

---

**MIKROLISÄYS**  
Mikrolisäyslaboration toimintaohje



Ammattikorkeakoulun opinnäytetyö

Puutarhatalouden koulutusohjelma

Lepaa

Kati Vesala





LEPAA  
Puutarhatalouden koulutusohjelma  
Kasvihuone- ja taimitarhatuotanto

---

|                  |   |                   |
|------------------|---|-------------------|
| <b>Tekijä</b>    | Kati Vesala                                       | <b>Vuosi</b> 2013 |
| <b>Työn nimi</b> | Mikrolisäys, mikrolisäyslaboratorion toimintaohje |                   |

---

## TIIVISTELMÄ

Mikrolisäys on tehokas kasvien lisäystapa, jossa työskentely vaatii huolellisuutta ja aseptisia olosuhteita. Vaikka työskentely on hyvin järjestelmällistä, liittyy siihen kuitenkin riskejä. Suurimmat riskit liittyvät turvallisuuteen kemikaalien kanssa sekä kasvien ja työntekijöiden hygieniaan.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli laatia Hämeen ammattikorkeakoulun, Lepaan yksikön mikrolisäyslaboratoriolle toimintaohjeet. Toimintaohjeessa otettiin huomioon ensisijaisesti opiskelijat, jotka ovat laboratorion suurin käyttäjäryhmä. Toinen huomionarvoinen ryhmä on ulkopuolinen asiakas, joka haluaa teettää joko selkeän tilauksen tai tutkimushankkeen.

Henkilökuntaa haastatteleamalla pyrittiin kartoittamaan mikrolisäyslaboratorion nykyiset ongelmakohdat. Kartoituksessa selvisi, että tietojen dokumentoinnissa, tuotannon hallinnassa sekä ulkopuolisen asiakkaan kohdalta löytyivät suurimmat puutteet. Näihin pyrittiin laatimaan ohjeistus, joka on kaikille yhtenäinen ja auttaa jokapäiväistä toimintaa laboratoriossa.

Toimintaohje on laadittu tämän hetkisen tilanteen mukaan. Sitä tulee päivittää aina, kun toiminta muuttuu. Toimintaohjeen noudattaminen vaatii sitoutumista, niin mikrolisäyslaboratorion henkilökunnalta, kuin heidän esimiehiltäänkin.

Toimintaohjeeseen on kirjattu myös dokumenttien hallinnan järjestäminen sekä aikataulus. Näiden ohjeiden jalkauttaminen käytäntöön jää HAMKin Lepaan yksikön mikrolisäyslaboratoriolle.

Toimintaohje on tämän opinnäytetyön liite.

**Avainsanat** Mikrolisäys, toimintaohje, ohje

**Sivut** 22 s. + liite 31 s.

The Lepaa Unit  
Degree Programme in Horticulture  
Greenhouse and nursery Production

---

|                                     |  |                  |
|-------------------------------------|--|------------------|
| <b>Author</b>                       | Kati Vesala  | <b>Year</b> 2013 |
| <b>Subject of Bachelor's thesis</b> | Micropropagation, the operating instruction of micropropagation laboratory |                  |

---

ABSTRACT

Micropropagation is effective way to increase plant, were the work requires care and aseptic conditions. Although the work is done very systematically, there are some risks related to work. Biggest risks are related the safety of chemicals as well as plant and worker hygiene.

Purpose of this thesis was to make operating instruction for micropropagation laboratory in HAMK University of Applied Sciences. The students are main users of laboratory. The instructions were primarily made for students. The other group is an external customer, who wants to carry out either a clear order or a research project.

By interviewing staff sought to map out the current issues of the laboratory. The survey revealed that the data documentation, production management as well as external customer related processes were the main weaknesses. There was designed to develop instructions, which are all united and to help the everyday activities of the laboratory.

The operating instruction has been drawn up according to the current situation. It will be updated as and when activities change. Compliance with the operating instruction requires commitment, as staff of the micropropagation laboratory than their managers.

To the operating instruction has also been written document management and scheduling. Responsibility of implementation of these instructions will remain to micropropagation laboratory of Lepaa Unit.

The operating instruction is a separate attachment of this thesis.

**Keywords** Micropropagation, operating instruction, guideline

**Pages** 21 p. + appendices 31 p.

## TERMISTÖ

|                         |   |
|-------------------------|---|
| Agar                    | Levästä saatava kasviperäinen tuote, jonka avulla kasvualusta hyydytetään.  |
| Autoklaavi              | Laite, jota käytetään sterilointiin kuuman vesihöyryn ja paineen avulla.  |
| Aseptinen               | Tartunta-aineeton, puhdas.  |
| Embryogeneesi           | Alkion muodostuminen. Solukkoviljelyssä tapahtuva somaattinen embryogeneesi tarkoittaa alkion muodostumista kasvullisesta (vegetatiivisesta) solukosta. |
| Ioninvaihdettu vesi     | Puhdistettua vettä, josta ionisoituneet aineet on poistettu.  |
| <i>In vitro</i>         | ”Lasissa” esim. koeputkessa.  |
| <i>Ex vitro</i>         | Organismissa tapahtuva.   |
| Kallus                  | Erilaistumaton haavasolukko, jota muodostuu luonnossa ja solukkoviljelyssä  |
| Kasvatusalusta          | Neste tai hyytelö, joka sisältää viljelmän tarvitsemat ravinteet ja vitamiinit. Energialähteenä käytetään yleensä sakkaroosia eli ruokosokeria.         |
| Kloonit                 | Perintätekijöiltään samanlaisten yksilöiden joukko.   |
| Kontaminaatio           | Saastuminen   |
| Laminaarivirtauskaappi  | Steriloitavissa oleva työtila, jossa suodatettu ilmavirta estää kiinteiden kappaleiden esim. itiöiden siirtymisen steriiliin tilaan.                    |
| Mikrolisäys             | Kasvin aseptinen lisääminen pienistä paloista.  |
| MS-alusta               | Toshio Murashigen ja Folke Skoogin kehittämä ravintoalusta. Kasvualusta sopii erityyppisille kasveille.   |
| Reklamaatio             | Kirjallinen valitus virheellisestä tuotteesta tai palvelusta toimittajalle.   |
| Somaattinen             | Kasvullinen   |
| Osmoottinen potentiaali | Veteen liuenneet aineet aiheuttavat osmoottisen potentiaalin. Puhtaan veden osmoottinen potentiaali on nolla. Mikäli siihen                             |

|              |  |
|--------------|--|
|              | on liuennut aineita, sen osmoottinen potentiaali muuttuu negatiiviseksi.   |
| Petrimalja   | Pyöreä, matala, kannellinen, lasista tai muovista valmistettu malja, joita käytetään mikrobien ja kasvisolukoiden viljelyastioina. |
| Vegatiivinen | Suvuton lisäys eli kasvullinen. Kasvullisesti kasveja lisätään, kun halutaan tuottaa täsmälleen emokasvin kaltaisia jälkeläisiä.   |
| WPM-alusta   | Kasvatusalusta, joka kehitettiin 1980 leveälehtikalmian ( <i>Kalmia latifolia</i> ) puun kaupallista lisääystä varten.             |

## SISÄLLYS

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 1     | JOHDANTO .....                                  | 6  |
| 2     | SOLUKKOVILJELY ELI MIKROLISÄYS.....             | 7  |
| 2.1   | Solukkoviljelyn perusta.....                    | 7  |
| 2.2   | Solukkoviljelyn kehitys.....                    | 7  |
| 2.3   | Mikrolisäyksen hyödyt ja haitat .....           | 8  |
| 2.4   | Mikrolisäyslaboratorio, tilat ja välineet ..... | 8  |
| 2.5   | Mikrolisäyksen vaiheet .....                    | 12 |
| 2.6   | Aseptinen työskentely ja sterilointi .....      | 13 |
| 2.7   | Ravintoalusta.....                              | 14 |
| 2.7.1 | Kasvunsäätteet.....                             | 15 |
| 2.7.2 | Pää- ja hivenravinteet sekä sokerit .....       | 16 |
| 2.8   | Taudit ja tuholaiset .....                      | 16 |
| 3     | MIKROLISÄYSLABORATORION RISKIT .....            | 17 |
| 4     | MIKROLISÄYSLABORATORION TOIMINTAOHJE.....       | 18 |
| 5     | JOHTOPÄÄTÖKSET .....                            | 19 |

Liite 1 Mikrolisäyslaboratorion toimintaohje

## 1 JOHDANTO

Mikrolisäys on menetelmä, jolla kasveja pystytään lisäämään nopeasti ja tehokkaasti ympäri vuoden. Kasvien solukkoviljelyllä tarkoitetaan solujen, solukoiden ja kasvinosien viljelyä steriileissä olosuhteissa irrallaan kasvusta. Emokasvista irrotetun kappaleen viljely tapahtuu kasvatusalustalla, johon on lisätty solukon elossa pitämiseksi tarvittavat aineet. Mikrolisäyksen avulla emokasvin ominaisuudet siirtyvät muuttumattomina uusiin kasviyksilöihin, jotka kaikki ovat perimältään toistensa kaltaisia. (Haapala & Niskanen 1992, 3, 13, 22.)

Hämeen ammattikorkeakoulun laadunvarmistusjärjestelmän tavoitteena on toiminnan jatkuva tavoitteellinen kehittäminen ja uudistaminen, jotta toiminta tyydyttäisi opiskelijoiden ja ulkoisten asiakkaiden tarpeita kustannustehokkaasti. Laadunvarmistusjärjestelmä yhtenäistää ammattikorkeakoulun menettelyt ja varmistaa kestävän ja eettisen toiminnan. Toteuttaminen rakentuu tavoitteiden, suunnittelun ja toimintaohjeiden pohjalle. Toimintaa ohjataan pääosin käyttäen normaaleja johtamisen menettelyitä, toimintaohjeistusta ja kehittämishankkeita. (Hämeen ammattikorkeakoulun laadunvarmistusjärjestelmän kuvaus n.d.)

Lepaan mikrolisäyslaboratorion toimintaa on selkeytetty ohjeistamalla toimintoja uudessa toimintaohjeessa (Liite 1). Ohjeistuksessa on otettu huomioon henkilökunnan työhön liittyvät asiat, kuten dokumentointi, turvallisuus ja ulkopuolisen asiakkaan rooli. Ohjeistuksessa on erityisesti huomioitu opiskelijat, jotka tekevät opintoihin liittyviä harjoitustöitä, kehitysprojekteja tai opinäytetöitään. Opiskelijoille on tehty mm. työohjeita, joiden avulla he itsenäisesti pystyvät suorittamaan kyseisen työn. Turvallisuus ja toiminnan ohjeistus ovat etusijalla kaikissa toiminnoissa, joihin opiskelija osallistuvat.

## 2 SOLUKKOVILJELY ELI MIKROLISÄYS

Mikrolisäys eli solukkolisäys tarkoittaa kasvien lisäämistä aseptisissä olosuhteissa, joissa kasvit jäävät hyvin pieniksi. Siksi syntyviä kasveja kutsutaan mikrotaimiksi ja menetelmää mikrolisäykseksi. Mikrolisäyksessä lisäämisen lähtöaineistoksi riittää parhaassa tapauksessa yksi ainoa silmu, josta voidaan perinteisiä menetelmiä paljon lyhyemmässä ajassa saada tuhansia emokasvin kopiota. Tavallisemmin mikrolisäykseen käytetään kärki- ja hankasilmuja, joissa on kasvupiste mukana, mutta muitakin kasvinosia voidaan käyttää. (Fargerstedt, Lindén, Santanen & Väinölä, 2008, 155–156.)

### 2.1 Solukkoviljelyn perusta

Mikrolisäys on lisäämiseen erikoismenetelmä, jossa hyvin pienet kasvin solukon osat uudistuvat keinotekoisesti steriileissä olosuhteissa. Siemenalkiot uudistuvat versosta ja juuren kärjestä, haavakudoksesta, lehdistä, siemenalkiosta, heteen ponsista ja jopa yksittäisestä solusta. Verson kärki on yleisin viljelty puuvartisten kasvien osa. (MacDonald 1996, 595.)

Jo vuonna 1838 Matthias Jacob Schleiden ja Theodor Schwann esittivät kasvien soluteorian, jonka mukaan jokainen kasvisolu sisältää kaiken tiedon kasvista. Teorian mukaan kasvisolut ovat toisistaan riippumattomia ja jokainen erilainen solu pystyy kasvamaan kokonaiseksi kasviksi. Tätä kasvisolun ominaisuutta kutsutaan totipotenssiksi ja siihen perustuu kasvien solukkoviljely. (Haapala & Niskanen 1992, 13.)

Haapalan & Niskasen (1992, 13) mukaan kasvi regeneroituu eli muodostuu uudelleen solukkoviljelyssä kahdella eri tavalla. Regeneroituminen organogeneesin kautta tarkoittaa sitä, että kasvinosat alkavat muodostua väli-vaiheita joko suoraan aloituspalasta tai siitä kasvaneesta kallussolukosta. Embryogeneesin kautta tapatuvasa regeneroitumisessa muodostuu ensin alkio, josta kehittyy kasvi. Kun alkio kehittyy vegetatiivisesta solukosta, sitä kutsutaan somaattiseksi alkioksi ja tapahtumaa somaattiseksi embryogeneesiksi.

### 2.2 Solukkoviljelyn kehitys

MacDonald (1996, 595) kirjoittaa, että ensimmäinen koe kasvimateriaalin mikrolisäyksestä steriileissä olosuhteissa tehtiin 1900-luvun alussa. Monet silloisista kokeista epäonnistuivat, johtuen laboratorioden huonosta puhtaudesta. Merkittävä edistys tapahtui vuonna 1939, kun tutkijat Amerikassa ja Ranskassa onnistuneesti saivat kasvin haavakudosta. Tämä tutkijoiden tekemä perustustyö oli kannustin, joka rohkaisi muita alan tutkijoita hyödyntämään mikrolisäystä.



Kudosviljelyn hyödyt havaittiin puutarhamaailmassa. Sen menetelmät auttoivat valmistamaan terveitä kasveja kautta maailman. Tämä oli nopeaa seurausta moninkertaistaa muun muassa orkidean kloonauksella. Kaupallinen kehitys tiedostettiin kasvihuoneviljelyssä, kuten neilikoissa, krysanteemeissa ja saniaisissa. Näitä seurasivat kylmänkestävät heinäkasviperennat. (MacDonald 1996, 595.)

### 2.3 Mikrolisäyksen hyödyt ja haitat

Mikrolisäyksen etuna perinteisiin kasvintuotannon lisäysmenetelmiin verrattuna on sen nopeus. Pienet kasvinosat tuottavat kasveja suuren määrän pienessä tilassa. Mikrolisätyt taimet voidaan varastoida *in vitro*ssa. Tällöin ne vaativat vähemmän tilaa ja työvoimaa varastokasvien ylläpitämiseen. Mikrolisätyt taimet ovat yleensä bakteerittomia ja sienitautittomia. Joissakin tapauksissa kasviainekset voi olla myös virukseton. Ravinnetasoa, valoa, lämpötilaa ja muita tekijöitä voidaan helposti hallita, eikä mikrolisäys ole riippuvainen vuodenaajoista lisäksi taimet voidaan tuottaa sovittuna ajankohtana. Kasvu-alustalla olevia kasveja ei myöskään tarvitse kastella tai hoitaa muutenkaan ennen seuraavalle alustalle siirtämistä. Tämä vähentää työvoiman käyttöä. (Ammirato, Evans, Sharp & Bajaj 1990, 26; Haapala & Niskanen 1992, 27-28.)

Mikrolisäyksen haittana tavalliseen lisäysmenetelmään verrattuna on sen vaativat erikoisvälineet, työskentelytilat sekä kehittyneet työskentelytaidot. Lisäysmenetelmänä se on kallis ihmistyön takia. Jokaiselle lajille tulee kehittää omat olosuhteet, jotta saadaan optimaalisia taimia. Alussa taimet ovat hyvin pieniä sekä mahdollisuus somaklooniseen muunteluun on suuri. (Ammirato, Evans, Sharp & Bajaj 1990, 27.)

Mikrolisäyksen tavoitteena on tuottaa keskenään samanlaisia kasveja. Eroavuuksia on kuitenkin joskus. Näitä eroja kutsutaan somaklonaaliseksi muunteleksi. Syynä muunteluun voivat olla monet tekijät, kuten kasvin genotyyppi, ikä, aloituspalan tyyppi, kasvatusalustan koostumus tai viljelyolot. Erittäin suuri vaikutus somaklonaaliseen muunteluun on kemiallisella tekijällä, kuten ulkoisesti lisättävillä kasvihormoneilla sekä muilla kasvatusalustan kemiallisilla yhdisteillä. Nämä aineet ovat alustoissa suurempina konsentraatioina kuin luonnossa kasvin kasvupaikalla. Pelkästään haitallinen tekijä somaklonaalinen muuntelu ei ole, sen avulla saadaan tuotetuksi hyödyllisiäkin poikkeavia yksilöitä. Esimerkiksi pysyvä kukan värin muutos voi tuottaa uuden lajikkeen markkinoille. (Haapala & Niskanen 1992, 29.)

### 2.4 Mikrolisäyslaboratorio, tilat ja välineet

Mikrolisäyslaboratorion perusvälineistöä ovat aseptiseen työskentelyyn, kasvatusalustojen valmistamiseen sekä kasvatushuoneeseen tarvittavat laitteet, kojeet ja välineet. Mikrolisäykseen käytetyn tilan koosta riippumatta siihen tulisi kuulua erilliset tilat valmistelulle, siirrostamiselle ja kasvatukselle. Li-

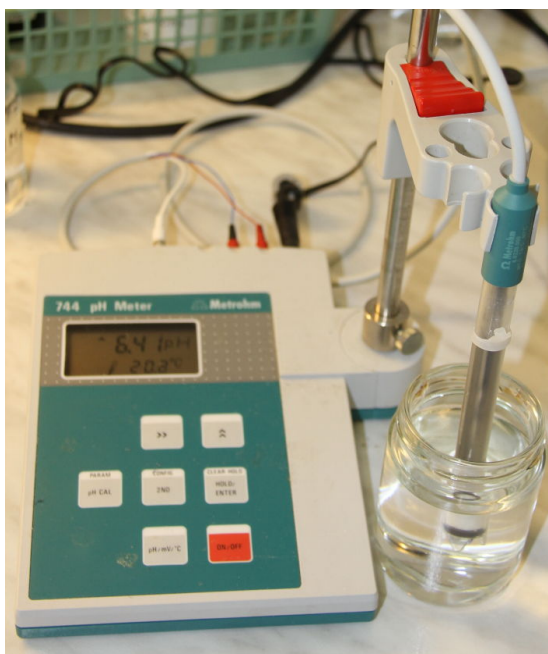
säksi saatetaan tarvita toimisto- ja kylmävarastotiloja. Tilojen tulisi olla erillään vakituisesta taimistosta tai kasvihuoneen tuotantotilasta. Lisäksi sisäänkäynnin tulisi sijoittua siten, että viljely huone ei saastu. Tilojen kaikki pinnat tulee pitää puhtaana. Kuvissa 1-5 on eritelty mikrolisäyslaboratorion keskeistä laitteistoa. (Hartmann, Kester, Davies & Geneve 2011, 702; Haapala & Niskanen 1992, 30.)



Kuva 1. Laminaarivirtauskaappi on steriili työskentelytila. Kaappeja on kahta perustyyppiä: toisessa suodatetaan ilmavirtaa vaakasuorassa työntekijää kohti tai toisessa ilmavirtaa suodatetaan ylhäältä alas. Yleisemmin mikrolisäyksessä käytetään kaappia, jossa suodatettu ilmavirta kulkee peräseinästä kohti työskentelijää. Näin estetään partikkelien siirtymisen ilmavirtaa vastaan. (Haapala & Niskanen 1992, 30.)



Kuva 2. Autoklaavi eli painekeitin, jossa sterilointi tehdään kuuman höyryn ja paineen avulla. Autoklaavissa voidaan steriloida kuumentamisen kestäviä kemikaaleja, kasvatusalustoja, viljelyastioita ja instrumentteja. Sterilointilämpötila vaihtelee 110-130°C välillä. Sterilointiaika on riippuvainen esim. steriloitavasta määrästä. (Haapala & Niskanen 1992, 30.)



Kuva 3. pH-mittari. Sen avulla varmistetaan kasvatusalustan oikea happamuus. Tavallisesti mikrolisäyksessä se on 5,5-5,7. Mittarin tulee olla kalibroitu puskuriliuoksilla pH 4 ja 7. Magneettisekoittimen käyttö nopeuttaa pH:n säätämistä. (Haapala & Niskanen 1992, 30.)



Kuva 4. Tarkkuusvaaka kemikaalien punnitsemiseen. Tarkkuudeltaan vaa'an tulee olla 0,1 grammaa. Sokeria, agaria ja aktiivihiehtä käytetään suuria määriä alustoissa ja nämä pitää punnita. (Haapala & Niskanen 1992, 30.)



Kuva 5. Lämpölevy tai mikroaaltouuni. Kasvatusalustaan tarvittaessa lisätään agar, jolloin alustaa joudutaan kuumentamaan. (Haapala & Niskanen 1992, 30).

Kasvatusalustoissa on suurin osa vettä. Veden valmistamiseen kaupallisissa laboratorioissa käytetään ioninvaihdinta, tämä ionisoitu vesi ei sisällä epäorgaanisia epäpuhtauksia. Alustassa voidaan käyttää vettä, joka on tislattu kerran tai kahdesti ja josta on epäorgaanisten epäpuhtauksien lisäksi poistettu myös orgaaniset aineet. (Haapala & Niskanen 1992, 30.)

## 2.5 Mikrolisäyksen vaiheet

Ensimmäinen vaihe mikrolisäyksessä on viljelmän perustaminen. Tässä vaiheessa valitaan mahdollisimman hyväkuntoinen kasvi, jonka parhaita ominaisuuksia halutaan lisätä. Viljelyn onnistumiseen vaikuttaa kasvin ikä. Parhaiten monistuvat nuoret kasvit ja vanhojen kasvien nuorimmat oksat. Vanhan kasvin varttaminen auttaa joskus viljelmän alkuunlähtöön. Tällöin mikrolisäys aloitetaan vartteesta. (Haapala & Niskanen 1992, 51, 59.)

Ennen mikrolisäyksen aloittamista kasvimateriaali pintasteriloidaan. Steriloinnin tarkoituksena on tuhota kasvin pinnalta mikro-organismit. Pinnan sterilointia voidaan parantaa esipesulla vedellä. Sterilointiaineena käytetään alkoholia, hypokloriittiä ja elohopeakloridiä. Sterilointiaineen tulee olla helposti huuhdeltavissa kasvin pinnalta. Liuosvahvuudet ja vaikutusajat vaihtelevat eri kasveilla. Mikäli pintasterilointi on liian voimakas, se voi aiheuttaa viljelmän kuoleman. Tällaisissa tapauksissa kannattaa kokeilla laimeampaa sterilointiliuosta tai lyhyempää sterilointi aikaa. Mikäli kontaminaatiosta on paljon haittaa, viljelmiä voidaan aloittaa talvella. Kasvissa voi kuitenkin olla myös sisäisiä infektioita, jotka mikrolisäyksessä aiheuttavat kontaminaatio-ongelmia. Tällöin voidaan kokeilla viruspuhdistusmenetelmää, kuten lämpö- tai kylmäkäsittelyä. Näissä olosuhteissa viruksen kasvu hidastuu tai voi kokonaan lakata. Tarkoituksena on, että kasvi kuitenkin pysyy hengissä ja kasvattaa uutta solukkoa viruspuhdistusmenetelmän jälkeen. Tällöin käsittelyn aikana kasvatetut kasviosat säilyvät puhtaina taudinaiheuttajista ja niistä voidaan aloittaa mikroviljelmiä. (Haapala & Niskanen 1992, 35-36, 52, 59; Hartmann, Kester, Davies & Geneve 2011, 651.)

Toinen vaihe on kasvuverson monistaminen, jonka tarkoituksena on saada viljelmiä kasvattamaan uusia versoja eikä juuria. Kasvua ohjataan haluttuun suuntaan ravintoalustan kasvuhormonien välisellä suhteella. Tästä johtuen sytokiniinipitoisuus on aukiiniin verrattuna korkeampi ravintoalustalla. Ravintoalustan koostumisen suhteen kasveilla on laji- ja lajikekohtaisia vaatimuksia. Usein sopiva alustan ravinneyhdistelmä löytyy kokeilemalla. Kun monistuneet versot ovat saavuttaneet tarvittavan pituuden, ne kerätään joko uudelle alustalle tai siirretään juurrutukseen, mikrolisäyksen kolmanteen vaiheeseen. Mikäli versot siirretään uudelle alustalle, kasvatetaan niitä vielä kahdesta kahdeksaan viikkoa verson kehityksestä riippuen. Viljelmiä monistetaan tällä tavoin niin kauan kuin haluttu kasvimäärä on saavutettu. (Hartmann, Kester, Davies & Geneve 2011, 654-655.)

Kolmas vaihe on juurien muodostuminen, joka joissakin tapauksissa valmistaa kasvit aseptisen tilan ulkopuolelle uudelleenistutukseen, suojattuun ympäristöön koeputken ulkopuolelle kasvihuoneeseen. Juurien muodostuminen voi tapahtua joko *in vitro* tai *ex vitro*. *In vitro* -ssa juurien muodostuminen tapahtuu laboratoriossa ravintoalustalla. Alustan koostumuksella säädellään versot kasvattamaan juuria. Tämän johdosta alustassa auksiinipitoisuus on sytokiini-pitoisuuteen verrattuna korkeampi. Makroravinteiden ja sokerin, joskus myös mikroravinteiden pitoisuudet ovat yleensä puolitettu. Viljelmä voi muodostaa juurensa joko valossa tai pimeässä. *Ex vitro* -ssa juuret jatkavat muodostumistaan turvealustassa, olosuhteissa, jossa on korkea ilmankosteus. Monilla kasveilla juurtumista parantaa auksiinikäsittely, jossa pistokas vain nopeasti kastetaan auksiinijauheeseen. (Hartmann, Kester, Davies & Geneve 2011, 657-658.)

Mikrolisäyksen viimeinen, neljäs vaihe on kriittisin. Tässä juurrutusalustalla juurrutetut mikrotaimet siirretään normaalille kasvualustalle. Kasvatusalustoissa ja korkeassa ilmankosteudessa kehittyneet taimet ovat vielä ilman vahapeitettä sekä haihtumiselta suojaavaa karvoitusta. Tällaiset mikrotaimet ovat alttiita kuivumiselle siirtovaiheessa. (Haapala & Niskanen 1992, 54.)

Mikrotaimien juurien sopeuttamiselle on useita menetelmiä. Näitä menetelmiä ei voi kuitenkaan toteuttaa ennen kuin taimet ovat juurtuneet turpeeseen. Yleisin sopeuttamisen menetelmä on vähentää juurien ympärillä olevaa kosteutta vähitellen. Kosteutta voidaan ylläpitää ajoittaisella kastelulla tai suojata kasvit muoviteltalla. Taimet voidaan karaista vielä niiden ollessa *in vitro* -olosuhteissa ja ennen uudelleenistutusta. Karaistuminen sisältää useita menetelmiä kosteuden vähentämiseksi viljelyputkilossa. Yksinkertaisuudessaan se voi olla korkin poistaminen viljelyputkilosta viidestä seitsemään päivän ajaksi ennen uudelleenistutusta tai voidaan käyttää kuivatusaineita kosteuden vähentämiseksi. (Hartmann, Kester, Davies & Geneve 2011, 658.)

## 2.6 Aseptinen työskentely ja sterilointi

Haapala & Niskasen (1992, 33-34) mukaan mikrolisäystyöskentelyssä tärkeää ovat tarkat työhjeet ja niiden noudattaminen. Kasvuolot ovat erinomaiset myös mikro-organismeille, kuten sienille ja bakteereille. Näiden leviämistä alustalla kutsutaan kontaminaatioksi.

Ennen mikrolisäyksen aloittamista on varmistettava laminaarivirtauskaapin puhtaus. Ennen sterilointia laminaarivirtauskaappi käynnistetään ja annetaan ilmavirran puhaltaa noin 30 minuutin ajan. Laminaarivirtauskaapin kaikki sisäpinnat pyyhitään 70 % alkoholilla, johon voi lisätä myös muutaman tipan antiseptistä puhdistusainetta. Myös laminaarivirtauskaapin ulkopuolisesta huonetilasta tulee huolehtia tarkasti. Huonetilojen pinnan pesuun soveltuu antiseptinen pesuaine. Mikäli huone on ilmastoitu, tulee ilmantuloaukkoon asentaa suodatin. (Haapala & Niskanen 1992, 33-34.)

Käytettävät metalliset työvälineet pestään käsin tai pesukoneella. Pestyt ja kuivatut työvälineet kääritään alumiinifolioon ja steriloidaan lämpökaapissa 160°C neljän tunnin ajan. Steriloidut metalliset työkalut joita käytetään laminaarivirtauskaapissa kastetaan 70 %:een alkoholiin ja liekitetään kunnolla. Kun välineet ovat jäähtyneet esimerkiksi steriilissä petrimaljassa, voidaan niillä koskea kasvimateriaalia. Mikäli preparoinnissa käytetään muovista leikkausalustaa, tulee se puhdistaa vedellä pesemällä ja steriloida 70 %:n alkoholilla. Lasiset työvälineet ja astiat, steriloidaan autoklaavissa. (Haapala & Niskanen 1992, 33-34.)

Kasvatusalustat steriloidaan autoklaavilla, joko yhtenä suurena eränä tai annosteltuina kasvatusastioihin. Lämpötila autoklaavissa on 120°C. Sterilointiaika vaihtelee 15 minuutista puoleen tuntiin. Mikäli sterilointi on tehty yhtenä suurena eränä, kasvatusalusta annostellaan laminaarivirtauskaapissa steriileihin kasvatusastioihin kuumana. Haittana on, että liian pitkä autoklavointiaika aikaansaa kemiallisia reaktioita alustassa, kuten sokerin hajoamista, hormonien tehon heikkenemistä, jolloin seurauksena on pH:n muutos. Toisaalta liian lyhyt autoklavointi ei riittävän tehokkaasti tuhoa mikro-organismeja. Tietyt kemikaalit, kuten C-vitamiini eivät kestä kuumentamista. Tällöin sterilointi suoritetaan steriilisuodatuksella. (Haapala & Niskanen 1992, 35.)

Työskennellessä on huomioitava, että viljelmä voi saada kontaminaation myös ihmisen kautta, koska ihmisen iholla elää runsaasti mikro-organismeja. Laminaarivirtauskaapissa työskenneltäessä hengityssuojaimen käyttö ei ole välttämätöntä. Käsistä tulee poistaa kello ja sormukset. Kädet tulee puhdistaa joko 70 %:lla alkoholilla tai antiseptisellä puhdistusaineella. Kädet puhdistetaan aina kun on koskettu steriloiduttomaan esineeseen tai astiaan, tai kun käsiteltävä materiaali muuttuu. Työasun tulee olla palamattomasta materiaalista valmistettu. (Haapala & Niskanen 1992, 36.)

Kasvatuhuonetta ei ole tarpeellista steriloida, mutta hyllyt tulee pestä muutamana kerran vuodessa antiseptisellä pesuaineella. Kasvatuhuoneen hyllypintojen tulee olla helposti puhdistettavissa. Kasvatuhuoneessa voidaan pitää lievää ylipainetta, jotta ovesta ei virtaa ilmaa sisään. (Haapala & Niskanen 1992, 36.)

## 2.7 Ravintoalusta

Haapala & Niskanen (1992, 12, 43) toteavat, että Toshio Murashigen ja Folke Skoogin kehittivät vuonna 1962 tupakan solukkoviljelyyn MS-alustan, joka lienee yleisin kasvatusalusta. Uusia kasveja lisättäessä kannattaa kasvatusta kokeilla MS-alustalla, koska monet kasvit menestyvät siinä hyvin. Tosin joillekin puuvartisille kasveille MS-alustan suolakonsentraatio on osoittautunut liian korkeaksi. Nämä saattavat menestyä paremmin WPM-alustalla (Woody Plant Medium). Gregory Lloyd ja Brent McCown julkaisivat WPM-alustan vuonna 1980. Se kehitettiin leveälehtikalmian (*Kalmia latifolia*) nimisen puun kaupalliseen lisäykseen.

Ravintoalustasta suurin osa on vettä. Veden tehtävänä on toimia alustalla liuottimena josta kasvit ottavat veteen liuenneita ravinteita. veden laadulla on merkitys solukon kasvulle. Vesijohtovesi sisältää epäpuhtauksia eikä sovellu kasvatusalustoihin. Kun vedestä poistetaan ionivaihdolla epäpuhtaudet, tulee vedestä tarpeeksi puhdas kasvien tuotantoon. (Haapala & Niskanen 1992, 40.)

Levästä valmistettua agarია käytetään ravintoalustan kiinteyttämiseen. Kun agar liuotetaan veteen se hyydyttää nesteen. Hyytymiseen vaikuttaa myös liuoksen pH. Ravintoalustan sopiva pH on 5:n ja 6:n välillä. Agarin laatuun on syytä kiinnittää huomiota, koska luonnontuotteena se sisältää useita epäorgaanisia ja orgaanisia aineita, jotka voivat vaikuttaa solukon kasvuun. Vaihtoehtona agarille on sekä luonnollisia- että synteettisiä materiaaleja, kuten selluloosa, gelriitti, lasihelmi ja vaahtomuovi. (Haapala & Niskanen 1992, 40.)

### 2.7.1 Kasvunsäätet

Haapalan & Niskas (1992, 42) mukaan kasvihormonit ovat luonnon omia kasvunsäätteitä. Kasvihormonit ovat kasvin itsensä tuottamia yhdisteitä, jotka edistävät ja kehittävät kasvin kasvua pieninä määrinä. Suurina määrinä ne ovat kasveille myrkyllisiä. Näitä aineita lisätään solukkoiljelyssä tarvittaessa kasvatusalustaan säätämään solukkojen erilaistumista. Synteettisiä hormoneja käytetään luonnon kasvihormonien lisäksi.

Käytettäessä kasvuhormoneja on huomioitava, että osa niistä hajoaa tai menettää aktiivisuuttaan autoklaavissa. Hormonit tulisi lisätä vasta autoklaavin jälkeen kasvatusalustaan steriilisuodattimella, jolloin bakteerit ja itiöt puhdistuvat. (Haapala & Niskanen 1992, 42.)

Auksiini edistää verson ja juuren kasvua laajentamalla soluja. Varsinkin juurrutusaloistoissa auksiineja käytetään juurten muodostumisen edistämiseen. Yleisin käytetty luonnonauksiini on indolietikkahappo (IAA). Yleisimpiä keinotekoisia auksiineja ovat  $\alpha$ -naftaleenietikkahappo (NAA) ja indolivoihappo (IBA). Luonnonauksiini ja synteettisen auksiinin ero on rakenteessa ja tehossa. Luonnonauksiineja tarvitaan kasvatusalustoihin suurempi määrä kuin synteettisiä auksiineja. (Haapala & Niskanen 1992, 42.)

Gibberelliinit aktivoivat solunjakautumista. Niillä on merkitystä myös kukinnan alkamiseen ja talvioroksen päättymiseen. Mikrolisäyksessä käytetään versojen pituuskasvua edistämään GA<sub>3</sub> –gibberelliinihappoa yhdessä muiden kasvunsäätteiden kanssa. (Haapala & Niskanen 1992, 42.)

Sytokiniinit edistävät solunjakautumista, sytokineesiä. Käytetyimmät luonnon sytokiniinit mikrolisäyksessä ovat isopentenyladeniini ja zeatiini. Synteettisiä sytokiniineja ovat kinetiini ja bentsyladeniini. Sytokiniinin konsentraation ollessa kasvatusalustassa 1 -10 mg/l, ne estävät juurten muodostumisen, mutta edistävät versojen kasvua. (Haapala & Niskanen 1992, 42.)



### 2.7.2 Pää- ja hivenravinteet sekä sokerit

Makro- eli pääravinteet ovat kalium, kalsium, magnesium, rikki, fosfori ja typpi. Näitä ravinteita kasvit tarvitsevat runsaasti. Niitä lisätään kasvualustaan epäorgaanisina suoloina. (Haapala & Niskanen 1992, 40.)

Mikro- eli hivenravinteita ovat mangaani, sinkki, kupari, boori, kloori, jodi, molybdeeni, koboltti sekä joissakin tapauksissa alumiini ja nikkeli. Näitä hivenaineita tarvitaan pieniä määriä. (Haapala & Niskanen 1992, 41.)

Kasvit eivät pysty yhteyttämään normaalisti mikrolisäysolosuhteissa, mikäli hiili, josta ne saavat energiaa, puuttuu. Energianlähteeksi alustoihin lisätään myös sokeria, joka yleisesti on sakkaroosia eli ruokosokeria. Kun alustat käsitellään autoklaavissa, ruokosokeri hajoaa glukoosiksi eli rypälesokeriksi ja fruktoosiksi eli hedelmäsokeriksi. Sokeri toimii alustassa energian lähteen lisäksi myös osmoottisen potentiaalia säätelevänä aineena. (Haapala & Niskanen 1992, 41.)

## 2.8 Taudit ja tuholaiset

Taudinaiheuttajien ja tuholaisen hallinta alkaa jo ennen lisäämistä kunnollisten emotaimien käytöllä. Jos taudinaiheuttajia ja tuholaisia ei tarkkailla lisäyksen aikana, tuotetaan huonompi laatuksia kasveja sekä myöhemmät tuotantovaiheet myöhästyvät. Lisäämisen tavoitteena on pitää emotaimi ja lisäysvälineet puhtaina sekä mahdollisimman puhtaina tuholaisilta. Ihanteellinen tuholaisen hallinta riippuu perusteellisesta tuholaisen elämänsyklinän tuntemuksesta, ympäristöolosuhteiden tuntemuksesta sekä viljelmämenetelmästä. (Hartmann, Kester, Davies & Geneve 2011, 90-91.)

Mikrolisäyslaboratoriossa kontaminoituminen voi olosuhteista riippuen olla lähes mitä vain. Kontaminaatiot ovat peräisin joko ulkoisesta lähteestä, kasvien pinnoilta tai kasvien sisäosista. (Uosukainen 1997, 11.)

Uosukainen (1997, 11) mainitsee, että mikrolisäyksessä kontaminaation yleensä aiheuttavat bakteeri, sienet ja hiivat. Näiden aiheuttamat kasvien kontaminaatiot on luokiteltu kolmeen eri tyyppiin: 1) äkillinen ja vakava kontaminoituminen, 2) kontaminaatio, joka ilmestyy aloitusvaiheen jälkeen ja 3) kontaminaatio, joka on luonteeltaan pitkäkainen.

Mikrosolukkoviljelmän tuhoisin saastuttaja on punkki. Punkit ovat pieniä alle 1 mm:n pituisia ja ne kulkeutuvat laboratorioon pölyhiukkasten, hyönteisten ja muiden eläinten mukana. Myös ihminen voi tuoda punkin laboratoriotiloihin. Punkkien aiheuttama haitta kasvisolulle on sinänsä vähäinen, mutta punkit tuovat mukanaan bakteereita ja sienten itiöitä. Punkkien lisääntymiskierto on nopea, jonka johdosta niiden määrä saattaa olla jo huomattava, kun saastunta vasta havaitaan. (Uosukainen 1997, 11.)

### 3 MIKROLISÄYSLABORATORION RISKIT

Mikrolisäyslaboratoriossa työskentelevien opiskelijoiden ja henkilökunnan turvallisuuden tulee olla etusijalla. Mahdolliset turvallisuuden riskitekijät tulee tunnistaa, kartoittaa ja mahdollisuuksien mukaan ennaltaehkäistä. Turvallisuuden riskit liittyvät pääasiassa kemikaalien käyttöön ja käsittelyyn, sekä alkoholin ja tulen käsittelyyn yhdessä.

Mahdollisia riskejä on kartoitettu ja sen perusteella on laadittu ohjeistus perehdytykseen. Mahdollisia tapaturmia pyritään minimoimaan perehdyttämällä kaikki opiskelijat työtiloihin sekä kertomalle heille toimintaohjeista vahingon tai tapaturman sattuessa.

Turvallisuuteen liittyy myös kriisiviestintä, johon henkilökunnan pitää olla varautunut. Hämeen ammatillisen korkeakoulun kuntayhtymälle on laadittu Kriisi- ja turvallisuustyön toimintaohje. Tätä ohjetta noudatetaan myös Leppaan mikrolisäyslaboratoriossa noudatetaan. (Hämeen ammatillisen korkeakoulun kuntayhtymän Kriisi- ja turvallisuustyön toimintaohje.)

Laboratorion hygienia ja puhtaus on tärkeä tekijä viljelmille. Tautien ja tuholaisien torjunta on osa toimintaa. Tuholaiset ja taudit voivat tulla laboratoriotiloihin joko kasvin sisä- ja ulkopinnasta tai ihmisen mukana. Tästä johtuen laboratorioon tulevan on suojauduttava suojatakilla ja kenkäsuojalla sekä huolehdittava hyvästä käsihygieniasta. Kasvien tuomia tuholaisia voidaan ehkäistä kasvin pintasteriloinnilla.

Mikrolisäyslaboratoriosta tuleva jätteiden määrä ei ole suuri. Metalli- ja biojätte ovat suurimmat mikrolisäyslaboratoriosta tulevat jätelajikkeet. Jätteet kuitenkin tulee kierrättää jolla vähennetään sekajätteen määrää. Jätteissä tulee huomioida kasvuhormonit, jotka ovat ongelmajätteitä. Näiden ongelmajätteiden käsittelyyn tulee kiinnittää erityistä huomiota.

Tietojen dokumentointi on tärkeä osa päivittäistä työtä ja siinä on ollut jonkin verran puutteita. Tällä hetkellä laboratoriossa on olemassa kirjanpito viljelmistä. Tämän hetkinen kirjanpito koskee viljelmiä, jotka ovat ylläpidossa tai odottavat toimitusta asiakkaalle. Näitä tietoja on kirjattava ja ylläpidettävä, jotta laboratorion henkilökunta pysyy ajan tasalla aikataulujen, opetuksen ja asiakkaiden suhteen. Tiedot tulee kirjata paikkaan, johon laboratorion henkilöstön jäsenillä on yhteinen pääsy. Tietojen tallettaminen yhteen paikkaan helpottaa työskentelyä.

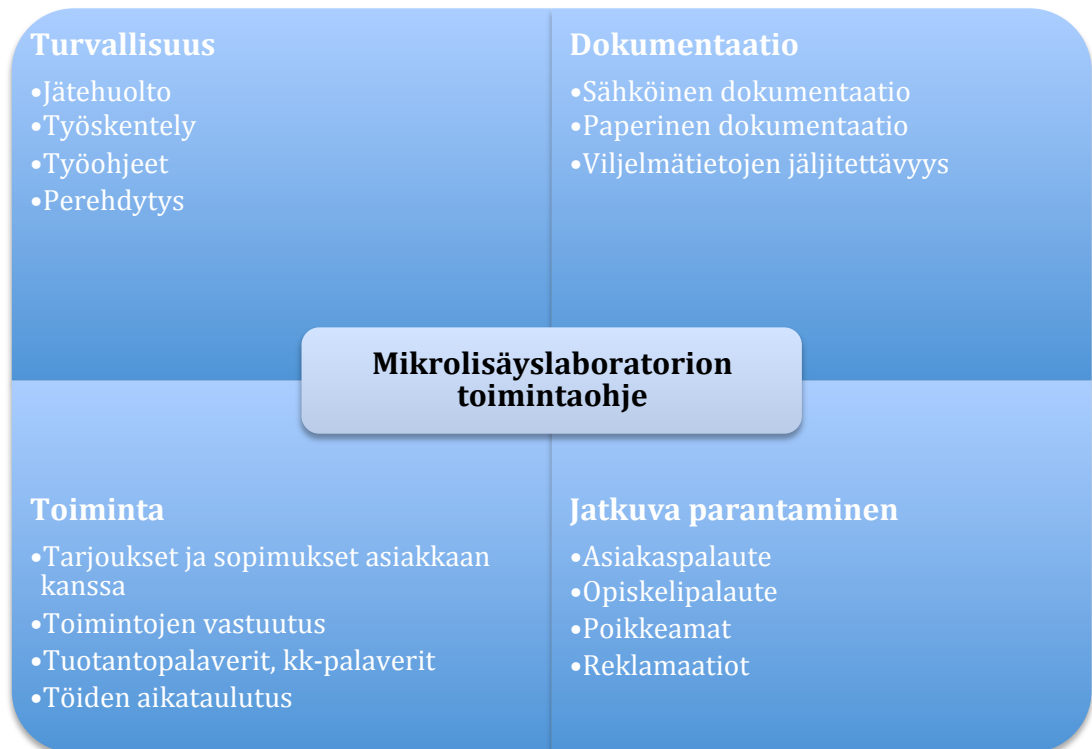
Henkilökunnalla on myös paljon tietoa mikrolisäykseen liittyen, josta työnantaja on maksanut. Maksettu tieto koostuu henkilökunnan koulutuksista, tapahtumiin osallistumisista, tietojen vaihdosta muiden alan toimijoiden kanssa sekä toiminnasta tullut kokemus. Tätä maksettua tietoa ei kuitenkaan ole kirjattu mihinkään talteen. Riskinä on, että henkilökunnan jäsenelle tapahtuu jotain, jolloin silloin tämä arvokas tieto kadotetaan.

## 4 MIKROLISÄYSLABORATORION TOIMINTAOHJE

Toimintaohjeen tarkoituksena on luoda mikrolisäyslaboratorion toiminnalle yhteiset pelisäännöt ja toimintatavat (Kuvio 1). Sen avulla opiskelijoiden ja työntekijöiden on helpompi ja turvallisempi työskennellä. Toimintaohjeen ylläpitäminen on jatkuvaa kehittämistä ja toimintojen parantamista. Toimintojen parantamiseen opiskelijoilla ja ulkopuolisella asiakkaalla on mahdollisuus vaikuttaa.

Mikrolisäyslaboratorion suurin käyttäjäryhmä ovat opiskelijat. He käyttävät laboratoriota opintoihin liittyvien kurssien suorittamiseen, opinnäytetöihin sekä osallistuvat kehitys- ja tutkimustehtäviin. Opiskelijoille on tehty työohjeita, jossa on jokainen työvaihe on kuvattu. Ohjeistuksen avulla opiskelijat oppivat ymmärtämään, että työskenneltäessä steriilissä ympäristössä ja vaarallisten kemikaalien kanssa, on toiminnan oltava yhtenäistä vahinkojen välttämiseksi.

Toimintaohjeessa on tarkennettu toimintaa ulkopuolinen tilaaja kanssa. Toimintaohjeessa on pyritty ammattimaiseen toimintaan, sekä selkeyttämään kanssakäymistä.



Kuvio 1 Mikrolisäyslaboratorion toiminnan osa-alueet.

## 5 JOHTOPÄÄTÖKSET

Toimintaohje ei ole koskaan kokonaan valmis, eikä sitä voida laatia palvelemaan viiden vuoden päästä tapahtuvaan toimintaan. Tästä johtuen toimintaohjetta tulee päivittää tarvittaessa sitä mukaan, kun toiminta muuttuu ja kehittyy. Päivittämiseen riittää, että kerran vuodessa se käydään läpi ja muuttuneet toiminnot kirjataan uudestaan. Toimintaohjeen päivittämisestä vastaa tuotantopäällikkö. Toimintaohjeen hyväksyy koulutusvastaava. Tuotantopäällikön tulee olla tietoinen mikrolisäyslaboratorion päivittäisestä toiminnasta ja sen vaikutuksista toimintaohjeistukseen.

Päivittäiseen toimintaan liittyy tiiviisti toiminnan jatkuva parantaminen. Toiminnasta saadaan palautetta niin asiakas- kuin opiskelijapalautteiden perusteella. Myös poikkeama ja reklamaatio ovat oman toiminnan kontrollointia ja näin ollen se toimii myös osana toiminnan jatkuvaan parantamiseen. Toiminnasta saatuja palautteita tulee käydä läpi säännöllisesti, esimerkiksi kaksi kertaa vuodessa. Mikäli samasta toiminnan osasta saadaan useita negatiivisia palautteita, on laboratorion henkilökunnan ja heidän esimiehen ryhdyttävä korjaaviin toimenpiteisiin.

Toimintaohjeen käyttöön ottaminen vaatii sitoutumista laboratorion henkilökunnalta sekä heidän esimieheltä. Esimiehen osallistumisella toiminnan kehittämiseen on suuri merkitys henkilökunnan työskentelymotivaatioon.

Jotta toimintaohjeesta ja sen liitteenä olevista työohjeista olisi hyötyä laajemminkin, ne tulee kääntää englannin kielelle. Koska mikrolisäyslaboratoriossa työskentelee vuosittain myös kansainvälisiä opiskelijoita.

Ulkoinen tilaa on mikrolisäyslaboratoriolle tärkeä linkki opiskelun ja työelämän yhteen sovittamiseen. Kehitystoissa opiskelijat pääsevät tekemään konkreettisia töitä, joilla on oikea merkitys. Mahdollisuuksien mukaan ulkopuoliselle tilaajallekin tulisi kertoa, että viljelmään ovat osallistuneet opiskelijat.

Lepaan yksikön mikrolisäyslaboratorion vastuulle jää toimintaohjeen jalkauttaminen opiskelijoille ja henkilökunnalle. Lepaan yksikkö myös vastaa mahdollisten toimintaohjeiden mukaisten toimintojen ylläpitämiseen liittyvistä investointeista tai muutoksista nykyiseen toimintaan.

## LÄHTEET

Ammirato, P. V., Evans, D. A., Sharp, W. R. & Bajaj, Y. P. S. (toim.) 1990. Handbook of plant cell culture, Volume 5, Ornamental species. New York.

Fagerstedt, K., Lindén, L., Santanen, A. & Väinölä, A. 2008, Kasvioppi siemenestä satoon. Helsinki, Edita

Haapala, T. & Niskanen, A-M. 1992. Pohjoisten puuvartisten kasvien mikrolisäys. Helsinki: Opetushallitus

Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T. Jr. & Geneve R. L. 2011. Hartmann and Kester's Plant propagation: Principles and Practices. 8th ed. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall.

Hämeen ammattikorkeakoulu n.d Tietoa HAMKista. Viitattu 2.2.2013.  
<http://portal.hamk.fi/portal/page/portal/HAMK/Organisaatiojatoimipaikat>

Hämeen ammattikorkeakoulu Hämeen ammattikorkeakoulun laadunvarmistusjärjestelmän kuvaus 17.11.2010. Viitattu 1.2.2013.  
[http://portal.hamk.fi/portal/page/portal/LVJ-dokume-tit/HAMK/johtamisen\\_toimintaohjeet/Laadunvarmistusjarjestelman\\_kuvaus\\_171110.pdf](http://portal.hamk.fi/portal/page/portal/LVJ-dokume-tit/HAMK/johtamisen_toimintaohjeet/Laadunvarmistusjarjestelman_kuvaus_171110.pdf)

Hämeen ammattikorkeakoulu, Hämeen ammatillisen korkeakoulutuksen kuntayhtymä. Viitattu 23.2.2013.  
<http://portal.hamk.fi/portal/page/portal/HAMK/Organisaatiojatoimipaikat/ku-mppaneille/organisaatio/Kuntayhtyma>

Hämeen ammattikorkeakoulu, Hämeen ammatillisen korkeakoulutuksen kuntayhtymän kriisi- ja turvallisuustyön toimintaohje, voimassa 8.9 2011 lähtien. Viitattu 10.2.2013.  
[http://portal.hamk.fi/portal/page/portal/LVJ-dokumentit/HAMK/henkilostohallinnon\\_toimintaohjeet/Kriisi-%20ja%20turvallisuustyon\\_toimintaohje\\_2011.pdf](http://portal.hamk.fi/portal/page/portal/LVJ-dokumentit/HAMK/henkilostohallinnon_toimintaohjeet/Kriisi-%20ja%20turvallisuustyon_toimintaohje_2011.pdf)

Hämeen ammattikorkeakoulu, Toiminta organisoitu koulutus- ja tutkimuskeskuksiksi. Viitattu 23.2.2013.  
[http://portal.hamk.fi/portal/page/portal/HAMK/Organisaatiojatoimipaikat/opis-kelijoille/organisaatio/koulutus\\_ja\\_tutkimuskeskukset](http://portal.hamk.fi/portal/page/portal/HAMK/Organisaatiojatoimipaikat/opis-kelijoille/organisaatio/koulutus_ja_tutkimuskeskukset)

MacDonald, B. 1996 Practical Woody Plant Propagation for Nursery Growers, Portland, Oregon: Timber Press, Inc.

Uosukainen, M. 1997, Kontaminaatiot solukkoviljelylaboratoriossa, Maatalouden tutkimuskeskuksen julkaisuja. Sarja A 18, sivut 9-17.

Nyman, T. & Leppäkoski, S. 2013. Mikrolisäyslaboratorion tuotantopäällikön ja tuotantoassistentin haastattelu. Hämeen ammattikorkeakoulu, Lepaa. Haastattelu 6.2.2013.

