-luvun lopulla rauduskoivun (*Betula pendula*) taimituotannossa. Osoittautui kuitenkin, että tuotanto oli lajitasolla taloudellisesti kannattamatonta siemenlisäykseen verrattuna, joten tuotanto lopetettiin vuonna 1994. (Pihlajaniemi 2009, 52.) Opinnäytetyötä varten tehdyissä haastatteluissa selvisi, että mikrolisättyjä, yhdestä yksilöstä lähtöisin olevia erikoispuita tuotetaan yhä metsänviljelyyn joko puun koristearvon tai puuaineksen erityisen hyötyarvon vuoksi. Esimerkiksi monien puiden visamuodot ovat kannattavia mikrotaimina, koska niistä asiakkaat ovat halukkaita maksamaan korkeamman hinnan. Metsäpuiden uusimpia käyttötapoja on esimerkiksi METLAn (Metsäntutkimuslaitoksen) projekti hybridihaavan käytöstä pilaantuneen maaperän puhdistamisessa. Esitutkimusten perusteella on todettu, että mitä parempia puuklooneja istutetaan, sitä nopeampaa on maan puhdistaminen. Puukloonien tuottamisessa mikrolisäys on varteenotettava vaihtoehto. (METLA 2012.)

3 KASVIEN PUHDISTAMINEN TAUDINAIHEUTTAJISTA

Mikrolisäysmenetelmä on mahdollistanut kasvien puhdistamisen erilaisista kasvipatogeeneistä eli tauteja aiheuttavista mikrobeista. Erityistä hyötyä puhdistamismahdollisuudesta on ollut fytoplasmojen, virusten, bakteerien ja viroidien aiheuttamien tautien kohdalla, sillä näitä ei ole voitu torjua torjunta-ainein. (Hokka, sähköpostiviesti 15.3.2013.)

Suomessa tarve taimiaineiston puhdistamiseen alkoi 1960- ja 1970-luvuilla, kun marjakasvien sadot alkoivat olla hälyttävän alhaisia. Myös hedelmäpuiden ja avomaan koristekasvien taimiaineistossa oli taantumia. Tällöin huomattiin, että taudit ja tuholaiset siirtyivät kasvullisessa lisäyksessä käytetyistä emokasveista suoraan uusiin taimiin. Tervetaimikokeilujen seurauksena MTT:n (Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskuksen) Laukaan tutkimus- ja valiotaimiasema sai vuonna 1976 tehtäväkseen ylläpitää ja puhdistaa varmennettua lisäys- ja taimiaineistoa. (Vuori 2010, 22).

Varmennettujen taimien tuotanto toteutui aluksi marjakasveilla eli mansikalla, vadelmalla, herukalla ja karviaisella, kunnes 1980-luvulta lähtien tuotantoketju laajeni viherrakentamisen kasveilla. Laukaalle on koottu varmennettua taimituotantoa varten ydinkasveja (Kuva 1) ja valiotaimiluokan emotaimia lähinnä taimitarhojen lisäysaineistoksi. Varmennetussa tuotannossa käytetään lisäysaineistona erityisesti valittuja, perimältään hyviä, Suomen oloihin sopivia kasveja. Nämä kasvit puhdistetaan Laukaalla kasvitaudeista ja tuholaisista, jolloin saadaan puhtaat ydinkasvit valiotaimituotantoa varten. Valiotaimista taimistot lisäävät varmennetun taimituotannon lopputuotteet, varmennetut käyttötaimet marjakasveista ja testatut käyttötaimet viherrakentamis- ja monikäyttökasveista.

Tällä hetkellä varmennetussa taimituotannossa on palattu samaan marjakasvien lajivalikoimaan, jolla aluksi aloitettiin. Vuonna 2013 näitä varmennettuja taimia tuottaa neljä viljelijätaimistoa. Eviran kasvintarkastus valvoo koko tuotantoketjua kasvintarkastuksin. (MTT, 2011; Evira, 2012.)



Kuva 1. Mustaherukoiden (*Ribes nigrum*) ydinkasveja Laukaalla lokakuussa 2012.

Opinnäytetyöhön haastatellut mikrolisääjät kertoivat mikrolisäyksen ehdottomasti parhaita puolia olevan terveiden, tautivapaiden kasvien tuottamisen. Myös useat taimien kasvattajista kiittivät terveitä ja elinvoimaisia taimia. On kuitenkin muistettava, että mikrolisäysprosessi ei itsessään tuota tautivapaita kasveja, vaikka jotkin prosessin rutiinit vähentävät mikrobeja. Jos kasvia myydään viruspuhdistettuna, pitää sen olla virustestattu. Testausmenetelmänä käytetään muun muassa välittäjäaineiden toimintaan perustuvaa ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) –analyysia, joka paljastaa vasta-ainereaktion erilaisille viruksille (Hartmann ym. 2011, 626–628). ELISA-testausta käyttävät Suomessa mm. MTT, Evira ja yliopistot (Hokka, sähköpostiviesti 15.3.2013).

Kasvipatogeenien eliminointiin mikrolisäyksessä on useita keinoja. Tehokkainta on saada mikrobit poistettua lisäykseen menevistä aloitusaloista. Valitsemalla kasvatukseen vähiten infektioituneita kasvinosia ja käyttämällä kärkikasvusolukosta otettuja aloituksia voidaan onnistua välttämään mikrobeja. Jopa täysin infektioituneen kasvin silmujen sisällä voi olla pieni osa kärkikasvisolukkoa, joka on tautivapaata ja josta saadaan puhdas aloitus (Hartmann ym. 2011, 628–630.)

Versonkärkisolukon käytön hankaluutena on, että versonkärkien kasvuunlähtö solukoviljelyssä on sitä parempi, mitä suurempi kasvupiste otetaan, kun taas viruksia on sitä vähemmän, mitä pienempi kasvupiste voidaan ottaa. Kasvupisteiden puhtausaste voi jäädä alhaiseksi näiden kahden vastakkaisen vaatimuksen tähden (Nukari & Uosukainen 2006, 6.) Muita mikrobien eliminointikeinoja ja puhdistuskäsittelyjä ovat mikrovarttaminen, kryoterapia-, kemoterapia- ja lämpökäsittelyt.

Mikrovarttaminen tarkoittaa versonkärkialoituksen varttamista mikrolisätylle perusrungolle. Mikrovarttamista käytetään puuvartisille kasveille, jotka eivät itsessään kasva tai juuru mikrolisäysoloissa. (Hartmann ym. 2011, 628–630.) Kryoterapiakäsittelyssä taudinaiheuttajia sisältävät solukot kuolevat nestetyppisäilytyksessä ja puhtaat solukot jäävät eloon. Kemoterapiakäsittelyssä mikrolisäysalustaan lisätään virusten tai bakteerien kasvua estäviä aineita. Mikroviljelmien kasvettua joitakin viikkoja, mikrolisäysmateriaali otetaan versojen latvoista.

Lämpökäsittelyssä kasveja kasvatetaan muutamia viikkoja korkeassa lämpötilassa, jolloin virusten ja bakteerien lisääntyminen ja liikkuminen kasvissa estyy. MTT:n Laukaan toimipaikassa lämpökäsittelyn lämpötila vaihtelee kasvisuvun mukaan +35–+38 °C välillä. Kasvit totutetaan vähitellen lämpötilan nostoon ja niitä kasvatetaan korkeassa lämpötilassa 20–30 vuorokautta. Lämpökäsittelyn lopuksi kasveista otetaan mikrolisäysaloitukset tai pistokkaat. (Hokka, sähköpostiviesti 28.2.2013.)

Jotkin bakteerit (*Bacillus subtilis*, *Erwinia* ja *Pseudomonas*) voivat olla itsepintaisia ja vaikeita poistaa. Nämä taudinaiheuttajat pilaavat välittömästi mikrolisäysviljelmät tai voivat jäädä viljelmiin piilevinä ja tulevat näkyviin vasta myöhemmän vaiheen kasvatuksessa. (Hartmann ym. 2011, 682; Hokka, sähköpostiviesti 15.3.2013.) Uosukaisen (1994, 2–4) mukaan mikrolisäysprosessin aikana viljelmiä pitäisi testata säännöllisesti erilaisilla mikrobien kasvatusalustoilla, jotka paljastavat piilevät bakteerisaastunnat. Mikrolisäysalustoissa käytetään myös mikrobeja kasvamaan houkuttelevia bakto-peptonia (eläinproteiinin entsyymitiiviste) tai hiivauutetta.

Opinnäytetyötä varten tehdyissä haastatteluissa useat viljelijät kertoivat epäilevänsä mikrolisätyn kasvin olevan erityisen tautiherkkä silloin, kun se päätyy laboratorion ulkopuolelle. Havaintoja oli esimerkiksi syysleimuista, joihin härmä oli iskenyt, vaikka muut viljelijän tavanomaisesti lisätyt syysleimut olivat säilyneet puhtaina. Epäilty härmän- ja tautialttius puhutti monia haastateltuja ja muita ammattilaisia. Kerrottiin mikrolisätyistä mansikan taimista, jotka olivat rönsytaimia alttiimpia mansikanhärmälle, ja vastaavasti punakoivuista, jotka mikrolisättyinä saivat härmän hetimiten ulko-oloissa. Kaksi mikrolisääjää piti epäilyjä perusteettomina, sillä härmä on vaikea kasvitauti ja sen esiintymiseen vaikuttavat useasti viljelyolosuhteet. (Haastattelut 2012; Ahonen 2012).

Geenivarantojen säilyttämisessä ja pelastamisessa voi mikrolisäys ja viruspuhdistus olla avainasemassa. Näin kävi esimerkiksi v. 2010 Cornwallissa, jossa kansallinen alppirusukokoelma oli hävittä kokonaan versopolteen (aiheuttajana *Phytophthora ramorum* -sieni, vrt. tammen äkkikuolema) takia. Mikrolisäyksen ja viruspuhdistuksen avulla saatiin 500 alppirusun ja atsalean kokoelma uusittua. Vanhimmat kokoelman yksilöt olivat yli 150 vuoden takaa. (HorticultureWeek 2010.) Suomessa huoli geenivarantojen säilymisestä on tuottanut vuonna 2001 oman kansallisen kasvigeenivaraohjelman. Koska elävissä kasvukokoelmissa kasveja voivat uhata esimerkiksi talvihuojen vaarat, kasvullisesti

lisättäviä lajeja pystytään säilyttämään turvallisesti laboratorio-oloissa joko kasvattamalla niitä koeputkissa tai säilyttämällä syväjäädetyksessä. Tätä tarkoitusta varten perustettiin vuonna 2006 Laukaan tutkimus- ja koeasemalle kryopankki, jossa tallettavaksi valittujen kasvien pieniä silmuja tai versonkärkiä kylmäsäilytetään nestetyössä tai sen kaasufaasissa -170 – 196 °C:ssa. Näissä oloissa talletettu aineisto säilyy vuosikymmeniäkin elinkykyisenä ja tarvittaessa siitä voidaan mikrolisäyksen keinoin lisätä kasveja. Kryosäilytyksessä geenivaroja on myös aktiivisena kokoelmana, jota voidaan käyttää tutkimus- ja jalostustyöhön sekä ydinkasvihuoltoon ja valiotaimituotantoon. (MTT 2008, 9–25.)

4 MIKROLISÄYS TAIMITUOTANNOSSA

Kun tarkastellaan mikrolisäyksen etuja ja haittoja taimitarhaviljelyssä, on muistettava, että jonkin menetelmän tai ominaisuuden hyödyllisyys voi toisesta näkökulmasta tarkasteltuna ollakin haitallista. Paras esimerkki tästä ovat mikrolisäyksen korkeat kustannukset verrattuna menetelmällä saavutettuun nopeuteen ja tehokkuuteen. Kyse on tällöin paitsi kannattavuustekijöiden hienosäädöstä myös vaikeasti ennustettavista markkinaetuuskysymyksistä, jolloin taloudellinen kannattavuus selviää vasta jälkikäteen.

Mikrolisäyksen eduksi mainittu tasalaatuinen kasvusto voidaan saavuttaa muillakin kasvullisilla lisäysmenetelmillä. Esimerkiksi pistokaslisätty materiaali on samalla tavalla emojensa kloonina, jolloin hyvin hoidettuna pistokastaimiaineisto on kauttaaltaan samanlaista. Kasvullisesti lisätyltä materiaaalilta puuttuu siemenlisäyksessä saavutettu geenirikkaus. Tällöin kloonauksen riskeinä ovat saman perimän omaavien kasvien alttius joukkotuholle tautien tai tuholaisien iskiessä.

Mikrolisäyksessä esiintyvää geneettistä muuntelua kutsutaan somaklonaaliseksi muunteluksi, koska se on muissa kuin sukusoluissa tapahtuvaa muuntelua. Useimmissa tapauksissa tällainen muuntelu ei ole toivottavaa (kuva 2), mutta toisinaan siitä voi olla hyötyä jos löydetään spontaaneja mutanteja, joilla on haluttu kasvumuoto, kukan väri, tai tautiresistenttiys. Kaupallisen mikrolisäyksen alkuaikoina mikrolisäysprosessit olivat toisinaan epätasapainossa. Taimissa saattoi esiintyä joitakin odottamattomia poikkeamia ja epätyypillistä kasvua, jotka johtivat kuluttajien epäsuosioon näiden kasvien kohdalla. Nykyään on jo takana runsaasti kasvatuskokeita ja kaupallisesta lisäyksestä on kertynyt paljon kokemusta, joten prosesseja voidaan hallita paremmin. Kokonaisuudessaan suurin osa mikrolisätyistä kasveista on lajityypillisiä ja viljelmät fenotyypiltään yhteneväisiä. Suuret lisäysmäärät suurentavat kuitenkin minkä tahansa ongelman ja taloudelliset menetykset voivat nousta merkittäviksi ennen kuin ongelma löydetään ja saadaan korjattua. (Hartmann ym. 2011, 684.)



Kuva 2. Vasemmalla mikrolisätyn kuunliljan (*Hosta* spp.) kirjavalehtisessä lajikeessa ilmenevää muuntelua. Oikealla punahatun (*Echinacea* spp.) mikrolisätyissä taimissa ilmenevää muuntelua, joka näkyy tyven versomisena. (Hartmann ym. 2011, 684.)

Missä tahansa mikrolisäysprosessin vaiheessa kallusta tuottavat vaiheet tai tapahtumat ovat mahdollisia mutaatioiden tuottajia. Hankasilmuista muodostuneet sivuversot ovat yleensä geneettisesti stabiilimpia kuin muista solukoista syntyneet adventiiviversot, mutta molempiin voivat vaikuttaa negatiivisesti erilaiset viljelylliset stressitekijät kuten pitkittynyt hormoniaaltistus, ravintoalustan lisäaineet ja viljelyaika. Todennäköisyys muunteluun kasvaa viljelmän iän mukana, minkä tähden emokasveista pitäisi tehdä uusia aloituksia tietyin väliajoin. (Hartmann ym. 2011, 685.) Opinnäytetyötä varten tehdyistä haastatteluista ilmeni, että mikrolisääjät pitivät viljelmän sopivana ikänä 2–3 vuotta.

Haastatteluista nousi esiin, että vadelma (*Rubus idaeus*) on erityisen altis muuntelulle, minkä tähden vadelman lisäysprosessi on tavanomaista vaiheikkaampi. Aluksi mikrolisäyksellä kasvatetun vadelman emotaimen pitää antaa kukkia ja marjoja, jotta voidaan todeta kasvin aitous ja sadontuottokyky. Tämän jälkeen emotaimesta otetaan juurenpalat talteen, joista lisätään verso- ja kesäpistokkaita. Pistokkaista kehittyneille taimille voidaan antaa lajikeaitouden tae. Vadelman muunteluherkkyydestä oli aiempaa tutkimustietoa, johon käytännön menetelmä pohjattiin.

Mikrolisäys ei aina tuota odotettua tulosta, kuten Rynänen ja Aronen (2007) totesivat tutkiessaan koivun kirjavalehtisyyden periytymistä. Kerimäeltä löydetyn ”valkokirjokoivun” (*Betula pendula*) mikrolisätyissä taimien lehdissä ei vielä 2-vuotiainaakaan ilmennyt valkokirjavuutta lainkaan. Vastaavilla vartetuilla taimilla valkokirjavuus oli havaittavissa. Havaittiin, että ominaisuuden aiheutti väistynvä geeni, jonka vaikutus vaihteli suuresti ulkoisten olosuhteiden sääteleminä. Tässä tapauksessa ensinnäkin kasvupaikan kosteusolosuhteet vaikuttivat valkokirjavuuden määrään: mitä kosteampaa, sitä vähemmän valkokirjavuutta. Toinen vaikuttava seikka oli puun versojen ikä. Jo emopuussa oli havaittavissa

valkokirjavuuden olevan voimakkaampaa puun vanhemmissa osissa. On oletettavissa, että mikrolisäyksen kasveja nuorennuttava vaikutus piti lehdet vihreinä. Näin ollen valkokirjavuus tulee ilmenemään myöhemmin, mutta kaupallisen lisäyksen kannalta tulos ei välttämättä ole rohkaiseva. Samassa tutkimuksessa olleen ”kultasuonikoivun” (*Betula pendula*) lehtien väritystä ei saatu näkyviin sen paremmin varttamalla kuin mikrolisäämälläkään. Tutkijat eivät löytäneet ilmiölle muuta selitystä kuin sen, että kultasuonisuus on perinnöllinen ominaisuus, joka kuitenkin ilmentyäkseen vaatii jonkin arvoitukseksi jääneen ulkoisen tekijän. Opinnäytetyöhaastattelussa paljastui myös muita kysymysmerkeiksi jääneitä ilmiöitä. Eräällä taimitarhalla oli kokemusperäinen tieto siitä, että vartettu pylväshaapa (*Populus tremula* 'Erecta') pysyy kapeampikasvuisena kuin samasta lähteestä peräisin oleva mikrolisätty pylväshaapa.

Laukaan tutkimusmestari Heikki Hokka korosti haastattelussaan oikean lisäysmenetelmän löytämisen tärkeyttä. Kaikkea ei kannata mikrolisätä: esimerkiksi mustaherukka (*Ribes nigrum*) lähtee yhtälailta kasvamaan pistokkaasta. Joistakin kasveista esim. juhannusruususta (*Rosa spinosissima* 'Plena') vain emot kannattaa tehdä mikrolisäyksellä. Haastatelluista perennanviljelijöistä suurin osa koki mikrolisäyksen turhana kasveilla, joista saa ”puhdasta tulosta” siemenlisäykselläkin. Samoin puuvartisten pensaiden lisäämisestä nostettiin esimerkinomaisesti esiin kysymys keijuangervon (*Spiraea japonica* 'Little Princess') mikrolisäyksen tarpeellisuudesta. (Haastattelut 2012; Ahonen 2012). Keijuangervoa voi lisätä pistokkaista perinteisin menetelmin helposti. Toisaalta käytännön hankaluutena ovat emotaimipenkkeihin nopeasti kasvavat siementaimet, jotka pistokasmateriaalin päätyessään verottavat lajikeaitoutta. Tässä tapauksessa käytetystä materiaalista lisättyä kasvia ei saisi enää myydä lajikenimellä. Perimmiltään sekä siemenlisätyissä perennoissa että keijuangervon tapauksessa onkin kyse lajikeaitouden todellisesta merkityksestä eri asiakasryhmille. Haastatellut pohtivat, että tavalliselle kuluttajalle ja viherrakentajalle näiden koristekasvien lajikeaitoudella ei ole juurikaan merkitystä, vaan ainoastaan silloin, jos suuren istutuksen tasalaatuisuus on tärkeää tai istutettua kasvustoa pitää myöhemmin täydentää. Suunnittelijat ja vaativimmat kuluttajat voivat olla tarkkoja lajikeaitoudesta.

4.1 Mikrolisäyslaboratorio

Toimivassa mikrolisäyslaboratoriossa (Kuva 3) on tilat aseptiseen työskentelyyn ja kasvatusalustojen valmistamiseen sekä erillinen kasvatushuone varusteineen. Aseptisissä työtiloissa on erillisenä työskentelytilana suodatettua ilmaa jatkuvasti vaihtava laminaarivirtauskaappi, jossa kasvinosia siirrostetaan ja monistetaan steriileissä oloissa. Kasvatushuoneessa viljelmien annetaan kehittyä siistissä, valaistussa, lämpötilaltaan säädettävässä ja ilmastoidussa tilassa. Usein kasvatushuone on ylipaineistettu, jotta ilma pysyisi puhtaana. Kasvatusalustojen valmistamiseen samoin kuin moniin työvaiheisiin tarvitaan mahdollisimman puhdasta vettä. Yleensä vetenä käytetään

ioninvaihdettua vettä, koska siinä ei ole epäorgaanisia epäpuhtauksia. Kasvatusalustojen, astioiden ja instrumenttien sterilointiin käytetään painekeitintä eli autoklaavia. Lisäksi kasvatusalustojen ja kantaliuosten valmistamisessa tarvitaan erilaisia mittareita, vaakoja, lämpölevyjä, astioita ja instrumentteja sekä kylmäsäilytyskaappeja. Mikrolisäyslaboratorion perustamiskustannukset ovat kaiken kaikkiaan huomattavat, mutta myöhemmin ylläpidossa tarvittavat kemikaalien ja materiaalien kustannukset ovat suhteellisen vähäiset. (Haapala & Niskanen 1992, 29–36; Mikrolisäyskurssi 2012.)



Kuva 3. Näkymä Lepaan mikrolisäyslaboratorion työskentelytilasta. Takana näkyvät laminaarivirtauskaapit.

Mikrolisäyslaboratoriossa työskentelevän henkilökunnan ammattitaito, pitkäjänteisyys, tarkkuus ja huolellisuus korostui opinnäytetyötä varten tehtyjen haastattelujen analysoinnissa. Kontaminaatioista huomattava osa on työntekijäperäisiä. Työntekijä saattaa myös vahingossa tai huolimattomuuttaan aiheuttaa vaikka koko lisäysmateriaalin tuhon. Sopivien ammatti-ihmisten löytäminen koettiin toisinaan haasteeksi ja työssäpysyminen riskitekijäksi koko laboratorion toiminnan kannalta. Toisaalta laboratoriotyö tarjoaa ympärivuotisen työllistymisen ja taimialalla hiljaisen talviajan hyödyntämisen mahdollisuuden, mikä osaltaan lisää työn houkuttelevuutta. Jos taimitarhalla on paljon ulkoviljelyä, mikrolaboratorion ylläpito mahdollistaa taimiston työkuorman tasaamista koko vuodelle. Haastatteluissa kiitettiin myös mikrolisäyslaboratorion pientä tilavaatimusta.

Laboratorion ylläpito on haavoittuvimmillaan sähkökatkosten aikaan, jollei varajärjestelmää ole. Laminaarityöskentelyn katkeaminen yllättäen ei vielä ole kovin tappiollista, mutta kasvimateriaalia täynnä olevan

kasvatuhuoneen lämmityksen tai ilmanvaihdon pidempiaikainen katkos aiheuttaa jo vakavia vaurioita viljelmille. Laboratorio-olosuhteiden hallinta vaatii jatkuvaa päivystystä. (Mikrolisäyskurssi 2012.)

4.2 Mikrolisäysprosessi

Mikrolisäyksen menetelmät voidaan Georgen (2008, 35–54) mukaan jakaa kolmeen pääryhmään:

1. Lisäys hankasilmuista ja versonkärjistä
2. Lisäys suoraan erilaistuneista solukoista
3. Lisäys epäsuorasti erilaistuneista solukoista

Kasvien tuottaminen hankasilmuista ja versonkärjistä on osoittautunut luotettavimmaksi ja sopivimmaksi menetelmäksi, jossa kasvien laji- ja lajikeaitous säilyy. Versonkärkiviljelämä-nimitystä käytetään viljelmistä, joiden aloitus (kasvinosa, josta kasvatus aloitetaan) on otettu koskemattomasta kärkikasvusolukosta, joka kasvaisi versoksi ja edelleen lukemattomiksi sivuversoiksi. Silmulisäyksessä viljelmän aloitus tehdään versonkärki- tai hankasilmusta tai versonpalasta, jossa on yksi tai useampia silmuja. Nämä kaksi viljelmätyyppiä ovat eniten käytettyjä. Lisäys suoraan erilaistuneesta solukosta tarkoittaa aloitusten ottamista esimerkiksi lehden, juuren tai sipulisuomujen palasista. Menetelmän etuna on lisäyksen tehokkuus, koska pienestä määrästä lisäysmateriaalia saadaan runsaasti taimia. Tutkijoiden mielenkiinto on herännyt myös erilaistunutta kallusolukkoa kohtaan. Yleensä kallusviljelämä tuottaa geneettisesti liian vaihtelevaa materiaalia, mutta erilaistuneista kalluksista tuotetuissa versoissa on hyvin vähän geneettistä muuntelua. Toinen etu on, että nämä viljelmät pysyvät pitkän ajan uusiutumiskykyisinä, esimerkiksi tupakkakasvi (*Nicotiana* spp.) tuotti viljelmässä versoja 10 vuoden ajan. Erilaistuneen kalluksen erottamista tavallisesta kalluksesta ja menetelmiä erilaistuneen kalluksen tuottamiseen ei ole vielä täysin selvitetty.

Mikrolisäyksen aloitukset ovat taimistokasvien tuotannossa kärkikasvu- eli meristeemisolukkoa. Käytännössä nämä ovat versonkärki- tai silmualoituksia, joissa on mukana päällimmäisistä silmusuomuista puhdistettu silmu ja mahdollisesti pala vartta. Meristeemialoituksessa on todettu vähiten muuntelua, joten sitä pidetään hyvänä kloonien tuottamiseen. (Haapala ym. 1992, 18–19.)

Mikrolisäyksen aloitukset ja myöhemmin pikkutaimet kasvatetaan laboratoriossa hyytelömäisessä kasvatusalustassa, johon on lisätty kaikki kasvin tarvitsemat ravintoaineet. Pääravinteet lisätään epäorgaanisina suoloina ja hivenravinteet hyvin pieninä määrinä. Tärkeä ainesosa on sokeri, joka on kasvin hiilen eli energian lähde. Kasvatusalusta kiinteytetään hyytelömäiseksi agarilla, gelriitillä tai selluloosalla. Eri kasvilajit ja -lajikkeet vaativat juuri oman tarpeensa mukaisen määrän ravintoaineita kasvaakseen ja kehittyäkseen hyvin, joten kasvatusalustareseptejä on hyvin monenlaisia. Kasvatusalustoja varten valmistetaan ensin kantaliuoksia, jotka laimennetaan ja joihin lisätään reseptikohtaisesti kasvihormoni tai -hormonit. Jos kasvia ei ole ennestään

mikrolisätty, voi olla työlästä ja aikaavievää löytää lisäämiseen oikeat menetelmät, aineet, alustat ja käsittelyajat. Mikrolisäyksen aloittaminen vaatii normaalisti 1,5 vuotta, joskus jopa 4 vuottakin. (Mikrolisäyskurssi, 2012.)

Kasvihormonit ovat kasveissa esiintyviä yhdisteitä, jotka säätelevät kasvua ja kehitystä. Mikrolisäyksessä kasvihormoneja lisätään kasvatusalustaan, jotta solukot saataisiin erilaistumaan. Yleisimmät käytetyt kasvihormonit ovat auksiinit, gibberelliinit ja sytokiniinit. Kaikki nämä edistävät solunjakautumista, mutta eri tavoin. Auksiinit ovat luonnollisia tai synteettisesti valmistettuja hormoneja, jotka vaikuttavat erityisesti juurten kasvuun. Luonnonauksiineista mikrolisäyksessä käytetään indolietikkahappoa (IAA). Luonnonauksiineja voimakkaampia ovat keinotekoiset auksiinit, joista yleisimmin käytetään α -naftaleenietikkahappoa (NAA) ja indolivoihappoa (IBA). Gibberelliinit vaikuttavat siementen itämiseen, kukinnan alkamiseen, hedelmien kehittymiseen ja lepotilan päättymiseen. Mikrolisäyksessä käytetään GA3-gibberelliinihappoa muiden kasvihormonien kanssa edistämään versojen pituuskasvua. Sytokiniinit ovat hormoneja, jotka edistävät erityisesti versonkasvua. Luonnon sytokiniini, jota mikrolisäyksessä voidaan käyttää, on isopentenyladeniini (2iP). Synteettisiä sytokiniineja ovat kinetiini ja bentsyladeniini (BAP). (Haapala ym.1992, 42; Metraux 2000, 296.)

4.3 Viljelyn vaiheet

Mikrolisäysprosessi jaetaan yleensä sekä tutkimus- että kaupallisella sektorilla viiteen vaiheeseen (kuva 4), jotka kuvaavat hyvin prosessin etenemistä ja kasvatusympäristön muutoksia. Vaiheet on nimetty seuraavasti:

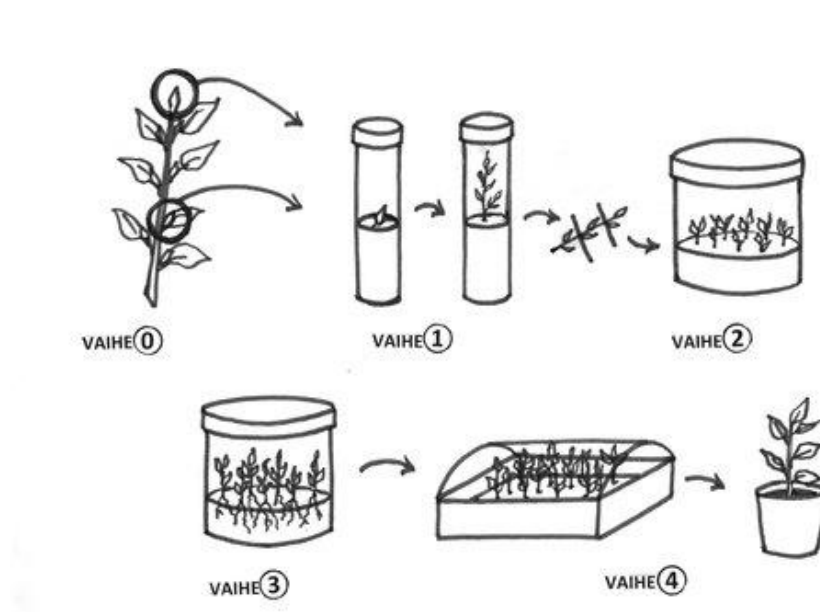
Vaihe 0: Emokasvin valinta ja valmistelu lisäykseen

Vaihe 1: Viljelmän aloitus

Vaihe 2: Versojen monistaminen

Vaihe 3: Juurrutusvaihe

Vaihe 4: Taimikasvatus



Kuva 4. Mikrolisäyksen vaiheet esitettynä yleisimmillä silmu- ja versonkärkialoituksilla.

Jotkin kasvit muodostavat juuria jo monistusvaiheessa ja jotkin taas voidaan pistää monistusvaiheen jälkeen suoraan orgaaniseen kasvualueeseen, jolloin molemmissa tapauksissa varsinainen juurrutusvaihe (Vaihe 3) ohitetaan. (George ym. 2008, 31–35).

4.3.1 Emokasvin valinta ja valmistelu lisäykseen

Ennen mikrolisäyksen aloittamista emokasvin valintaan kannattaa perehtyä huolellisesti. Emokasvin pitää olla lajilleen tyypillinen tai lajikeaito, ja mahdollisimman tautivapaa. Kasvitautien etsiminen ja tuhoaminen pitäisi olla osana kaikkia mikrolisäysprosesseja, mutta valitettavan usein nämä ennaltaehkäisevät toimet laiminlyödään, josta voi seurata epäonnistumisia. Lisättävien kasvien kasvua, morfogeneesiä ja lisäyksen tuottavuutta voidaan parantaa vaikuttamalla emomateriaalin kasvuoloihin tai tekemällä emoilte kemiallisia esikäsittelyjä. (George ym. 2008, 33). Emokasvin olisi hyvä olla nuoruusvaiheessaan, jolloin sen kasvuvoima on suuri. Usein emomateriaalina voi olla vain yksi

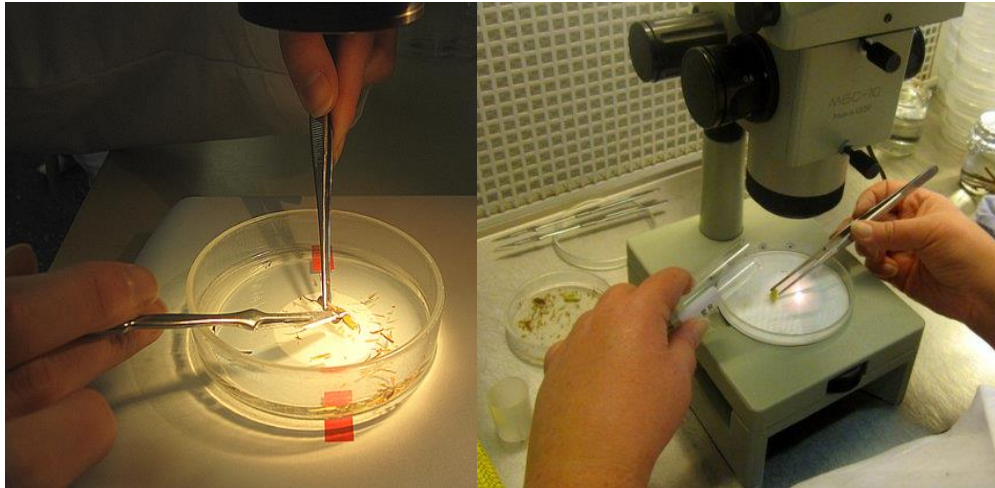
erityisominaisuuksiensa takia lisäksi haluttava kasviyksilö, joka voi olla jo generatiivisessa vaiheessa. Tällöin riski aloituksen ja monistumisen epäonnistumiseen suurenee. Vanhaa emokasvia voidaan yrittää saattaa jälleen nuoruustilaan (rejuvenaatio) ottamalla siitä pistokas tai varttamalla se, ja kasvattamalla uutta kasvia kasvihuoneessa. Vanhan emokasvin kasvuolojen parantaminen kuten esimerkiksi lannoituksesta, kastelusta ja tuholaistorjunnasta huolehtiminen, voi auttaa myös. (Haapala ym. 1992, 58–59.) On muistettava, että tuholaistorjunta voi heikentää vanhaa emokasvia.

Tutkittaessa kolmen mäntylajin (*Pinus radiata*, *P. nigra* ja *P. caribaea*) mikrolisäysmahdollisuuksia vanhoista emotaimista, voitiin todeta, että yli 5 vuotta vanhoista emoista otetut aloitukset jäivät kehittymättä ja kuolivat pian. Mikrolisäys saatiin kuitenkin onnistumaan nuorentamalla emoja ensin leikkauksilla tai varttamalla ne perinteisesti, jonka jälkeen saadut versot mikrovarrennettiin nuoriin perusrunkoihin ja näistä saatiin mikrolisäykseen käyttökelpoista versostoa. (Valledor, Rodriguez, Sánchez, Fraga, Berdasco, Hasbún, Rodriguez, Pacheco, Garcia, Uribe, Rios, Sánchez-Olate, Materán, Walter & Cañal 2007, 137–145.)

Opinnäytetyötä varten tehdyissä haastatteluissa kävi ilmi, että emokasvilla on suuri vaikutus koko aineiston onnistumiseen. Pilaritervaleppä (*Alnus glutinosa* f. *pyramidalis*) aiheutti paljon keskustelua. Tällaiset puiden erikois muodot saattavat olla koko maassa peräisin yhdestä ainoasta emosta. Eräällä mikrolisäystä harjoittavalla taimistolla oli kokemus, että 1–2-vuotiaat pilaritervaleppän taimet ovat niin oikukkaita, että koko eräkin saattaa ilman selvää syytä menehtyä. Pilaritervaleppän taimilla on ollut myös vuosien normaalin kasvun jälkeen tavanomaista paljon suurempi alttius talven jälkeisiin kuolemiin. Toisella taimistolla oli pilaritervaleppien kuolemista samanlainen ikävä kokemus. He epäilivät, että samaa mikrolisäysaloitusta oli käytetty liian pitkään, jolloin siihen on tullut epävakautta. Kolmannella mikrolisäystä harjoittavalla taimistolla taimet eivät olleet kuolleet, mutta tervaleppän keväistä paleltumisherkkyyttä pidettiin mahdollisena syynä muualla tapahtuneisiin kuolemiin. Viimeksi mainitulta taimitarhalla kerrottiin, että pilaritervaleppän markkinat olivat loppuneet yllättäen vuonna 2003, ja samoihin aikoihin heillä ollut aloitus oli vanhentunut. Heillä on ollut hankaluuksia saada uusi aloitus pilaritervaleppästä; nyt on 3–4 vuoden ajan yritetty tuottaa piiskoja siinä onnistumatta.

4.3.2 Viljelmän aloitus

Aloitusvaiheessa tärkeintä on saada kasvit sopeutumaan ja kasvamaan aseptisissa oloissa. Emokasveista otetut osat pintasteriloidaan, jotta niiden pinnalta saataisiin pois mikro-organismit, jotka voivat aiheuttaa kontaminaatioita. Pintasteriloidut osat laitetaan kasvamaan aloituslustoille (Kuva 5), ja jatkoviljelyyn hyväksytään vain puhtaana pysyvät ja lajille tai lajikkeelle tyypillistä, normaalia kasvua tuottavat aloitukset. Tässä vaiheessa tärkeintä on saada aikaan kasvuunlähtöä eikä tähdätä 100 % onnistumiseen. (George ym. 2008, 33–34; Uosukainen 1994, 2–4.)



Kuva 5. Vasemmalla pensaskirsikan (*Prunus* spp.) silmun preparointia ja käsittelyä mikrolisäystä varten. Oikealla preparoidun, valmiin silmun asettamista kasvatusalustalle koeputkeen.

Monet tutkimukset ovat osoittaneet, että versojentuoton tehokkuus on yhteydessä siihen, mistä kasvinosasta aloitus on otettu. Esimerkiksi lehtisolukosta otettu aloitus on saattanut tuottaa samalla ravintoalustan hormonipitoisuudella paljon enemmän versoja kuin juurisolukosta otettu aloitus. Jopa saman lehden ylä- ja alaosa otettujen aloitusten on osoitettu tuottavan erilaisia versomääriä. Aloituksen tekeminen kasveista, joilla on lepotilavaihe talvella, voi osoittautua hankalaksi syvän lepotilan vaiheessa. Vuodenaika vaikuttaa siihen, miten hankalaa aloituksen puhdistaminen ja desinfiointi on. (Hartmann ym. 2011, 650.) Syksyllä pitää varautua suurempaan infektioiden määrään kuin kevään aloituksissa. Käytännössä lepotilaan vaipuminen ja infektoituminen pitää ottaa huomioon suurempana epäonnistumisriskinä, jos tuotannon aikataulun kiireellisyyden tähden lisäksi pitää ryhtyä syksyllä. Yleisesti voidaan kuitenkin sanoa, että kun viljelmän aloitus on saatu kerran onnistumaan, viljelämä tuottaa pitkään ja hyvin monistuessaan rajattoman määrän lisäysmateriaalia (Mikrolisäyskurssi, 2012.)

4.3.3 Versojen monistaminen

Monistusvaiheen päämääränä on tuottaa uusia versoja tai kasvinosia, jotka kykenevät kasvamaan kokonaisiksi kasveiksi. Monistettuja kasvinosia (Kuva 6) voidaan käyttää myös edelleen monistamiseen, jotta kasvien määrää saadaan lisättyä. (George ym. 2008, 34.) Mikrolisäyksen kannattavuus paljastuu useimmiten monistusmisvaiheessa: jos monistuminen on riittävää, viljely on kannattavaa. Versojen tuottokykyä kuvataan suhdeluvulla, monistuskertoimella, jonka pitäisi olla vähintään 3, jotta tuotanto olisi kannattavaa. Joillakin kasvilajeilla lisäys kannatta vasta monistuskertoimen ollessa 5. Jos taimesta saadaan jonkin erityisominaisuuden tähden suurempi hinta, monistuskerron voi olla alhaisempi kuin 3. (Mikrolisäyskurssi, 2012.)

Monistusalustaan lisätään sytokiniinejä, jotta verson kasvupisteet jakautuvat ja tuottavat uusia versonaiheita. Oikean sytokiniinin löytäminen kullekin kasvilajille on ratkaisevaa: kokeissa esimerkiksi sinikuusaman (*Lonicera caerulea*) monistuskerron nousi neljästä 14:ään vaihdettaessa kasvualustassa käytetty sytokiniini toiseen. (Karhu 1996, 468.)



Kuva 6. Vasemmalla pensaskirsikan siirrostamista monistusalustalle ja oikealla monistusalustalla hyvin versoneita pylväshaavan (*Populus tremula* 'Erecta') taimia.

Useimmin tavattu ongelma monistamisessa on, että kasvinosat tuottavat fenoleita, jotka muuttavat ravintoalustan ruskean väriseksi ja vaikeuttavat kasvua. Lisäämällä monistusalustaan aktiivihiihtä tai antioksidantteja voidaan infektoitumisriskiä pienentää ja versonkasvua lisätä (Hartmann ym. 2011, 682.)

Monistusvaiheen tehokkuutta tutkiessaan Karhu (1996, 468–469) löysi hormoninkäytön lisäksi seuraavat keinot tehostaa versojen lisääntymistä: ravintoalustan sokeripitoisuuden säätö, oikeantyyppisen sokerin löytäminen kullekin kasvilajille, versojen paloittelu tai kärkikasvupisteen poisto, kasvatuslämpötilan nosto ja kasvatusastian ilmanvaihdon parantaminen.

4.3.4 Juurrutusvaihe

Juurrutusvaiheen tarkoituksena on saada mikropistokkaat juurtumaan kokonaisuksi erilaistuneiksi kasveiksi. Juurrutusvaihe voidaan tehdä joko *in vitro*- tai *ex vitro* -kasvatuksessa. Siirtämällä mikropistokkaat juurtumaan suoraan *ex vitro* -olosuhteisiin saadaan kustannussäästöä etenkin helposti juurtuvilla lajeilla. Juurrutusalustana voi olla esimerkiksi kalkittu, vähäravinteinen turpeen, perliitin ja hiekan seos. *In vitro*-juurrutuksessa ravintoalustalle vaihdetaan kasvunsäätteesi juurtumista edistäviä hormoneja eli auksiineja (Kuva 7). Myös *ex vitro*-juurrutuksessa pistokkaiden tyvet kastetaan auksiiniliuokseen juurten muodostumisen varmistamiseksi. (George ym. 2008, 34; Uosukainen 1994, 2–4.) Yleisesti ottaen agarissa pistokkaaseen muodostuvat jälkijuuret ovat heikkoja, mutta auksiinipitoisuuden nosto tai kasvunsäätteen käyttö voi vahvistaa juuria. Juurten muodostuminen on ongelmallisempaa puuvartisilla kasveilla kuin perennoilla. (George ym. 2008, 465.) Lepaan mikrolisäyslaboratoriossa on havaittu, että erityisesti lehmusten (*Tilia* spp.) juuriston kasvussa on eroa laboratoriossa agar-alustalla ja turvealustalla *ex vitro*-juurrutuksessa. Agarissa lehmusten juurista kasvaa paksuja, mutta niin rapeita ja heikkorakenteisia, että siirrettäessä juuret katkeilevat poikkeuksellisen paljon. Tästä syystä Lepaalla mikrolisätyt lehmukset siirretään monistuksesta suoraan *ex vitro*-juurrutukseen turpeeseen, jossa juuristo muodostuu vahvaksi. (Nyman, 2013)



Kuva 7. Vasemmanpuoleisessa kuvassa juurtumisalustalla olevia mesimarjan (*Rubus arcticus*) (vas.) ja pylväshaavan (oik.) taimia. Oikealla viereisen kuvan pylväshaavan astia pohjasta päin kuvattuna.

Verrattaessa aitokastanjan (*Castanea sativa*) pistokas- ja mikrolisäystä toisiinsa voitiin todeta, että kesäpistokkaista lisättyjen taimien juurtuminen onnistui 52–84 %:lla taimista kun taas mikrolisätyillä vastaavasti 0–83 %:lla taimista. Kokeessa oli useita eri klooneja, joten suuret vaihtelut selittyivät eri genotyyppien välisillä eroilla. Klooneit, jotka juurtuivat huonosti mikrolisäyksessä eivät juurtuneet sen paremmin kesäpistokkaistakaan. Eloönjääneitä taimia oli pistokaslisätyissä 58 % ja mikrolisätyissä hieman alle 20 %. Mikrolisätyjen taimien hyvä puoli oli, että niiden juuristo oli laadultaan pistokaslisätyjen juuristoa parempi. (Rodriguez, Cuenca, Pato & Cámara 2005, 305–307.) Samansuuntainen havainto kesä- ja mikropistokkaiden juurtumisesta tuli vastaan oppinäytetyöhön tehtyjen haastattelujen analysoinnissa. Mikrolisäystä harjoittavan taimitarhan kokemus oli, että kasvilajit, jotka eivät perinteisellä pistokaslisäyksellä juurru helposti, eivät juurru helposti myöskään mikrolisäyksellä. Ammattilaisten kokemukset eri tavoin lisättyjen taimien kasvueroista selittänevät juurtumisenkin eroja. Kokemuksena oli, että pistokas kasvaa kuin vanha kasvi, jonka kasvu on heikentynyt. Siementaimi kasvaa kuin nuori kasvi. Mikrotaimi vastaa fysiologiselta lähtökohdaltaan siementainta, jos se on otettu vegetatiivisessa kasvussa olevasta emosta. Kun käytetään vanhaa emokasvia aloitusmateriaalina, mikrotaimesta puuttuu vastaava kasvutarmo.

4.3.5 Taimikasvatus



Kuva 8. Vasemmalla alppiruusujen (*Rhododendron* spp.) mikrolisätyjä taimia *ex vitro* -oloissa turve-perliittiseoksessa Laukaan kasvihuoneessa. Oikealla Lepaalla *ex vitro* -kasvatuksessa turpeessa n. 2 kuukautta kasvaneen magnolian (*Magnolia* ssp.) taimen hyvin kehittynyt juuristo. Kuva on otettu 6.2.2008 (Nyman 2013). Jatkokasvatus-luvussa on kuvattuna saman erän magnoliantaimen juuristoa vuonna 2013.

Taimien siirtäminen *in vitro* -oloista *ex vitro* -oloihin (Kuva 8) on erittäin tärkeä vaihe. Jos vaihetta ei tehdä huolellisesti, voi merkittävä osa taimimateriaalista menehtyä. Taimien kuolemiseen on kaksi pääasiallista syytä: kuivuminen liiallisen haihduttamisen takia ja siirtymävaiheen alussa kykenemättömyys fotosynteesiin. Juuriston kehitystä ei saa estää liian tiiviillä ja turvepitoisella kasvualustalla.

Mikrotaimet ja viljelmien aloitukset kasvatetaan sokeripitoisella ravintoalustalla. Näistä viljelmistä tuotetut taimet eivät aluksi kykene tuottamaan tarvitsemiaan orgaanisia yhdisteitä fotosynteesin avulla; toisin sanoen ne eivät ole autotrofisia. Tällöin taimet tarvitsevat siirtymäajan tullakseen omavaraisiksi. Viime aikoina on tosin esitelty tekniikoita, joilla *in vitro* -kasvatuksessakin voidaan tuottaa autotrofisia kasveja. Laboratorion suljetuissa astioissa kasvaessaan taimet tottuvat myöskin korkeaan ilmankosteuteen, jolloin taimet ovat *ex vitro* -oloissa alttiita kuivumiselle. Tästä syystä taimet tarvitsevat karaisun, jossa vähitellen lasketaan ilmankosteutta ja lisätään valoisuutta. (George ym. 2008, 31.)

Haastatteluaineiston perusteella voidaan todeta, että kaikki itse mikrolisäystä harjoittavat taimitarhat tai tutkimuslaitokset pitivät taimien siirtämisvaihetta laboratorio-oloista turpeelle erityisosaamista vaativana vaiheena. Samoin miltei kaikki haastattelussa mukana olleet viljelijät, jotka olivat ostaneet kasvatusalustalla (agarissa) olevia taimia, olivat kokeneet juurrutusvaiheen vaikeana ja työläänä. Erityisesti keväällä, huhtikuun jälkeen, kun valoa ja lämpöä alkaa olla runsaasti, ”taimet saa hyvin tapettua” kuten eräs haastatelluista asian ilmaisi. Siirtymävaiheessa taimet ovat myös tavanomaista herkempiä kasvintuhoojille. Esimerkiksi harsosääsken toukat voivat syödä taimien versotkin ontoiksi ja tappa näin pikkutaimet kokonaan (Mikrolisäyskurssi 2012.)

4.4 Korkeat kustannukset nopean ja tehokkaan lisäyksen varjopuolena

Viimeaikainen mikrolisäystekniikan ja -käytänteiden edistyminen on osittain onnistunut laskemaan tuotannon kuluja heikentämättä tuotettujen taimien laatua. Suurimmat mikrolisätyn kasvin kuluja aiheuttavat tekijät ovat energia (sähkö), työvoima ja kemikaalit. Teollistuneissa maissa työvoima on pääasiallinen tekijä: taimien hinnasta jopa 80 % on työvoimakustannuksia. Kaupallinen tuotantoyksikkö vaatii alituista kulujen tarkkailua ja tutkimus- ja kehitystyötä tuotantokulujen alentamiseksi. (Tomar, Negi, Sinha & Dantu 2012, 1; Haapala ym. 1992, 29.)

Verrattaessa aitokastanjan (*Castanea sativa*) pistokas- ja mikrolisäystä toisiinsa voitiin todeta, että pistokaslisätyn taimen yksikköhinta oli 0,20 € ja mikrolisätyn vastaavasti 1,20 €. On kuitenkin huomattava, että kesäpistokkaita voidaan ottaa vain lyhyen ajan kuluessa ja vain sen määrän mitä emokasvit ovat tuottaneet. Aikaa menee myös emokasvin kasvattamiseen. Jos halutaan tuottaa yhden vuoden aikana paljon taimia, on mikrolisäys oikea vaihtoehto. (Rodriguez ym. 2005, 305.)

Opinnäytetyötä varten tehdyissä haastatteluissa korostuikin vaikeus verrata suoraan kallista tuotantohintaa mikrolisäyksen mukanaan tuomiin kilpailuvaltteihin. Kaikki mikrolisättyjen taimien tuottajat olivat yhtä mieltä taimien kalleudesta, mutta muut edut saivat hintalaskurin vaa'an kielen kääntymään kannattavuuden puolelle. Mainittavimmat edut olivat tuotannon nopeus ja tehokkuus, jotka auttoivat varsinkin uutuusien saamiseen markkinoille ensimmäisten joukossa. Määrältään pienikin aloitusmateriaali saadaan kertaantumaan nopeasti (4-6 viikkoa siirrostaminen), mikä taas mahdollistaa suuren massan tuottamisen nopeasti. Vuodenkierrossa mikrolisätyn taimen tuottaja voittaa aikaa, sillä *ex vitro*-kasvatuksen voi aloittaa niin pian vuoden alusta kuin vain kasvihuonetta haluaa käyttää. Valo- ja lämpömäärä ovat ratkaisevat tekijät – ei taimimateriaalin saatavuus. Laboratorio-oloissa aikaa voidaan kuroa umpeen myös esimerkiksi järjestämällä kasveille talvikausi kaksi kertaa vuodessa, jolloin kasvua saadaan nopeutettua tavanomaiseen viljelyyn verrattuna.

Haastattelujen perusteella taimitarhoilla käytetään paljon mikrolisättyjä taimia emotaimina, jolloin kalliimpi tuotantokustannus tai ostohinta tulee vain emotaimien osalle. Mikrolisätyistä emoista saatua pistokasaineistoa pidettiin laadukkaana ja hyvin juurtuvana. Myös mikrolisäyslaboratorion omistavat taimistot käyttivät pistokaslisäystä mikrolisäyksen ohella. Joistakin mikrolisätyistä taimista voitiin niitä latvottaessa ottaa pistokkaat, jolloin tuotantomäärä saatiin kaksinkertaistettua. Jos mikrolisätyt taimet on kouluttu turpeelle esimerkiksi maaliskuulla, niin huhtikuulla niistä voi jo ottaa pistokkaat, mikä tuo jälleen ajansäästöä tuotantoketjuun verrattuna perinteisen ulkoa otetun pistokasmateriaalin käyttöön.

4.5 Jatkokasvatus

Mikrolisättyjen taimien jatkokasvatusta on tutkittu vähän. Opinnäytetyöhön haastatelluista puiden kasvattajista kukaan ei ollut havainnut mikrolisättyjen puiden juuristossa epämuodostumista tai paalujuuren poikkeavaa kasvua. Astiataimikasvatuksessa hedelmäpuilla mikrolisätyn jalojuurisen ja vartetun taimen juuriston kasvussa on eroa. Perusrunkoisen taimen voimakas juuristo lähtee helposti kiertämään astiaa, mikä ei ole koskaan toivottu ominaisuus. Jalojuurisen puun juuristo muodostuu astiassa hillitymmin.

Lepaan mikrolisäyslaboratoriossa tuotettujen ja taimistolla 3–4 vuotta kasvatettujen pensaskirsikan (*Prunus* spp.) ja magnolian (*Magnolia* spp.) astiataimien juuristojen kuntoa ja muodostumista tutkittiin kolmesta satunnaisesta näytteestä tammikuussa 2013. Astiasta poistetut juuripaakut halkaistiin ja puhdistettiin osittain kasvialustasta. Juuriston kunto oli kaikissa näytteissä hyvä; juuria oli muodostunut tasaisesti ja tiheästi koko kasvualustaan. Selkeä paalujuuren muodostuminen oli alkanut juuriston yläosasta kasveille tyypillisellä tavalla (Kuva 9). Magnolian taimet oli siirretty *ex vitro* -kasvatukseen vuonna 2008, ruukutettu 1-litran ruukkuun vuonna 2009, 3-litran ruukkuun vuonna 2010 ja isokokoisimmat taimet 7,5-litran ruukkuun vuonna 2011 (Kuva 10). Pensaskirsikan taimet oli

siirretty *ex vitro* -juurrutukseen ja ruukutettu 1-litran ruukkuun vuonna 2010 ja 3-litran ruukkuun vuonna 2012.



Kuva 9. Kahden mikrolisätyn 4-vuotiaan magnoliantaimien (*Magnolia* ssp.) halkaistut ja osittain puhdistetut juuripaakut. Vasemmalla 3-litraisessa ruukussa kasvanut ja oikealla 7,5-litraisessa ruukussa kasvanut taimi.

Puiden latvuksen muodostumisessa haastatellut eivät olleet havainneet mitään poikkeavaa, vaikka tästä Lepaalla Nymanin (2013) mukaan on ollut epäilyjä. Lepaan puistoistutusten vanhimmissa mikrolisätyissä lehmuksissa on muutaman yksilön latvuksessa ollut luutakasvuisuutta. Sen sijaan haastattelujen perusteella selvää näyttäisi olevan, että mikrolisätty puu muodostaa versoja sekä runkoon että juuriin voimakkaammin kuin muilla tavoin lisätty puu. Versonmuodostus latvukseen on kuitenkin voimakkainta ensimmäisten kasvuvuosien aikana tasoittuen sitten normaaliksi. Tämä vegetatiivisen kasvun hallitsevuus nähtiin toisaalta työtä ja leikkaustarvetta lisäävänä ja taas toisaalta tuuhealatuksisia puita pidettiin helposti myytävänä. Metsätaimituotannossa sitä vastoin runsasoksainen puu ei ole haluttu.

Erityisesti puiden tuottajat pitivät kirsikka- ja luumupuiden omajuuruisuutta hyvänä ominaisuutena. Puut ovat kuluttajaystävällisiä tuottaessaan vaikkapa pakkastalvena kuolleen puun tilalle juuriosastaan samaa lajiketta olevan yksilön. Mikrolisättyjen taimien hyvistä puolista eräs taimituottaja muistutti, että melkein kaikki kotimaiset alppiruusut ja atsaleat ovat mikrolisättyjä eikä niistä ole tullut huonoa palautetta. Samoin pensasmustikoiden ja mansikan satotasot ovat olleet hyviä, mikä kertoo paitsi onnistuneesta viljelystä myös taimimateriaalin laadukkuudesta.

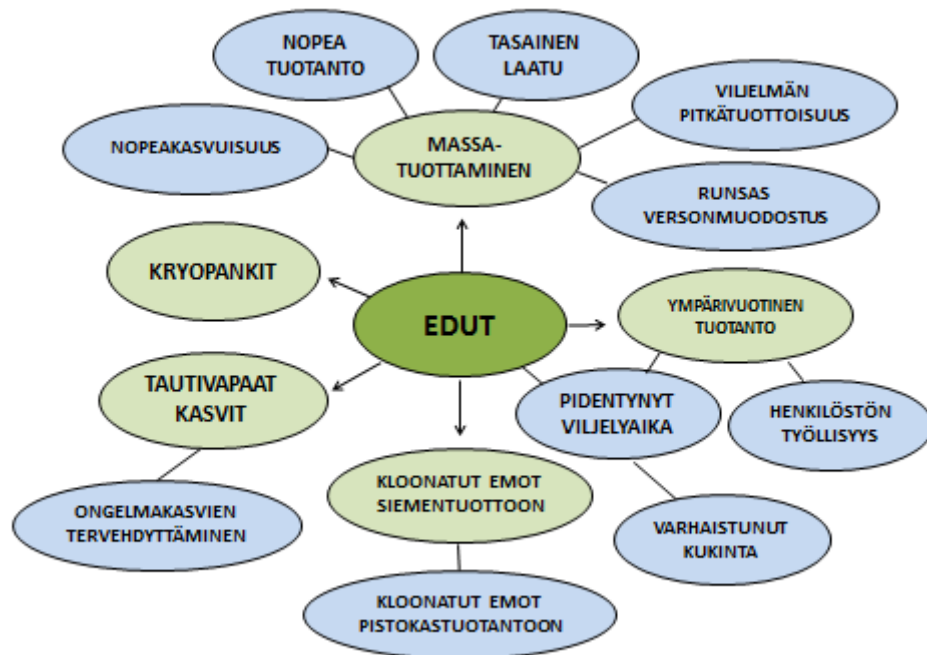
Opinnäytetyöhön haastateltujen perennanlisääjien ja -kasvattajien mukaan perennojen jatkokasvatuksessa on vaikea havaita lisäysmenetelmästä

johtuvia piirteitä kasveissa. Näyttäisi siltä, että joillakin perennalajeilla kuten esimerkiksi kaihonkukalla (*Omphalodes verna*), pikkusydämällä (*Dicentra* spp.) ja kurjenpolvilla (*Geranium* spp.) mikrolisäys tuottaa parempaa, nopeampaa ja tuuheampaa kasvua kuin perinteisillä menetelmillä lisäten. Kokemuksia oli joidenkin liljakasvien normaalia aikaisemmasta kukinnasta. Esimerkiksi mikrolisätty varjolilja (*Lilium martagon*) kukkii jo 2–3 -vuotiaana, kun se tavanomaisin menetelmin lisättyinä kukkii vasta 5–7 -vuotiaana. Päinvastainen kokemus oli yhdellä perennanviljelijällä tarhapäivänlilja-lajikkeen (*Heimerocallis* Hybrida-ryhmä) täydellisestä kukkimattomuudesta ja toisella perennanviljelijällä samoin tarhapäivänliljan poikkeuksellisen vähälukuisesta kukinnasta. Kukkimattomuus tunnettiin myös tarinana vuosien takaa, jolloin erä mikrolisättyjä mansikantaimia tuotti viljelijän pellossa vain vihreitä lehtiä.

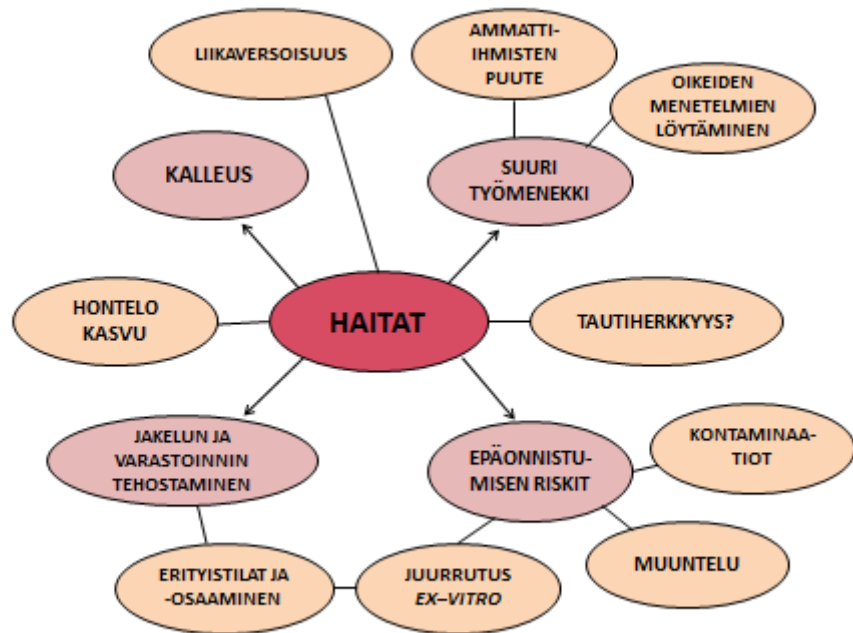
5 POHDINTA

Ammattilaisten haastattelut antoivat hyvän kuvan mikrolisäyksestä ja sen hyödyntämisestä suomalaisilla taimitarhoilla. Toisaalla ovat isot taimistot, joilla on mahdollisesti oma laboratorio, ja toisaalla pienet tai keskiuuret taimistot, jotka käyttävät ostamiaan mikrolisättyjä taimia useimmiten emomateriaalina omissa lisäyksissään. Mikrolisäyksen edut ja haitat näyttävät molemmille ryhmille hieman eri näkökulmista, vaikka monia yhteisiäkin piirteitä löytyy.

Mikrolisäyslaboratorion omistavat taimistot tai tutkimus- ja oppilaitokset olivat tulleet tutuiksi mikrolisättyjen taimien käsittelyn kanssa. Pikkutaimien käsittely *ex vitro* -vaiheessa ja hieman sen jälkeen oli opittu eikä siinä yleensä nähty ongelmia. Sen sijaan taimistot, jotka vain ostivat pikkutaimia, saattoivat ylläytyä taimien herkkyydestä karaisuvaiheessa ja pikkutaimien kasvatuksen tavanomaista suuremmasta hoitotarpeesta. Toivetta välivaiheen kasvattajastakin esitettiin. Mikrolisäyslaboratorioiden oli puolestaan oltava kärsivällisiä aiemmin mikrolisäämättömien kasvien kanssa, ja joskus aloitusten uusimisienkin kanssa. Saattaa viedä pahimmassa tapauksessa vuosia, että oikeat menetelmät lisäämiseen löydetään. Olen yhdistänyt sekä Hartmannin esittämät mikrolisäyksen edut ja haitat että haastatteluista saamani tulokset kuvioihin 2 ja 3.



Kuvio 2. Mikrolisäyksen edut nuolilla merkittynä Hartmannin ym. (2011) mukaan. Kuvion reunoille on lisätty opinnäytetyötä varten tehdyistä haastatteluista saadut tulokset.



Kuvio 3. Mikrolisäyksen haitat nuolilla merkittynä Hartmannin ym. (2011) mukaan. Kuvion reunoille on lisätty opinnäytetyötä varten tehdyistä haastatteluilta saadut tulokset.

Kertomukset kukkimattomuudesta muistuttavat siitä, miten suurten massojen nopea tuottaminen voi kääntyä itseään vastaan. Suuri määrä täsmälleen samaa kloonია on riskialtis myös alkuvaiheen mutaatioille, jotka eivät näy viljelyn varhaisvaiheessa. Kukkimattomuuden syinä voivat olla myös liian korkeat hormonitasot tai alunperin huonot kloonit. Kasvin kukkientuotto ei näy vielä koeputkessa; hedelmäpuilla ei vielä jatkokasvatuksessakaan muutama vuoteen. Menetelmien kehittyessä ja käytännön opettaessa riskejä on opittu minimoimaan. Laukaan vadelmantaimien tuottaminen on hyvä esimerkki muuntelun saamisesta aisoihin vaikka hieman mutkikkaillakin lisäskuvioilla. Kukkimisessa päinvastainen ilmiö eli joidenkin mikrolisättyjen kasvien kukkimisiän varhaistuminen on eittämätön etu kaupallisessa tuotannossa.

Epäilyt kasvien tautiherkkyydestä, kun ne siirretään ulos laboratorion, toivat esiin toisaalta vakavan huolen siitä, onko varaa ohittaa toistaiseksi tieteellisesti todistamattomat seikat, toisaalta oletusten paisuttelun vaaran. Koska kasvi on *in vitro*-oloissa kasvaessaan solurakenteeltaan ja ominaisuuksiltaan erityyppinen kuin ulkona kasvava kasvi, on järkeenkäyvää ajatella esimerkiksi härmän löytävän helposti tiensä ohuiden solurakenteiden ja toimimattomien huulisolujen ohi kasviin. Laboratorion lähtiessään kasvi on tautivapaa, mutta ennen kuin solukot vahvistuvat ja kasvi alkaa toimia itsenäisesti *ex vitro*-oloissa, tautialttiutta ei kannattane väheksyä.

Miltei kaikki puiden jatkokasvatuksessa luetellut ongelmat vaikuttaisivat runsaan vegetatiivisen kasvun seurauksilta. Voimakas vegetatiivinen kasvu on eduksi etenkin lehtipenssilla ja -perennoilla, mutta puilla se on

useimmiten haitta lukuunottamatta tuuhean latvuksen arvoa. On mielenkiintoista, missä vaiheessa hormonien vegetatiivista kasvua kiihdyttävä vaikutus lakkaa. Puilla sen sanottiin laantuvan ensimmäisten kasvuvuosien aikana. Mikrolisättyjen puiden juurtenmuodostumista koskeneet epäilyt tuntuivat kirjallisuuden, Lepaalla tehdyn koetoksen ja haastattelujen perusteella turhilta. Seminaariesitelmässään Heiska (2013) vertaili metsänpuututkimuksessa tutkittuja erikoispuumuotojen lisästekniikoita. Puiden erikoismuotojen mikrolisäämisen rajoituksina oli haluttujen ominaisuuksien selviäminen vasta useamman vuoden kasvatuksen jälkeen. Eri lisäysmenetelmien vaikutus ja kasvun seuranta nimenomaan puuvartisilla kasveilla olisikin hyvä jatkotutkimuksen aihe.

LÄHTEET

- Ahonen, P. 2012. Toimitusjohtaja. Ahosen Taimisto Oy. Henkilökohtainen tiedonanto 29.6.2012.
- Elintarviketurvallisuusvirasto Evira. 2012. Varmennettu taimituotanto. Viitattu 24.3.2013.
http://www.evira.fi/portal/fi/kasvit/viljely_ja_tuotanto/puutarhakasvien_taimet/varmennettu_taimituotanto/
- George, E.F., Hall, M.A. & De Klerk, G-J. (toim.). 2008. Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition. Volume 1. The Background. Dordrecht, The Neatherlands: Springer.
- Haapala, T. & Niskanen, A-M. 1992. Pohjoisten puuvartisten kasvien mikrolisäys. Helsinki: VAPK-kustannus.
- Hartman, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T.Jr. & Geneve, R.L. 2011. Hartmann & Kester's Plant Propagation, Principles and Practices. Eight Edition. Upper Saddle River: Prentice Hall.
- Heiska, S. 2013. Suomalaisten erikoispuumuotojen lisästekniikka. Taimistoviljelijöiden talvikurssi. Hämeenlinna. 4.3.2013. Taimistoviljelijät ry. Seminaarin muistiinpanot ja jaetut esitteet.
- Hokka, H. 28.2.2013. Mikrolisäysopinäytetyöstä. Vastaanottaja Leena Huhtama [Sähköpostiviesti]. Viitattu 28.2.2013.
- Hokka, H. 15.3.2013. Opinäytetyö. Vastaanottaja Leena Huhtama [Sähköpostiviesti]. Viitattu 22.3.2013.
- HorticultureWeek.co.uk. 2010. National Rhododendron Collection saved by micropropagation. Viitattu 28.11.2012.
<http://www.hortweek.com/news/1010472/National-Rhododendron-Collection-saved-micropropagation/?DCMP=ILC-SEARCH>
- Karhu, S. Mikrotaimia tehokkaasti. Puutarha 9/96, 468–469.
- Mala, J., Cvikrová, M. & Chalupa, V. 2007. Micropropagation of mature trees of *Ulmus glabra*, *Ulmus minor* and *Ulmus laevis*. Teoksessa Mohan Jain, S. & Häggman, H. (toim.) Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits. Dordrecht, The Neatherlands: Springer. 237–246.
- Matilda. Maataloustilastot. 2012. Puutarhatilastot 2011, pdf-tiedosto. Viitattu 10.2.2013.
http://www.maataloustilastot.fi/puutarhatilastot_fi-0
- Metraux, J-P. 2000. Gibberellins and plant cell elongation. Teoksessa P.J. Davies (toim.) Plant hormones and their role in plant growth and development. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 296–317.

METLA. 2012. Hybridihaapa puhdistaa saastunutta maa-aluetta Luumäellä. Tiedote 4.12.2012. Viitattu 11.1.2013.

<http://www.metla.fi/tiedotteet/2012/2012-12-04-hybridihaapa.htm>

Mikrolisäyskurssi. 2012. Vastuuopettajat Leppäkoski, S. & Nyman, T. Lisäys- ja taimituotantotekniikka. Mikrolisäyskurssin aineisto. Hämeen Ammattikorkeakoulu.

Mink, G.I. 1993. Pollen- and seed-transmitted viruses and viroids. Teoksessa Annual Review of Phytopathology 31: 375–402. Viitattu 28.2.2013.

<http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.py.31.090193.002111>

MTT. 2011. Kasper-palvelu. Puutarhapalvelut. Valiotaimituotanto. Viitattu 2.11.2012.

<https://portal.mtt.fi/portal/page/portal/kasper/puutarha/puutarhapalvelut/valiotaimi>

MTT. Veteläinen, M. (toim.). 2008. Suomen Kansallinen Kasvigeenivaraohjelma suojelutyön tukena 2003–2008. [juhlaulkaisu]. Viitattu 2.11.2012.

<http://www.mtt.fi/mtts/pdf/mtts165.pdf>

Nukari, A. & Uosukainen, M. 2006. Testattujen puutarhakasvien pitkäaikaisvarastointi kylmäsäilytyksen avulla. Loppuraportti, MTT. Viitattu 28.2.2013.

<https://portal.mtt.fi/portal/page/portal/www/Tietopaketti/Kasvigeenivarat/Julkaisut/840801FA185DA4D0E040A8C0023C4FCE>

Nyman, T. 2013. Tuotantopäällikkö. Hämeen ammatillisen korkeakoulutuksen kuntayhtymä. Henkilökohtainen tiedonanto.

Pihlajaniemi, H. 2009. Success of micropropagated woody landscape plants under northern growing conditions and changing environment. Acta Univ. Oul. A 545. Oulu: Oulun yliopisto, pdf-tiedosto. Viitattu 6.12.2012.

Rodriguez, L., Cuenca, B., Pato & Cámara, M.J. 2005. Cost and Efficiency of Propagating *Castanea sativa* Hybrids In Vitro and by Cutting in a Commercial Nursery. Acta Horticulturae 693, 305–311.

Ryynänen, L. & Aronen, T. 2007. Koivun kirjavalehtisyys, periytyykö se sittenkin? Sorbifolia 38 (1), 33–38.

Tomar, U.K., Negi, U., Sinha, A.K. & Dantu, P.K. 2012. An Overview of the Economic Factors Influencing Micropropagation. Academia.edu. Viitattu 6.1.2013.

http://www.academia.edu/229914/An_Overview_of_the_Economic_Factors_Influencing_Micropropagation

Uimonen, J. 4.2.2013. Taimistojen koot. Vastaanottaja Leena Huhtama [Sähköpostiviesti]. Viitattu 10.2.2013.

Uosukainen, M. 1994. Ajankohtaispaketti Tervetaimituotannosta, Mikrolisäyksen vaiheet. Julkaisussa Tietopäivä tervetaimituottajille Laukaassa 6.4.1994. Julkaisusarja Laukaan tutkimus- ja valiotaimiasema, viljelijätiedote 1/1994. 2-4.

Valledor, L., Rodriguez, R., Sánchez, P., Fraga, M.F., Berdasco, M., Hasbún, R., Rodriguez, J.L., Pacheco, J.C., Garcia, I., Uribe, M.M., Rios, D., Sánchez-Olate, M., Materán, M.E., Walter, C. & Cañal, M.J. 2007. Propagation of selected Pinus genotypes regardless of age. Teoksessa Mohan Jain, S. & Häggman, H. (toim.) Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits. Dordrecht, The Neatherlands: Springer. 137–146.

Vuori, R. A. 2010. Suomen puutarhatalouden jäljillä. Turenki: Viherkonsultointi Risto A. Vuori.

HAASTATTELUT:

Avotie, K. 2013. Toimitusjohtaja. Saarioisten Taimistot Oy. Haastattelu 23.1.2013.

Björkvall, M. 2012. Yksityisyrittäjä. Björkvallin Taimisto – Plantskola Ky. Ryhmähaastattelu 14.11.2012.

Hokka, H. 2012. Tutkimusmestari. MTT, Kasvituotannon tutkimus. Haastattelu 19.10.2012.

Kajavala, S. 2012. Yrittäjä. Talman Lehtopuutarha Ay. Ryhmähaastattelu 14.11.2012.

Kauppinen, E. ja H. 2012. Puutarhuri ja toimitusjohtaja. Raitarannan Taimitarha ky. Haastattelu 18.10.2012.

Mäntynen, J. 2013. Toimitusjohtaja. Taimityöllilä Oy. Haastattelu 9.1.2013.

Nybacka, P. 2012. Toimitusjohtaja. Rengon Taimitarha Oy. Haastattelu 18.10.2012.

Rampa, J. 2012. Toimitusjohtaja. Satakunnan Taimitukku Ay. Haastattelut 13. ja 17.12.2012.

Särkkä, J. 2012. Yrittäjä. Särkän Perennataimisto Ky. Haastattelut 14.11.2012

Vähäsarja, T. 2013. Toimitusjohtaja. Kehityspiste Oy/ PlantaCella. Haastattelu 18.1.2013.

Wegelius, S. 2012. Perennanviljelijä. Terolan Taimitarha. Ryhmähaastattelu 14.11.2012.

TEEMAHAASTATTELUN KYSYMYKSET

1. Onko sinulla kokemusta taimitarhakasvien mikrolisäyksestä tai mikrolisättyjen taimien kasvatuksesta taimitarhalla?
2. Mikä on mielestäsi haastavinta taimitarhakasvien mikrolisäyksessä/mikrolisättyjen taimien kasvattamisessa taimitarhalla?
 - Mikä on parasta?
3. Eroaako mielestäsi mikrolisäyksellä tuotettu taimi muilla kasvullisilla menetelmillä tuotetuista taimista? -Miten?
 - Mitä mieltä olet mikrolisättyjen taimien käytön taloudellisesta kannattavuudesta?
4. Onko sinulla huomioita mikrolisättyjen taimitarhakasvien jatkokasvatuksesta taimitarhavaiheen jälkeen?