2018 XXIX 2, p-ISSN 1024-0845, e-ISSN 2228-4893

Kaastööde esitamiseks ja lugemiseks külastage: http://agrt.emu.ee
For online submission and open access visit: http://agrt.emu.ee/en

AGRAARTEADUS

JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCE

Agraarteadus
J. Agric. Sci.
Vol. **29** No. 2
Estonian Academic
Agricultural Society
Tartu, Estonia
December 2018

Akadeemilise Põllumajanduse Seltsi väljaanne
Tartu 2018

Toimetuskolleegium / *Editorial Board*

Peatoimetaja / *Editor-in-chief*	
Alo Tänavots	Estonian University of Life Sciences
Toimetajad / *Editors*	
Maarika Alaru	Estonian University of Life Sciences
David Arney	Estonian University of Life Sciences
Tanel Kaart	Estonian University of Life Sciences
Marko Kass	Estonian University of Life Sciences
Evelin Loit	Estonian University of Life Sciences
Marten Madissoo	Estonian University of Life Sciences
Toomas Orro	Estonian University of Life Sciences
Ants-Hannes Viira	Estonian University of Life Sciences
Nõukogu / Advisory *Board*	
Berit Bangoura	University of Wyoming, USA
Ants Bender	Estonian Crop Research Institute, Estonia
Edward Hernando Cabezas-Garcia	Agri-Food and Biosciences Institute, UK
Gunita Deksne	Institute of Food Safety, Animal Health and Environment "BIOR", Latvia
Edenio Detmann	Federal University of Viçosa, Brasil
Margareta Emanuelson	Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden
Martti Esala	Natural Resource Institute Finland, Luke, Finland
Marek Gaworski	Warsaw University of Life Sciences, Poland
Csaba Jansik	Natural Resource Institute Finland, Luke, Finland
Aleksandrs Jemeljanovs	Latvia University of Life Sciences and Technologies, Latvia
Iveta Kociņa	Institute of Food Safety, Animal Health and Environment "BIOR", Latvia
Zita Kriaučiūnienė	Aleksandras Stulginskis University, Lithuania
Olav Kärt	Estonian University of Life Sciences, Estonia
Hussain Omed	Bangor University, UK
Sven Peets	Harper Adams University, UK
Jan Philipsson	Swedish University of Life Sciences, Sweden
Vidmantas Pileckas	Lithuanian University of Health Sciences, Lithuania
Jaan Praks	Estonian University of Life Sciences, Estonia
Baiba Rivza	Latvia University of Life Sciences and Technologies, Latvia
Mart Sõrg	Tartu University, Estonia
Vita Tilvikienė	Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry, Lithuania
Merko Vaga	Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden
Rein Viiralt	Estonian University of Life Sciences, Estonia

***Abstracted / indexed*:** AGRICOLA, AGRIS, CABI, CABI Full Text, DOAJ, EBSCO, SCOPUS

p-ISSN: 1024-0845, **e-ISSN:** 2228-4893

Väljaandmist toetab Eesti Maaülikool / Supported by Estonian University of Life Sciences

Trükk / Print: Eesti Ülikoolide Kirjastus OÜ

Kaanepilt / Cover image by Alo Tänavots

AGRAARTEADUS
JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCE

2018 ◆ XXIX ◆ 2

Väljaandja:	Akadeemiline Põllumajanduse Selts
Peatoimetaja:	Alo Tänavots
Tehniline toimetaja:	Irje Nutt
Aadress:	Kreutzwaldi 1, 51014 Tartu
e-post:	jas@emu.ee
www:	http://aps.emu.ee, http://agrt.emu.ee

Agraarteaduses avaldatud teaduspublikatsioonid on retsenseeritud

SISUKORD

TEADUSARTIKLID

T. Kramarenko, K. Meremäe, J. Sõgel, M. Kuningas, A. Vilem, L. Häkkinen, M. Mäesaar, T. Elias, M. Roasto
Escherichia coli O157:H7 esinemine eesti piimafarmides ja veiseliha tootmise ahelas aastatel 2005–2014 89

R. Kõlli, T. Tõnutare, T. Kõlli
Ülevaade: Kahkjad ehk näivleetunud mullad Eestimaa muldkatted 95

P. Piirsalu, T. Kaart, J. Samarütel, S. Tölp, A. Ilves, H. Jaakson, I. Nutt
Kaera lisasöötmise mõju rohusöödarikaste ratsioonide kasutamisel uttede toitumusele, jõudlusele ning vere glükoosi ja β-hüdroksübutüraadi sisaldusele mahefarmides 106

A.M.A. Al-Shammari, M.A. Abood, G.J. Hamdi
Tecamin flower® foliar application to alleviate water deficit effects on growth, yield and water use efficiency of tomato 115

B. Winarto, Samijan
Axillary shoots derived from shoot tips in *in vitro* mass propagation of *Anoectochilus formosanus* Hayata 121

JUUBELID

L. Tartlan
Hindrel Older – 80 131

H. Meripõld
Uno Tamm – 80 133

E. Vesik
Malle Järvan – 75 134

MÄLESTUSPÄEVAD

J. Kuht
Professor Jaan Lepajõe – 90 135

TEATED

Doktorikraadi kaitsjad Eesti Maaülikoolis 2018. aastal 137

AGRAARTEADUS
JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCE

2018 ◆ XXIX ◆ 2

Published by:	Academic Agricultural Society
Editor in Chief:	Alo Tänavots
Technical Editor:	Irje Nutt
Address:	Kreutzwaldi 1, 51014 Tartu,
e-mail:	jas@emu.ee
www:	http://aps.emu.ee, http://agrt.emu.ee

Scientific publications published in Agraarteadus are peer-reviewed

CONTENTS

RESEARCH ARTICLES

T. Kramarenko, K. Meremäe, J. Sõgel, M. Kuningas, A. Vilem, L. Häkkinen, M. Mäesaar, T. Elias, M. Roasto
Occurence of *Eserichia coli* O157:H7 in Estonian dairy farms and beef production chain in 2005–2014 89

R. Kõlli, T. Tõnutare, T. Kõlli
Review: Pseudopodzolic soils in Estonian soil cover 95

P. Piirsalu, T. Kaart, J. Samarütel, S. Tölp, A. Ilves, H. Jaakson, I. Nutt
Effect of additional oat supplementation in forage-based feeding during gestation and lactation periods on ewe body condition, performance, blood glycose and β-hydroxybutyrate concentration in organic farm 106

A.M.A. Al-Shammari, M.A. Abood, G.J. Hamdi
Tecamin flower® foliar application to alleviate water deficit effects on growth, yield and water use efficiency of tomato 115

B. Winarto, Samijan
Axillary shoots derived from shoot tips in *in vitro* mass propagation of *Anoectochilus formosanus* Hayata 121

ANNOUNCEMENTS

Thesis defenders Estonian University of Life Sciences in 2018 137

Agraarteadus
2 * XXIX * 2018 89–94

Journal of Agricultural Science
2 * XXIX * 2018 89–94

ESCHERICHIA COLI O157:H7 ESINEMINE EESTI PIIMAFARMIDES JA VEISELIHA TOOTMISE AHELAS AASTATEL 2005–2014

OCCURENCE OF *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 IN ESTONIAN DAIRY FARMS AND BEEF PRODUCTION CHAIN IN 2005–2014

Toomas Kramarenko[1,2], Kadrin Meremäe[1], Jelena Sõgel[3], Maiu Kuningas[2], Annika Vilem[2], Liidia Häkkinen[2], Mihkel Mäesaar[2], Terje Elias[1], Mati Roasto[1]

[1]Eesti Maaülikool, Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, Toiduhügieeni ja rahvatervise õppetool, Fr. R. Kreutzwaldi 56/3, 51006 Tartu
[2]Veterinaar- ja toidulaboratoorium, Fr. R. Kreutzwaldi 30, 51006 Tartu
[3]Veterinaar- ja Toiduamet, Väike-Paala 3, 11415 Tallinn

Saabunud: Received: 11.06.2018
Aktsepteeritud: Accepted: 15.10.2018

Avaldatud veebis: Published online: 15.10.2018

Vastutav autor: Corresponding author: Toomas Kramarenko
E-mail: toomas.kramarenko@vetlab.ee

Keywords: *Escherichia coli* O157: H7, cattle, STEC serogroups, virulence markers, drug resistance.

doi: 10.15159/jas.18.09

ABSTRACT. *Escherichia coli* O157:H7 human infections are mostly associated with consumption of raw or undercooked beef and raw milk. Ruminants, especially cattle are the main reservoir of the pathogen. The main aim of the present study was to evaluate the occurrence of *E. coli* O157:H7 in cattle dairy farm and beef production level in Estonia. It was found that *E. coli* O157:H7 is present at both the dairy farm and slaughterhouse level. The occurrence of the pathogen at Estonian dairy farm level was 1.2% from 1312 cattle's sampled. At slaughterhouse level 744 hide swabs were taken from which 30 (4.0%) were positive to *E. coli* O157:H7. Both *stx1* and *stx2* genes were determined from isolates and often the combination of both genes was found to be present. Minimal inhibitory concentration was determined for 30 *E. coli* O157:H7 isolates which revealed 26.7% of multiresistant isolates. In 2009–2010 in a total of 188 beef samples were analysed, which all were negative for O157:H7.

© 2018 Akadeemiline Põllumajanduse Selts. Kõik õigused kaitstud. 2018 Estonian Academic Agricultural Society. All rights reserved.

Sissejuhatus

Escherichia coli (*E. coli*) kuulub *Enterobacteriaceae* sugukonda ja on Gram-negatiivne fakultatiivselt aeroobne bakter. Üldjuhul kuulub *E. coli* loomade ja inimeste sooletrakti normaalsesse mikrobiootasse, kuid *E. coli* bakterite hulgas esineb ka toksiine tootvaid patogeenseid tüvesid, mis võivad esile kutsuda seedetrakti infektsioone (Kaper jt, 2004; Songer, Post, 2005). Seedeelundkonna haigusi põhjustavateks *E. coli* patotüüpideks on enteropatogeenne *E. coli* (EPEC), enterotoksigeenne *E. coli* (ETEC), enteroinvasiivne *E. coli* (EIEC), enteroagregatiivne *E. coli* (EAggEC), difuusselt adherentne *E. coli* (DAEC) ja Shiga-toksiini tootev *E. coli* (STEC). STEC on üks kõige olulisemaid patotüüpe, mille alatüübiks on enterohemorraagiline *E. coli* (EHEC), mis põhjustab enterohemorraagiad ja hemolüütilis-ureemilist sündroomi (HUS). Shiga-toksiini tootvat *E. coli*-t määratakse ühe või enama Shiga-toksiini kodeeriva geeni (*stx*) tuvastamisega. Kuna toksiini mõju avaldub eelkõige Vero-rakkudele, siis STEC'i tüvesid nimetatakse ka verotoksiliseks *E. coli*-ks. Enterohemorraagiaid tekitavate omadustega on õnneks siiski vaid väike osa *E. coli* tüvesid, peamiselt *E. coli* O157:H7, mida seostatakse väga tõsiste infektsioonide ja haiguspuhangute põhjustajana (Scallan jt, 2011; EFSA Panel on Biological Hazards, 2013). Kuigi Terviseameti (2017) andmetel on aastatel 2011–2017 *E. coli* nakkusesse haigestunute osakaal kõikunud vahemikus 0,6 kuni 3,4 haiget 100 000 elaniku kohta, siis puuduvad andmed inimeste haigestumist põhjustanud patotüüpide (va EHEC) esinemuse kohta Eestis. Haigestumine STEC-nakkusesse toimub enamasti saastunud toidu, näiteks alaküpsetatud veiseliha, ebapiisavalt kuumtöödeldud või toorete piimatoodete, aga ka saastunud juurviljade ja puuviljade söömise kaudu (Allelberger jt, 2003; Caprioli jt, 2005; Söderström jt, 2008). STEC põhireservuaariks on veised (Beutin jt, 1993), kes ise reeglina ei haigestu, kuid on haigustekitaja kandjaks. Seega, haigustekitajad võivad inimeseni jõuda ka vahetu kontakti kaudu veistega. Tapamajades

toimub veise rümpade saastumine peamiselt nahatustamisel ja seedekulgla eemaldamisel (Martin, Beutin, 2011). Farrock jt (2013) leidsid, et saastunud veiseliha on üks peamisi STEC k.a *E. coli* O157:H7 poolt põhjustatud infektsioonide allikaid inimestel. Varasemates uuringutes on leitud, et põllumajandusloomadelt sh veistelt isoleeritud STEC tüved on osutunud resistentseteks ampitsilliini, streptomütsiini, sulfametoksasooli, tetratsükliinide ja teiste antibiootikumide suhtes, mida konkreetses geograafilises piirkonnas põllumajandusloomade raviks kasutatakse (Ziebell jt, 2011; Sasaki jt, 2012; Amézquita-López jt, 2016). Veistelt isoleeritud multiresistentsete tüvede seas on olnud STEC O157 isolaate, mis on osutunud üheaegselt resistentseks streptomütsiinile, sulfametoksasoolile ja ampitsilliinile (Mora jt, 2005; Scott jt, 2009). On leitud, et mõned STEC serogrupid võivad omandada resistentsust kergemini, kui teised nt Jaapani uuringus leiti, et lihaveistelt isoleeritud STEC O26 tüvede resistentsusmäär oli oluliselt kõrgem kui samadest veisekarjadest isoleeritud STEC O157 tüvedel (Sasaki jt, 2012).

Käesoleva artikli eesmärk on anda ülevaade aastatel 2005–2014 Eestis teostatud verotoksilise *E. coli* uuringutest, et hinnata *E. coli* O157:H7 esinemist piimafarmides ja veiseliha tootmise ahelas.

Materjal ja metoodika

Proovide kogumine

Aastatel 2005–2014 uuriti piimafarmi tasandil ühtekokku 1312 veist. Aastatel 2005–2010 valiti uuringusse farmid, kus peeti rohkem kui 100 looma. Igast uuritud farmist võeti roojaproovid neljalt loomalt. Laboris moodustati neist üks liitproov. Positiivse tulemuse puhul uuriti osaproove eraldi. Aastal 2014 läbi viidud uuring keskendus aga toorpiima otseturustusega tegelenud piimafarmidele. Proove koguti 21-st karjast, igas karjas võeti proovid viielt loomalt, millest moodustati liitproov.

Tapamaja tasandil teostati uuringud aastatel 2011–2013, kui uuriti ühtekokku 744 nahapinnaproovi.

Uuringusse valiti veised vanuses 4–24 kuud. Proovivõtt oli jaotatud sõltuvalt ettevõtete toodangumahtudest ühtlaselt aasta lõikes. Proovid võeti abrasiivse käsnaga veise rinnakupiirkonna 400 cm^2 suuruselt nahapinnalt.

Lihalõikusettevõtetest (n = 24) koguti aastatel 2009–2010 ühtekokku 188 veiselihaproovi. Uuringusse kaasati riikliku zoonoossete haigustekitajate seire raames lihalõikusettevõtetes võetavad veiste lihaproovid. Proovid võeti riiklike veterinaarinspektorite poolt lihalõikuse ajal otse konveierilt või lihalõikuse töökohas.

***Escherichia coli* O157:H7 isoleerimine**

E. coli O157 tuvastamine proovidest toimus vastavalt EVS EN ISO 16654 metoodikale. Käsnaproov asetati eelsoojendatud modifitseeritud trüptoon-soja puljongisse, mida oli rikastatud 20 mg L^{-1} novobiotsiiniga (Oxoid), seejärel proovi homogeniseeriti Stomacherloksutis 60 sekundi jooksul ning seejärel inkubeeriti 6 ± 0,5 tundi ja 21 ± 3 tundi temperatuuril 41,5 °C ± 0,5°C. Seejärel teostati immunomagneetiline separeerimine (IMS) kasutades Captivate™ anti-O157 kuulikesi. 50 µl IMS suspensiooni kanti sorbitool MacConkey agarile, mis sisaldas tsefiksiim-telluriit lisandit (Oxoid). Samuti kanti 50 µl IMS suspensiooni CHROMagar™ STEC agarplaatidele (CHROMagar). Inokuleeritud söötmeid inkubeeriti temperatuuril 37 ± 1°C 21 ± 3 tundi. Iseloomulikud kolooniad subkultiveeriti ning analüüsiti konventsionaalsete biokeemiliste testidega *ß*-glükuronidaasi ja indooli produtseerimise suhtes.

Virulentsusmarkerite määramine

Stx1, *stx2* ja *eae* geenide määramine viidi läbi reaalaja polümeraasi ahelreaktsiooni meetodil. DNA ekstraheerimiseks kasutati RTP® Bacteria DNA Mini Kit-i (Stratec Molecular GmbH). Geenide tuvastamise metoodika täpsem kirjeldus on esitatud tehnilises spetsifikatsioonis CEN ISO/TS 13136. Enterohemolüsiini kindlakstegemiseks isolaatidel kasutati Beutin jt (1989) poolt kirjeldatud protokolli.

Seroloogiline kinnitus

Serotüübi O157:H7 määramine teostati konventsionaalsel aglutinatsiooni meetodil (Statens Serum Institut) võttes aluseks tootjapoosed juhised.

***Escherichia coli* O157:H7 ravimtundlikkuse uuringud**

Tundlikkus erinevate antimikroobsete ainete suhtes määrati kindlaks minimaalse inhibeeriva kontsentratsiooni mikrolahjenduse meetodit kasutades selleks VetMIC GN paneele (SVA). Tulemuste tõlgendamisel lähtuti Euroopa Komisjoni ravimtundlikkuse testimise juhendist ning Euroopa Liidu antimikroobse resistentsuse referentlaboratooriumi juhistest (EURL-AR 2013) ja kehtestatud epidemioloogilistest piirväärtustest.

Statistiline analüüs

Levimusnäitajate ning nende usaldusintervallide arvutamisel kasutati *online*-kalkulaatorit VassarStats (Lowry, 2015). Erinevate gruppide levimuse statistiliseks võrdlemiseks kasutati Fisheri täpset testi (Lowry, 2015). Tulemus loeti statistiliselt oluliseks kui *p*-väärtus oli < 0,05.

Tulemused ja arutelu

***Escherichia coli* O157:H7 uuringud piimafarmi tasandil aastatel 2005–2014**

Riikliku loomatauditõrjeprogrammi raames viidi uuringud läbi perioodil 2005–2010, kus uuringusse kaasati enam kui saja loomaga farmid. 2014. aasta uuringud keskendusid farmidele, mis tegelesid toorpiima otse turustamisega. Aastatel 2005–2014 uuriti ühtekokku 1312 veist, kellest *E. coli* O157:H7 osas osutus positiivseks 16 (1,2%) ning positiivseid piimakarjasid oli kokku neli (tabel 1).

Euroopa Toiduohutusameti ja Euroopa Nakkushaiguste Ennetamise ja Tõrje Keskuse raporti andmeil varieerus STEC-i levimus Euroopa Liidus veistel 2,2–6,9% ning O157 serogrupi puhul 0,5–2,9% (EFSA/ECDC, 2011). Tavapärane STEC kontsentratsioon nakatunud veise roojaproovis on suurusjärgus 10^2–10^5 cfu g^{-1}, kuid võib teatud loomade (nn *supershedders*) puhul ulatuda ka 10^8 cfu g^{-1} (Besser jt, 2001; Menrath jt, 2010).

Tabel 1. *Escherichia coli* O157:H7 roojaproovide uuringud Eesti piimakarjades aastatel 2005–2014
Table 1. *The prevalence of* Escherichia coli *O157:H7 from faecal samples at dairy farm level in 2005–2014*

Aasta *Year*	Uuritud loomade arv *Total No. of animals*	Positiivsete loomade arv (%) *No. of positive animals (%)*	Positiivsete karjade arv *No. of positive herds*
2005	200	0 (0)	0
2006	190	13 (6.8)	1
2007	162	0 (0)	0
2008	209	1 (0.5)	1
2009	253	1 (0.4)	1
2010	192	0 (0)	0
2014	106	1 (0.9)	1
Kokku / *Total*	1312	16 (1.2)	4

Escherichia coli O157:H7 uuringud veiste tapamaja tasandil aastatel 2011–2013

Aastatel 2011–2013 uuriti tapamaja tasandil ühtekokku 744 veise rinnakupiirkonna nahapinnaproovi, millest 30 proovi (4%; CI_{95} 2,8-5,7%) osutusid positiivseks. *E. coli* O157:H7 levimus varieerus nahapinnaproovides vahemikus 3,3% kuni 5,3% olles kõrgeim 2012. aastal ning madalaim 2011. aastal. Aastate lõikes *E. coli* O157:H7 levimus statistiliselt oluliselt ei erinenud ning ei täheldatud ka statistiliselt olulisi seoseid veiste soo, aastaaegade ja serovari levimusnäitajate vahel. Suhteliselt sarnased tulemused saadi Itaalia uuringus (Bonardi jt, 2015), kus leiti, et *E. coli* O157:H7 levimusnäitaja veiste nahapinnaproovides oli 2,5%. Kõrgemaid *E. coli* O157:H7 levimusnäitajaid, 7,3% ja 13,4%, leiti vastavalt O'Brien jt (2005) ja Thomas jt (2012) poolt läbi viidud uuringutes.

Tabelis 2 on näidatud aastatel 2011–2013 tapamaja tasandil läbi viidud *E. coli* O157:H7 levimusuuringute tulemused. Kõige enam proove (n = 156) koguti Lääne-Virumaal, kus 13 proovi (8,3%) osutusid positiivseks *E. coli* O157:H7 suhtes. Sellele järgneb Valgamaa ja Saaremaa, kus vastavalt 4,2% ja 6,4% proovidest olid positiivsed. Kokku 30-st positiivsest proovist tuvastati 13 proovil (43%) *stx2* geeni esinemine ning 17 proovil (57%) nii *stx1* kui ka *stx2* geenide esinemine. Toksiinide produtseerimist võimaldavate geenide *stx1* ja *stx2* esinemissageduses täheldati statistiliselt olulist erinevust ($p < 0,05$). Toksiinide produtseerimisele osutavate geenide alatüüpide määramisel jagati isolaadid tinglikult 4 klastrisse: *stx2a* (n = 1), *stx2c* (n = 12), *stx1a stx2a* (n = 4), *stx1a stx2c* (n = 13) (tabel 2). Kõige sagedamini esinenud geeni alatüübiks oli *stx2c*, mis üksinda esines 40% juhtudest ning kombinatsioonis alatüübiga *stx1a* 43,3% juhtudest. Sarnaselt Eesti antud uuringutulemustele täheldas ka Bonardi jt (2015), et toksiin *stx2c* üksi või kombinatsioonis *stx1a*-ga oli kõige sagedamini tuvastatud alatüüp. Aspan ja Erikssoni (2010) uuringus leiti seos Rootsi veistel tuvastatud *E. coli* O157:H7 alatüüpide (*stx1a*, *stx2a, stx2c ja stx2d*) esinemise ja inimestel esinenud *E. coli* O157:H7 infektsioonide vahel. Eestis tuvastati alatüüp *stx2a* vaid ühes proovis ning kombinatsioonis alatüübiga *stx1a* neljas proovis. Ükski Eestis isoleeritud *E. coli* O157:H7 isolaatidest ei evinud *stx1c*, *stx1d*, *stx2b*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f* ja *stx2g* alatüüpe. Kõik *E. coli* O157:H7 isolaadid evisid intimiini kodeerivat *eae* geeni ning produtseerisid enterohemolüsiini. Tapamaja tasandi uuringuga on võimalik täpsemalt tutvuda Kramarenko jt (2016) artikli kaudu.

Escherichia coli O157:H7 uuringud lihalõikuse tasandil aastatel 2009–2010

Aastatel 2009–2010 uuriti ühtekokku 188 veiseliha-proovi, mis kõik osutusid *E. coli* O157:H7 suhtes negatiivseteks.

Tabel 2. *Escherchia coli* O157:H7 virulentsusmarkerite esinemine positiivsetes proovides aastatel 2011–2013
Table 2. *The prevalence of the virulence factors of* Escherichia coli *O157:H7 in positive samples in 2011–2013*

Maakond *County*	Uuritud proovide arv / positiivseid (%) *No. of samples / positive samples (%)*	Virulentsusmarkerid / *Virulence factors*		
		Entero-hemolüsiin *Entero-hemolysin*	*eae* geen *eae gene*	*stx1* ja *stx2* geenide alatüübid ja nende kombinatsioonid *stx1 and stx2 subtypes and their combinations*
Harjumaa	2 / 0 (0)	–	–	–
Ida-Virumaa	31 / 0 (0)	–	–	–
Jõgevamaa	57 / 1 (1.8)	+	+	*stx2c*
Järvamaa	56 / 2 (3.6)	+	+	*stx1a stx2c*
Lääne-Virumaa	156 / 13 (8.3)	+	+	*stx1a stx2c; stx2c*
Põlvamaa	30 / 1 (3.3)	+	+	*stx2a*
Pärnumaa	38 / 1 (2.6)	+	+	*stx2c*
Raplamaa	84 / 1 (1.2)	+	+	*stx2c*
Saaremaa	96 / 4 (4.2)	+	+	*stx2c; stx1a stx2c*
Tartumaa	30 / 0 (0)	–	–	–
Valgamaa	109 / 7 (6.4)	+	+	*stx2c; stx1a stx2a; stx1a stx2c*
Viljandimaa	54 / 0 (0)	–	–	–

Escherichia coli O157:H7 antibiootikumtundlikkus

Antibiootikumtundlikkus määrati veiste tapamaja tasandilt pärit isolaatidel (n = 30), mis osutusid tundlikuks nalidiksiinhappe, tsiprofloksatsiini, florfenikooli, kolistiini, klooramfenikooli, tsefotaksiimi ja tseftasidiimi suhtes. Kokku 18 isolaati (60%) olid tundlikud kõigi 14 testitud antibiootikumi suhtes, kuid 12 isolaati (40%) osutusid resistentseks ühe või enama antibiootikumi suhtes. Resistentsust ühe antibiootikumi (kas streptomütsiini või sulfametoksasooli) suhtes tuvastati 4 isolaadi (13%) puhul. Kõige enam isolaate olid resistentsed streptomütsiinile (33,3% isolaatidest) ja sulfametoksasoolile (33,3% isolaatidest). Sarnaselt Eesti uuringule leidsid ka Ziebell jt (2011) oma uuringus, et erinevad STEC tüved on enam resistentsed streptomütsiinile ja sulfametoksasoolile, aga ka tetratsükliinile. Eesti uuringus resistentsust ampitsilliinile esines viiel (16,7%), trimetoprimile neljal (13,3%),

kanamütsiinile kahel (6,7%), tetratsükliinile ühel (3,3%) ja gentamütsiinile ühel (3,3%) STEC isolaadil. Multiresistentsus ehk resistentsus kolme või enama ravimigrupi suhtes tuvastati kaheksal (26,7%) isolaadil, kusjuures üks isolaat nendest oli resistentne nii ampitsilliinile, streptomütsiinile, tetratsükliinile, sulfametoksasoolile kui ka kanamütsiinile. Multiresistentsetel tüvedel esines kõige sagedamini resistentsus streptomütsiini, sulfametoksasooli ja ampitsilliini suhtes. Ka kõrgeimad MIC-väärtusi tehti kindlaks eelkõige sulfametoksasooli, streptomütsiini ja ampitsilliini puhul. Smith jt (2007) on avaldanud, et multiresistentsete tüvede esinemine viitab antibiootikumide sagedasele kasutamisele farmi tasandil pikema perioodi vältel. Tõenäoliselt on ka Eesti STEC uuringu multiresistentsete tüvede tekke põhjuseks antibiootikumide kasutamine loomade ravimise eesmärgil farmides, kusjuures konkreetse antibiootikumi suhtes resistentsus viitab selle raviks kasutamisele.

Kokkuvõte ja järeldused

Käesolev uuring näitas, et Eesti veiseliha tootmise ahelas esineb *E. coli* O157:H7. Kuigi üldiselt on patogeeni levimusnäitajad madalad, esineb siiski oht haigustekitajate potentsiaalseks ülekandeks veiseliha või toorpiima kaudu inimesteni, mis arvestades haigustekitaja poolt põhjustava haiguse tõsidust on arvestatav oht rahvatervisele. Uuring kinnitas isolaatidel oluliste virulentsusmarkerite, *stx2c* üksinda ja kombinatsioonis alatüübiga *stx1a*, esinemist. Eelmainitud geene kandvate haigustekitajate esinemine toidus võib kujutada tõsist riski tarbijate tervisele. Uuritud veiselihaproovide negatiivsed tulemused *E. coli* O157:H7 suhtes viitavad samas tapa- ja tootmishügieeni osas patogeenide ohje meetmete heale tasemele.

Kasutades veiseliha tootmise ahelas kõrgekvaliteetset toorainet, järgides eeltingimusprogramme, rakendades toiduohutuse tagamise süsteeme ning vältides parimal võimalikul viisil toidu ristsaastumist toidu tootmise, töötlemise ja tarbimise tasandil saame oluliselt toiduohutuse riske maandada. Oluline on liha säilitamine madalatel külmkapi temperatuuridel (maksimaalselt 6 °C) ning tarbimiseelne korralik kuumtöötlemine (liha sisetemperatuur peab saavutama vähemalt 72 °C), sest vegetatiivsed STEC rakud hävivad kõrgetel temperatuuridel kergesti. Tapamaja tasandil tuleb vältida maksimaalsel võimalikul viisil soolesisaldise sattumist rümba pindadele. Eeskujulik tapa- ja tootmishügieen on oluliseks ohjemeetmeks mitte ainult patogeense *E. coli* vaid ka teiste enteraalsete patogeenide leviku takistamiseks. Resistentsuse, eriti multiresistentsete haigustekitajate tüvede tekke vältimiseks peab ravimite kasutamine farmi tasandil lähtuma ratsionaalsest ravivajadusest ning põhinema headel veterinaaria tavadel.

Tänuavaldus

Täname Veterinaar- ja Toiduametit riiklike zoonoossete haigustekitajate seireandmete ning loomatauditõrje programmi andmete edastamise eest. Laboratoorsete analüüside ning seonduvate andmete eest täname Veterinaar- ja Toidulabori kolleege. Uurimustööd finantseeriti ka Maaeluministeeriumi rakendusuuringute projektist "*Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* ja verotoksilise *Escherichia coli*-ga seonduvate toiduohutuse riskide hindamine Eestis" (leping nr T13057VLTH) ning Eesti Maaülikooli arengufondi projektist 8M160198VLTH Toidupatogeenide molekulaarepidemioloogia alase teadus- ja arendustöö edendamine Eesti Maaülikoolis.

Huvide konflikt / *Conflict of interest*

Autor kinnitab artikliga seotud huvide konflikti puudumist.
The authors declares that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.

Autorite panus / *Author contributions*

TK, MR, JS, MK – uuringu kava ja planeerimine;
TK, JS, MK, AV, LH – andmete kogumine;
TK, MR, KM – andmete analüüs ja interpretatsioon;
TK, MR, KM – käsikirja koostamine;
TK, MR, KM, JS, MK, AV, LH – käsikirja ülevaatamine ja heaks kiitmine.
TK, MR, JS, MK – study conception and design;
TK, JS, MK, AV, LH – acquisition of data;
TK, MR, KM – Analysis and interpretation of data;
TK, MR, KM – Drafting of manuscript;
TK, MR, KM, JS, MK, AV, LH – Critical revision and approve the final manuscript.

Kasutatud kirjandus

Allerberger, F., Friedrich, A.W., Grif, K., Dierich, M.P., Dornbusch, H-R., Mache, C.J., Nachbaur, E., Freilinger, M., Rieck, P., Wagner, M., Caprioli, A., Karch, H., Zimmerhackl, L.B. 2003. Hemolytic-uremic syndrome associated with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H infection and consumption of unpasteurized cow's milk. – Int. J. Infect. Dis., 7:42–45, doi: 10.1016/S1201-9712(03)90041-5.

Amézquita-López, B.A., Quiñones, B., Soto-Beltrán, M., Lee, B.G., Yambao, J.C., Lugo-Melchor, O.Y., Chaidez, C. 2016. Antimicrobial resistance profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and non-O157 recovered from domestic farm animals in rural communities in Northwestern Mexico. – Antimicrob. Resist. In., 5:1, doi: 10.1186/s13756-015-0100-5.

Aspan, A, Eriksson, E. 2010. Verotoxigenic *Escherichia coli* O157:H7 from Swedish cattle; isolates from prevalence studies versus strains linked to human infections – a retrospective study. – BMC Vet. Res., 6(7):1–10, doi: 10.1186/1746-6148-6-7.

Besser, T.E., Richards, B.L., Rice, D.H., Hancock, D.D. 2001. *Escherichia coli* O157:H7 infection of calves: infectious dose and direct contact transmission. – Epidemiol. Infect., 127:555–560, doi: 10.1017/S095026880100615X.

Beutin, L., Montenegro, M.A., Ørskov I, Ørskov, F., Prada, J., Zimmermann, S., Stephan, R. 1989. Close association of verotoxin (shiga-like toxin) production with enterohaemolysin production in strains of *Escherichia coli*. – J. Clin. Microbiol., 2:2559–2564.

Beutin, L., Geier, D., Steinruck, H., Zimmermann, S., Scheutz, F. 1993. Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. – J. Clin. Microbiol., 31:2483–2488.

Bonardi, S., Alpigiani, I., Tozzoli, R., Vismarra, A., Zecca, V., Greppi, C., Bacci, C., Bruini, I., Brindani, F. 2015. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157, O26 and O111 in cattle faeces and hides in Italy. – Vet. Rec. Open, 2:1–9, doi: 10.1136/vetreco-2014-000061.

Caprioli, A., Morabito, S., Brugere, H., Oswald, E. 2005. Enteroheamorrhagic *Escherichia coli*: Emerging issues on virulence and modes of transmission. – Vet. Res., 36:289–311, doi: 10.1051/vetres:2005002.

EFSA/ECDC. 2011. Shiga toxin/verotoxin-producing Escherichia coli in humans, food and animals in the EU/EEA, with special reference to the German outbreak strain STEC O104. – Technical report by the European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm, Sweden, 18 pp, doi:10.2900/55055.

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). 2013. Scientific Opinion on VTEC-seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. – EFSA Journal, 11(4):1–106, doi: 10.2903/j.efsa.2013.3138.

Farrock, C., Jordan, K., Auvray, F., Glass, K., Oppegaard, H., Raynaud, S., Thevenot, D., Condron, R., De Reu, K., Govaris, A., Heggum, K., Heyndrickx, M., Hummerjohann, J., Lindsay, D., Miszczycha, S., Moussiegt, S., Verstraete, K., Cerf, O. 2013. Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. – Int. J. Food Microbiol., 162:190–212, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.008.

Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H.L.T. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. – Nat. Rev. Microbiol., 2:123–140, doi: 10.1016/j.ijmm.2005.06.008.

Kramarenko, T., Roasto, M., Mäesaar, M., Maugliani, A., Tozzoli, R., Meremäe, K., Elias, T., Kuningas, M. 2016. Pheno-genotypic characterization of *Escherichia coli* O157:H7 strains isolated from cattle at slaughter. – Vector-Borne Zoonot., 16(11):703–708, doi: 10.1089/vbz.2016.1961.

Lowry, R. 2015. Vassarstats: website for statistical computation. Available at www.vassarstats.net (Accessed on 01.06.2018).

Martin, A., Beutin, L. 2011. Characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from meat and milk products of different origins and association with producing animals as main contamination sources. – Int. J. Food Microbiol., 146:99–104, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.041.

Menrath, A., Wieler, L.H., Heidemanns, S., Semmler, T., Fruth, A., Kemper, A. 2010. Shiga toxin producing *Escherichia coli*: identification of non-O157:H7 super-shedding cows and related risk factors. – Gut Pathog., 2:7, doi: 10.1186/1757-4749-2-7.

Mora, A., Blanco, J.E., Blanco, M., Alonso. M.P., Dhabi, G., Echeita, A., González, E.A., Bernárdez, M.I., Blanco, J. 2005. Antimicrobial resistance of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 strains isolated from humans, cattle sheep and food in Spain. – Res. Microbiol., 156:793–806, doi: 10.1016/j.resmic.2005.03.006.

O'Brien, S., Duffy, G., Carney, E., Sheridan, J.J., McDowell, D.A., Blair, I.S. 2005. Prevalence and numbers of *Escherichia coli* O157 on bovine hides at a slaughter plant. – J. Food Protect, 68:660–665, doi: 10.4315/0362-028X-68.4.660.

Sasaki, Y., Usui, M., Murakami, M., Haruna, M., Kojima, A., Asai, T., Yamada, Y. 2012. Antimicrobial resistance in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and O26 isolates from beef cattle. – Jpn. J. Infect. Dis., 65:117–121.

Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.A., Roy, S.L., Jones, J.L., Griffin, P.M. 2011. Foodborne illness acquired in the United States–major pathogens. – Emerg. Infect. Dis., 17:7–15, doi: 10.3201/eid1701.P11101.

Scott, L., McGee, P., Walsh, C., Fanning, S., Sweeney, T., Blanco, J., Karczmarczyk, M., Earley, B., Leonard, N., Sheridan, J.J. 2009. Detection of numerous verotoxigenic *E. coli* serotypes, with multiple antibiotic resistance from cattle faeces and soil. – Vet. Microbiol., 134:288–293, doi: 10.1016/j.vetmic.2008.08.008.

Smith, J.L., Drum, D.J.V., Dai, U., Kim, J.M. 2007. Impact of antimicrobial usage on antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* strains colonizing broiler chickens. Appl. Environ. Microbiol., 73:1403–1414, doi: 10.1128/ AEM.01193-06.

Songer, J.G., Post, K.W. 2005. Veterinary Microbiology: Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease. – Missouri: Elsevier Saunders. 434 pp.

Söderström, A., Österberg, P., Lindqvist, A., Jönnson, B., Lindberg, A., Blide Ulander, S., Welinder-Olsson, C., Löfdahl, S., Kaijser, B., De Jong, B., Kühlmann-Berenzon, S., Boqvist, S., Eriksson, E., Szanto, E., Andersson, S., Allestam, G., Hedenström, I., Ledet Muller, L., Andersson, Y. 2008. A large *Escherichia coli* O157 outbreak in Sweden associated with locally produced lettuce. – Foodborne Pathog. Dis., 5:339–349, doi: 10.1089/fpd.2007.0065.

Ziebell, K., Johnson, R.P., Kropinski, A.M., Reid-Smith, R., Ahmed, R., Gannon, V.P., Gilmour, M., Boerlin, P. 2011. Gene cluster conferring streptomycin, sulphonamide and tetracycline resistance in *Escherichia coli* O157:H7 phage types 23, 45 and 67. – Appl. Environ. Microb., 77:1900–1903, doi: 10.1128/AEM.01934-10.

Terviseamet. 2017. Nakkushaiguste registreerimine Eestis 2011. – 2017. aastal. – http://terviseamet.ee/nakkushaigused/nakkushaigustesse-haigestumine.html (Viimati külastatud 26.04.2018).

Thomas, S., McCann, M.S., Collery, M.M., Logan, A., Whyte, P., McDowell, D.A., Duffy, G. 2012. Tracking verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157, O26, O111, O103, and O145 in Irish cattle. – Int. J. Food Microbiol., 153:288–296, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.012.

Occurence of *Eserichia coli* O157:H7 in Estonian dairy farms and beef production chain in 2005–2014

Toomas Kramarenko[1,2], Kadrin Meremäe[1], Jelena Sõgel[3], Maiu Kuningas[2], Annika Vilem[2], Liidia Häkkinen[2], Mihkel Mäesaar[2], Terje Elias[1], Mati Roasto[1]

[1]Estonian University of Life Sciences, Institute of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Fr. R. Kreutzwaldi 56/3, 51014 Tartu, Estonia

[2]Estonian Veterinary and Food Laboratory, Fr. R. Kreutzwaldi 30, 51006 Tartu, Estonia

[3]The Veterinary and Food Board, Väike-Paala 3, 11415 Tallinn, Estonia

Summary

Present study aimed to evaluate the occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle dairy farms and at beef production level. Additionally isolates obtained at slaughterhouse level were characterized by determination of virulence factors and minimal inhibitory concentrations against tested antimicrobials. It was found that pathogen is present at both dairy farm and slaughterhouse level. The occurrence of *E. coli* O157:H7 at Estonian dairy farm level was 1.2% from 1312 cattle's sampled in present study. Altogether four positive dairy cattle farms were determined in period 2005–2014. At slaughterhouse level 4% of the hide samples taken from the brisket area were found to be positive for *E. coli* O157:H7. Altogether 744 hide swabs were taken and analysed in Veterinary and Food Laboratory of Estonia. From 30 positive hide samples *stx2* gene alone was determined for 13 samples and *stx1* together with *stx2* gene was determined for 17 samples (56.7%). From detected *stx* subtypes the most prevalent was found to be *stx2c* occurring alone in 12 isolates and together with *stx1a* in 13 isolated strains. In 2009–2010 in total of 188 beef samples were analysed which all were negative for O157:H7. Minimal inhibitory concentration was determined for 30 *E. coli* O157:H7 isolates which revealed with 26.7% of multiresistance isolates. It was found that 33.3% and 33.3% were resistant against streptomycin and sulfamethoxazole, followed by resistance against ampicillin (16.7%), trimethoprim (13.3%), kanamycin (6.7%) and tetracycline (3.3%). There is need to apply control measures at slaughterhouse and meat industry level. Most important is to avoid faecal contamination of carcasses and to ensure good production hygiene level at all stages of meat production.

Agraarteadus
2 * XXIX * 2018 95–105

Journal of Agricultural Science
2 * XXIX * 2018 95–105

ÜLEVAADE: KAHKJAD EHK NÄIVLEETUNUD MULLAD EESTIMAA MULDKATTES

REVIEW: PSEUDOPODZOLIC SOILS IN ESTONIAN SOIL COVER

Raimo Kõlli[1], Tõnu Tõnutare[1], Tarmo Kõlli[2]

[1]*Eesti Maaülikool, Põllumajandus ja keskkonnainstituut, Mullateaduse õppetool, Fr. R. Kreutzwaldi 5, 51006 Tartu*
[2]*Viru Õlu AS Haljala, Rakvere mnt. 7, 45301 Haljala, Lääne-Virumaa*

Saabunud: Received: 23.10.2018
Aktsepteeritud: Accepted: 20.11.2018

Avaldatud veebis: Published online: 25.11.2018

Vastutav autor: Corresponding author: Raimo Kõlli
E-mail: raimo.kolli@emu.ee

Keywords: pseudopodzolic soil, Estonian year 2018 soil, *Enchytraeidae*, soil properties, humus cover type (pro humus form).

doi: 10.15159/jas.18.12

ABSTRACT. In actual review, the main morphological properties of the Pseudopodzolic soils and the principles of their dividing into soil species (identified by soil genesis) and varieties (divided on the base of soil texture) are treated. The compiling of actual review is caused by the fact that Pseudopodzolic soil was elected by the Estonian Soil Science Society for the Estonian year 2018 soil. In the introductory part, the special attention was paid to the problems connected with the naming of these soils. Although the soil introducing is done after Estonian Soil Classification principles, for characterization of soil properties and functioning the qualifiers of WRB are largely used in it. In the work, the two layers of soil (1) the soil humus cover (pro humus form) or humipedon and (2) soil cover or solum as a whole are treated separately. The data on soil properties are presented separately as well for arable and forest soils giving their comparative analysis and dealing with the changes in soil properties in connection with land use change. Substantial part of the work is consecrated (1) to the soil-plant cover and to the *Enchytraeidae* living in forest soils' humipedon, (2) to the soil productivity and peculiarities of their usage in agriculture and forestry, and (3) to the distribution of Pseudopodzolic soils in Estonian soil cover and to the association of Pseudopodzolic soils with other soil species.

© 2018 Akadeemiline Põllumajanduse Selts. Kõik õigused kaitstud. 2018 Estonian Academic Agricultural Society. All rights reserved.

Sissejuhatus

Eesti kahkjaid muldi käsitlev ülevaade on ajendatud tõdemusest, et Eesti Mullateaduse Selts valis 2018 aasta mullaks kahkja ehk näivleetunud mulla (joonis 1), mille erimid moodustavad *ca* 10% Eestimaa muldkattest. Kahkjate muldade väärtustamist näitab nende rohke kasutamine (*ca* 2/3) haritava maana ja nende suur osakaal (*ca* 23%) põllumajanduslikult kasutatava maa hulgas. Tooniandvateks muldadeks on nad Kagu-Eesti lavamaa muldkattes (joonis 2).

Materjal ja metoodika

Eesti kahkjate muldade klassifitseerimist, omadusi, talitlemist ja levikut kajastav materjal pärineb neid muldi käsitlevatest publikatsioonidest, meie eelkäijate ja meie kolleegide poolt koostatud andmekogudest ja kokkuvõtetest ning meie poolt läbiviidud uurimistöödest ja koostatud õppematerjalidest. Muldade jaotused on esitatud Eesti muldade klassifikatsiooni (EMK) järgi (Astover jt, 2013).

Töös kasutatakse mulla horisontide koode ja nimetusi vastavuses EMK-is kasutatavatega, mis langevad hästi kokku WRB-s kasutatavatega: **O1** – metsavaris; **O2d** – pooleldi lagunenud detriitne metsakõdu; **O2f** – pooleldi lagunenud fermentatiivne metsakõdu; **O3** – hästilagunenud metsakõdu; **A** – huumushorisont; **Baf** – amorfse raua sisseuhtehorisont; **Elḡ** – ülagleistunud eluviaalne horisont; **2Bt** – alumise lähtekivimi tekstuurne sisseuhtehorisont; **2Bḡ** – alumise lähtekivimi ülagleistunud sisseuhtehorisont; **2C** – teine mulla lähtekivimi kiht (Astover jt, 2013; IUSS WG WRB, 2015).

Mulla lõimised on töös esitatud Katšinski süsteemi järgi st mullapeenese (osakesed ø <1 mm) erim on määratud füüsikalise savi (osakesed ø <0,01 mm) sisalduse alusel. Kahkjate muldade puhul on valdavalt tegemist järgmiste lõimistega (lühend ja nimetus): **sl** – saviliiv; **tsl** – tolmjas saviliiv; **ls1**, **ls2** ja **ls3** – vastavalt

kerge, keskmine ja raske liivsavi; **v°**– raudkivi veeris, **v°1** – nõrgalt raudkivi-veeriseline; **sl/ls2** – kahekihilise lõimise valem.

Mõisted, milliseid töös kasutatakse on: **mulla liik** – muldade arengu järgi eristatav väikseim EMK takson; **mullaerim** – lõimise alusel mullaliigi piires eristatav EMK takson; **muldkate** – maismaa pealmine mullatekkeprotsessides muutunud kiht; **huumuskate** – muldkatte pindmine orgaanilise ainega rikastunud kiht; **pedon** – mulla vertikaalset profiili, lasuvust ja koostist kajastav muldkatte sammas; **humi**- ehk **epipedon**– huumuskatte kihilist ehitust, lasuvust ja koostist kajastav sammas või kuubik.

WRB tunnussõnade (kvalifikaatorite) lühiseletus. Pikema ja täpsema tunnussõna seletuse leiab WRB uusimast versioonist (IUSS WG WRB, 2015).

a) protsesside tunnused: *albic* – sisaldab valget materjali; *argic* – savi sisseuhe; *albeluvic* – sisaldab väljauhte mõjul valkjaks värvunud materjali; *cutanic*– mulla osistel savist kattekiht; *glossic* – valkjad heledaks uhutud keeled; *luvic* – savi väljauhe; *spodic* – mullas huumuse, Fe- ja Al-komplekside ümberpaigutuse ehk leetumise tunnused; *protospodic* – mullas vähesed leetumise algfaasi tunnused; *retic* – heleda värvuse ja kergema lõimisega materjali sopistused savistunud kihis; *stagnic* – ülavee mõjul tekkinud taandustingimusi näitavad tunnused.

b) omadused: *dystric* – vähetoiteline, küllastumata; *fragic* – tihenenud ja rabe; *umbric* – küllastumata happeline ja *mollic* – küllastunud pehmehuumuslik A horisont.

c) lõimis ja kihilisus: *abruptic* – lõimise järsk muutus mullaprofiilis; *loamic* – liivsavine; *siltic* – tolmjas lõimis.

d) maakasutus: *aric* – küntud, haritud; *colluvic* – peale kantud teisaldatud (erodeerunud) mulda; *drainic* – kuivendatud.

Kahkja mulla iseloomustamisel antud töös on nn portreemulla ehk kaanepoisi (joonis 1) päritolu paik määratud geograafiliste koordinaatide järgi. Samuti on määratud kahkjate muldade taksonoomiline positsioon Eesti normaalse arenguga mineraalmuldade ja metsamuldade huumuskattetüüpide hulgas (EMDK, 2008; Kõlli, Köster, 2018). Kahkjate metsamuldade puhul on näidatud veel ka nende muldade positsioon teiste metsakasvukoha tüüpide hulgas E. Lõhmuse (2006) ordinatsiooni skeemi tagapõhjal.

Töös kasutatud lühendid:

AMR – agro-mullastikuline mikrorajoon,

EMDK – Eesti muldade digitaalne kogu,

EMVI – Eesti Maaviljeluse Instituut,

EMK – Eesti muldade klassifikatsioon,

EPA – Eesti Põllumajanduse Akadeemia,

EPP – Eesti Põllumajandusprojekt,

IUSS – International Union of Soil Science (Rahvusvaheline Mullateaduse Selts),

MKÜ – mullastiku kaardistamisühik,

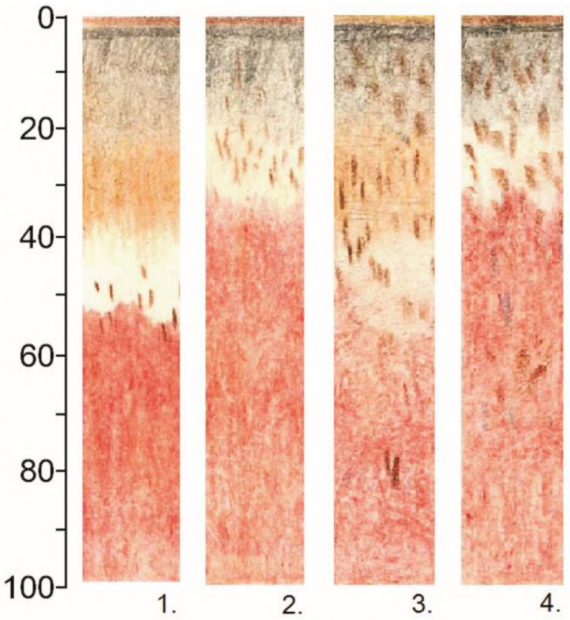
WRB – World Reference Base for Soil Resources (Maailma mullaressursside refereerimise baas).

Joonis 1. Kahkjas ehk näivleetunud muld (T. Kõlli)
Figure 1. *Pseudopodzolic soil (T. Kõlli)*

Nimepanemise lugu

Eesti muldkatte suuremõõtkavalise (1:10000) kaardistamise ehk Eesti mullaressursside arvele võtmise alguse viiekümnendatel aastatel, eristati kahkjad ehk näivleetunud mullad keskmiselt leetunud mulla erimitena, milleks olid saviliivad või kerged liivsavid ühekahe astme võrra savirikkamal (raskemal) lõimisel. Hiljem (L. Reintami uurimuste alusel, kuuekümnendate lõpul) eristati need mullaerimid leetunud muldadest iseseisva mullastiku kaardistamisühikuna (MKÜ) ja mullaliigina muldade nimestikus kui pseudoleetunud mullad, mille koodiks sai LP (EPP, 1982). 'L' koodis LP tähistab leetumist ja 'P' seda, et tegemist on pseudoleetumisega. Oma "Muldade määrajas" (1986) näitlikustas L. Reintam neid muldi nelja omakäeliselt joonistatud LP erimiga (joonis 3). Mõned aastad hiljem hakati (V. Masingu soovitusel) kasutama liite *pseudo*- asemel eestipärast liidet *näiv*- ehk siis neid hakati nimetama näivleetunud muldadeks.

Joonis 2. Vaade Palumaa maastikule: Kõliküla, Luuska, Kakusuu ja Kliima külade vaheline kahkjate muldade enamusega lainjas tasandik (T. Kõlli)
Figure 2. *View on the landscape of Palumaa: Undulating plateau with prevailing Pseudopodzolic soils between villages Kõliküla, Luuska, Kakusuu and Kliima (T. Kõlli)*



Joonis 3. L. Reintami poolt (1986) koostatud ja värvitud kahkja ehk näivleetunud mulla erimite näidis-profiilid. 1 – LP, sl/ls2; 2 – L(P), ls2/ls3; 3 – LPg, sl/ls2ja 4 – L(P)g, ls2/ls3
Figue 3. *Compiled and painted by L. Reintam(1986) sample profiles about varieties of Pseudopodzolic soils. 1 – LP, sl/ls2; 2 – L(P), ls2/ls3; 3 – LPg, sl/ls2 and 4 – L(P)g, ls2/ls3*

Tegelikult jäi nende konsensuslik ametlik nimetus paika panemata vaatamata tolleaegsete juhtivate mullauurijate (I. Rooma, R. Kokk, T. Teras jt EPP-st; L. Reintam EPA-st ja R. Kask EMVI-st) eestvõtmisel peetud rohketele nõupidamistele ja vaidlustele. Justkui kompromissina (loe: ajutise nimena) hakati neid muldi 80. aastate alguse ametlikes dokumentides nimetama kahkjateks (ka kahkjateks leetunud) muldadeks. Kuna hiljem uut täiustatud MKÜ nimekirja Eestis ametlikult kinnitatud ei ole, peaks tollane MKÜ nimestik kehtima ka tänapäeval ja on seepärast eelistatud ka käesolevas töös (EPP, 1982).

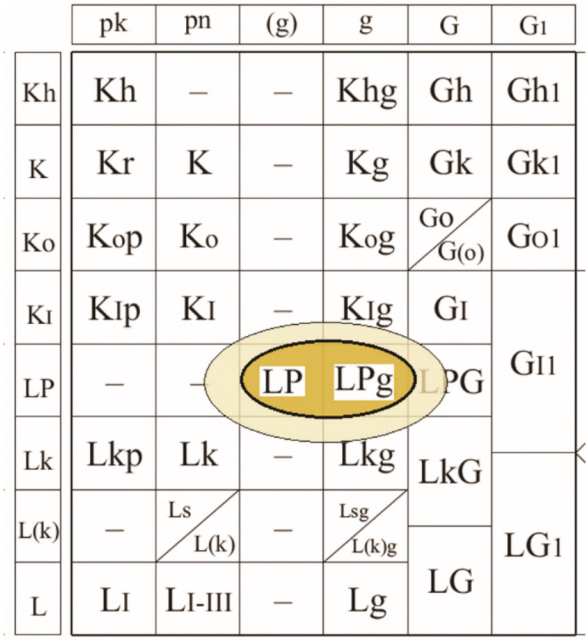
EMK täiendamise kohta on senini ilmunud arvukalt publikatsioone (Ellermäe jt, 1998), kus enamus seisukohtadest väärivad arvestamist uue kaasajastatud Eesti MKÜ nimekirja koostamisel. Üleüldiselt aktsepteeritud hea tava järgi toimub nii rahvuslike kui globaalsete mullaklassifikatsioonide kaasajastamine järjepidevalt. Teatud ajaperioodi (tavaliselt 8–12 aastat) jooksul kogutud asjakohaste ettepanekute alusel minnakse üle uuele täiustatud muldade klassifikatsiooni versioonile. Taoliste arendustega on kaasnenud ikka ka selge püüdlus – harmoniseerida rahvuslikud klassifikatsioonid (kus vähegi võimalik) globaalsete unifitseeritud süsteemidega. Tuleb tunnustavalt kiita meie eelkäijaid Eesti mullateadlasi, kes on loonud hästitöötava mullastiku käitlemise töövahendi EMK näol, mis harmoneerub oma põhiosas suurepäraselt Euroopas kasutatava WRB süsteemiga ning on heaks aluseks rahvusliku mullaklassifikatsiooni edaspidisele arendamisele.

Huvitav on tõdeda, et ka rahvusvaheliselt ei ole kõne all oleva mulla nimetus veel 'paika pandud'. Kui

FAO/UNESCO (1974. a) mullastiku kaardil nimetati neid muldasid *Podzoluvisols*'ideks, siis WRB 1998. a versioonis sai nende muldade referentsnimetuseks *Albeluvisols*. See nimetus säilis ka WRB 2006. a versioonis, kuid WRB 2014. a versioonis võeti nende uueks referentsmulla nimetuseks juba *Retisols* (IUSS 2015).

Sõna kahkjas meie mullanimetuses tuleneb varemalt Saksamaal kasutusel olnud mullanimest *Fahlerde* (mis oli WRB järgi *Albeluvisol*), kus liide *fahl-* tähendab kahvatu- või õlgkollast värvust ja *erde* mulda. Mainigem siinjuures, et *Fahlerde* oli valitud Saksamaa 2006. aasta mullaks.

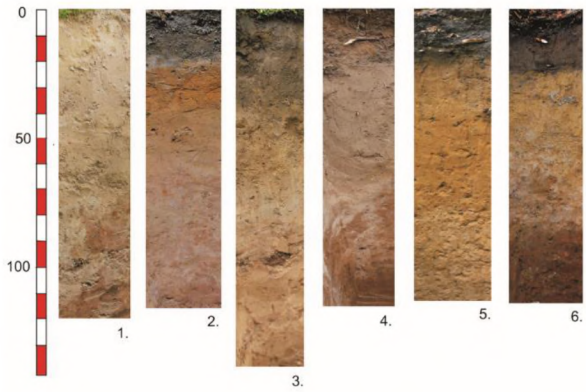
Teatavasti ei esine mullad looduses kindlate homogeensete kontuuridena vaid pigem pidevalt muutuva kontiinumina. Jälgides kahkjate muldade 'taksonoomilist positsiooni' teiste Eesti muldade hulgas, s.o asumist leetjate *(luvic)* ja leetunud *(albeluvic, spodic)* muldade ülemineku alal ning külgnemist gleimuldadega (joonis 4), võib eeldada suurt variantide rohkust nende ülesehituses. Kõik see teeb mõistetavaks ka algselt väljapakutud mullanimede paljususe. Samas tuleks meeles pidada, et muldade määratlemisel ei ole tähtis mitte niivõrd mullale nimetuse andmine (mis on enamasti kokkuleppeline või tinglik), vaid ennekõike ikkagi tema omadusi selgitavate tunnuste (kvalifikaatorite) ja nende olulisuse õige kajastamine.



Joonis 4. Kahkjate muldade 'taksonoomiline asend' teiste Eesti muldade hulgas (EMDK, 2008).
Muldade keskne positsioon normaalse arenguga muldade maatriksil tema niiskustingimuste skalaari (horisontaalne) ja litoloogilis-geneetilise kateena (vertikaalne) suhtes on näidatud tumedas ja üleminekuala heledas toonis
Figure 4.*'Taxonomic position' of Pseudopodzolic soils among other Estonian soils (EMDK, 2008).*
Position of soils on the matrix of normally developed soils in relation to moisture conditions scalar (horizontal) and to lithologic-genetic catena (vertical scalar). The main areal is given in dark, but the transitional area in light tones

Peamised tunnused, mille järgi kahkjad mullad eristuvad teistest muldadest

Kahkjate muldade kahekihilise lõimise pindmiseks kergema lõimisega mullakihiks on valdavalt 30–80 cm paksune saviliiva või tolmja saviliiva ning harvemini kerge liivsavi kiht. Alumise lõimisena domineerib neil keskmine liivsavi ning väiksemal osal muldadest ka kerge või raske liivsavi. Joonisel 5 on esitatud kogum LP profiilidest, mis on tehtud E. Asi uurimisrühma poolt metsade seisu seire käigus Eesti erinevas paigus. Võttes arvesse ka korese sisalduse on LP muldade domineerivateks lõimisevalemiteks (erimiteks) v°1sl/ls1-2, tsl/ls1-2 ja v°1ls1/ls2-3.



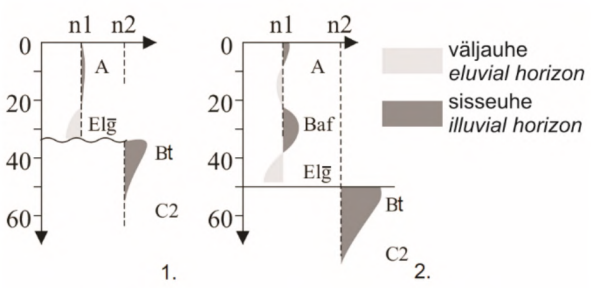
Joonis 5. Kogum kahkja mulla profiilide fotodest. Muld ja selle asukoht: 1 – LP, Maramaa, Tartumaa; 2 – LPg, Lanksaare, Pärnumaa; 3 – LP, Raudsepa, Valgamaa; 4 – LP, Linnamäe, Võrumaa; 5 – LP, Mähkli, Valgamaa ja 6 – LP, Kurgjärve, Võrumaa. Autor: E. Asi metsaseire grupp
Figure 5. *Collection of Pseudopodzolic soils profiles' photos. Soil and its location: 1 – LP, Maramaa, Tartu County; 2 – LPg, Lanksaare, Pärnu County; 3 – LP, Raudsepa, Valga County; 4 – LP, Linnamäe, Võru County; 5 – LP, Mähkli, Valga County and 6 – LP, Kurgjärve, Võru County. Authors: Forest monitoring team of E. Asi*

Kahkjate muldade suurema savisisaldusega alumise mullakihi ülaosa lohkudesse ja lõhedesse on moodustunud väljasopistused (ehk taskud) ja kiilutaolised moodustised (ehk keeled, *glossic*). Soppide ja keelte hele-kahkjas värvus on põhjustatud (1) nendesse ajutiselt kogunenud seisvast (s.o hapnikuvaesest) ülaveest, mille mõjul mulla mineraalsed ühendid on allunud taandumisprotsessidele (*stagnic* nähe) ja (2) siin olevad saviosakesed on uhutud allapoole või kihist välja (*luvic* nähe), mille tõttu soppide ja keelte värvus ongi muutunud heledamaks. Kahe nimetatud protsessi tulemusena on ülemise lõimisekihi alumisse ossa moodustunud Elg̃-horisont. Oma nimetuse (pseudo- ehk näivleetunud) on need mullad saanud kontakteeruva profiiliosa heleda värvuse tõttu, mis näib olevat leetunud, kuid tegelikult ei ole siin ülekaalus mulla mineraalosa täieliku lõhustumise ja väljauhtumisega seotud leetumine, vaid eluvieerumine (s.o mehhaaniline väljauhe) koos gleistumisega.

Seoses saviosakeste sisseuhtega alumise lõimisekihi ülemine osa tiheneb, muutub võrreldes lähtekivimiga savirikkamaks *(argic)* ehk moodustub tekstuurne sisseuhte- ehk Bt-horisont. See horisont on pooride ummistumise tagajärjel tihenenud, ei lase vett hästi läbi ja ajuti

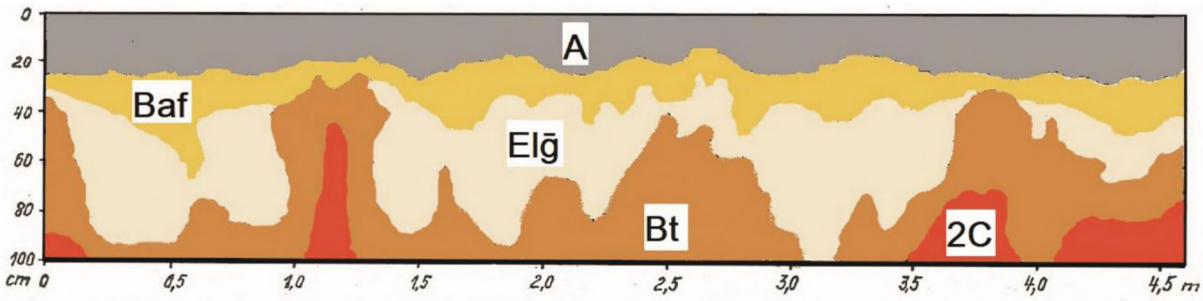
koguneb tema peale ülavesi. Osal kahkjatest muldadest on see horisont kuival ajal massiivne, rabe *(fragic)* ja raskesti kaevatav. Ennekõike kehtib see karbonaadivaeste moreenide puhul, kus happelises keskkonnas on rikkalikult rauarohkeid kolloidkomplekse, mis kuival ajal käituvad mullaosakesi siduva tegurina.

Ajutise ülavee taseme kõikumise toimel võivad Elg̃ kohal oleva mullakihi rauaühendid hapenduda, muutes selle kihi pruunikaks ehk tekib amorfsete rauaühendite poolest rikas Baf-horisont. Kui huumushorisondi alla on tekkinud Baf horisont, siis on tegu pruuni kahkja mullaga, kui aga Baf-horisont puudub ja esineb vaid hele Elg̃-horisont, siis on tegu heleda kahkja mullaga (joonis 6). Joonis 7 on näide pruunide ja heledate kahkjate muldade pedonite suurest varieerumisest. Tavaliselt on kahkjate muldadega alad mullastiku poolest siiski tunduvalt ühtlasemad. Kuid igal juhul on tõsiasi see, et neid kahte kahkja mulla varianti on 1:10000 mullastiku kaardil äärmiselt raske eristada. Vajaduse korral saab kahkja mulla nime täpsustada ühe või teise variandi ülekaalu järgi.



Joonis 6. Näiteid kahekihilise lõimisega kahkja mulla eluvio-akumulatiivsest profiilist. 1 – L(P), hele kahkjas ja 2 – LP, pruun kahkjas muld

Figure 6. *Examples about eluvio-accumulative profiles of Pseudopodzolic soils formed on two-layered texture.*
1 – L(P), Light Pseudopodzolic and 2 – LP, Brown Pseudo-podzolic soil



Joonis 7. Näide pruuni ja heleda kahkja mulla suure varieerumisega pikiprofiilist. I. Rooma (1985) järgi

Figure 7. *Example about longitudinal profile of soil cover, which illustrates the great variability (frequent alternation) of brown and light Pseudopodzolic soils. By I. Rooma (1985)*

Kahkjate muldade jaotamine

EMK on eristatud kahkja mulla liigid (kood, nimetus, profiili valem), milliseid võib võtta ka kui MKÜ-d:

LP – pruun kahkjas muld, A–Baf–Elg̃–2Bt–2C;

L(P) – hele kahkjas muld, A–Elg̃–2Bt–2C;

LPg – gleistunud pruun kahkjas muld, A–Baf–Elg̃–2Bg̃–2C;

L(P)g – gleistunud hele kahkjas muld, A–Elg̃–2Bg̃–2C;

LP^e – nõrgalt erodeeritud kahkjas muld, Ae–(Baf)–Elg̃–2Bt–2C;

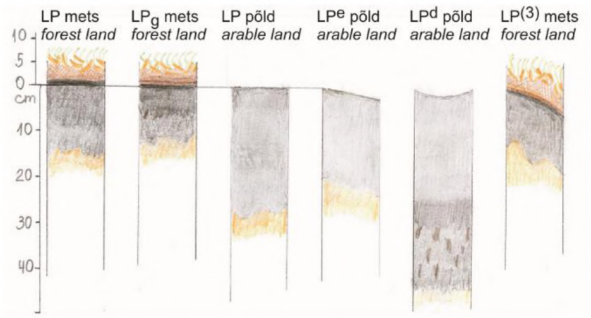
LP^d – nõrgalt pealeuhutud kahkjas muld, Ad–Baf–Elg̃–2Bt–2C;

$LP^{(2,3)}$ – keskmiselt ja tugevasti erosiooniohtlik kahkjas muld.

Kahkjad mullad on oma olemuselt liivsavimoreenidel lasuvad saviliiva või kerge liivsavi lõimise, eluvio-akumulatiivne profiili ja väheste ülagleistumise tunnustega parasniisked mullad. Madalamatel maastiku osadel esinevad koos nendega gleistunud kahkjad mullad (LPg), millede profiilis on ajutise liigniiskuse (*gleyic, stagnic*) tunnuseid ka Elg̃-horisondi all asuvas Btg̃-horisondis, mida näitab rohke raua konkretsioonide ja gleilaikude esinemine. Kahkjate muldade hulka kuuluvad ka nõrgalt liigestatud reljeefiga põllumajandusmaastikel esinevad nõrgalt erodeeritud (LP^e) ja nõrgalt pealeuhtelised (LP^d) kahkjad mullad ning keskmiselt ja tugevasti kallakulistel (kallakusega vastavalt 5−10° ja 10−20° ehk 9−18% ja 18−36%) loodusliku taimkattega alade keskmiselt ($LP^{(2)}$) ja tugevasti ($LP^{(3)}$) erosiooniohtlikud kahkjad mullad. Erosiooniohtlike muldade ülesharimisel vallandub reeglina mulla kiirendatud vee-erosioon.

Kahkjate muldade huumuskattest

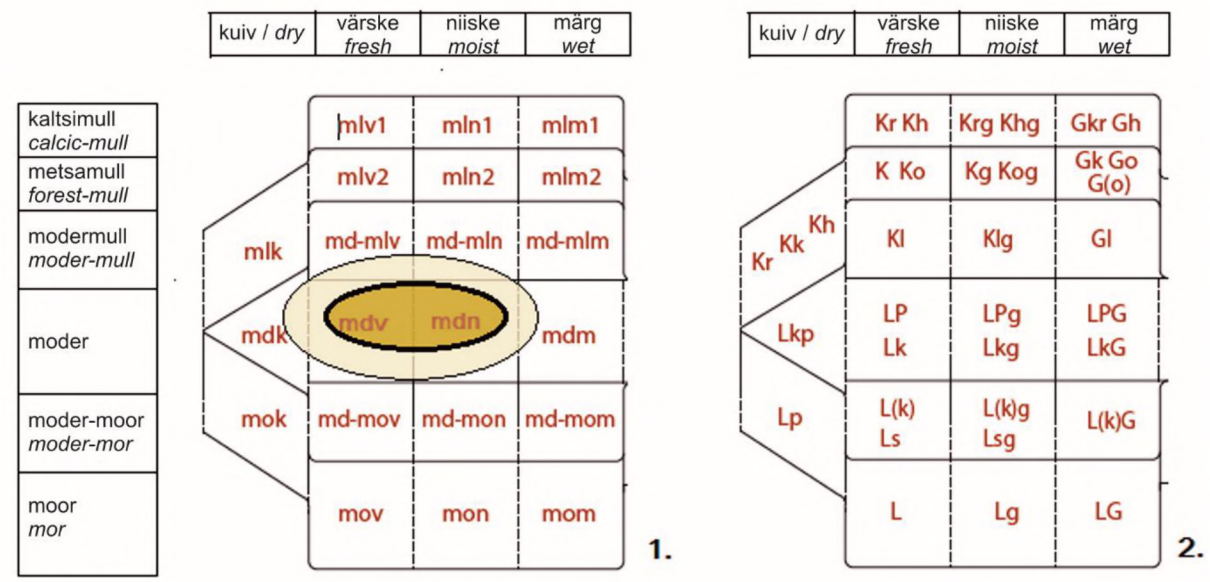
Kahkjate metsamuldade huumuskate koosneb 2–4 cm tüsedusest kihilisest metsakõdu- ehk O-horisondist ja huumus- ehk A-horisondist (joonis 8). Pealmise kihi (O1-horisondi) moodustab ühe- või kaheaastane okka-, lehe-, oksa-, sambla- jms vare ja kulu, mis paikneb laikudena siin-seal alustaimestiku (sambla) sees, moodustamata sageli ühtlast kattekihti. Õhukese metsakõdu korral järgneb varise kihile poollagunenud varise osistest koosnev vähe-humifitseerunud purujas (detriitne) metsakõdu (O2d) kiht. Tihedama samblakatte ja tüsedama metsakõdu korral järgneb varise kihile seenniidistikust läbipõimunud (fermentatiivne) metsakõdu (O2f) kiht ja sellele omakorda hästilagunenud ja/või humifitseerunud tumeda värvusega metsakõdu (O3), mis lasub vahetult mineraalmulla peal.



Joonis 8. Kahkjate muldade huumuskatete morfoloogia sõltuvalt maakasutusest ja mulla liigist (R. Kõlli)
Figure 8. *Morphology of Pseudopodzolic soils' humus cover in dependence of land use and soil species (R. Kõlli)*

Kahkjate metsamuldade kõduhorisondi alla moodustub vähehuumuslik happelise (fulvaatse) huumusega A-horisont, tüsedusega 5–18 cm, mille huumusesisaldus väheneb järk-järgult sügavuse suunas. Mulla suure orgaanilise aine, huumuse või süsiniku sisalduse (%, g kg^{-1}) heterogeensuse tõttu ei sobi selle kontsentratsiooninäitajad kuigi hästi taoliste muldade iseloomustamiseks. Õigem on neid muldi iseloomustada nende varu (g m^{-2}, Mg ha^{-1}) ja huumuskatte tüübi abil (Kõlli, 1992; Zanella *et al.*, 2018). Huumusprofiilide ülesehituse järgi on parasniiskete kahkjate metsamuldade huumuskatteks (huumusvormiks) *värske moder* (mdv) ja gleistunud muldadel *niiske moder* (mdn) (joonis 9).

Kahkjate muldade põllustamisel segatakse huumuskate harimise käigus suhteliselt ühtlaseks. Peale selle on ta enamjaolt veel ka süvendatud, lubjatud, väetatud ja vajaduse korral kuivendatud. Selliselt ümbertöötatud LP huumuskate (praktiliselt Ak ehk künnihorisont) on üldiselt siiski madala kvaliteediga. Valdavalt on ta vähehuumuslik, suure fulvaatse huumuse osakaaluga ja küllastumata (happeline), mida iseloomustab hästi WRB tunnussõna *umbric*. Samas võib ta olla mullaharimise käigus muudetud *mollic* (küllastunud pehmehuumusliku) sarnaseks.



Joonis 9. Kahkjate metsamuldade huumuskatte tüüpide seos mullaliikidega. 1 – huumuskatte tüübi koodid; 2 – mullaliigi koodid. Tugevama seosega ala on näidatud tumedas ja üleminekuala heledas toonis
Figure 9. *Correlation of forest Pseudopodzolic soils' humus cover types with soil species. 1 – codes of humus cover types and 2 – codes of soil species. The main areal is given in dark, but the transitional area in light tones*

Kahkjate muldade omadustest

Kahkjate muldade piirkondlikud erisused sõltuvad suurel määral lähtekivimi karbonaatsusest (tabel 1). Lõuna-Eesti punakaspruuni moreeni korral on LP muldkatte alused kihid mõõdukalt kuni nõrgalt happelised, Kesk-Eesti kollakashalli või kollakaspruuni moreeni korral aga neutraalsed. Looduslike kahkjate muldade huumuskate on reeglina mõõdukalt või tugevalt happeline. Kahkjate põllumuldade künnikihi happesus on aga tänu korduvale lupjamisele nõrgalt happeline (pH_{KCl} >5,6) või väiksemas ulatuses isegi neutraalne. Põldude puhul on nende muldade happesus suurim näivleetunud kihis ehk huumushorisondist sügavamal asuvates kihtides.

Kruusa või raudkiviveeriselist korest leidub kahkjate muldade ülemistes kihtides vaid vähesel määral. Kruusarikkamad on kahe lõimisekihi piiril olevad sopistused. Muldkatte korese- ja kivirohkus on kooskõlas moreeni omadustega. Kohati on nende künnihorisont nõrga kuni keskmise kivisusega, mille tõttu vajavad põllud regulaarset kivikoristust.

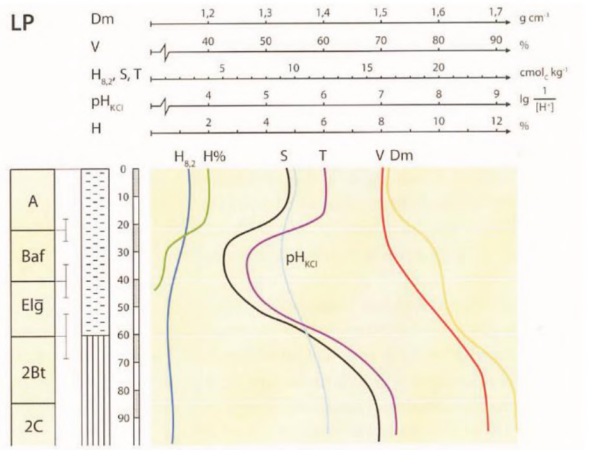
Kahkjad põllumullad, mis on külviajaks kobestatud, saavutavad oma tasakaalulise lasuvustiheduse (1,45–1,55 Mg m^{-3}) teraviljade kasvuperioodi lõpuks. Metsas on huumuskihi lasuvustihedus kogu vegetatsiooniperioodi jooksul väike ehk muld on hästi õhustatud ja kobe. Metsakõdu lasuvustihedus sõltub ennekõike kõdu segunemise määrast tema all olevate mineraalsete horisontidega. Vähese 'mullasuse' korral on see 0,10–

0,15 Mg m^{-3}, kuid suurema segunemise korral on ta mitmekordselt suurem 0,2–0,4 Mg m^{-3} ja enam.

Tabel 1. Kahkjate (LP) põllu- ja metsamuldade huumuskatte omadused
Table 1. *Humus cover's properties of arable and forest Pseudopodzolic soils (LP)*

Näitaja, ühik /*Characteristic, unit*	LP, põld *field*	LP, mets *forest*	
Mullaerimi lõimise valem *Formula of soil varieties texture*	sl/ls1-2	sl/ls1-2	
Horisondi kood / *Code of horizon*	A	O	A
Tüsedus / *Thickness*, cm	27–29	2–5	10–21
pH_{KCl} / pH_{KCl}	5,6–6,1	3,4–4,1	3,8–4,4
C_{org} sisaldus / *Content of* C_{org}, g kg^{-1}	10–13	320–380	15–20
$N_{üld}$ sisaldus / *Content of* N_{tot}, g kg^{-1}	1,0–1,3	7,5–9,0	1,0–1,5
Huumusvaru / *Stock of humus*, Mg ha^{-1}	70–95	65–85	
Lämmastiku varu *Stock of nitrogen*, Mg ha^{-1}	5–6	2–4	
C : N / *C : N*	9–12	15–20	
Neelamismahutavus *Cation exchange capacity*, kmol ha^{-1}	400–550	320–450	
Neelava kompleksi küllastatus alustega *Percentage of base saturation, %*	75–90	30–40	

Liikuvate toiteelementide (P, K, N) sisaldus on kahkjates muldades üldiselt tagasihoidlik, sest mullad on happelised ja väikese neelamismahutavusega. Kahkjate põllumuldade huumuskate on võrreldes teiste Eesti põllumuldadega valdavalt alla keskmise või väikese huumusesisaldusega. Joonisel 10 on näidatud punakaspruunil moreenil moodustunud kahkja põllumulla füüsikaliste ja keemiliste omaduste reeglipärast muutumist muldkatte sügavuse suhtes.



Joonis 10. Punakaspruunil moreenil moodustunud kahkja saviliiv-liivsavil mullaerimi profiil ning füüsikalised ja keemilised omadused põllul (Mudel P15; EMDK, 2008)
Figure 10. *Model profile and physical-chemical properties of arable Pseudopodzolic loamy sand on sandy loam soil variety formed on reddish brown moraine (Model P15; EMDK, 2008)*

Talitluslikud iseärasused

Kahkjad mullad on oma loomult nõrgalt liigniisked, mis tähendab teiste parasniiskete muldadega võrreldes mõnepäevast hilinemist kevadise harimisküpsuse saabumisel. Ka vähesest huumusesisaldusest tulenev mullapinna hele värvus (suur albeedo) lükkab kahkjate põllumuldade kevadise aeglasema soojenemise tõttu põllutööde alguse mõne päeva võrra edasi. Samuti võib kevad-suvine ajutine ülavesi halvendada nende muldade juurte levikutsooni õhustatust. Gleistunud kahkjatel muldadel on pikemat aega liigniiske veel ka sisseuhtehorisont (2Btḡ).

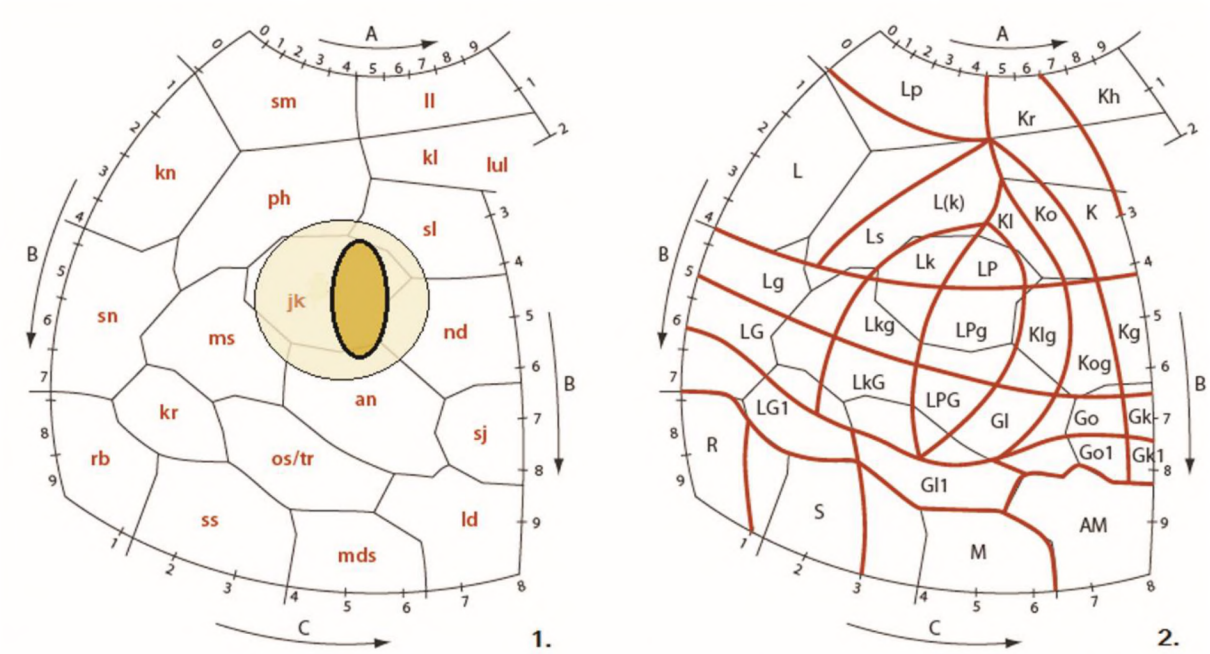
Värskelt haritud kahkjate muldade õhustatus võib olla häiritud pärast intensiivseid sademeid mullapinnale tekkinud kooriku tõttu, mille eelduseks on tolmjas lõimis ja vähesest huumusesisaldusest tingitud halb struktuursus. Sügiseste vihmade ülaveest küllastunud mullaprofiili keskosa muutub neil kergesti voolavaks, mis takistab põllutöömasinate kasutamist koristustöödel. Metsastatud kahkjatel muldadel ajutine ülavesi, mulla paakumine ja ajutine halb läbitavus probleeme ei tekita. Samas tuleb mainida, et gleistunud kahkjate muldade niiskustingimused on metsa kasvuks isegi paremad kui parasniiskete omad.

Mullaelustiku tegevus looduslikes karbonaadivaestes kahkjates muldades on pidurdunud või väheaktiivne, mis nähtub metsakõdu tüsenemisest O2f kihi arvel ja O3-horisondi vähesest segunemisest huumushorisondiga. Veelgi rohkem on mullaelustiku tegevus pidurdunud gleistunud kahkjates muldades, kus huumuskate on ajutise liigniiskuse tõttu muutunud toorhuumuslikumaks. Suurt mõju mulla bioloogilisele aktiivsusele avaldab vabade karbonaatide olemasolu moreenis. Karbonaatsema aluskihiga muldades paraneb bioloogilise migratsiooni toimel huumuskatte kaltsiumiseisund, väheneb selle happesus ning intensiivistub kõdu lagunemine ja humifikatsioon. Taolistes muldades on metsakõdu õhuke (1–2 cm) või puudub hoopiski suve keskel.

Kahkjate muldade põllustamisel viiakse kogu varise kaudu juurde tulev orgaaniline aine A-horisonti ehk suurem osa orgaanilisest ainest akumuleerub endogeensel kujul (st mulla sisse mitte selle pinnale). Selle tagajärjel asendub seeneline lagunemine bakteriaalsega, intensiivistub vihmausside tegevus, orgaaniline aine humifitseerub intensiivsemalt ja seostub tugevamini mineraalse osaga, mulla struktuursus muutub vastupidavamaks ning kasvab huumushorisondi tüsedus.

Taimkattest ja metsamulla elustikust

Kahkjate muldade looduslikult moodustunud (põlis-) taimkatteks on hõreda alusmetsaga laanemetsad jänesekapsa- ja jänesekapsa-mustika kuusikute, männikute ja okas-lehtpuu sega-puistutega (joonis 11). Samblarinne on neil muldadel enamasti pidev ja hästi välja kujunenud (domineerivad laanik, palusammal, kaksikhammas, lehviksammal jt). Nende keskmise liigirikkusega madalale rohurindele kaasneb hõre puhmarinne.

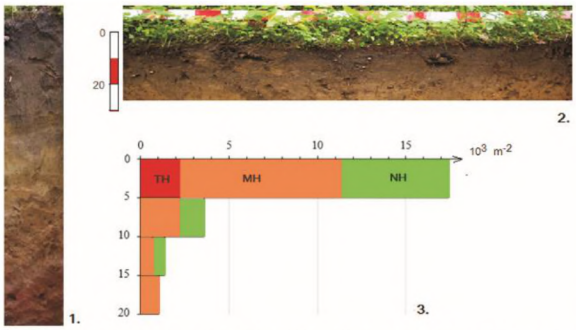


Joonis 11. Kahkja mulla ja metsakasvukohatüübi vaheline seos E. Lõhmuse ordinatsiooniskeemi taustal. 1 – kasvukohatüübi koodid ja 2 – mullaliigi koodid. Tugevama seosega ala on näidatud tumedas ja üleminekuala heledas toonis

Figure 11. *Interrelationship of Pseudopodzolic soil with forest site types demonstrated on the background of E. Lõhmus' forest site types' ordination schema. 1 – codes of forest site types and 2 – codes of soil species. The main areal is given in dark, but the transitional area in light tones*

Enamasti fragmentidena esinevateks kahkjatele muldadele omasteks looduslikeks palurohumaadeks on parasniisketel (LP) muldadel hariliku kasteheina – punase aruheina, maarjaheina, võnkvarre ja lamba-aruheina – jussheina kooslused ning niisketel (LPg) muldadel hirsstarna – hariliku tarna ja tedremarana – luht-kastevarre kooslused.

Meie koostöö partneri U. Graefe poolt (2015) on kindlaks tehtud Kaagvere kahkja metsamulla huumuskatte valgeliimuklaste liigiline koostis ja arvukus ühe ruutmeetri kohta (tabel 2; joonis 12).



Joonis 12. Valgeliimuklaste paiknemine Kaagvere kahkjas metsamullas.1 – LP pedon; 2 – LP huumuskatte pikiprofiil, ja 3 – Valgeliimuklaste kui mulla happesuse indikaatorite arvukus huumuskattes. U. Graefe (2015) järgi

Figure 12. *Location of Enchytraeidaes in the Pseudopodzolic forest soil of Kaagvere.1 – LP pedon; 2 – LP longitudinal profile of humus cover, and 3 – Enchytraeidaes as soil acidity indicators abundance in humus cover. By U. Graefe (2015)*

Tabel 2. Valgeliimuklaste *(Enchytraeidae)* liikide nimestik ja arvukus Kaagvere kahkja metsamulla huumuskattes

Table 2. *Species list and abundance of Enchytraeidae in the humus cover of Pseudopodzolic forest soil of Kaagvere*

Liik, arvukus, happesuse indikatsioon *Species, abundance, indication of acidity*	Arvukus *Abundance* 10^2 m^{-2}	Happesuse indikatsioo *Indication of acidity*
Cognettia sphagnetorum	22,1	T / *S*
Enchytronia parva	127,3	M / *M*
Enchytronia pygmaea	23,8	N / *W*
Fridericia bulboides	20,4	N / *W*
Fridericia connata	28,9	N / *W*
Fridericia sp. juv.	10,2	N / *W*
Mesenchytraeus flavus	1,7	M / *M*
Arvukus kokku / *Total abundance*, 10^2 m^{-2}	234,4	-
Tugev happesus (T) / *Strong acidity (S)*	-	9%
Mõõdukas happesus (M) *Moderate acidityM)*	-	55%
Nõrk happesus (N) / *Weak acidity (W)*	-	36%
Liikide arv / *Number of species*	7	-

Viljakus ja kasutamine

Kahkjate metsamuldade aasta fütoproduktiivsus (12–15 Mg ha^{-1} a^{-1}) on Eesti muldade seas üks kõrgemaid kuna nende puistud on enamasti Ia–I (harvem II) boniteediga. Haritava maana kasutamisel on kahkjate ja kuivendatud kahkjate muldade viljakus üle keskmise - nende boniteet on enamasti 40–50 hindepunkti ehk siis tegemist on VI hindeklassi maaga. Kahkjad põllumullad sobivad hästi lina, teraviljade (eriti rukki), kartuli ja põldheinte kasvatamiseks.

Gleistunud kahkjate muldade kasutamine põllumaana nõuab nende korralikku kuivendamist ning perioodilist lupjamist ja sügavkobestamist. Kuivendatud gleistunud kahkja mulla kasutussobivus on praktiliselt võrdne

sama liiki parasniiskete muldadega. Teatud kindla kultuurrohumaataimede segu korral sobib LPg mulda kasutada ka ilma kuivendamiseta.

Kahkja mulla kasutamisel põlluna on probleemiks (1) ajuti tekkiv ülavesi (maaharimine hilineb, takistab agrotehniliste võtete õigeaegset rakendamist, raskendab põllukultuuride koristamist vihmastel suvedel); (2) väike huumuse- ja kaltsiumisisaldus (huumuskatte halb struktuursus, väike neelamismahutavus, mullakooriku tekke oht, mulla toiteelementide defitsiitsus), ja (3) tihese teke künnihorisondi alla, mille negatiivse mõju saab kõrvaldada mulla sügavkobestamisega. Üldreeglina tuleks neil muldadel vältida ülavee esinemise perioodil raskete masinate kasutamist.

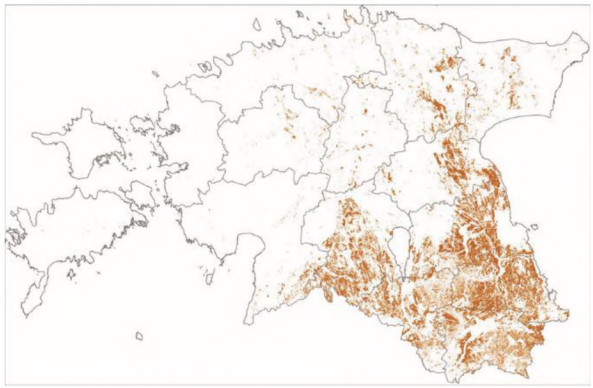
Kahkjate muldade kasutamisele põlluna peaks kaasnema nende regulaarne kaltsiumi- ja huumusseisundi parandamine ning põllult saagiga eemaldatud toiteelementide mulda tagastamine. Huumuskatte rikastamisele orgaanilise ainega ja struktuursuse paranemisele aitab kaasa maa võimalikult pikemaaegne aastaringne kaetus taimkattega. Orgaanilise aine varusid aitab tasemel hoida põldheina ja liblikõieliste segu kasvatamine külvikorras. Tasakaalustunud huumusseisundi säilitamiseks ja viljakuse taastootmiseks vajab see muld külvikorra ühe aasta keskmisena *ca* 4–6 tonni kuiva orgaanilist ainet ühe hektari huumuskatte kohta. See kogus võiks tulla kas koristusjäätmetest, orgaanilistest väetistest või kohapeal kasvatatud vahekultuuridest.

Kahkjate metsamuldade toitetingimused taastuvad järjepidevalt tänu metsataimestiku sügavama juurestiku talitlemisele, mis rikastab bioloogilise migratsiooni teel mulla intensiivse aineringega kihti ehk huumuskatet. Aineringe intensiivistub alusmetsa lehevarise ja alustaimestiku rohundite toimel.

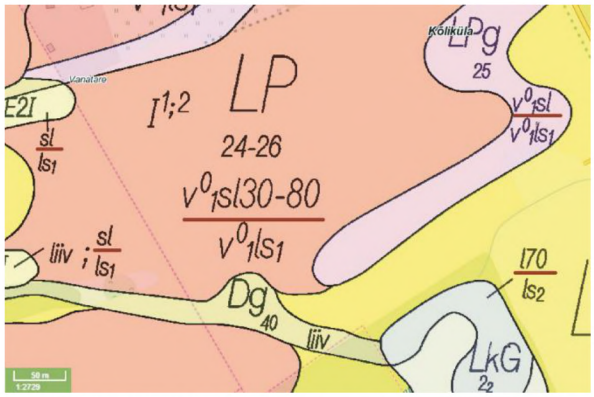
Kahkjate muldade levik, piirkondlikud erisused ja seotus teiste muldadega

Kahkjad mullad domineerivad Põlva, Valga, Võru ja Tartu maakondade muldkattes ning on küllaltki olulised ka Viljandi ja Jõgeva maakondades (joonis 13). Maastiku suhtes võttes (Arold, 2005) leidub neid muldasid rohkesti Kagu-Eesti lavamaadel ja Sakala kõrgustikul, olulised on nad Otepää, Haanja ja Karula kõrgustike laugematel aladel ning Vooremaa idaosa voortel. Kaasnevate muldadena esineb neid veel ka Pandivere kõrgustikul.

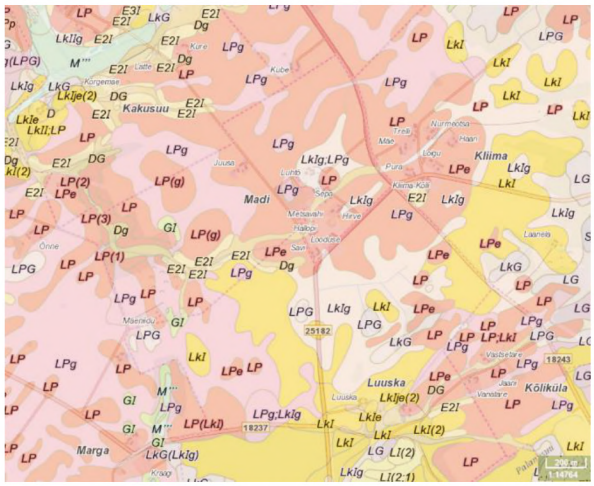
I. Rooma järgi (1987) esineb Eestis kolm piirkondlikult erinevat kahkja mulla varianti: (1) Kagu-Eesti (Põlva ja Tartu agro-mullastikuliste mikrorajoonide (AMR)) karbonaadivabal või -vaesel punakaspruunil moreenil levivad sügavalt happelised, huumusvaesed, mullaprofiili keskosas halva veeläbilaskvusega ja kestvamalt ülavee all kannatavad kahkjad mullad (joonised 14 ja 15); (2) Viljandi ja Elva AMR-des levivad sügavalt karbonaatsel punakas- või kollakaspruunil moreenil arenenud kahkjad mullad, mis on mullaprofiili keskosani happelised, keskmise huumusesisaldusega, hea või rahuldava veeläbilaskvusega ja kannatavad eelmistest lühema aja jooksul ülavee all, ja (3) Kesk-Eesti kahkja mulla variandid, mis on arenenud sügavalt karbonaatsel hallikaspruunil moreenil, on mullaprofiili keskosani happelised, samas kõrge huumusesisaldusega, rahuldava või hea vee läbilaskvusega ja kannatavad vaid lühiajaliselt ülavee all.



Joonis 13. Kahkjate muldade levik Eesti muldkattes. Koostajad: P. Penu ja T. Kikas
Figure 13. *Distribution of Pseudopodzolic soils in the soil cover of Estonia. Compiled by* P. Penu and T. Kikas



Joonis 14. Väljavõte digitaalselt mullastiku kaardilt mõõtkavas 1:2729: Keskmes LP mulla kontuur koos teabega mulla kohta (MA GP, 2014)
Figure 14. *Excerpt from the digital soil map with scale 1:2729: In middle the contour of Pseudopodzolic soil (LP) is presented with substantial information on this soil (MA GP, 2014)*



Joonis 15. Väljavõte digitaalselt mullastiku kaardilt mõõtkavas 1:14764: Mullaliikide levik on näidatud koodidega, väljavõte kajastab joonisel 2 kujutatud maastiku mullastikku (MA GP, 2014)
Figure 15. *Excerpt from the digital soil map with scale 1:14764: The distribution of soil species is given by soil codes. Excerpt reflects represented on the Fig. 2 landscape's soil cover (MA GP, 2014)*

Oma levialal moodustavad kahkjad mullad kooslusi reljeefi kõrgematel aladel asuvate leetunud ja leetjate muldadega. Gleistunud kahkjad mullad esinevad kitsaste ribadena parasniiskete muldade (kahkjad, leetjad) ja küllastumata gleimuldade üleminekualadel. Positsioneerides kahkjate muldade taksonoomilise asukoha teiste muldade hulgas (joonis 4), tulevad hästi esile nendele geneetiliselt lähemal asuvad mullaliigid, mis on ka enamasti nendele kaasnevateks muldadeks. Sama põhimõte kehtib ka mulla omadustest tulenevate huumuskatte tüüpide (joonis 9) ja kasvukohatüüpide kohta (joonis 11).

Tänuavaldus
Autorid avaldavad tänu PUK Mullaseirebüroo juhatajale P. Penule kahkjate ehk näivleetunud muldade levikukaardi hankimise eest; IPC Eesti Metsaseire grupi juhile E. Asile kahkjate muldade profiilidest tehtud fotode ja nende avaldamisele lubamise eest ning Tõnis Tõnutarele abi eest jooniste koostamisel.

Huvide konflikt / *Conflict of interest*

Autorid kinnitavad artikliga seotud huvide puudumist
The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.

Autorite panus / *Author contributions*

RK, TT, TK – kavandamine ning alade ja materjali kogumine;
RK, TT, TK – fotode ja jooniste valmistamine;
RK, TT – käsikirja kirjutamine ja toimetamine;
RK, TT, TK – lõplik heakskiitmine.
RK, TT, TK – design, collection of materials;
RK, TT, TK – preparation of Photos and Figures;
RK, TT – writing and editing;
RK, TT, TK – final approving.

Kasutatud kirjandus

Arold, I. 2005. Eesti maastikud. – Tartu Ülikooli Kirjastus, Tartu. 453 lk.

Astover, A., Reintam, E., Leedu, E., Kõlli, R. 2013. Muldade väliuurimine. – Eesti Loodusfoto, Tartu, 70 lk.

Eesti muldade digitaalne kogu (EMDK) 2008. Eesti Maaülikool (võrguteavik). – http://mullad.emu.ee. Viimati külastatud 15.10.2018.

Eesti Põllumajandusprojekt (EPP) 1982. Eesti NSV muldade inventeerimisühikute nimestik. Kaardistamisühikute lühidiagnostika. – Käsikiri RPI Eesti Põllumajandusprojektis, 19 lk.

Ellermäe, O., Kask, R., Kõlli, R., Lemetti, I., Penu, P., Reintam, L., Tarn, T. 1998. Eesti muldade klassifitseerimist käsitlevate publikatsioonide nimestik. Eesti muldade klassifitseerimise probleeme. – EPMÜ teaduslike tööde kogumik 198:115–132.

Graefe, U., Kõlli, R., Milbert, G., Broll, G. 2015. Biological indicators of topsoil formation: a case study from forest sites in Estonia. – Jahrestagung der DBG, München, 5.–10.9.2015, 1 s.

IUSS Working Group WRB 2015. World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. – World Soil Resources Reports No. 106. FAO, Rome, 192 p.

Kõlli, R. 1992. Production and ecological characteristics of organic matter of forest soils. – Eurasian Soil Sci., 24(6):78–91.

Kõlli, R., Köster, T. 2018. Interrelationships of humus cover (*pro* humus form) with soil cover and plant cover: humus form as transitional space between soil and plant. – Appl. Soil Ecol., 123:451–454, doi: 10.1016/j.apsoil.2017.07.029

Lõhmus, E. 2006. Eesti metsakasvukohatüübid. – Eesti Loodusfoto, Tartu, 80 lk.

Maa-ameti geoportaal (MA GP) 2014. – Mullakaart.geoportaal.maaamet.ee/est/Kaardiserver-p2.html Viimati külastatud 15.10.2018.

Reintam, L. 1986. Muldade määraja. – Eesti Põllumajanduse Akadeemia, Tartu, 24 lk.

Rooma, I. 1985. Kahkja, leetja ja leostunud mulla profiili ehituse muutumisest ning nende elementaarareaalide suurusest ning vaheldumisest. – Eesti NSV mullastik arvudes, V, ENSV ATK IJV, Tallinn, 71−79.

Rooma, I. 1987. Kahkjate muldade levik ja omadused Eesti NSV-s. − Eesti NSV mullastik arvudes, VI, ENSV ATK IJV, Tallinn, 35−44.

Zanella, A., Ponge, J.-F., Jabiol, B., Sartori, G., Kolb, E., Le Bayon, C., De Waal, R., Van Delft, B., Vacca, A., Gobat, J.M., Serra, G., Chersich, S., Andreetta, A., Kõlli, R., Brun, J.J., Cools, N., Englisch, M., Hager, H., Katzensteiner, K., Brethes, A., Broll, G., Graefe, U., Wolf, U., Juilleret, J., Garlato, A., Galvan, P., Zampedri, R., Frizzera, L., Baritz, R., Banas, D., Kemmers, R., Tatti, D., Fontanella, F., Menard, R., Filoso, C., Dibona, R., Cattaneo, D., Viola, F. 2018. Humusica 1, article 5: Terrestrialhumussystems and forms Keys of classification of terrestrialhumussystems and forms. – Appl. Soil Ecol. 122(P1):75−86, doi: 10.1016/j.apsoil.2017.06.012

Review: Pseudopodzolic soils in Estonian soil cover

Raimo Kõlli[1], Tõnu Tõnutare[1], Tarmo Kõlli[2]

[1]Estonian University of Life Sciences, Institute of Agricultural and Environmental Sciences, Chair of Soil Science, Fr. R. Kreutzwaldi 5, 51006 Tartu, Estonia
[2]Viru Õlu Ltd Haljala, Rakvere Road 7, 45301 Haljala, West-Viru County, Estonia

Summary

For the year 2018 soil of Estonia were elected Pseudopodzolic soils (Photo 1). The Pseudopodzolic soil's species (which is Estonian Soil Classification taxon, identified by soil genesis) form approximately 10% from whole soil cover of Estonia. The high valuableness of Pseudopodzolic soils is proved by their abundant (ca 2/3) use in the quality of arable land and

high percentage (ca 23%) among agriculturally used lands. For the dominating soils they are in the soil cover of South-East Estonian Plateaus (Photo 2). In the introductory part of this review the problems connected with naming of these soils are treated. Besides of data basis 'Pedon' in characterization of above mentioned soils the legacy data of Estonian Agriproject (EPP), published in local scientific issues articles and used in teaching of students' materials were used. Main part of year 2018 soil introducing is done after the principles of Estonian Soil Classification (EMK). Besides that, in the characterization of soil properties and functioning the qualifiers of WRB are largely used as well. In the work the data on soil properties are presented separately for arable and forest soils giving their comparative analysis and dealing with the changes in soil properties in connection with land use change. Separately are treated as well the two layers of soil (1) the soil humus cover (pro humus form) or humipedon and (2) soil cover or solum as a whole. Substantial part of the work is consecrated (1) to the soil plant cover and to the *Enchytraeidae*s living in forest soils' humipedon, (2) to the soil productivity and peculiarities of their usage, and (3) to the distribution of pseudopodzolic soils in Estonian soil cover and to the association of these soils with other soil species. Article contains 2 tables and it is illustrated by 12 Figures or 3 Photos.

Agraarteadus
2 * XXIX * 2018 106–114

Journal of Agricultural Science
2 * XXIX * 2018 106–114

KAERA LISASÖÖTMISE MÕJU ROHUSÖÖDARIKASTE RATSIOONIDE KASUTAMISEL UTTEDE TOITUMUSELE, JÕUDLUSELE NING VERE GLÜKOOSI JA β-HÜDROKSÜ-BUTÜRAADI SISALDUSELE MAHEFARMIDES

EFFECT OF ADDITIONAL OAT SUPPLEMENTATION IN FORAGE-BASED FEEDING DURING GESTATION AND LACTATION PERIODS ON EWE BODY CONDITION, PERFORMANCE, BLOOD GLYCOSE AND β-HYDROXYBUTYRATE CONCENTRATION IN ORGANIC FARM

Peep Piirsalu[1], Tanel Kaart[2], Jaak Samarütel[1], Silvi Tölp[1], Aire Ilves[1], Hanno Jaakson[1], Irje Nutt[1]

[1]Eesti Maaülikool, veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, söötmisteaduse õppetool, Fr. R. Kreutzwaldi 62, 51006 Tartu
[2]Eesti Maaülikool, veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, tõuaretuse ja biotehnoloogia õppetool, Fr. R. Kreutzwaldi 62, 51006 Tartu

Saabunud: Received: 13.12.2018
Aktsepteeritud: Accepted: 02.01.2019

Avaldatud veebis: Published online: 02.01.2019

Vastutav autor: Corresponding author: Peep Piirsalu
E-mail: peep.piirsalu@emu.ee

Keywords: ewe body condition score, ewe production, oat supplementation, forage-based feeding, glycose, β-hydroxybutyrate, organic farm.

doi: 10.15159/jas.18.13

ABSTRACT. The aim of this study was to estimate the feeding strategies of pregnant and lactating ewes fed only silage/hay or supplemented with concentrates (oat) on the ewe body condition score (BCS), production of ewes (lambs born per ewe lambed (LB), lambs born alive per ewe lambed (LBA), lambs born dead per ewe lambed (LBD), lamb birth weight (LBW), lamb 100 day weight (L100DW)) and ewe blood glycose and β-hydroxybutyrate (BHB) concentrations. The Estonian White Face and Texel ewes (107 ewes) were divided into two similar groups: the experimental group (59 ewes) and control group (48 ewes). For 45–60 days before lambing (from 90th–105th day of gestation) the experimental ewes were fed in addition to forage feeds (silage, hay or pasture grass) 0.22 kg of organic oat per day (totally 10 kg in gestation period) and 0.3 kg of oat during suckling period (totally 13.5 kg per ewe). The control group of ewes were fed only with forage-based rations (silage, hay, pasture grass) without cereals. Ewe BCS was assessed before mating, on 130–140 day of pregnancy, after lambing (following 7th–10th day), during the 2nd suckling months (45–60 suckling day) and at weaning of lambs by two observers during the whole study. It was concluded that additional feeding of minimal amount of oats increased the ewes BCS in the experimental group at 130–140 day of pregnancy (BCS was respectively 3.36 and 2.97, $p < 0.001$) and on the 45–60th suckling day (BCS respectively 2.84 and 2.52, $p < 0.001$) compared with control ewes, but did not affect BCS of ewes at the end of the experiment (at weaning). Production traits (LBA, LBW, L100DW) nor ewes blood glycose and β-hydroxybutyrate (BHB) concentrations at the 130–140 days of pregnancy and 7–10 days after lambing were not affected by supplementation of oat to ewes' diet.

© 2018 Akadeemiline Põllumajanduse Selts. Kõik õigused kaitstud. 2018 Estonian Academic Agricultural Society. All rights reserved.

Sissejuhatus

Uttede talvine söötmine põhineb Skandinaavia riikide ja Baltimaade mahelambafarmides rohusöötadel, sest kõik Euroopa Liidu mahetootjad peavad söötma oma rohusööjaid loomi (veised, hobused, lambad, kitsed) 100% ulatuses mahepõllumajanduslikult toodetud söödaga. Seepärast mahelambakasvatajad söödavad oma loomi peamiselt rohusöödaliste ratsioonidega, kusjuures püütakse minimaliseerida teraviljade kasutamist. Maheteraviljad on lammastele söötmiseks kallid

ning paljud mahetootjad ei soovi teravilja ise kasvatada. Lambafarmides on peamisteks rohusöötadeks suveperioodil karjamaarohi ning talvisel perioodil silo ja hein. Uttede toitainete vajadus erineb sigimisperioodi erinevatel perioodidel. Toitainete vajadus on suur tiinusperioodi teisel poolel (eriti kui uted kannavad kaksik- või kolmiktallesid) ja uttede imetamisperioodil. Söödaga saadav energiatase ei kata alati nendel perioodidel uttede toitefaktorite tarvet ja uted kasutavad oma kehavarusid (Mendizabal jt, 2011; Piirsalu jt, 2012, 2013). Toitumuse langus võib põhjustada uttede sigimis- ja viljakusnäitajate ning piimakuse langust, samuti ka sündinud tallede madalamat sünnimassi ning sellest tingitud suuremat tallede väljalangemist. Sellest lähtuvalt on soovitatud just tiinusperioodi teisel poolel ja imetamisperioodi alguses lisaks silole ja heinale lisada ratsioonidesse teravilja (kaer, oder). Seepärast on uttede söötmisel vajalik kujundada selline söötmisstrateegia, mis ei põhjusta uttede jõudluse langust ning tagab ka tallede vajaliku arengu (Piirsalu jt, 2013). Samade probleemide lahendamine on viimastel aastatel olnud eesmärgiks ka teiste Skandinaaviamaade teadlastel (Bernes jt, 2012; Bernes, Stengärde, 2012) ja Uus-Meremaal (Gronqvist jt, 2016). Paljude autorite arvates on uttede toitumuse hindamine oluline abinõu farmi söötmistaseme hindamisel (Fthenakis jt, 2012; Russel, 1984). Loomade energiabilanssi ja keharasva efektiivsust saab hinnata vere seerumi glükoosi ja ketokehade – β-hüdroksübutüraadi kontsentratsiooni järgi (Pichler jt, 2014). Käesoleva uurimistöö eesmärgiks oli uurida tiinetele ja imetavatele uttedele söödetud mahekaera mõju uttede toitumusele, jõudlusnäitajatele ja vere glükoosi ning β-hüdroksübutüraadi kontsentratsioonile.

Materjal ja metoodika

Katsed viidi läbi Lääne-Virumaal Rehekivi OÜ mahelambafarmis, kus jälgiti lammaste söötmise tavapraktikat. Katseperiood algas uttede paarituse algusega 10. oktoobrist 2013. aastal ja lõppes uttede imetamisperioodi lõppedes tallede võõrutamisega 24. juulil 2014. aastal. Uttede jõudlus- ja põlvnemisandmed saadi jõudluskontrollisüsteemist Pässu.

Katsesse valiti 107 eesti valgepealist ja tekseli tõugu utte, kes olid poeginud 1–8 korda. Katses osalenud põhikarja uted jaotati kahte rühma: katserühm (59 utte) ja kontrollrühm (48 utte). Mõlemas rühmas olid uted sama vanusega (keskmine poegimiste arv ute kohta 3,6). Uuringus osalenud uttedest 49 oli eesti valgepealist ja 58 tekseli tõugu, kusjuures katse- ja kontrollrühmas oli uttede tõuline jaotus sarnane – katserühmas oli eesti valgepealisi uttesid 44% ja kontrollrühmas 48%. Uttede füüsiline eraldamine kahte rühma toimus pärast paaritusperioodi lõppu. Katserühma tiinetele uttedele söödeti lisaks rohusöötadele 45–60 päeva jooksul enne poegimist ute tiinusperioodi 90.–105. päevast kuni poegimiseni 220 g mahekaera ute kohta päevas. Kokku söödeti katserühmas ühe ute kohta sellel perioodil kokku 10 kg mahekaera. Kontrollrühma uttesid söödeti ainult rohusöödalise ratsiooniga.

Imetamisperioodi alguses söödeti katserühma uttedele lisaks rohusöötadele 300 g mahekaera (45 päeva jooksul kokku 13,5 kg ute kohta). Kontrollrühma uttedele söödeti imetamisperioodil ainult rohusööta.

Põhikarja uttede söötmist jälgiti nii paarituseelsel perioodil, paaritus-, tiinuse alg- (esimesed kolm kuud) ja lõppfaasis ning imetamisperioodil (imetamisperioodi esimesed kaks kuud, imetamise kahest kuust kuni võõrutamiseni). Söödaproovid võeti kõikidest kasutusel olnud söötadest. Kokku analüüsiti 6 karjamaarohu, 5 heina, 4 silo ja 2 kaera proovi.

Söödaproovid analüüsiti EMÜ VLI söötmise osakonna sööda ja ainevahetuse uurimise laboris, kus määrati sööda kuivaine sisaldus ning proteiini-, tootuha-, toorkiu- ja toorrasva sisaldus sööda kuivaines (AOAC, 2005). Saadud näitajate põhjal arvutati söötade metaboliseeruva energia sisaldus. Söödad kuivatati konstantse kaaluni (60 ºC juures) ja jahvatati (läbimõõt kuni 1 mm). Toortuha kontsentratsiooni määramiseks proov tuhastati muhvelahjus 550 °C juures. Toorproteiin määrati Kjeldahli meetodil, kasutades Kjeltec 2300 analüsaatorit (FOSS Tecator Technology). Toorkiusisaldus määrati Fibretec süsteemiga, toorrasvasisaldus Soxtec 2043 süsteemiga (FOSS). Analüüsitulemuste põhjal koostati eelnimetatud perioodide kohta söödaratsioonid, arvutati söödaratsioonide toitefaktorite sisaldused ja võrreldi neid vastava perioodi toitefaktorite tarbega. Arvutustel kasutati Eestis väljatöötatud söötmisnorme ja soovituslikke kontsentratsioonimäärasid (Põllumajandusloomade söötmisnormid…, 1995).

Lambaid karjatati 2013. aasta sügisel, 2014. aasta kevadel ja suvel nii pool-looduslikul kui ka kultuurkarjamaal. Pool-loodusliku karjamaa võib liigitada paepealseks lookarjamaaks. Kultuurkarjamaa taimestik koosnes kõrreliste-liblikõieliste segust. Kasutatud söötade toitevääртusest annab ülevaate tabel 1.

Analüüsiandmed näitasid (tabel 1), et karjamaarohi oli hea toitevääртusega. 2013. aasta sügisel söödeti karjamaarohtu, mille kuivaine sisaldas 10,7 MJ kg^{-1} metaboliseeruvat energiat ja 15,8% proteiini. 2014. a kevadel söödetud karjamaarohi oli veelgi proteiinirikkam (kuivaines 18% proteiini). Paaritus- ja tiinusperioodil uttedele söödetud silo ning hein olid rahuldava energiasisaldusega (8,3–9,2 MJ kg^{-1}), kuid suhteliselt proteiinivaesed (silo kuivaines 11–12%, heina kuivaines vaid 6–7%). Imetamisperioodil kasutati lutserni-kõrreliste silo, mis sisaldas rohkesti proteiini (18% kuivaines), samas metaboliseeruvat energiat ainult 9,1 MJ kg^{-1} kuivaines.

Paarituseelsel perioodil (kuni 20. oktoobrini 2013) olid uted karjamaal. Sügisel ei olnud karjamaarohtu piisavalt ning loomad said lisaks heina. Kuna karjamaarohi oli suhteliselt hea proteiinisisaldusega oli sel perioodil 3 kg karjamaarohu ja 1,2 kg heinaga energia- ja proteiinitarve kaetud (tabel 2).

Tabel 1. Kasutatud söötade toiteväärtus (sööda kuivaines)
Table 1. *Nutrient composition of used feeds (in DM basis)*

Söödad *Feeds*	Söötmise periood *Feeding period*	Kuivaine, *Dry matter*, %	Metaboliseeruv energia, *Metabolizable energy*, MJ kg^{-1}	Toorproteiin, *Crude protein*, %	Toorkiud, *Crude fibre* %	Kaltsium, *Calcium*, g kg^{-1}	Fosfor, *Phosphorus*, g kg^{-1}
Karjamaarohi I *Grass I*	Paarituseelne periood, paaritusperiood *Pretupping and tupping period*	23,2	10,7	15,8	23,4	12,6	4,3
Hein I *Hay I*	Paaritusperiood, tiinuse 0–3 kuud *Tupping and pregnancy (0–3 month)*	83,8	8,4	7,3	32,8	3,0	2,0
Hein II *Hay II*	Tiinuse 4.–5. kuu, imetamisperiood *Pregnancy 4.–5. months, suckling period*	85,2	8,3	6,1	33,4	4,6	2,4
Silo I *Silage I*	Paaritusperiood, tiinuse 0–3 kuud *Tupping and pregnancy (0–3 month)*	41,5	9,2	12,2	26,7	16,6	3,7
Silo II *Silage II*	Tiinuse 4.–5. kuu, imetamisperiood *Pregnancy 4.–5. month*	27,7	9,0	10,9	28,6	7,8	3,4
Lutserni-kõrreliste silo *Lucern-grass silage*	Imetamisperioodil *Suckling period*	22,5	9,1	18,1	24,2	18,9	4,7
Kaer *Oat*	Tiinuse 4.–5. kuu, imetamisperiood *Pregnancy 4.–5. month*	84,7	11,7	7,8	12,5	1,9	3,1
Karjamaarohi II *Grass II*	Imetamisperioodil *Suckling period*	25,7	10,5	18,0	19,7	9,4	4,1

Tabel 2. Uttede söödaratsioonid
Table 2. *Daily diets of ewes*

Ratsioon *Daily diet*	Sööda kogus, *Feed quantity*, kg	Kuivaine, *Dry matter*, kg	Metaboliseeruv energia, *Metabolizable energy*, MJ kg^{-1} DM^{-1}	Seeduv proteiin *Digestible protein*, g	Kaltsium, *Calcium*, g	Fosfor, *Phosphorus*, g
Paarituseelne periood / *Pretupping period*						
Karjamaarohi / *Grass*	3,0	0,70	7,4	77	8,7	3,0
Hein / *Hay*	1,2	1,01	8,4	36	3,0	2,0
Ratsioonis kokku / *Total in*		1,71	15,8	113	11,7	5,0
Tarve / *Requirement*			15,5	108	5,9	4,3
Paaritusperiood ja tiinuse 1. kuu / *Tupping period and 1th month of pregnancy*						
Hein / *Hay*	0,6	0,50	4,2	18	1,5	1,0
Silo / *Silage*	3,0	1,25	11,5	100	20,7	4,6
Ratsioonis kokku / *Total in*		1,75	15,7	118	22,2	5,6
Tarve / *Requirement*			15,7	108	7,1	4,4
Tiinuse 2.–3. kuu / *2nd and 3rd month of pregnancy*						
Hein / *Hay*	2,3	1,96	16,2	71,7	9,0	4,8
Ratsioonis kokku / *Total in*		1,96	16,2	71,7	9,0	4,8
Tarve / *Requirement*			15,5	108	7,0	4,4
Tiinuse 4.–5. kuu, kontrollrühm / *4th and 5th month of pregnancy, control group*						
Hein / *Hay*	0,5	0,43	3,5	15	2,0	1,0
Silo / *Silage*	5,0	1,39	12,5	100	10,8	4,7
Ratsioonis kokku / *Total in*		1,82	16,0	115	12,8	5,7
Tarve / *Requirement*			17,7	141	9,1	5,4
Tiinuse 4.–5. kuu, katserühm / *4th and 5th month of pregnancy, experimental group*						
Hein / *Hay*	0,5	0,43	3,5	15	2,0	1,0
Silo / *Silage*	5,0	1,39	12,5	100	10,8	4,7
Kaer / *Oats*	0,22	0,19	2,2	11	0,3	0,6
Ratsioonis kokku / *Total in*		2,01	18,2	126	13,1	6,3
Tarve / *Requirement*			17,7	141	10,0	6,0
Imetamisperioodi algus, kontrollrühm / *1st–2nd suckling month, control group*						
Hein / *Hay*	1,2	1,02	8,5	37	4,7	2,5
Silo / *Silage*	7,0	1,58	14,4	208	29,8	7,4
Ratsioonis kokku / *Total in*		2,60	22,9	245	34,5	9,9
Tarve / *Requirement*			21,3	238	15,9	9,3
Imetamisperioodi algus, katserühm / *1st–2nd suckling month, experimental group*						
Hein / *Hay*	1,2	1,02	8,5	37	4,7	2,5
Silo / *Silage*	7,0	1,58	14,4	208	29,8	7,4
Kaer / *Oats*	0,3	0,25	2,9	15	0,5	0,8
Ratsioonis kokku / *Total in*		2,85	25,8	260	35,0	10,7
Tarve / *Requirement*			21,3	238	17,0	10,0
Imetamisperioodi II pool, kontrollrühm ja katserühm / *Second half of suckling period, control and experimental group*						
Karjamaarohi / *Grass*	6,0	1,54	16,1	194	14,5	6,4
Ratsioonis kokku / *Total in*		1,54	16,1	194	14,5	6,4
Tarve / *Requirement*			15,8	156	8,6	5,2

Paaritusperioodil ja tiinuse algul (oktoobri lõpus ja novembris 2013) söödeti uttedele silo ja heina, kusjuures 3 kg silo ja 0,6 kg heina kattis ära loomade energiatarbe. Kuna sel perioodil ei vaja uted eriti palju proteiini, oli seeduva proteiini tarve sellise söödakogusega ka kaetud. Tiinuse teisel ja kolmandal kuul said katses olnud loomad ainult heina ning 2,3 kg heinaga oli metaboliseeruva energia tarve kaetud. Tiinus-

perioodi teisel poolel (4.–5. tiinuskuul) oli uttede põhisöödaks silo, lisaks söödetud heina kogused olid väikesed (0,5 kg).

2014. aasta jaanuari lõpul alustati kaera lisasöötmist katserühma uttedele. Kontrollrühma loomad said silo ja heina, katserühma loomadele anti alates 25. jaanuarist (45–60 päeva enne loodetavat poegimist) silole ja heinale lisaks ka 220 g kaera päevas. Ka sel perioodil söödetud hein ja silo ei olnud proteiinirikkad. Kui loomad said 5 kg silo ja 0,5 kg heina oli nende energiatarve kaetud. Katserühma loomad said söötadega metaboliseeruvat energiat kontrollrühma omadest veidi rohkem.

Peale poegimist, märtsi teisel poolel ja aprilli algul, söödeti imetavatele uttedele lutsernisilo ja heina. Katserühma uttedele söödeti lisaks 300 g kaera päevas poegimisest kuni imetamise 45. päevani. 7 kg silo koos 1,2 kg heinaga kattis imetamisperioodi esimesel ja teisel kuul kontrollrühma metaboliseeruva energia ja seeduva proteiini tarbe ära. Kuna katserühmale söödeti ka kaera, said selle rühma loomad 2,9 MJ metaboliseeruvat energiat rohkem, kui kontrollrühma uted. Imetamisperioodi teisel poolel – 1,5.–4. laktatsioonikuul olid loomad karjamaal. Metaboliseeruva energia tarbe kattis ära 6 kg karjamaarohtu. Kuna rohi oli proteiinirikas, siis sellise rohukogusega oli ka seeduva proteiini tarve kaetud. Uttede imetamisperioodil talledele teraviljasöötasid ei söödetud.

Uttede toitumus määrati viiel ajamomendil: tiinusperioodi alguses (paarituse algus), tiinusperioodi lõpus (tiinuse 130.–140. päeval), poegimise järgselt (7–10 päeva peale poegimist), imetamise teisel kuul (imetamise 45.–60. päeval) ja tallede võõrutamisel, mis oli imetamisperioodi lõpus (imetamise 120. päeval). Uttede toitumust hinnati viie punktilises süsteemis 0,5 punktilise täpsusega, kus 0 punkti on kurtunud loom, 1 punkt väga lahja loom, 2 punkti lahja loom, 3 punkti heas toitumuses loom, 4 punkti rasvunud loom ja 5 punkti väga rasvunud loom (Russel, 1984). Toitumuse hindamisel kombiti sõrmeotstega selgroo nimmelüli ogajätke (*Processus spinousus*) ja roidejätke (*Processus costalis*) teravust landel. Looma toitumuse hinne väljendab otseselt loomade söötmistaset hindamise momendil.

Lisaks võeti 30-lt utelt (15 utte katse- ja 15 kontrollgrupist) paaritusel, tiinuse lõpus (tiinuse 130.–140. päeval) ja poegimise järgselt (7–10 päeva peale poegimist) vereproov. Vereproovid võeti mõlema rühma uttedelt selliselt, et mõlemas rühmas oleksid lahja toitumusega (viis utte toitumusklassiga 2–2,5), hea toitumusega (viis utte toitumusklassiga 3–3,5) ja rasvunud uted (viis utte toitumusklassiga 4 ja enam). Katsegrupis kaks utte aborteerus ja need uted asendati katse käigus sama toitumusklassiga uttedega. Vereproovidest eraldati tsentrifuugimisega (4000×g, 20 min) plasma, mida säilitati – 80 °C juures kuni analüüsimiseni. Plasmast määrati spektrofotomeetriliselt (automaatne kliiniline analüsaator ERBA XL-300) glükoosi ja β-hüdroksübutüraadi (BHB) sisaldus kasutades kommertsiaalseid määramiskomplekte (glükoos: ERBA Diagnostics Mannheim GmgH; BHB: Randox Laboratories *Ltd.* (NEFA, BHB)).

Sigimisandmetest registreeriti nii elusalt kui ka surnult sündinud tallede arv ning elusalt sündinud üksik- ja mitmiktallede sünnimass ja võõrutusmass; võrreldavuse huvides teisendati viimane 100 päeva massiks.

Katse viidi läbi antud hetkel kehtinud loomkatsete läbiviimise korrale, mis lähtus Euroopa Parlamendi ja nõukogu direktiivist 2010/63/EL, 22. september 2010.

Katse- ja kontrollrühma uttede keskmisi toitumishindeid ja nende muutusi, samuti keskmisi sigimisnäitajaid ja veremetaboliitide sisaldusi võrreldi t-testiga. Tiinuse alguses määratud toitumishinde mõju uttede edasisele toitumishindele ning selle mõju sõltuvust ute tõust ja kuuluvusest katse- või kontrollrühma uuriti kolmefaktorilise dispersioonanalüüsiga. Katse- ja kontrollrühma uttede sigimisnäitajate erinevust, võttes arvesse ute tõugu ja tallede kehamassi ning talle sugu ja pesakonna suurust, testiti üldiste ja üldistatud lineaarsete mudelite abil. Tulemused loeti statistiliselt oluliseks $p \leq 0{,}05$ korral. Kõik statistilised analüüsid teostati statistikapaketis SAS 9.2 (SAS Institute Inc., 2018) ning joonised konstrueeriti statistikaprogrammis R 3.5.1 (R Core Team, 2018).

Tulemused ja arutelu

Uttede toitumus ja selle muutus katse- ja kontrollrühmas tiinus- ja imetamisperioodil

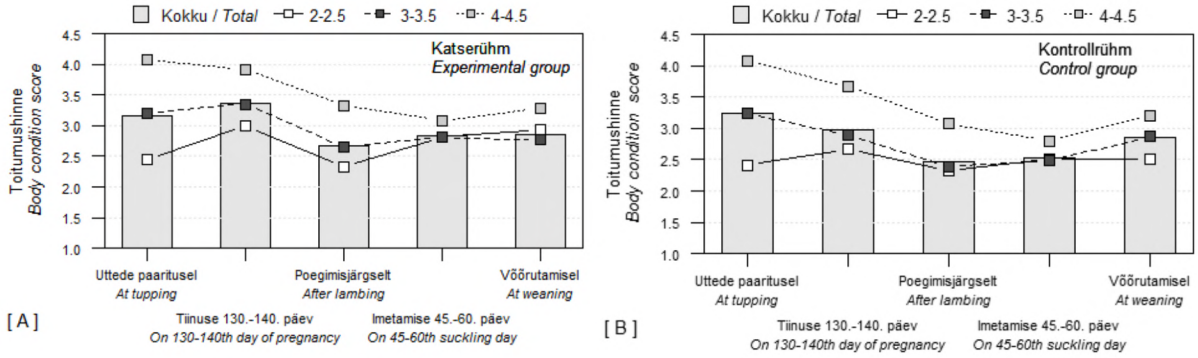
Uttede toitumus ja selle muutused on esitatud tabelis 3 ja joonisel 1. Katse algul oli nii katse- kui ka kontrollrühma uttede toitumus ühesugune (tabel 3).

Peale kaera lisasöötmist tiinusperioodil, muutus uttede toitumus rühmades statistiliselt oluliselt erinevalt ($p<0{,}001$). Katserühma uttede toitumus peale kaera söötmist suurenes keskmiselt 0,18 palli võrra, aga kontrollrühma uttede toitumus vähenes keskmiselt 0,27 palli võrra ($p<0{,}001$). Tingituna uttede toitumuse erinevast muutumisest tiinusperioodi lõpul oli toitumus katserühmas tiinusperioodi 130.–140. päevaks statistiliselt oluliselt kõrgem võrreldes kontrollrühmaga (vastavalt 3,36 ja 2,97; $p<0{,}001$). Tiinusperioodi 130.–140. päeva ja poegimise vahelisel perioodil uttede toitumus mõlemas rühmas langes, aga erinevus rühmade vahel ei olnud statistiliselt oluline ($p=0{,}072$). Samas poegimise hetkeks oli kaera saanud uttedel toitumus kõrgem, kuid mitte statistiliselt olulisel määral ($p=0{,}077$).

Uurimusest selgus, et kaera lisasöötmise mõju imetavate uttede toitumusele imetamisperioodi 45.–60. päevaks, mil söödeti uttedele lutserni-kõrreliste silo ja heina, oli statistiliselt väga oluline ($p<0{,}001$). Katserühma uted, kellele söödeti lisaks rohusöötadele 45 päeva jooksul mahekaera 300 g päevas olid paremas toitumuses imetamise 45.–60. päeval (katserühmas uttede keskmine toitumus 2,84, kontrollrühmas 2,52, $p<0{,}001$). See erinevus oli tingitud ka sellest, et neile söödeti eelneval tiinusperioodil lisaks kaera ja nende uttede toitumus oli eelnevatel hindamistel olnud kõrgem.

Tabel 3. Uttede toitumushinne ja selle muutus (keskmine ± standardhälve) katseperioodil katse- ja kontrollrühmas ning rühmade vahelise erinevuse statistiline olulisus (t-test; statistiliselt olulistele erinevustele vastavad p-väärtused on esitatud paksus kirjas)
Table 3. *Ewe body condition score and body condition change (average ± standard deviation) during an experiment and statistical significance between groups (t-test; p-values corresponding to statistically significant differences are presented in bold)*

Periood *Period*	Katserühm / *Experimental group*, n=59	Kontrollrühm / *Control group*, n=48	p-väärtus *p-value*
1. Uttede paaritusel / *At tupping*	3,17 (±0,50)	3,24 (±0,48)	0,463
2. – 1.	0,18 (±0,37)	–0,27 (±0,56)	**<0,001**
2. Tiinuse 130.–140. päev / *On 130th –140th day of pregnancy*	3,36 (±0,44)	2,97 (±0,56)	**<0,001**
3. – 2.	–0,69 (±0,44)	–0,52 (±0,48)	0,072
3. Poegimisjärgselt / *After lambing*	2,67 (±0,55)	2,47 (±0,58)	0,077
4. – 3.	0,17 (±0,37)	0,04 (±0,45)	0,139
4. Imetamise 45.–60. päev / *On 45th –60th suckling day*	2,84 (±0,40)	2,52 (±0,36)	**<0,001**
5. – 4.	0,01 (±0,31)	0,38 (±0,36)	**<0,001**
5. Võõrutamisel / *At weaning*	2,86 (±0,55)	2,86 (±0,42)	0,993



Joonis 1. Uttede toitumushinne ja selle muutus (A) katserühmas ja (B) kontrollrühmas sõltuvalt ute toitumushindest enne paaritust (2–2,5; 3–3,5 ja 4–4,5)
Figure 1. *Ewe body condition score and body condition change in (A) experimental and in (B) control group according to ewe body condition score before tupping (2–2.5; 3–3.5 and 4–4.5)*

Imetamisperioodi lõpul, kui uttesid karjatati kultuurkarjamaadel ja uttedele enam kaera ei söödetud, suurenes kontrollrühma uttede toitumus statistiliselt oluliselt enam võrreldes katserühma uttedega (vastavalt +0,38 ja +0,01; p<0,001). Katseperioodi lõpuks oli mõlema rühma uttede toitumus võõrutamise hetkeks jõudnud jällegi samale tasemele (uttede toitumus 2,86).

Järelikult, kui uttede imetamisperiood langeb suures ulatuses suvisele karjatamisperioodile (eelduseks on uttede poegimisperioodi ajatamine märtsi lõppu-aprilli algusesse), siis ka madalamas toitumuses olevad uted, kellele ei söödeta lisaks mahekaera, suudavad oma kehavarusid taastada ka vaid karjamaarohu arvelt. Karjamaarohi sisaldas 25,7% kuivainet, kuivaines oli 10,5 MJ kg^{-1} metaboliseeruvat energiat ja 18% proteiini.

Joonisel 1 on esitatud katse- ja kontrollrühma uttede toitumus ja selle muutus sõltuvalt ute toitumushindest tiinuse alguses. Siin on esitatud katse- ja kontrollrühma uttede andmed, kes olid jaotatud vastavatesse rühmadesse katse alguses (lahja toitumusega uted toitumushindega 2–2,5, keskmise toitumusega uted toitumushindega 3–3,5 ja rasvunud uted toitumushindega 4 ja enam) ning kellelt võeti katse käigus vereproovid glükoosi ja beetahüdroksübutüraadi kontsentratsiooni määramiseks.

Dispersioonanalüüs näitas, et toitumushinde muutus tiinuse jooksul sõltub statistiliselt oluliselt sellest, millises toitumuses olid uted katse alguses, kusjuures üldised mustrid olid sarnased nii katse- kui kontrollrühma lammastel. Katse alguses rasvunud uttede toitumus langes tiinuse algusest kuni tiinuse 130.–140. päevani ja madalamas toitumuses uted suurendasid kehavarusid (p<0,001). Näiteks paarituse alguses rasvunud uttede rühmas (toitumus 4–4,5 punkti) langes toitumus tiinuse algusest kuni tiinuse 130.–140. päevani ning sealt edasi ka poegimisjärgse perioodini sarnaselt katse- ja kontrollrühmas. Katse alguses lahjas toitumuses uted (toitumus 2–2,5) nii katse- kui kontrollrühmas paranes toitumus tiinuse 130.–140. päevaks ja lõpptiinuse perioodil langes ka nende toitumus kuni poegimiseni. Kuigi katserühma keskmises toitumuses (toitumushinne 3–3,5) olnud uttede toitumushinne paarituse algusest kuni tiinuse 130.–140. päevani suurenes erinevalt kontrollrühmast, siis see erinevus katse- ja kontrollrühma vahel ei osutunud statistiliselt oluliseks (p=0,593). Tiinuse lõppfaasis (tiinuse 130.–140. päevast kuni poegimisjärgse perioodini) vähenes uttede toitumus sarnaselt nii katse- kui ka kontrollrühma lammastel, kes olid katse alguses nii lahjad, keskmises toitumuses või ülemäärases toitumuses. Ka uttede poegimisjärgne toitumushinde muutus imetamisperioodi esimeses pooles (imetamisperioodi esimesel kahel kuul) sõltus statistiliselt oluliselt uttede katse alguses olnud toitumusest (p<0,001). Katse alguses kehvemas toitumuses olnud uted (toitumus 2–2,5 ja 3–3,5) võtsid poegimise järgselt pigem juurde, aga algselt kõrgemas toitumuses olnud uted (4 ja 4,5) kaotasid oma kehakonditsioonis. Seejuures oli taoline poegimisjärgse toitumushinde muutus, sõltuvalt ute

algsest toitumusest, ühesugune nii katse- kui ka kontrollrühmas (p=0,695).

Imetamisperioodi teises pooles, kui uted olid karjamaal, suurenes toitumushinne enim algselt paremas toitumuses olnud uttedel. Kuid selline erinevus ei osutunud statistiliselt oluliseks (p=0,917), kuigi kontrollrühma uttedel oli selline toitumuse tõus kõrgem.

Uttede sigivus ja tallede kasv katse- ja kontrollrühmas

Uttede sigivuse ja tallede kasvu andmed on esitatud tabelis 4. Andmeist on näha, et kaera lisasöötmine ei mõjutanud statistilisel olulisel määral katse- ja kontrollrühma uttede sigivusnäitajaid ega nende uttede keskmist tallede sünnimassi ja tallede 100 päeva massi. Uttede viljakus, s.o sündinud tallede arv poeginud ute kohta oli pisut kõrgem kontrollrühmas, samas oli kontrollrühmas kõrgem surnult sündinud tallede protsent, mistõttu oli elusalt sündinud tallede arv poeginud ute kohta katse- ja kontrollrühmas peaaegu võrdne. Tallede keskmine sünnimass oli pisut kõrgem katserühmas, mis oli tingitud väiksemast sündinud tallede arvust ute kohta katserühmas. Peale pesakonna suuruse mõju arvesse võtmist osutus tallede sünnimass katse- ja kontrollrühma uttedel identseks (mõlemas grupis 4,53 kg). Talle 100-päeva mass oli aga suurem kontrollrühma uttedel ja taoline 1,7-kilogrammine erinevus säilis ka peale talle 100-päeva massi potentsiaalselt mõjutavate faktorite (pesakonna suurus, talle sugu ja tõug) arvesse võtmist. Siiski ei osutunud ühegi analüüsitud näitaja puhul erinevus katse- ja kontrollrühma vahel statistiliselt oluliseks ja seda ka peale teiste potentsiaalsete mõjutegurite arvesse võtmist üldiste ja üldistatud lineaarsete mudelitega.

Tabel 4. Uttede sigivusnäitajad (keskmine ± standardhälve) katse- ja kontrollrühmas ning rühmade vahelise erinevuse statistiline olulisus (t-test)
Table 4. *Ewe reproduction (average± standard deviation) in experimental and control group and statistical significance between groups (t-test)*

Tunnus *Variable*	Katserühm, *Experimental group,* n=59	Kontrollrühm, *Control group,* n=48	p-väärtus *p-value*
Sündinud tallede arv poeginud ute kohta *Lamb born per ewe lambed (LB)*	1,75 (±0,56)	1,93 (±0,57)	0,110
Elusalt sündinud tallede arv poeginud ute kohta *Lamb born alive per ewe lambed (LBA)*	1,56 (±0,54)	1,54 (±0,62)	0,905
Surnult sündinud tallede arv poeginud ute kohta *Lambs born dead per ewe lambed (LBD)*	0,19 (±0,39)	0,39 (±0,68)	0,081
Talle sünnimass, kg *Lamb birthweight (LBW), kg*	4,56 (±0,80)	4,48 (±0,78)	0,552
Talle 100-päeva mass, kg *Lamb 100 day weight (L100DW), kg*	26,1 (±6,40)	27,8 (±5,72)	0,090

Vere metaboliidid ja nende muutus uttede tiinusperioodil katse- ja kontrollgrupis

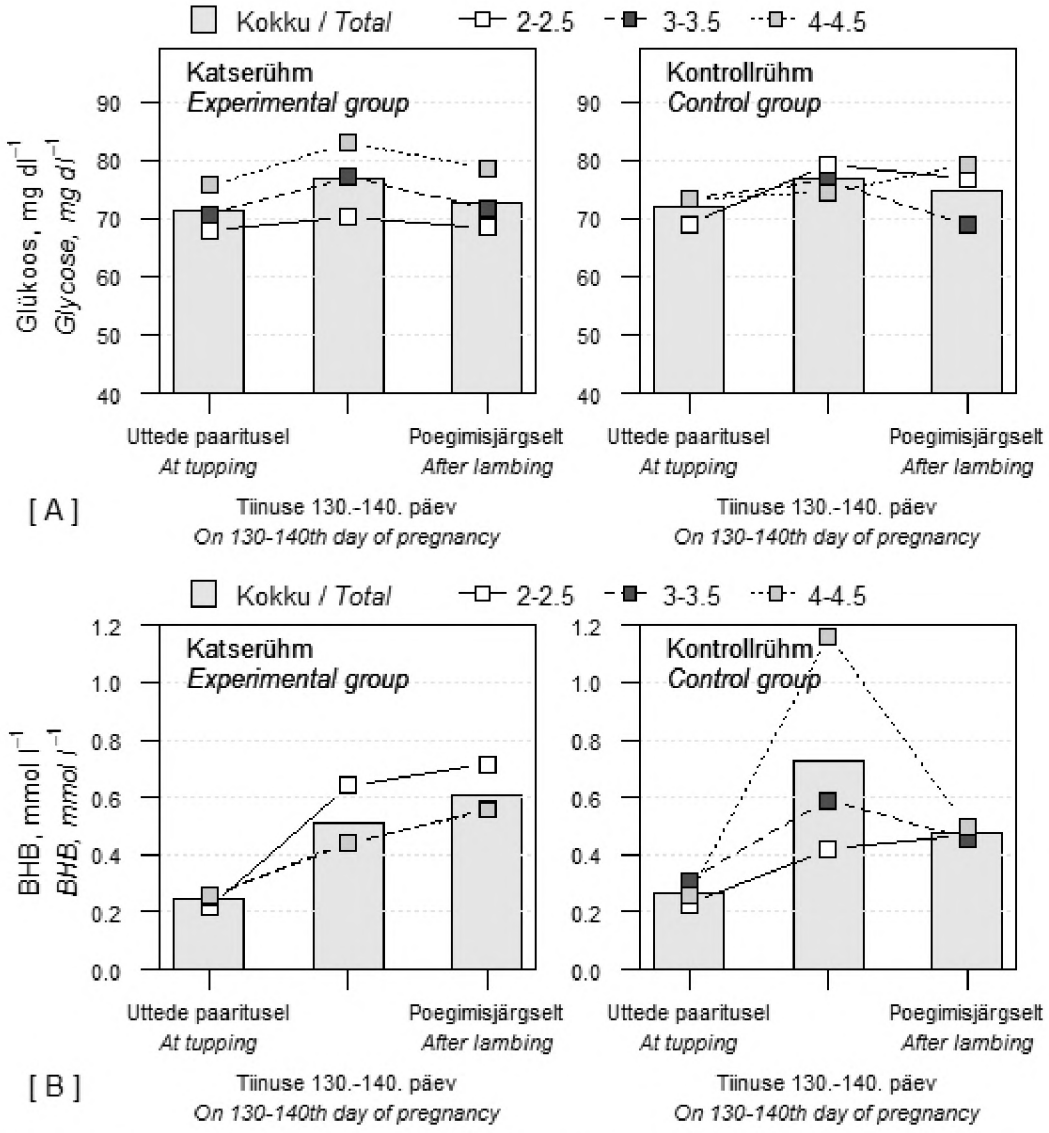
Kaera lisasöötmine (220 g päevas) tiinusperioodi lõpus 45–60 päeva jooksul ei mõjutanud statistiliselt oluliselt tiinete uttede vere glükoosi ja β-hüdroksübutüraadi (BHB) sisaldust. Viimast peetakse ketoosi avaldumise markeriks.

Keskmised tendentsid ja muutused on nähtavad tabelist 5 ja jooniselt 2. Uttede vere glükoosisisaldus oli katserühmas keskmiselt 71,4 mg dl^{-1} ja kontrollrühmas vastavalt 71,9 mg dl^{-1}. Kuigi kaera mittesaanutel oli BHB sisaldus veres tiinuse 130.–140. päeval kõrgem (kontrollrühmas 0,72 mmol l^{-1}, katserühmas vastavalt 0,51 mmol l^{-1}), ei olnud erinevus statistiliselt oluline. Samuti ei erinenud vere glükoosi ja BHB kontsentratsioonid statistiliselt oluliselt katse- ja kontrollrühma uttedel 7–10 päeva peale poegimist.

Joonise 2 andmed näitavad, et erinevas toitumuses olevatel uttedel oli vere glükoosi sisalduse dünaamika üldjuhul sarnane nii katse- kui kontrollgrupis. BHB sisaldus oli kõige kõrgem tiinuse 130.–140. päeval kontrollgrupi rasvunud uttedel, kuid seda põhjustas vaid ühe ute vere BHB eriti kõrge näitaja (3,8 mmol l^{-1}). Ülejäänud nelja rasvunud ute vere BHB sisaldus oli keskmiselt 0,39 mmol l^{-1} ning seega viie ute keskmiseks näitajaks jäi 1,2 mmol l^{-1}. Teaduskirjanduses loetakse uttede füsioloogiliseks BHB kontsentratsiooniks <0,8 mmol l^{-1} (Rook, 2000, Pichler jt, 2014). Utte peetakse mõõdukalt ketootiliseks, kui tema veres on BHB sisaldus 0,8–1,6 mmol l^{-1} (Navarre jt, 2012) ning sellistel loomadel on suurem risk haigestumiseks kliinilisse ketoosi. Uted, kelle vere BHB sisaldus on >1,6 mmol l^{-1}, on äärmiselt sügavas negatiivse energia bilansis ja neil võivad välja areneda kliinilise ketoosi tunnused koos haigestumisega ketoosi (Rook, 2000, Pichler jt, 2014). Järelikult oli üks kontrollrühma rasvunud utt tõsise negatiivse energiabilansi seisundis ning haigestunud ketoosi. Samas ülejäänud neljal rasvunud utel olid näitajad soovitud normi piires, mis iseloomustab normaalse energiabilansiga uttesid. Autorite arvamusel oli ühe ute kõrge BHB kontsentratsiooni põhjuseks pigem looma individuaalsed omadused, kui kaera mittesöötmise mõju kontrollrühma rasvunud uttedele. Vere glükoosi kontsentratsioon tiinuse 130.–140. päeva ja poegimise vahelisel perioodil langes ühtlaselt kõigil katserühma eri toitumustasemega uttedel ja kontrollrühma uttedel. Vaid algselt rasvunud uttedel glükoosi tase tõusis. Kui katsegrupi uttedel, kellele söödeti kaera tiinuse lõpu ja poegimise vahelisel perioodil BHB sisaldus üldiselt tõusis, siis kontrollgrupis samal ajal oli see langeva tendentsiga. Erinevused kahe grupi vahel ei olnud statistiliselt olulised (p=0,159).

Tabel 5. Uttede glükoosi ja β-hüdroksübutüraadi (BHB) sisaldus ja muutus (keskmine ± standardhälve) katseperioodil katse- ja kontrollgrupis ning gruppide vahelise erinevuse statistiline olulisus (t-test)
Table 5. *Ewe blood glycose and β-hydroxybutyrate (BHB) concentrations in experimental and control group (average± standard deviation) during an experiment, and statistical significance between groups (t-test)*

Periood *Period*	Katserühm, *Experimental group,* n=15	Kontrollrühm, *Control group,* n=15	p-väärtus *p-value*
Glükoos / *Glycose* (mg dl^{-1})			
1. Uttede paaritusel / *At tupping*	71,4 (±7,52)	71,9 (±5,39)	0,859
2. – 1.	4,33 (±9,80)	4,81 (±7,56)	0,890
2. Tiinuse 130.–140. päev / *On 130th–140th day of pregnancy*	76,8 (±9,56)	76,7 (±6,03)	0,977
3. – 2.	–4,01 (±8,83)	–1,22 (±10,45)	0,446
3. Poegimisjärgselt / *After lambing*	72,8 (±7,61)	74,8 (±9,93)	0,537
BHB (mmol l^{-1})			
1. Uttede paaritusel / *At tupping*	0,242 (±0,054)	0,263 (±0,060)	0,324
2. – 1.	0,301 (±0,206)	0,461 (±0,863)	0,498
2. Tiinuse 130.-140. päev / *On 130th–140th day of pregnancy*	0,507 (±0,199)	0,724 (±0,852)	0,352
3. – 2.	0,103 (±0,239)	–0,277 (±0,930)	0,159
3. Poegimisjärgselt / *After lambing*	0,611 (±0,305)	0,476 (±0,114)	0,127



Joonis 2. Uttede vere (A) glükoosi ja (B) β-hüdroksübutüraadi (BHB) kontsentratsiooni muutused katseperioodil katse- ja kontrollgrupis sõltuvalt ute toitumushindest enne paaritust
Figure 2. *Changes in ewe blood (A) glycose and (B) β-hydroxybutyrate (BHB) concentration in experimental and control group according to ewe body condition score before tupping (2–2.5, 3–3.5 and 4–4.5)*

Järeldused

Mahelambafarmides, kus uttesid söödetakse rohusöödaliste ratsioonidega ja nende poegimisperiood on ajatatud märtsikuu lõppu aprillikuu algusesse, piiratud koguse kaera lisasöötmine tiinetele uttedele tiinuse lõpul (kaera 220 g 45–60 päeva enne poegimist) ja imetamisperioodi alguses (300 g kaera 45 päeva jooksul peale poegimist) tõstab küll statistiliselt oluliselt uttede toitumust tiinuse 130.–140. päeval ja imetamise 45.–60. päeval, kuid ei mõjuta uttedel sündinud tallede arvu- ja elusalt sündinud tallede arvu poeginud ute kohta, tallede sünnimassi ning sündinud tallede 100 päeva kehamassi. Samuti ei mõjuta kaera lisasöötmine uttede vere glükoosi ja BHB kontsentratsioone tiinuse lõppfaasis ja poegimisel. Kui uttede laudas pidamise perioodil on tiinete uttede söötmisel võimalik kasutada keskpärast/head rohusilo, rahuldavat heina, imetamisperioodi alguses (ligikaudu 30–40 päeva) liblikõielistest/kõrrelistest tehtud silo, kõrrelistest valmistatud heina ning imetamisperioodi teisel poolel saab uttesid karjatada kultuurkarjamaadel (karjamaarohu toiteväärtus oli 10,5 MJ kg^{-1}, proteiini sisaldus 15–18% kuivaines), puudub vajadus teravilja (mahekaera) lisasöötmiseks.

Tänuavaldus

Uurimistöö viidi läbi EV põllumajandusministeeriumi programmi "Põllumajanduslikud rakendusuuringud ja arendustegevus aastatel 2009–2014" projekti "Energia- ja proteiinitarbe katmine mahelammaste söötmisel ning mahelambaliha biokvaliteet" (2010–2014) raames.

Huvide konflikt / *Conflict of interest*

Autorid kinnitavad artikliga seotud huvide puudumist
The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.

PP, JS, ST – katse metoodika väljatöötamine, katse planeerimine;
PP, JS, ST, IN – katse läbiviimine, andmebaasi loomine;
AI, HJ – vereproovide kogumine ja metaboliitide määramine;
TK – statistiline analüüs;
PP, TK, JS, ST – katseandmete tõlgendamine;
PP, TK – käsikirja kirjutamine;
PP, TK, HJ, IN – käsikirja redigeerimine.
PP, JS, ST – design of methodology, experiment planning;
PP, JS, ST, IN – conducting an experiments, creating database;
AI, HJ – collecting blood samples, metabolites concentrations;
TK – statistical analyse;
PP, TK, JS, ST – interpreting experimental data;
PP, TK – writing manuscript;
PP, TK, IN, HJ – editing final manuscript.

Kasutatud kirjandus

AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th ed. – Association of Official Analytical Chemists International, Gaithersburg, MD, USA.

Bernes, G., Stengärde, L. 2012. Sheep fed only silage or silage supplemented with concentrates. 1. Effects on ewe performance and blood metabolites. – Small Ruminant Res., 102:108–113, doi:10.1016/j.small rumres.2011.09.001

Bernes, G., Turner T., Pickova, J. 2012. Sheep fed only silage or silage supplemented with concentrates. Effects on lamb performance and fatty acid profile of ewe milk and lamb meat. – Small Ruminant Res., 102:114–124, doi: org/10.1016/j.smallrumres.2011. 08.001

Gronqvist, G.V., Hickson R.E., Corner-Thomas R.A., Kenyon, P.R., Stafford K.J., Morris S.T. 2016. The effect of ewe nutrition and body condition during late-pregnancy on the behaviour of twin-bearing ewes and their lambs. – Small Ruminant Research, 145, pp. 94–102, doi: org/10.1016/j.smallrumres.2016.10.029

Fthenakis, G.C., Arsenos, G., Brozos, C., Fragkou, I.A., Giadinis, N.D., Giannenas, I., Movrogianni V.S., Papadopoulus, E., Valasi, I. 2012. Health management of ewes during pregnancy. – XXVII World Buiatrics Congress, 2012, pp. 127–133.

Mendizabal, J.A., Delfa, R., Arana, A., Purroy, A. 2011. Body condition score and fat mobilization as management tools for goats on native pastures. – Small Ruminant Res., 98:121–127, doi: org/10.1016/ j.smallrumres.2011.03.029

Navarre, C.B., Baird A.N., Pugh, D.G. 2012. Diseases of the gastrointestinal system. In: Sheep and Goat Medicine, 2nd ed. (Eds. G. Pugh and A.N. Baird). – Elsevier Inc., Maryland Heights, MO, pp. 71–105, doi: org/10.1016/B978-1-4377-2353-3.10005-8.

Pichler, M., Damberger, A., Arnholdt, T., Schwendenwein, I., Gasteiner, J., Drillich, M., Iwersen, M. 2014. Evaluation of 2 electronic handheld devices for diagnosis of ketonemia and glycemia in dairy goats. – J. Dairy Sci. 97:7538–7546, doi: 10.3168/jds.2014-8198

Piirsalu, P., Samarütel, J., Tölp, S., Nutt, I., Vallas, M. 2012. Mahelammaste söötmine, uttede toitumus ning jõudlus sigimistsükli erinevatel perioodidel. – Agraarteadus, 23(2):27–35.

Piirsalu P., Samarütel, J., Tölp, S., Nutt, I., Kaart, T. 2013. Uttede toitumushinde seosed söötmise ja jõudlusega mahetootmisega lambafarmides. – Agraarteadus, 24(2):71–78.

Põllumajandusloomade söötmisnormid koos söötade tabelitega.1995. – Tartu, 186 lk.

R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. https://www.R-project.org/

Rook, J.S. 2000. Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. – Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract., 16:293–317, https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30107-9

Russel, A. 1984. Body condition scoring of sheep. – Practice, 6:91–93.

SAS Institute Inc. 2018. SAS 9.2 Online Doc. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. http://support.sas.com/documentation/92/

Effect of additional oat supplementation in forage-based feeding during gestation and lactation periods on ewe body condition, performance, blood glycose and β-hydroxybutyrate concentration in organic farm

Peep Piirsalu[1], Tanel Kaart[2], Jaak Samarütel[1], Silvi Tölp[1], Aire Ilves[1], Hanno Jaakson[1], Irje Nutt[1]*

[1]Estonian University of Life Science, Chair of Animal Feeding, Fr. R. Kreutzwaldi 62, 51006 Tartu, Estonia
[2]Estonian University of Life Science, Chair of Animal Breeding and Biotechnology, Fr. R. Kreutzwaldi 62, 51006 Tartu, Estonia

Summary

Organic sheep farmers in the Baltics and in Scandinavia are feeding their animals with forage-based feeds (pasture grass, silage, hay) with minimum use of cereals. During the second half of gestation and beginning of suckling periods, nutritional requirements of ewes cannot be covered from consumed feed alone, but they have to use their body reserves to support their own and the lamb nutritional demand. Ewes are more susceptible to metabolic diseases such as ketosis (twin lamb disease) at final stage of pregnancy, which may be related with the increase of ketones in the blood of ewes (β-hydroxybutyrate). The aim of this study was to estimate feeding strategies of pregnant and lactating ewes fed only silage/hay or supplemented with oats on the ewe body condition score (BCS), production (lambs born alive (LBA), lambs born dead per ewe lambed (LBD), lamb birth weight (LBW) and lamb 100 day weight (L100DW). The test period began with the onset of mating ewes in October 2013 and was completed at the end of the suckling period with weaning of lambs in July 2014. The Estonian White Face and Texel ewes (107 ewes) were divided into two similar groups: the experimental group (59 ewes) and control group (48 ewes). For 45–60 days before lambing (from 90th–105th day of gestation) the experimental ewes were fed in addition to forage feeds (silage, hay or pasture grass) 0.22 kg of organic oat per day (total 10 kg in gestation period) and 0.3 kg of oat during suckling period (total 13.5 kg per ewe). The control group of ewes were fed only with forage-based rations (silage, hay, pasture grass) without cereals. Feed samples were analysed regularly and rations were prepared for the study so that they would cover the nutritional requirements. BCS was assessed before mating, on 130–140 day of pregnancy, after lambing (following 7th–10th day), during the 2nd suckling months (45th–60th suckling day) and at weaning of lambs by two observers during the whole study. Blood samples from 30 ewes (15 experimental and 15 control ewes) was taken from jugular vein and blood glycose (mg dl^{-1}) and BHB (mmol l^{-1}) concentrations were measured at the beginning of pregnancy (at mating), on 130–140 day of pregnancy, after lambing (following 7th–10th day). It was concluded that additional feeding of minimal amount of oats increased the ewes BCS in experimental group at 130–140 day of pregnancy (BCS was respectively 3.36 and 2.97, $p<0.001$) and on the 45th–60th suckling day (BCS respectively 2.84 and 2.52, $p<0.001$) compared with control ewes, but did not affect BCS of ewes at the end of experiment (at weaning). Production traits (LBA, LBW, L100DW), nor ewes blood glycose and β-hydroxybutyrate (BHB) concentrations at the 130–140 day of pregnancy and 7–10 days after lambing were not affected by supplementation of oat to ewes' diet. Ewe blood glycose concentration was on 130–140 day of pregnancy 76.8 mg dl^{-1} in experimental group and 76.7 mg dl^{-1} in control group, β-hydroxybutyrate concentration was respectively 0.51 mmol l^{-1} and 0.72 mmol l^{-1} ($p=0.35$).

Agraarteadus
2 * XXIX * 2018 115–120

Journal of Agricultural Science
2 * XXIX * 2018 115–120

TECAMIN FLOWER® FOLIAR APPLICATION TO ALLEVIATE WATER DEFICIT EFFECTS ON GROWTH, YIELD AND WATER USE EFFICIENCY OF TOMATO

Aziz Mahdi Abd Al-Shammari[1], Mohammed Ali Abood[2], Ghassan Jaafar Hamdi[1]

[1]*Department of Horticulture and Landscape, College of Agriculture, University of Diyala, Iraq*
[2]*Department of Soil Science and Water Resources, College of Agriculture, University of Diyala, Iraq*

Saabunud: Received: 06.08.2018
Aktsepteeritud: Accepted: 30.10.2018

Avaldatud veebis: Published online: 14.11.2018

Vastutav autor: Corresponding author: Ghassan Jaafar Hamdi
E-mail: ghassanhamdi38@gmail.com

Keywords: *Solanum lycopersicum,* genotype, Foliar application, Tecamin flower®, Water stress.

doi: 10.15159/jas.18.10

ABSTRACT. During drought chemical elements in a dry fertilizer go into solution in the soil with difficulty and the nutrients are less available to the plant. Foliar fertilization with Tecamin flower®, could compensate for nutrient deficiency due to water deficit. This study was designed to observe the effects of different application rates of foliar application of Tecamin flower® on growth, yield and field water use efficiency (CWUE) of tomato under water deficit. The field experiment was conducted from March till July 2016 at the teaching and research farm of Diyala University, Iraq. Performance of tomato genotype 'Bobcat', 'Finenss' and 'Hadeer' was assessed by foliar application of Tecamin flower® at (0 and 2.5 mL L^{-1}) and two irrigation levels (50 and 100% based on field capacity). The results showed that chlorophyll content, fruit weight, yield per plant, total yield and CWUE were significantly affected by genotype and irrigations levels and application of Tecamin flower®. 'Bobcat' genotype has the highest value of plant yield (3.39 kg) and total yield (90.19 t ha^{-1}). 'Finenss' has the highest values for number fruit per plant (40.75), CWUE (75.37 kg m^{-3}) and the minimum leaf proline content (2.584 mg g^{-1}). Plant irrigated at 100% had the highest value of number fruit (35.27 fruit), most yield per plant (3.53 kg), total yield (94.02 t ha^{-1}) and minimum leaf proline content (2.557 mg g^{-1}). The highest CWUE (84.50 kg m^{-3}) were at 50% level. Plant treated at 2.5 mL L^{-1} Tecamin flower® had most fruit/plant (37.61) yield per plant (3.73 kg), total yield (99.16 t ha^{-1}), CWUE (85.22 kg m^{-3}) and minimum leaf proline content (2.437 mg g^{-1}).

© 2018 Akadeemiline Põllumajanduse Selts. Kõik õigused kaitstud. 2018 Estonian Academic Agricultural Society. All rights reserved.

Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum* L. from the Solanaceous family) is an important, popular and nutritious vegetable all over the world. It plays a vital role in providing a substantial quantity of vitamins C, A and lycopene in human diet, and is also an effective antioxidant exhibiting high quenching ability for singlet oxygen. Considerable evidence from several epidemiological research suggested that lycopene has anti-carcinogenic and anti-atherogenic potential (Juarez-Maldonado *et al.,* 2016; Klunklin *et al.,* 2017; Bruno *et al.,* 2018; Martí *et al.,* 2018).

High yield and quality of tomato and drought tolerance, diseases depend on improved genotypes in combination with good agricultural practices. The selection of a good genotype is a prerequisite for the success of the agricultural process. Differences in the broad genotypes among tomato varieties have enabled this crop to spread in a variety of environments. Genetic variation between tomato genotypes enable this crop to be grown in diverse environments. There is a growing deficit of available water that could lead to loss of arable cropland. To breed drought-tolerant cultivars, it is necessary to identify physiological and morphological characters that produce a high, stable, yield under deficit soil moisture (White 2011; Shah *et al.,* 2015; Buhroy *et al.,* 2017; Hamdi, 2017 Al-Shammari *et al.,* 2018a).

With increasing population, urbanization and industrialization, competition for water is increasing worldwide. Population increase requires additional food. Domestic water supplies, consumer goods, and water

for environmental compete for existing water resources. Worldwide, more than 40% of food production depends on irrigation water (Ahmad, 2016). Since agriculture is the major consumer of freshwater resources, efforts towards improving water use efficiency will be worthwhile. Drought certainly is one of the most effective factors of the environmental problems that has a great bad effect on the agricultural production, and greatly affecting crop growth, yield quantity, the variety and the quality of the essential physiological and biochemical processes in plants. Exposing plants to drought has an effect on the plant-water relations and decreases the water content in the leaves and whole the plant leading to osmotic stress. It is usual that plants suffer from the environmental stress. Decrease in the water content conditions causes a reduction in the plant photosynthetic efficiency and stomatal conductance which inhibits Rubisco activity and breaks down energy balance and breaks down the distribution during photosynthesis. The world populations expanding demands food from more crops but with less water (IWMI; Giuliani *et al.,* 2011; Patane *et al.,* 2011; Ahmad, 2016).

Also, the foliar nutrition for plant such as the Spraying of Nutrient Solution (Tecamin flower®) have a great effect on improving drought tolerance in tomato plants. Water soluble fertilizers are applied to foliage to boost nutrient availability to plants. It improves the efficiency of soil-applied nutrients and acts as a catalyst in the uptake and use of certain macronutrients, and increases crop yield and quality (Al-Shammari *et al.,* 2018b; Al-Shammari *et al.,* 2018c; Al-Shammari *et al.,* 2018d). The aim of study was to determine effects of a water-soluble, foliar applied, fertilizer in reducing the negative impact of water deficit on tomato genotypes.

Materials and Methods

An experiment was carried out in the vegetable fields, Department of Horticulture and Landscape Gardening, College of Agricultural, University of Diyala, Baqubah, Iraq, located 70 km north of Baghdad, to study effects of Tecamin flower® and water deficit on growth, yield and water use efficiency of tomato.

The soil was a well-drained silty loam with chemical properties of $CaCO_3$ (260.10 g kg^{-1}), $EC_{1:1}$ (7.55 Ds m^{-1}), organic matter (OM) (6.90 g kg^{-1}), and nitrogen (N), phosphorous (P) and potassium (K) as 54.01, 8.04 and 81.79 mg kg^{-1}, respectively. Bulk density was 1.35 g cm^{-3}. Field capacity (FC) 25%. The irrigation water had $EC_{1:1}$ of 0.83 dS m^{-1}. Soil analyses was done according to processes of Black *et al.* (1965) and Jackson (1958). Poultry manure was added at 3 kg m^{-2}. Distance between rows was 1.25 m and 0.30 m between plants to produce a density of 26,666 plants ha^{-1}. The experimental plot length was 3 m with an area of 3.75 m^2 and each experimental unit contained 13 plants. Seed of tomato cvs. 'Bobcat', 'Finenss' and 'Hadeer' were planted on 25 January 2016 in cork trays, of 0.50 × 1 m with 209 holes per tray, containing peat moss medium. The soil was irrigated and brought to field capacity 2 days before seedlings were transplanted. When seedlings reached the 3–5 true leaf stage they were established by hand in the field on 5 March 2016. The experiment continued until 1 July 2016. For surface drip irrigation T-Tape with emitters of 11 cm a distance, 4 L h^{-1} flow rate and 16 mm diameter were used. Fertilization and other cultural practices were applied as recommended in commercial tomato production (Maynard, Hochmuth, 2007).

The experiment was arranged in a split-split plot design within a completely random distribution. The experiment included the factors tomato cvs. 'Bobcat', 'Finenss' and 'Hadeer' as main plots; 50 or 100% irrigation based on field capacity as the first split-plot and 0 or 2.5 mL L^{-1} of Tecamin flower® as the sub-subplot, there were 12 treatments, replicated in 5 blocks, totalling 60 plots. Tecamin flower®, which contains important nutrients (Table 1), was applied with a backpack sprayer 4 times at a 10-day interval beginning at flowering.

Table 1. Nutrient composition of foliar fertilizer (Tecamin flower®)

Material	Amount (wt/vol.), %
Boron (B)	1
Seaweed extract	4
L-amino acids	3
Nitrogen (N)	3
Phosphorus (P_2O_5)	10
Molybdenum (Mo)	0.5

Tomato plants were treated until run-off with the nutrient solution or water, with application carried out in early morning. Sampling estimated moisture content before each irrigation and according to the weight method and soil depth of 0–30 cm to the flowering stage and 0–60 cm to the end of the growing season. Full irrigation water amount was calculated using the equation of Allen *et al.* (1998).

Data were subjected to analysis of variance in SAS (ver. 9.1, SAS, Inc., Cary, NC). If interactions were significant they were used to explain results. If interactions were not significant means were separated using Tukey's test.

Eight plants were randomly selected from each plot to determine the following Characteristics: Proline concentration was determined using ninhydrin colourimetric methods of Bates *et al.* (1973). Fruits number, plant yield, total yield (t ha^{-1}) and field water use efficiency of drip and furrow irrigation systems was calculated by the formula:

CWUE (kg m^{-3}) = Y/WR

CWUE = Field water use efficiency.

where Y= Yield of plants (kg ha^{-1})

WR = Total water requirement (m^3 ha^{-1}).

Harvest was performed manually on June 15, 2016.

Results

Data in Table 2 depicts that genotype 'Bobcat' produced the maximum yield per plant, total yield as compared to rest of the genotypes. While 'Finenss' produced the highest number fruit, CWUE and the minimum leaf proline content than all other tomato genotypes.

Plant irrigated at 100% level had the largest number fruit per plant, yield per plant, total yield and minimum leaf proline content, compared with other treatment. While Plant irrigated at 50% level produced the highest CWUE, compared to 100% irrigated plants, which produced less CWUE (Table 2).

Plant treated at 2.5 mL L^{-1} Tecamin flower® had least leaf proline content, most fruit number, plant yield, total yield and CWUE, compared to the control treatment, which gave the lowest values (Table 2).

For the genotype by irrigation rate the responses for leaf proline content, fruit number, yield per plant, total yield and CWUE varied (Table 3). 'Finenss' irrigated at 100% level had the minimum leaf proline content, and most fruit number, compared with other treatment. The same genotype irrigated at 50% produced the highest CWUE, in contrast, Hadeer had consistently lower CWUE at 100% irrigation. While 'Bobcat' irrigated at 100% level produced the highest yield per plant, total yield, compared with other treatment.

The genotypes by Tecamin flower® rate interaction affected in all studied traits (Table 3). 'Finenss' treated at 2.5 mL L^{-1} Tecamin flower® had least leaf proline content, most fruit number, plant yield, total yield and CWUE, compared with other treatment.

For the irrigation rate by Tecamin flower® rate the values for in all studied traits varied (Table 3). Plant irrigated at 100% level treated with the 2.5 mL L^{-1} Tecamin flower® rate had least leaf proline content, most fruit number, plant yield and total yield, compared with other treatment. The highest CWUE was for plants treated with 2.5 mL L^{-1} Tecamin flower® rate irrigated at 50%, compared with other treatment.

Data in Table 4 show the genotype and irrigation-level with Tecamin flower® rate interaction affected on the leaf proline content, fruit number, yield per plant, total yield and field Water use efficiency of tomato. 'Finenss' irrigated at 100% level treated with 2.5 mL L^{-1} Tecamin flower® rate had the minimum leaf proline content and most fruit number, compared with other treatment. The highest CWUE was for the 2.5 mL L^{-1} Tecamin flower® rate under 50% irrigation were recorded for the same tomato genotypes, compared with other treatment. While 'Bobcat' irrigated at 100% level with treated 2.5 mL L^{-1} Tecamin flower® rate produced the highest yield per plant and total yield, compared with other treatment.

Table 2. Effects of genotypes, irrigation levels and Tecamin flower® application on the leaf proline content, fruit number, yield per plant, total yield and field water use efficiency of tomato

Genotypes	Proline, mg g^{-1}	Fruits per plant	Plant yield, kg	Total yield, t ha^{-1}	CWUE, kg m^{-3}
'Bobcat'	2.987^{a}	26.00^{c}	3.39^{a}	90.19^{a}	57.91^{a}
'Finenss'	2.584^{c}	40.75^{a}	3.14^{a}	83.72^{a}	75.37^{a}
'Hadeer'	2.617^{b}	31.91^{b}	2.75^{b}	73.13^{b}	61.38^{b}
Irrigation levels (%)					
50	2.901^{a}	30.50^{b}	2.65^{b}	70.67^{b}	84.50^{a}
100	2.557^{b}	35.27^{a}	3.53^{a}	94.02^{a}	57.27^{b}
Tecamin max® (mL L^{-1})					
0	3.021^{a}	28.16^{b}	2.46^{b}	65.53^{b}	56.55^{b}
2.5	2.437^{b}	37.61^{a}	3.73^{a}	99.16^{a}	85.22^{a}

Data in interaction analyzed with Least Squares Means and means separated with Tukey.
[a, b, c] values in groups in columns followed by the same letter are not significantly different, P<0.05.

Table 3. Interaction effect of genotypes and irrigation, genotypes and Tecamin flower® irrigation levels and Tecamin flower® on the leaf proline content, fruit number, yield per plant, total yield and field water use efficiency of tomato

Genotypes ×	Irrigation, %	Prolin, mg g^{-1}	Fruits per plant	Plant yield, kg	Total yield, t ha^{-1}	CWUE, kg m^{-3}
'Bobcat'	50	3.242^{a}	28.00^{d}	2.61^{cd}	69.56^{cd}	84.40^{b}
	100	2.731^{c}	24.00^{e}	4.17^{a}	110.78^{a}	67.42^{c}
'Finenss'	50	2.721^{d}	38.00^{b}	3.04^{bc}	80.88^{bc}	97.89^{a}
	100	2.448^{f}	43.50^{a}	3.25^{b}	86.56^{b}	52.84^{d}
'Hadeer'	50	2.741^{b}	34.33^{c}	3.31^{d}	61.54^{d}	71.21^{c}
	100	2.492^{e}	29.50^{d}	3.19^{b}	84.73^{b}	51.54^{d}
Genotypes ×	Tecamin flower®, mL L^{-1}					
'Bobcat'	0	3.408^{a}	21.50^{e}	2.61^{c}	69.37^{c}	58.99^{b}
	2.5	2.566^{d}	30.50^{c}	4.18^{a}	111.01^{a}	92.84^{a}
'Finenss'	0	2.848^{b}	37.00^{b}	2.19^{d}	58.31^{d}	52.17^{c}
	2.5	2.321^{f}	44.50^{a}	4.10^{a}	109.13^{a}	98.56^{a}
'Hadeer'	0	2.808^{c}	26.00^{d}	2.59^{c}	68.93^{c}	58.50^{b}
	2.5	2.425^{e}	37.83^{b}	2.90^{b}	77.34^{b}	64.25^{b}
Irrigation (%) ×	Tecamin max®, mL L^{-1}					
50	0	3.316^{a}	35.33^{b}	2.06^{d}	54.84^{d}	66.71^{b}
	2.5	2.486^{c}	30.66^{c}	3.25^{b}	86.50^{b}	102.2^{a}
100	0	2.726^{b}	25.66^{d}	2.86^{c}	76.23^{c}	46.39^{c}
	2.5	2.388^{d}	39.88^{a}	4.20^{a}	111.82^{a}	68.15^{b}

Data in the interaction analyzed with Least Squares Means and means separated using Least Significant differences.
[a, b, c, d] values in the column followed by the same letter are not significantly different, P<0.05.

Table 4. Effect of 3-way interaction between genotype×irrigation level×Tecamin flower® foliar application on leaf proline content, fruit weight, plant yield, total yield and field water use efficiency (CWUE) in tomato fruit

Genotypes	Irrigation levels, %	Tecamin flower, ml L^{-1}	Proline, mg g^{-1}	Fruits per plant	Plant yield, kg	Total yield, t ha^{-1}	CWUE, kg m^{-3}
'Bobcat'	50	0	3.850^{a}	19.00^{h}	2.07^{e}	55.17^{e}	67.11^{de}
		2.5	2.635^{e}	29.00^{f}	3.16^{c}	84.02^{c}	101.70^{b}
	100	0	2.966^{d}	24.00^{g}	3.14^{c}	83.57^{c}	50.86^{f}
		2.5	2.497^{h}	32.00^{e}	5.20^{a}	138.00^{a}	83.98^{c}
'Finenss'	50	0	3.101^{b}	35.00^{d}	2.06^{e}	54.90^{e}	66.79^{de}
		2.5	2.341^{i}	41.00^{b}	4.02^{b}	106.86^{b}	129.00^{a}
	100	0	2.595^{g}	39.00^{c}	2.32^{de}	61.72^{de}	73.56^{g}
		2.5	2.301^{j}	48.00^{a}	4.18^{b}	111.40^{b}	68.13^{de}
'Hadeer'	50	0	2.998^{c}	23.00^{g}	2.04^{e}	54.46^{e}	66.25^{e}
		2.5	3.850^{a}	19.00^{h}	2.07^{e}	55.17^{e}	67.11^{de}
	100	0	2.635^{e}	29.00^{f}	3.16^{c}	84.02^{c}	101.70^{b}
		2.5	2.966^{d}	24.00^{g}	3.14^{c}	83.57^{c}	50.86^{f}

Data in the interaction analyzed with Least Squares Means and means separated using Least Significant differences.
[a, b, c, d] values in the column followed by the same letter are not significantly different, $P<0.05$.

Discussion

Difference in genotype for some traits are due to their ability to absorb nutrients from the soil or through leaves better than others (Hamdi, 2017) the reason for this can be attributed to genetic differences between genotypes. (Bhattarai *et al.*, 2016; Al-Shammari *et al.*, 2018a).

The full irrigation promoted the growth of tomato plants by increasing fruit number, plant yield, total yield and least leaf proline content, according to our opinion, they attributed this to availability of water for the physiological functions of the plants and full irrigation provides a consistent supply of water to the entire root area on a continuous basis so that "drench and dry-out" stresses are reduced. Reduction in water supply during the growth and development of tomato tends to lead to overall yield. Most morphological, physiological and biochemical processes associated with plant development are obstructed during water deficit stress thus resulting in poor photosynthesis, respiration, and nutrient metabolism (Giuliani *et al.*, 2016; Cantore *et al.*, 2016; Ya-dan, 2017; Zhang *et al.*, 2018).

Previously published research on fruit yield produced results which are similar to the data obtained in this study. Similarly, Hamdi (2017) found that full irrigation resulted in maximum fruit number, yield per plant, total yield and least leaf proline content. According to a study conducted by Al-Shammari *et al.* (2018a), the total yield increases in relation to the amount of water applied. Besides, Ya-dan (2017) determined that a negative trend in response to increasing soil water deficit was observed for fruit yield.

When the applied water is reduced, it affects physiological processes and exposes plants to drought transmission to different parts of the plant (Wang, Xing, 2017). An efficient use of limited water resources and better growth under limited water supply are desirable traits for crops grown under drought-prone environments. Plants respond to and mitigate the adverse effects of drought using any, or a combination, of the following mechanisms: earliness or escape, drought avoidance, drought tolerance and drought recovery (Yuan *et al.*, 2016; Hamdi, 2017).

Foliar application of Tecamin flower® played a role in alleviating negative impact of water deficit, and improved plant growth, yield and CWUE, positive responses to Tecamin flower® may be because it increased the efficiency of photosynthesis, improved growth, compensated for the loss of nutrients due to water deficit, increased flowers set ratio, reduced negative effects of water deficit, and improved fruit quality. Tecamin flower® contains amino acids, nitrogen, phosphorus, potassium, and seaweed extract, and its use may compensate the deficiency of elements by root uptake due to water deficit (Spann, Little 2010; Pane *et al.*, 2013; Boteva, 2016; Camen *et al.*, 2016; Sidhu, Nandwani, 2017 Al-Shammari *et al.*, 2018b; Al-Shammari *et al.*, 2018c). Application of foliar Tecamin flower® increases uptake of calcium which plays a major role in the mitotic cell division of apical meristems.

Conclusions

The wide variation in all the genotypes might be due to their genetic makeup, which indirectly govern the morphology of the plant that have direct impact on formation of floral, Increase the weight and number of fruits. Foliar application of Tecamin flower® played a role in alleviating negative impact of water deficit, and improved plant growth, yield and CWUE.

Acknowledgements
No funds from the public or private sector were used for this research. All expenses are covered by the author GH. The field and instruments belonged to University of Diyala-College of Agriculture-Department of Horticulture and Landscape Gardening.

Conflict of interest
The authors declare that they have no conflict of interest.

Author contributions
GH 50%, AA 25%, MAH 25% – study conception and design;
GH 100% – acquisition of data;
GH 100% – analysis and interpretation of data;
GH 100% – drafting of the manuscript.
GH 100% – critical revision and approve the final manuscript.

References

Ahmad, P. 2016. Water stress and crop plants. A sustainable approach. Vol. 2. – Department of Botany, Sustainable Approach College, Srinagar, Jammu and Kashmir, India, 784 p.

Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D., Smith, M. 1998. Crop evapotranspiration. Irrigation and drainage. Paper 65. – Food and Agriculture Organization, Rome, 15 p.

Al-Shammari, A.M.A., Abood, M.A., Hamdi, G.J. 2018a. Perlite affects some plant indicators and reduces water deficit in tomato. – Int. J. Vegetable Sci., 24(5):490–500, doi: 10.1080/19315260.2018. 1439853.

Al-Shammari, A.M.A., Abood, M.A., Hamdi, G.J. 2018b. Foliar application of Tecamin max® to alleviate water deficit on vegetative growth and yield of okra. – Int. J. Vegetable Sci., 7 p. (in press), doi: 10.1080/19315260.2018. 1509922.

Al-Shammari, A.M.A., Abood, M.A., Hamdi, G.J. 2018c. Effect of foliar application of Tecamin flower on some vegetative growth characters of tomato plant under water stress conditions. – Syrian J. Agric. Res, 5(2):35–44.

Al-Shammari, A.M.A., Abood, M.A., Hamdi, G.J. 2018d. Foliar application of Tecamin flower® to alleviate water deficit on vegetative growth and yield of tomato. – Int. J. Vegetable Sci., 6 p. (in press), doi: 10.1080/19315260. 2018.1535463.

Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. – Plant Soil, 39:205–207.

Bhattarai, K., Louws, F.J., Williamson, J.D., Panthee, D.R. 2016. Diversity analysis of tomato genotypes based on morphological traits with commercial breeding significance for fresh market production in eastern USA. Aust. – J. Crop Sci., 10(8):1098–1103, doi: 10.21475/ajcs.2016.10.08.p7391.

Black, C.A., Evans, D.D., White, J.L., Ensminger, L.E., Clark, F.E. 1965. Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Properties Including Statistics of Measurement and Sampling. – Am. Soc. Agro. Inc., Madison, Wisconsin, 770 p.

Boteva, H. 2016. Productivity and quality of open field tomato after application of bio-fertilizers. – Agr. Sci. Tech., 8(2):140–143, doi: 10.15547/ast.2016.02.025.

Bruno, A., Durante, M., Marrese, P., Migoni, D., Laus, M.N., Pace, E., Pastore, D., Mita, G., Piro, G., Lenucci, M.S. 2018. Shades of red: Comparative study on supercritical CO_2 extraction of lycopene-rich oleoresins from gac, tomato and watermelon fruits and effect of the α-cyclodextrin clathrated extracts on cultured lung adenocarcinoma cells' viability. – J. Food Compos. Anal., 65:23–32, doi: 10.1016/j.jfca.2017.08.007.

Buhroy, S., Arumugam, T., Manivannan, N., Vethamoni, P.I., Jeyakumar, P. 2017. Correlation and Path Analysis of Drought Tolerance Traits on Fruit Yield in Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) under Drought Stress Condition. – Chem. Sci. Rev. Lett., 6(23):1670–1676.

Camen, D., Eleonora, N., Nicolae, I., Dobrei, A., Dragomir, C., Alina, D., Sala, F. 2016. Characterisation of drought stress tolerance of some tomatoes ecotypes based on foliar physiological parameters. – J. Hortic. Forest. Biotech. 20(1):71–77.

Cantore, V., Lechkar, O., Karabulut, E., Sellami, M.H., Albrizio, R., Boari, F., Stellacci, A.M., Todorovic, M. 2016. Combined effect of deficit irrigation and strobilurin application on yield, fruit quality and water use efficiency of "cherry" tomato (*Solanum Lycopersicum* L.). – Agric. Water Manage., 167:53–61, doi: 10.1016/j.agwat.2015.12.024.

Giuliani, M.M., Gatta, G., Nardella, E., Tarantino, E. 2016. Water saving strategies assessment on processing tomato cultivated in Mediterranean region. – Ital. J. Agron., 11(738):69–76, doi: 10.4081/ija.2016.738.

Hamdi, G.J. 2017. Effect of perlite in reducing water stress for three genotypes of tomato. – M.Sc. Thesis. College of Agriculture. University of Diyala. Iraq, 141 p.

IWMI. International Water Management Institute, http://www.iwmi.cgiar.org/.

Jackson, M.L. 1958. Soil chemical analysis. – Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J. 498 p.

Juarez-Maldonado, A., Ortega-Ortíz, H., Pérez-Labrada, F., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A. 2016. Cu Nanoparticles absorbed on chitosan hydrogels positively alter morphological, production, and quality characteristics of tomato. – J. Appl. Bot. Food Qual, 89:183–189, doi: 10.5073/ JABFQ.2016.089.023.

Klunklin, W., Savage, G. 2017. Effect on Quality Characteristics of Tomatoes Grown Under Well-Watered and Drought Stress Conditions. – Foods, 6(56):1–10, doi: 10.3390/foods6080056.

Martí, R., Leiva-Brondo, M., Lahoz, I., Campillo, C., Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S. 2018. Polyphenol and L-ascorbic acid content in tomato as influenced by high lycopene genotypes and organic farming at different environments. – Food Chem., 239:148–156, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.06.102.

Maynard, D.N., Hochmuth, G.J. 2007. Knott's handbook for vegetable growers. 5th ed. – John Wiley Sons, New York, 621 p.

Pane, C., Rongai, D., Zaccardelli, M. 2013. Foliar spray application of glucosinolates and essential oils on processing tomato in open field production system. – Agr. Sci., 4(3):149–153, doi: 10.4236/as.2013.43022.

Patane, C., Tringali, S., Sortino, O. 2011. Effects of deficit irrigation on biomass, yield, water productivity and fruit quality of processing tomato under semi-arid Mediterranean climate conditions. – Sci. Hortic.-Amsterdam, 129:590–596, doi: 10.1016/j. scienta.2011.04.030.

Shah, M.A., Khan, A.L., Awan, F.S., Sadaqat, H.A., Bahadur, S., Rasheed, A., Baloch, F.S. 2015. Genetic diversity of some tomato cultivars and breeding lines commonly used in Pakistani breeding program. –

Turk. J. Agric.-Food Sci. Tech., 3:126–132, doi: 10.24925/turjaf.v3i3.126-132.249.

Sidhu, V., Nandwani, D. 2017. Effect of Stimplex® on yield performance of tomato in organic management system. – Ann. Adv. Agric. Sci., 1(1):11–15, doi: 10.22606/as.2017.11002.

Spann, T.M., Little, H.A. 2010. Effect of Stimplex® crop biostimulant on drought tolerance of Hamlin sweet orange. – Proc. Florida State Hortic. Soc., 123:100 –104.

Statistical Analysis System (SAS) Institute. 2009. The SAS System for Windows, Release 9.1. Stat. Anal. Syst. Inst., Cary, NC, USA, 5121 p.

Wang, X., Xing, Y. 2017. Evaluation of the effects of irrigation and fertilization on tomato fruit yield and quality: a principal component analysis. – Sci. Rep-UK, 7(350):1–13, doi: 10.1038/s41598-017-00373-8.

White, C.A. 2011. Increasing the water use efficiency (WUE) of tomato (S. *lycopersicum*) via manipulation of the abscisic acid (ABA) biosynthesis pathway. – PhD thesis, University of Nottingham, 297 p.

Ya-dan, D., Hong-xia, C., Shi-quan, L., Xiao-bo, G., Yu-xin, C. 2017. Response of yield, quality, water and nitrogen use efficiency of tomato to different levels of water and nitrogen under drip irrigation in Northwestern China. – J. Integr. Agr., 16(5):1153–1161, doi: 10.1016/S2095-3119(16)61371-0.

Yuan, X.K., Yang, Z.Q., Li, Y.X., Liu, Q., Han, W. 2016. Effects of different levels of water stress on leaf photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme activities of greenhouse tomato. – Photosynthetica, 54 (1):28–39, doi: 10.1007/s11099-015-0122-5.

Zhang, D., Jiao, X., Du, Q., Song, X., Jianming, L. 2018. Reducing the excessive evaporative demand improved photosynthesis capacity at low costs of irrigation via regulating water driving force and moderating plant water stress of two tomato cultivars. – Agr. Water Manage., 199:22–33, doi: 10.1016/j.agwat.2017.11.014.

Agraarteadus
2 * XXIX * 2018 121–130

Journal of Agricultural Science
2 * XXIX * 2018 121–130

AXILLARY SHOOTS DERIVED FROM SHOOT TIPS IN *IN VITRO* MASS PROPAGATION OF *ANOECTOCHILUS FORMOSANUS* HAYATA

Budi Winarto[1,2], Samijan[2]

[1]*Indonesian Ornamental Crops Research Institute, Jln. Raya Ciherang, Pacet-Cianjur 43253, West Java Indonesia*
[2]*Central Java Assessment Institute for Agriculture Technology, Jl. Soekarno Hatta KM.26 No.10, Kotak Pos 124, Tegalsari, Bergas Lor, Bergas, Semarang, 50552 Central Java, Indonesia*

Saabunud: Received: 30.10.2018
Aktsepteeritud: Accepted: 20.11.2018

Avaldatud veebis: Published online: 21.11.2018

Vastutav autor: Corresponding author: Budi Winarto
E-mail: budi.winarto67@yahoo.co.id

Keywords: accession, explant, medium, tissue culture, *Anoectochilus formosanus*.

doi: 10.15159/jas.18.11

ABSTRACT. Axillary shoot proliferation in *in vitro* mass propagation of *Anoectochilus formosanus* was successfully established via selection of different explant types, accessions and culture media to plantlet acclimatization. In the initiation stage, shoot tips and Murashige and Skoog (MS) medium containing 1.5 mg l^{-1} N6-benzylaminopurine (BAP) and 0.25 mg l^{-1} α-naphthalene acetic acid (NAA) were determined as high potential explant and medium for axillary shoot regeneration of A-1 and A-2 accessions of *A. formosanus* compared to others. High axillary shoots up to 7.0 shoots per explant with 1.0 cm shoot height and 9.8 leaves per explant derived from shoot tip explants of A-1 accession were signifycantly induced and proliferated in MS medium supplemented with 1.25 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA. Higher root formation up to 2.4 roots per shoot and 1.0 cm root length of A-1 accession was easily prepared on Hyponex medium (2 g l^{-1} 20N:20P:20K) containing 150 ml l^{-1} coconut water (CW). While high survival rate of acclimatized plantlets as high as 90.4 % was successfully done by planting them in plastic boxes containing a mixture of burned rice-husk and organic manure (1:1, v/v) after 2 months. In the study, it was also revealed that in *in vitro* culture of A-1 accession of *A. formosanus* showed higher response compared to A-2 accession in all *in vitro* culture stages. The successful established protocol expected can be applied for preparing high-quality planting materials for commercial purposes and developing new route of *in vitro* mass propagation for other species of *A. formosanus*.

© 2018 Akadeemiline Põllumajanduse Selts. Kõik õigused kaitstud. 2018 Estonian Academic Agricultural Society. All rights reserved.

Introduction

Anoectochilus is one of Orchidaceae family members and belong to a group of terrestrial orchids that are generally known as "Jewel Orchids" (Cavestro, 1994; Shiau *et al.*, 2002). The genus consists of 40 species widespread throughout Southeast Asia, New Caledonia and Hawaii (Ket *et al.*, 2004). *Anoectochilus formosanus* is one of jewel and terrestrial orchids grown primarily for its beautiful foliage as well as for medicine benefits (Tseng *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2007; Gutiérrez, 2010). The *A. formosanus,* normally grow at elevation range between 800 and 1.500 meter above sea level in Lanyu Islang in Taiwan, Ryukyu Island in Japan and China's Fujian Province (Refish *et al.*, 2015), is an herbal plant widely used as dietary supplement and folk remedy in Asia (Kuan *et al.*, 2011). For health purposes, it can be applied as hepatoprotection (Du *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2007; Fang *et al.*, 2008), anti-fatigue (Ikeuchi *et al.*, 2005), antioxidative (Wang *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2005), anti-hyperglycemia (Shih *et al.*, 2002; Ho *et al.*, 2018), anti-hyperliposis (Fang *et al.*, 2008), antiosteoporosis (Masuda *et al.,* 2008), anti-tumor (Shyur *et al.*, 2004; Tseng *et al.*, 2006), and immune modulation (Kuan *et al.*, 2011). The species also has high potential widely cultivated in several areas of Indonesia, however, developing the plant is constrained by availability of high-quality planting materials.

A. formosanus is a slow-growing perennial herb. Growth dan development of its seedlings to reach maturity and bear seed take 2–3 years (Tsay, 2002). The plant is traditionally propagated by seeds, but their

germination rate is very low (Ket *et al.*, 2004). It flowers only once a year, especially in winter (October to December) (Tsay, 2002). Nowadays due to over-collection from natural resources, in one hand and less conservation efforts, this orchid is under the threat of extinction (Belitsky, Bersenev, 1999). Therefore, to overcome all these limitations, to maintain and prepare the availability of high quality of planting materials both for conservation and commercial purposes, propagation of the plants via tissue culture works is importantly addressed.

Several works in *in vitro* propagation on Anoectochilus were published previously. Several species of Anoectochilus developed via the *in vitro* cultures were *A. elatus* (Sherif *et al.*, 2012; Sherif *et al.*, 2016; Raja, 2017), *A. formosanus* (Chang, Chen, 1987; Shiau *et al.*, 2002; Tsay, 2002; Ket *et al.*, 2004; Refish *et al.*, 2015), *A. sikkimensis* and *A. regalis* (Gangaprasad *et al.*, 2000), *A. roxburghii* (Zhang *et al.*, 2015). These works generally used several explant sources such as nodes, internodes, leaves and shoot tips; Murashige and Skoog (1962; MS) medium used as basic medium; N6-benzyl-adenine (BA), N6-benzylaminopurine (BAP, thidiazuron (TDZ), kinetin (Kin), N6-(2-isopentenyl) adenine (2-iP), Zeatin (Zea), 2,4-diclhorophenoxyacetic acid (2.4-D), α-naphthalene acetic acid (NAA), indole-3-acetic acid (IAA), indole-3-butyric acid (IBA), and 4-amino-3,4,6-trichloro picolinic acid (Pic) applied as chosen hormones either individually or in combinations; and citric acid, trisodium citrate, peptone, coconut water, potato extract, and banana pulp utilized as potential additives applied in these cultures. Varied application and combination of them stimulated varied-results, however, each *in vitro* culture stage needs specific treatment and condition.

Establishment of a new and reliable protocol route of *in vitro* propagation of *A. formosanus* as main objective of the study was successfully determined. The protocol was initiated by culturing shoot tips of A-1 accession as explant source for initiation and proliferation of axillary shoots, followed by plantlet preparation and its acclimatization. Detail and interesting finding in each step were discussed in this paper.

Materials and Methods

Planting material and its preparation

Materials used in the study were two accessions of *A. formosanus viz,* A-1 and A-2 accessions collected by farmer at Jagakarsa, Jakarta. The harvested shoots with 4–5 leaves and 5–7 cm in length derived from the two accessions were explants sources utilized in the experiments. Before their sterilization, the explants were prepared by cutting leaves remaining petiole basalt parts for 1–2 mm in length. The prepared explants were ready for sterilization stage.

Explant Sterilization and Preparation

All explants with short basal parts of petioles were pre-treated by placing them under running tap water for 60 minutes (min), followed by immersing them in 1% soap solution for 30 min, 1% pesticide solution (50% benomil and 20% kanamycin sulphate) for 30 min with manual shaking and then rinsing 4–5 times (@ 3 min each) using distilled water until all remain disinfection materials totally removed. The explants were then brought to laminar air flow cabinet for sterilization. They were soaked in 0.05% mercury chloride ($HgCl_2$) solution added by 5 drops of Tween 20 for 5 min, followed by rinsing them with sterile distilled water (SDW) 2 times (@ 3 min each) with manual shaking. The remaining petiole basalt parts were then removed carefully using tissue culture blade. The shoot tips with one short node and the third node were sliced and put in different 25 ml Erlenmeyers containing 5 ml SDW. After all explants successfully prepared, all shoot tip and node explants were further sterilized using 0.01% $HgCl_2$ for 3 min and rinsed with SDW 4–6 times (@ 3 min each) with the same treatment. The explants were then cultured in different initiation media.

Culture media

Basic media used in the study were full strength MS medium and half strength MS medium. All media components both macro, micro and vitamin were from Merck (Darmstadt, Germany), BAP and NAA from Sigma-Aldrich (Darmstadt, Germany), Swallow agar (Jakarta-Indonesia). Initiation, proliferation and rooting media were prepared by mixing stock solution of macro, micro, Fe chelate, and vitamin. The pH of media was adjusted to 5.8 using Model 420A pH meter of Thermo Orion (Beverly, USA) using 1N NaOH or HCl. After pH adjustment, the media were added by 30 g l^{-1} sucrose (except as treatment) and 7 g l^{-1} Swallow agar; mixed homogenously, boiled, poured in jam bottles (7 cm in diameter, 13 cm in height; 30 ml media per bottle) and sterilized for 20 min at 121ºC and 15 kPa using Pressure Steam Sterilizer Vertical Cylindrical LS. 001, SMIC (Shanghai, China).

Culture incubation

Culture incubation applied in the study was light incubation. The light incubation was performed by placing explant cultures under cool fluorescent lamps for 12 h photoperiod with ~13 μmol m^{2-1} s^{-1} light intensity. Incubation period for all experiments was approximately 2 months.

Effect of explant types and initiation media on axillary shoot regeneration and proliferation

In the step, there were two types of explants tested *i.e.* shoot tips and nodes. While initiation media (IM) applied in the study were MS medium containing (1) 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.5 mg l^{-1} NAA (IM-1), (2) 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA (IM-2), (3) 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.1 mg l^{-1} NAA (IM-3), (4) 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.05 mg l^{-1} NAA (IM-4) and (5) 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.025 mg l^{-1} NAA (IM-5). The experiment was arranged in a split plot design with three replications, where explant types of shoot tips and nodes were main plot; and 5 initiation media as subplot. Each treatment consisted of 3 bottles and each bottle was cultured 3 explants. Total explants used in the experiment were 270 explants. Two accessions of A-1 and A-2 of *A. formosanus* in the step were studied in different

experiments separately due to optimal handling and results expected.

Effect of proliferation media on axillary shoot production of two accessions of *A. formosanus*

In the stage, promising initiation medium established in the previous experiment *i.e.* MS medium supplemented with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA was optimized by reducing MS medium strength from full to half-strength; varying BAP concentration from 1.5 mg l^{-1} increased to 1.75 mg l^{-1} and reduced to 1.25 mg l^{-1}; and applying MS medium fortified by 1.5 mg l^{-1} BAP, 0.25 mg l^{-1} NAA and 60 mg l^{-1} adenine sulphate (AS) promising medium from different study. Proliferation media (PM) tested in the stage were (1) MS medium fortified by 1.5 mg l^{-1} BAP, 0.25 mg l^{-1} NAA and 60 mg l^{-1} AS (PM-1), (2) MS medium supplemented with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA (PM-2; control), (3) MS medium supplemented with 1.75 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA (PM-3), (4) MS medium supplemented with 1.25 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA (PM-4), (5) Half-strength MS medium supplemented with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA (PM-5); control), (6) Half-strength MS medium supplemented with 1.75 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA (PM-6), and (7) Half-strength MS medium supplemented with 1.25 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA (PM-7). Shoot tips were better explant source shoot regeneration determined from the previous study were used to investigate response of A-1 and A-2 in the proliferation experiment. The experiment was arranged in a split plot design with three replications, where two accessions of A-1 and A-2 were applied as main plot; and 7 PM as subplot. Each treatment consisted of 3 bottles and each bottle was cultured 3 explants. Total explants used in the experiment were 378 explants.

Shoot rooting

Preparing plantlets for acclimatization purpose were carried out by culturing shoots with 2–3 leaves and ± 2.5 cm in height on different rooting media. The rooting media (RM) tested in the stage were (1) MS medium supplemented with 60 g l^{-1} sucrose (RM-1), (2) MS medium supplemented with 60 g l^{-1} sucrose and 1.5 g l^{-1} activated charcoal (AC) (RM-2), (3) Half-strength MS medium with full vitamin (RM-3), (4) Half-strength MS medium with full vitamin and 1.5 g l^{-1} AC (RM-4), (5) MS medium containing 0.2 mg l^{-1} BAP and 0.02 mg l^{-1} NAA (RM-5), (6) MS medium supplemented with 0.25 mg l^{-1} BAP and 1.5 g l^{-1} AC (RM-6), and (7) Hyponex medium (2 g l^{-1} 20N:20P: 20K) containing 150 ml l^{-1} coconut water (CW) and 1.5 g l^{-1} AC. The experiment was arranged in a split plot design with three replications, where two accessions of A-1 and A-2 were applied as main plot; and 7 RM as subplot. Each treatment consisted of 3 bottles and each bottle was cultured 5 explants. Total explants used in the experiment were 210 shoots.

Plantlet acclimatization

Plantlets of A-1 and A-2 accessions with 5–8 leaves, 3–5 cm in height and 2–3 roots derived from the previous experiment were used for acclimatization step. The plantlets were then pulled out from culture bottles gently using blunt forceps. The roots of plantlet were put under running tap water to remove remains of agar attaching them. The plantlet roots were then immersed in 1% pesticide solution (50% benomil and 20% kanamycin sulphate) for 3 min, air-dried them on paper for a while, then cultured on plastic boxes containing mixture of burned-rice husk and organic manure (1:1, v/v) watered sufficiently. The plastic boxes were then covered by plastic transparent for 30 days. Each week, the transparent plastic was opened, then the acclimatized plantlets were sprayed by 1 g l^{-1} Growmore high N solution then covered again. Each plastic box was planted ± 40 plantlets for two replications. The experiment was arranged in complete randomized design (CRD) with 8 replications. Each treatment consisted of 20 plantlets. Total plantlets acclimatized in the step were 320 plantlets.

Variables

Variables observed in the study were (1) Number of shoots per explant, (2) height of shoot (cm), (3) number of leaves per explant, (4) number of roots per shoot, (5) length of roots (cm), (6) percentage of survivability (%), and (7) Number of survival plantlets and Quality of plants. Periodical observation in each experiment was carried out to know and observe response and alteration of explant during incubation period. Final observation and variables measurement were recorded ± 2.0 months after culture.

Analysis of Data

Collected data generated from these experiments were carried out by analysis of variance (ANOVA) using SAS Release Windows 9.12. If there were significant differences between means, the mean values were further analyzed using Tukey test, P = 0.05 (Mattjik, Sumertajaya, 2006).

Results

Effect of explant types and initiation media on axillary shoot regeneration of A-1 and A-2 accessions

Under periodical observation it was clearly known that development of new shoots and initial proliferated shoots was noted 7–10 days after culture, while initial new leaves were observed 10–15 days after culture. The initial proliferated shoots and leaves grew continually and increased in number and size of shoots following incubation time. In the end of experiment, number of shoots was in range of 1–3 shoots per explant with 0.5–2.3 cm shoot height and 1–4 leaves per shoot.

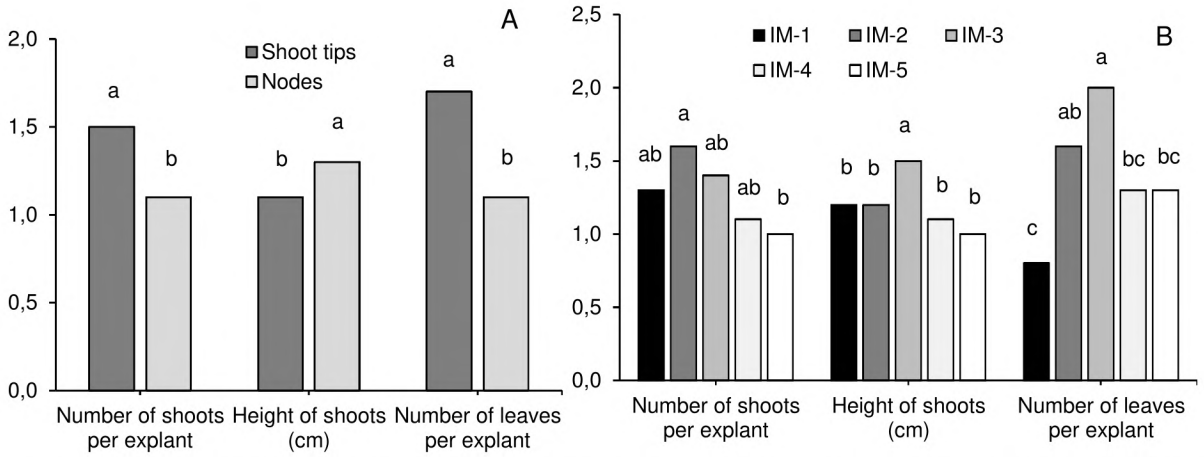


Figure 1. Effect of explant types and initiation media on axillary shoot regeneration. IM-1, MS medium containing 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.5 mg l^{-1} NAA, IM-2, MS medium supplemented with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, IM-3, MS medium with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.1 mg l^{-1} NAA, IM-4, MS medium fortified by 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.05 mg l^{-1} NAA, and IM-5, MS medium augmented with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.025 mg l^{-1} NAA. A. Effect of explant types on axillary shoot regeneration, B. Effect of culture media on axillary shoot regeneration. Vertical histogram bars followed by the same letter in the same cluster are not significantly different based on Tukey test, P = 0.05.

Different types of explants and culture media tested in the first experiment, in fact, gave significant effect on axillary shoot regeneration statistically, P = 0.05. Shoot tips were the most appropriate explant source for obtaining higher axillary shoot regeneration than that of the node explants. The explants induced 1.5 shoots per explant with 1.1 cm shoot height and 1.7 leaves per explant (Figure 1A). While IM-2, MS medium supplemented with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, was the suitable medium for the experiment purpose. The medium successfully stimulated 1.6 shoots per explant with 1.2 cm in height of shoots and 1.6 leaves per explant (Figure 1B). The IM-3 medium was the second best medium, while the lowest results were performed by IM-5 medium.

Investigating effect of explant types and culture media was also gave significant interaction effect in all variables observed, where explant types exhibited higher effect than culture media. Shoot tip explants cultured on IM-2 medium were better combination treatment in obtaining high axillary shoot regeneration than other combinations. The combination successfully induced axillary shoots per explant up to 2.0 shoots (Table 1) with 1.2 cm shoot height (Table 2) and 2.1 leaves per explant (Table 3). The second best treatment was performed by culturing of the explant on the IM-3 medium. While the lowest results were indicated by culturing the similar explant on the IM-5 medium. Node explants in combination with all media tested generally regenerated lower number of shoots and leaves per explant, however, they generally produced higher shoot performances (Table 1, 2 and 3).

In the second experiment, testing explant types and culture media for A-2 accession almost gave similar results as performed by A-1 accession. Shoot tips were better explant type for inducing axillary shoots than the nodes.

Table 1. Interaction effect of type of explants and initiation media on number of shoots per explant

Type of medium	Type of explant	
	Shoot tips	Nodes
IM-1	1.6 ab	1.0 a
IM-2	2.0 a	1.2 a
IM-3	1.7 ab	1.1 a
IM-4	1.3 ab	1.0 a
IM-5	1.0 b	1.0 a
CV, %	23.94	16.21

Notes: IM-1, MS medium containing 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.5 mg l^{-1} NAA, IM-2, MS medium supplemented with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, IM-3, MS medium with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.1 mg l^{-1} NAA, IM-4, MS medium fortified by 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.05 mg l^{-1} NAA, and IM-5, MS medium augmented with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.025 mg l^{-1} NAA. Means followed by the same letter in the same column are not significant difference based on Tukey test, P = 0.05.

Table 2. Interaction effect of type of explants and initiation media on height of shoots (cm)

Type of medium	Type of explant	
	Shoot tips	Nodes
IM-1	1.2 ab	1.2 a
IM-2	1.2 ab	1.2 a
IM-3	1.4 a	1.6 a
IM-4	1.1 ab	1.2 a
IM-5	1.0 b	1.4 a
CV, %	12.80	10.85

Means followed by the same letter in the same column are not significant difference based on Tukey test, P = 0.05.

Table 3. Interaction effect of type of explants and initiation media on number of leaves per explant

Type of medium	Type of explant	
	Shoot tips	Nodes
IM-1	1.5 ab	0.0 b
IM-2	2.1 a	1.0 ab
IM-3	2.2 a	1.9 a
IM-4	1.6 ab	1.0 ab
IM-5	0.9 b	1.6 a
CV, %	10.26	14.41

Means followed by the same letter in the same column are not significant difference based on Tukey test, P = 0.05.

The explant produced the shoots up to 1.7 shoots per explant with 1.1 cm in height of shoots and 2.0 leaves per explant (Table 4). IM-2 medium was also the appropriate medium that successfully stimulated 2.2 shoots per explant with 1.2 cm shoot height and 2.0 leaves per explant (Table 5). Though the explant types and culture media showed significant effect on axillary shoot formation statistically, there was no interaction effect of the two treatments.

Table 4. Effect of explant types on axillary shoot regeneration of A-2 accession

Type of explant	Number of shoots per explant	Height of shoots (cm)	Number of leaves per explant
Shoot tips	1.7 a	1.1 b	2.0 a
Nodes	1.4 b	1.3 a	1.8 b
CV, %	12.46	21.17	19.41

Means followed by the same letter in the same column are not significant difference based on Tukey test, P = 0.05.

Table 5. Effect of explant types on axillary shoot regeneration of A-2 accession

Type of medium	Number of shoots per explant	Height of shoots (cm)	Number of leaves per explant
IM-1	1.6 ab	1.1 a	2.0 a
IM-2	2.2 a	1.2 b	2.0 a
IM-3	1.5 b	1.3 a	2.0 a
IM-4	1.4 b	1.2 a	1.9 a
IM-5	1.3 b	1.3 a	1.8 a
CV, %	12.46	21.17	19.41

Means followed by the same letter in the same column are not significant difference based on Tukey test, P = 0.05.

Improvement of axillary shoot production of A-1 and A-2 accessions on different proliferation media

Based on periodical observation, initial axillary shoot and leaf formation was almost similar noted as the previous experiments with different values on number of shoots produced per explant, height of shoots and number of leaves per explant. In the stage, two *A. formosanus* accessions and proliferation media generated significant effect on axillary shoot production statistically, P = 0.05. A-1 accession kept the most responsive accession on axillary shoot production with 4.9 shoots per explant, 1.1 cm in height of shoots and 9.2 leaves per explant. While PM-7, MS medium fortified by 1.25 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, was the most optimal medium and produced 4.3 shoots per explant with 1.1 cm shoot height and 7.0 leaves per explant (Figure 2B). PM-1 medium was the second best medium, but PM-6 stimulated the lowest results compared to others. In the study, it was also revealed that improving axillary shoot production was established by lowering BAP concentration from 1.5 to 1.25 mg l^{-1}.

In the study, it was also revealed that two *A. formosanus* accessions and seven proliferation media had significant interaction effect in all variables observed, where the accessions gave higher effect than the proliferation media. Shoot tip explants of A-1 accession cultured on PM-7 were the best combination treatment in resulting high axillary shoots compared to others. The combination treatment successfully regenerated axillary shoots per explant as high as 7.0 shoots (Table 6) with lower shoot height down to 1.0 cm (Table 7) and higher number of leaves per explant up to 9.8 leaves (Table 8) than other combinations. The second best combination was recorded on the shoot tips of A-1 accession with PM-2 medium, while the lowest combination results were determined on the explant and accession with PM-6 medium. Whereas the shoot tip explants of the A-2 accession indicated higher results when they cultured on the PM-1 medium. Culturing them in other media reduced the axillary production results significantly. The results also revealed that each explant source and genotype had specific behavior in tissue culture condition.

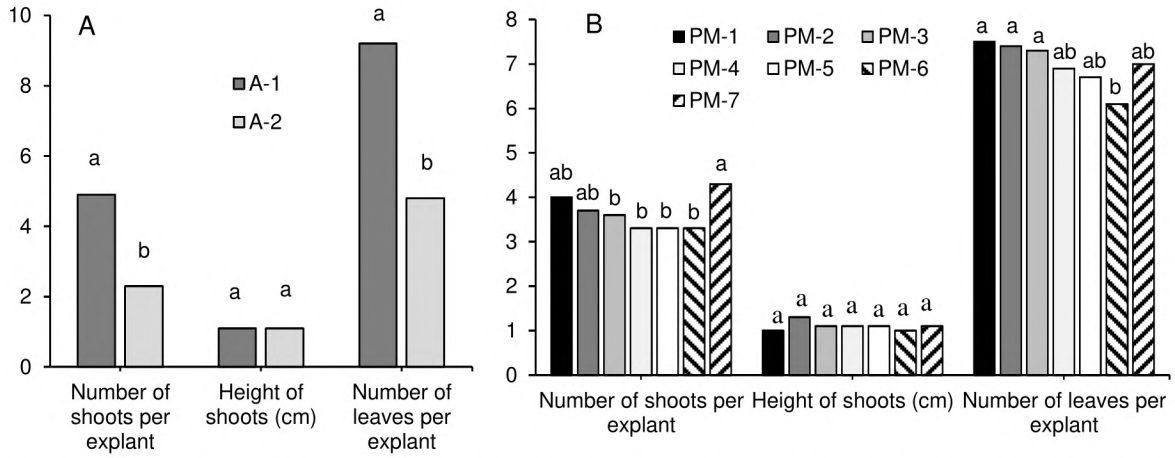


Figure 2. Effect of different *A. formosanus* accessions and proliferation media on axillary shoot production. PM-1, MS medium fortified by 1.5 mg l^{-1} BAP, 0.25 mg l^{-1} NAA and 60 mg l^{-1} AS, PM-2, MS medium supplemented with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, PM-3MS medium supplemented with 1.75 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, PM-4, MS medium supplemented with 1.25 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, PM-4, Half-strength MS medium supplemented with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, PM-6Half-strength MS medium supplemented with 1.75 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, PM-7, Half-strength MS medium supplemented with 1.25 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA. A. Response of two *A. formosanus* accessions on axillary shoot production, B. Effect of proliferation media on axillary shoot production. Vertical histogram bars followed by the same letter in the same cluster are not significantly different based on Tukey test, P = 0.05

Table 6. Interaction effect of type of explants and initiation media on number of shoots per explant

Type of medium	Type of accession	
	A-1	A-2
PM-1	5.2 ab	2.8 ab
PM-2	5.7 ab	1.8 ab
PM-3	4.3 b	3.0 a
PM-4	4.3 b	2.3 ab
PM-5	4.4 b	2.1 ab
PM-6	3.8 b	2.8 ab
PM-7	7.0 a	1.6 b
CV, %	19.17	25.63

Notes: PM-1, MS medium fortified by 1.5 mg l^{-1} BAP, 0.25 mg l^{-1} NAA and 60 mg l^{-1} AS, PM-2, MS medium supplemented with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, PM-3MS medium supplemented with 1.75 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, PM-4, MS medium supplemented with 1.25 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, PM-4, Half-strength MS medium supplemented with 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, PM-6Half-strength MS medium supplemented with 1.75 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA, PM-7, Half-strength MS medium supplemented with 1.25 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA. Means followed by the same letter in the same column are not significant difference based on Tukey test, P = 0.05.

Shoot Rooting

Culturing shoots derived from A-1 and A-2 accessions on different rooting media also exhibited varied responses on root formation. Under periodical observation it was known that initial roots immersing in basal parts of intercalary meristem areas of nodes were clearly observed 6–10 days after culture. The initial roots grew continually and developed in number, size and length following the incubation time. In the end of experiment, number of roots per shoot was varied from 1–4 roots with 0.5–2.0 cm root length.

In the study, different accession of *A. formosanus* and rooting media gave significant effect of root formation statistically, P = 0.05. A-1 accession indicated higher responses than A-2 accession. The accession induced 1.8 roots per shoot and 0.9 cm root length (Figure 3A). Furthermore, though higher number of roots per shoot determined of RM-4 and RM-5 (Figure 3B), there were no significant differences compared to others. While optimal root formation of A-1 accession shoots was established on RM-7, Hyponex medium (2 g l^{-1} 20N:20P:20K) containing 150 ml l^{-1} CW and 1.5 g l^{-1} AC. The combination treatment stimulated 2.4 roots per shoot (Table 9) and 1.0 cm root length (Table 10). Whereas maximal root formation of A-2 accession shoots was determined on RM-4, half-strength MS medium with full vitamin and 1.5 g l^{-1} AC and RM-5, MS medium containing 0.2 mg l^{-1} BAP and 0.02 mg l^{-1} NAA.

Table 7. Interaction effect of type of explants and initiation media on height of shoots (cm)

Type of medium	Type of accession	
	A-1	A-2
PM-1	1.1 b	1.0 a
PM-2	1.4 a	1.2 a
PM-3	1.1 b	1.1 a
PM-4	1.2 ab	1.0 a
PM-5	1.0 b	1.0 a
PM-6	1.1 b	1.0 a
PM-7	1.0 b	1.2 a
CV, %	10.24	11.25

Means followed by the same letter in the same column are not significant difference based on Tukey test, P = 0.05.

Table 8. Interaction effect of type of explants and initiation media on number of leaves per explant

Type of medium	Type of accession	
	A-1	A-2
PM-1	9.3 a	5.7 a
PM-2	9.8 a	5.0 ab
PM-3	9.5 ab	5.1 ab
PM-4	9.3 ab	4.7 ab
PM-5	9.1 ab	4.2 b
PM-6	7.4 b	4.7 ab
PM-7	9.8 a	4.3 ab
CV, %	14.01	18.48

Means followed by the same letter in the same column are not significant difference based on Tukey test, P = 0.05.

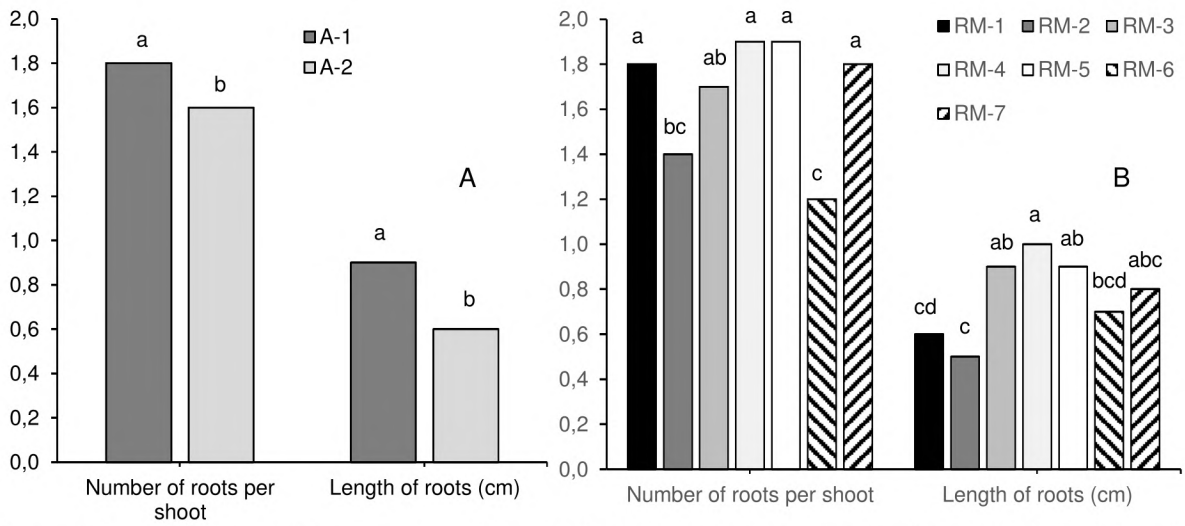


Figure 3. Response of two *A. formosanus* accessions and effect of seven rooting media on root formation. RM-1, MS medium supplemented with 60 g l^{-1} sucrose, RM-2, MS medium supplemented with 60 g l^{-1} sucrose and 1.5 g l^{-1} AC, RM-3, half-strength MS medium with full vitamin, RM-4, half-strength MS medium with full vitamin and 1.5 g l^{-1} AC, RM-5, MS medium containing 0.2 mg l^{-1} BAP and 0.02 mg l^{-1} NAA, RM-6, MS medium supplemented with 0.25 mg l^{-1} BAP and 1.5 g l^{-1} AC, and RM-7, Hyponex medium (2 g l^{-1} 20N:20P:20K) containing 150 ml l^{-1} CW and 1.5 g l^{-1} AC. Vertical histogram bars followed by the same letter in the same cluster are not significantly different based on Tukey test, P = 0.05

Figure 4. *In vitro* propagation process of *A. formosanus* based on selection of explant types, accessions and culture media. A – Harvested shoots of A-1 accession accepted from Jagakarsa farmer. B – Prepared explants of A-1 accession ready for sterilization step. C – Shoot tips and nodes used as explant sources used in the initiation experiments. D – Initial regenerated shoots derived from shoot tips of A-1 accession on MS medium containing 1.25 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA ± 30 days after culture. E – Regenerated shoots derived from shoot tips of A-1 accession on the same medium ± 2 months after culture. F – Regenerated shoots derived from nodes of A-1 accession on the same medium ± 2 months after culture. G – Plantlets prepared on Hyponex medium (2 g l^{-1} 20N:20P:20K) containing 150 ml l^{-1} CW and 1.5 g l^{-1} AC ± 30 days after culture. H – Immersing of plantlet roots in 1% pesticide solution (50% benomil and 20% kanamycin sulphate) for 3 min. I – Plantlets of A-1 accession planted in plastic box containing a mixture of burned-rice husk and organic manure (1:1, v/v). J – Covering plantlets of A-1 accession planted in plastic box containing with transparent plastic for one month. K – Morphological performances of A-1 accession ± 2 months after acclimatization. L – Morphological performances of A-2 accession ± 2 months after acclimatization

Table 9. Interaction effect of accession types and rooting media on number of roots per shoot

Type of medium	Type of accession	
	A-1	A-2
RM-1	2.0 b	1.7 b
RM-2	1.4 cd	1.3 b
RM-3	2.1 b	1.3 b
RM-4	1.6 c	2.2 a
RM-5	1.7 c	2.2 a
RM-6	1.2 d	1.2 b
RM-7	2.4 a	1.3 b
CV, %	10.61	19.79

Notes: RM-1, MS medium supplemented with 60 g l^{-1} sucrose, RM-2, MS medium supplemented with 60 g l^{-1} sucrose and 1.5 g l^{-1} AC, RM-3, half-strength MS medium with full vitamin, RM-4, half-strength MS medium with full vitamin and 1.5 g l^{-1} AC, RM-5, MS medium containing 0.2 mg l^{-1} BAP and 0.02 mg l^{-1} NAA, RM-6, MS medium supplemented with 0.25 mg l^{-1} BAP and 1.5 g l^{-1} AC, and RM-7, Hyponex medium (2 g l^{-1} 20N:20P: 20K) containing 150 ml l^{-1} CW and 1.5 g l^{-1} AC. Means followed by the same letter in the same column are not significant difference based on Tukey test, P = 0.05.

Table 10. Interaction effect of accession types and rooting media on number of root length (cm)

Type of medium	Type of accession	
	A-1	A-2
RM-1	0.7 d	0.5 b
RM-2	0.5 e	0.5 b
RM-3	1.2 b	0.7 ab
RM-4	1.4 a	0.6 ab
RM-5	1.1 b	0.8 a
RM-6	0.8 cd	0.6 ab
RM-7	1.0 bc	0.7 ab
CV, %	17.86	26.05

Means followed by the same letter in the same column are not significant difference based on Tukey test, P = 0.05.

Plantlet acclimatization

Acclimatization plantlets, though in some plant tissue culture works to be a critical point, in the study plantlets were easily transferred to *ex vitro* condition successfully under gradual process as described in materials and methods. Percentage of survivability was varied from 80 to 95% or 16–19 survival plantlets in a mixture of burned-rice husk and organic manure (1:1, v/v) were noted in each replication. A-1 accession kept resulting in higher responses than A-2 accession with percentage of survivability up to 90.4% and 18.1 survival plantlets in average (Table 11). Plantlets acclimatized derived from A-1 accession generally had healthy and vigour growth compared to the A-2 accession.

Table 11. Different responses of *A. formosanus* accessions in acclimatization

Type of accession	Percentage of survivability (%)	Number of survival plantlets
A-1	90.4 a	18.1 a
A-2	85.0 b	17.0 b
CV, %	2.51	2.39

Means followed by the same letter in the same column are not significant difference based on Tukey test, P = 0.05.

Discussion

In vitro propagation protocol initiating from axillary shoot regeneration, proliferation, shoot rooting and acclimatization of plantlet on *A. formosanus* was successfully established. The new findings can be used as a new alternative method in preparing high qualified planting materials in developing the plant commercially in large scale. The protocol can also complete and improve other studies published previously (Chang, Chen, 1987; Shiau *et al.*, 2002; Ket *et al.*, 2004; Refish *et al.*, 2015). Results of the study can also be utilized as comparison method and improving ideas for other *Anoectochilus in vitro* studies of *A. sikkimensis* and *A. regalis* (Gangaprasad *et al.*, 2000), *A. roxburgii* (Zhang *et al.*, 2015), *A. elatus* (Sherif *et al.*, 2012; Sherif *et al.*, 2016; Raja, 2017).

Successful initiation stage in *in vitro* culture of plant will lead to high potential in achieving the next step. Ket *et al.* (2004) recorded that high axillary shoots derived from shoot tip explants up to 11.2 shoots per explant with 3.8 cm shoot length of *A. formosanus* was established on Hyponex medium supplemented with 2 mg l^{-1} TDZ and 1.0 g l^{-1} AC, while lower results down to 5.0 – 7.8 shoots were recorded on MS medium containing 3 mg l^{-1} BA and 0.5 mg l^{-1} NAA (Chang, Chen, 1987). In the study, MS medium containing 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA as potential medium was improved by decreasing concentration of BAP from 1.5 to 1.25 mg l^{-1} to produce 7.0 axillary shoots per explant with 1.0 cm shoot height and 9.8 leaves per explant derived from shoot tips of A-1 accession of *A. formosanus*. While in other studies, 5.6 shoots per explant of *A. regalis* and 4.5 shoot per explant of *A. sikkimensis* were successfully regenerated on Woody Plant Medium supplemented with 0.5 mg l^{-1} BAP (Gangaprasad *et al.*, 2000), 2.7 shoots per explant with 2.2 cm shoot length of *A. elatus* were recorded on MS medium fortified by 1.0 mg l^{-1} BA (Sherif *et al.*, 2012), 7 shoots per explant with 6.2 cm shoot length on MS medium 2.5 mg l^{-1} TDZ and 5% CW (Raja, 2017); 1–10 shoots per explant and 0.5–4.0 cm shoot length of *A. roxburghii* was noted on MS medium fortified by 0.2 mg l^{-1} 2,4-D, 0.9 mg l^{-1} NAA, 1 mg l^{-1} BA, 0.25 mg l^{-1} Zeatin, 0.6% agar and 4.5% sucrose (Refish *et al.*, 2015), high proliferation rate of shoots up to 4.33 on half-strength MS medium fortified by 3.0 mg l^{-1} BA, 1.0 mg l^{-1} Kinetin, 0.5 mg l^{-1} NAA and additives (Zhang *et al.*, 2015).

Shoot rooting was important step in preparing high successful acclimatization of plantlets. In the study, high root formation with 2.4 roots per shoot and 1.0 cm root length of A-1 accession of *A. formosanus* was established on Hyponex medium (2 g l^{-1} 20N:20P:20K) containing 150 ml l^{-1} CW. Almost similar results with 2.3 roots per shoot and 2.5 cm root length were noted on Hyponex medium with 2% sucrose AC free (Ket *et al.*, 2004). In other *Anoectochilus* species, 4.3 roots per shoot and 2.2 cm in length of roots of *A. elatus* were recorded on MS medium containing 0.3 g l^{-1} AC (Sherif *et al.*, 2012), 3.2 roots per shoot with 2.1 cm root length on Mitra medium amended with 1.0 mg l^{-1} $AgNO_3$ (Sherif *et al.*, 2016), 86.6% root formation and 4.4 cm root length on MS medium fortified by 7.0 mg l^{-1} IBA (Raja, 2017).

Well plantlet preparation will be nothing and in in vitro culture works when the prepared plantlets were

fail to be acclimatized. High percentage of plantlets survivability of *A. formosanus* around 90% was established on mixture medium of peat moss and vermiculite after 2 months (Shiau *et al.*, 2002), while in the study, percentage of survivability up to 90.4% and 18.1 survival plantlets was determined on a mixture of burned-rice husk and organic manure (1:1, v/v) after 2 months. In other *Anoectochilus* species, 95% survival plantlets of *A. sikkimensis* and 70% for *A regalis* were recorded at loose humic rich soil after 12 months (Gangaprasad *et al.*, 2000), 100% survivability was proved in greenhouse after 4 weeks (Ket *et al.*, 2004); 80% survivability of A. elatus acclimatized plantlets was noted on coconut choir, AC and commercial fertilizers (3:1:1, v/v/v) (Sherif *et al.*, 2012), 72.3% survival rate was noted at a mixture of garden soil, sand, vermicompost and tea waste (8:4:2:1) (Sherif *et al.*, 2016). 88% survival plantlets were observed in Kulivalavu regions of Kolli Hill after 60 days (Raja, 2017). Whereas high survival rate up to 90.2% of *A. roxburghii* plantlets was noted on plastic cups containing sterile sand and peat soil mixture in a ratio of 1:2 that their surfaces were covered by live moss (Zhang *et al.*, 2015).

Specific behaviour of each explant and genotype on different types of culture media in *in vitro* culture of *A. formosanus* was also successfully revealed in the study. Shoot tip was more responsive than node explant; A-1 accession better than A-2 accession. The two explants and accessions of *A. formosanus* indicated different growth and performances in each step of culture. Ket *et al.* (2004) also found the similar results in *A. formosanus* that shoot tip explants produced higher axillary shoots than the node explants. In *A. elatus*, node explant was more productive than shoot tip explants on shoot regeneration (Sherif *et al.*, 2012), internode > node > leaf explants on callus proliferation and regeneration (Sherif *et al.*, 2016). Gangaprasad *et al.* (2000) recorded that node explant of *A. regalis* had high number and faster growth of shoots than node derived from *A. sikkimensis*.

Conclusions

The serial experiments carried out in the study were successfully established an *in vitro* propagation protocol for *A, formosanus* via axillary shoot regeneration and proliferation. In the initial step, shoot tips as explant sources and MS medium containing 1.5 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA were determined as high potential explant and medium for axillary shoot regeneration for A-1 and A-2 accessions of *A. formosanus*. High axillary shoot production up to 7.0 shoots per explant with 1.0 cm shoot height and 9.8 leaves per explant derived from ahoot tip explants of A-1 accession was resulted in MS medium supplemented with 1.25 mg l^{-1} BAP and 0.25 mg l^{-1} NAA. The regenerated shoots were easily rooted on Hyponex medium (2 g l^{-1} 20N:20P:20K) containing 150 ml l^{-1} CW with 2.4 roots per shoot and 1.0 cm root length of A-1 accession. The well growth plantlets were successfully acclimatized on plastic boxes containing a mixture of burned rice-husk and organic manure (1:1, v/v) with survival rate as high as 90.4 %. In all step of *in vitro* culture of *A. formosanus* it was also revealed that A-1 accession showed higher response compared to A-2 accession.

Acknowledgements

We express our gratitude to Jagakarsa farmer in supplying harvested fresh shoots of A-1 and A-2 accessions as materials and explant sources in the study. We would like also to express our great appreciation to Euis Rohayati and Nina Marlina for their cooperation and helps during research activities conducted at Tissue Culture Laboratory of the Indonesian Ornamental Crops Research Institute.

Conflict of interest

We declare that there is no conflict of interest dealing with Jagakarsa farmer who supplied research materials, authors and Indonesian Ornamental Crops Research Institute and Central Java Assessment Institute for Agriculture Technology that facilitated and funded the research activeties.

Author contributions

All authors play important roles equally in designing, carrying out and analysing all data regenerating from the research till writing, editing and approving the final manuscript.

References

Cavestro, W. 1994. Cultivating *Anoectochilus*, *Dossinia*, *Macodes* and other jewel orchids. – American Orchid Society Bulletin, 63:1387–1389

Chang, H.C.K., Chen, Z.Z. 1987. Tissue culture and acclimatization in *Anoectochilus formosanus* hay. – Bulletin Taiwan Forestry Research Institute New Series, 2(2):83–105.

Belitsky, I., Bersenev, V.N.A. 1999. Jewel Orchids. – Magazine American Orchid Society, 33–37.

Du, X.M., Sun, N.Y., Hayashi, J., Chen, Y., Sugiura, M., Shoyama, Y. 2003. Hepatoprotective and antihyperliposis activities of *in vitro* cultured *Anoectochilus formosanus*. – Phytother. Res. 17:30–33, doi: 10.1002/ptr.1057.

Fang, H.L., Wu, J.B., Lin, W.L., Ho, H.Y., Lin, W.C. 2008. Further studies on the hepatoprotective effects of *Anoectochilus formosanus*. – Phytother. Res., 22:291–296, doi: 10.1002/ptr.2307.

Gangaprasad, A., Latha, P.G., Seeni, S. 2000. Micropropagation of terrestrial orchids, *Anoectochilus sikkimensis* and *Anoectochilus regalis*. – Indian J. Exp. Biol., 38:149–154.

Gutiérrez R.M.P. 2010. Orchids: a review of uses in traditional medicine, its phytochemistry and pharmacology. – J. Med. Plants Res., 4:592–638, doi: 10.5897/JMPR10.012.

Ho, Y., Chen, Y.F., Wang, L.H., Hsu, K.Y., Chin, Y.T., Yang, Y.C.S.H., Wang, S.H., Chen, Y.R., Shih, Y.Y., Liu, L.F., Wang, K., Whang-Peng, J., Tang, H.Y., Lin H.Y., Liu, H.L., Lin, S.J. 2018. Inhibitory Effect of

Anoectochilus formosanus Extract on Hyperglycemia-Related PD-L1 Expression and Cancer Proliferation. – Front. Pharmacol., 9:807, doi: 10.3389/fphar.2018.00807

Ikeuchi, M., Yamaguchi, K., Nishimura, T., Yazawa, K. 2005. Effects of *Anoectochilus formosanus* on endurance capacity in mice. – J. Nutr. Sci. Vitaminol.. 51:40–44.

Ket, N.V., Hahn, E.J., Park, S.Y., Chakrabarty, D., Paek, K.Y. 2004. Micropropagation of an endangered orchid *Anoectochilus formosanus*. – Biol. Plantarum, 48 (3):339–344, doi: 10.1023/B:BIOP.0000041084.77832.11.

Kuan, Y.C., Wu, T.J., Kuo, C.Y., Hsu, J.C., Chang, W.Y., Sheu, F. 2011. Molecular Cloning of a New Immunomodulatory Protein from *Anoectochilus formosanus* which Induces B Cell IgM Secretion through a T-Independent Mechanism. – PLoS ONE 6(6):e21004, doi: 10.1371/journal.pone.0021004

Masuda, K., Ikeuchi, M., Koyama, T., Yamaguchi, K., Woo, J.T., Nishimura, T., Yazawa, K. 2008. Suppressive effects of *Anoectochilus formosanus* extract on osteoclast formation *in vitro* and bone resorption *in vivo*. – J. Bone Miner. Metab., 26:123–129, doi: 10.1007/s00774-007-0810-8.

Mattjik, A.A., Sumertajaya, I.M. 2006. Experimental design with application of SAS and minitab. – IPB Press, Bogor, 334 p.

Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. – Physiol. Plantarum, 15:473–497.

Raja, D.H. 2017. Effect of Cytokinins on Micropropagation of *Anoectochilus elatus* Lindl. from shoot tip explants – An Endangered Medicinal Orchid. – IOSR J. Biotechnol. Biochem., 3(3):73–76, doi: 10.9790/264X-03037376.

Refish, N.M.R., Fu, C.H., Wang, M.G. 2015. Comparative Study of the Chemical Components of *Anoectochilus Roxburghii* and *Anoectochilus Formosanus* Tissue Culture. – Int. J. Life Sci. Res., 3(2):81–87.

Shiau, Y.J., Sagare, A.P., Chen, U.C., Yang, S.R., Tsay, H.S. 2002. Conservation of *Anoectochilus formosanus* Hayata by artificial cross-pollination and *in vitro* culture of seeds. – Bot. Bull. Acad. Sinica, 43:123–130.

Sherif, N.A., Benjamin, J.H.F., Muthukrishnan, S., Kumar, T.S., Rao, M.V. 2012. Regeneration of plantlets from nodal and shoot tip explants of *Anoectochilus elatus* Lindley, an endangered terrestrial orchid. – Afr. J. Biotechnol., 11(29):7549–7553, doi: 10.5897/AJB11.3684.

Sherif, N.A., Kumar, T.S., Rao, M.V. 2016. *In vitro* regeneration by callus culture of *Anoectochilus elatus* Lindley, an endangered terrestrial jewel orchid. – In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant, 52(1):72–80, doi: 10.1007/s11627-015-9741-6.

Shih, C.C., Wu, Y.W., Lin, W.C. 2002. Antihyperglycaemic and anti-oxidant properties of *Anoectochilus formosanus* in diabetic rats. – Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 29:684–688.

Shyur, L.F., C.H. Chen, C.P. Lo, S.Y. Wang, P.L. Kang, S.J. Sun, C.A. Chang, C.M. Tzeng and N.S. Yang. 2004. Induction of apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells by phytochemicals from *Anoectochilus formosanus*. – J. Biomed. Sci., 11:928–939, doi: 10.1159/000081840.

Tsay, H.S. 2002. Use of Tissue Culture for the Mass Propagation of Pathogen-Free Plants. – Department of Applied Chemistry, Chaoyang University of Technology 168 Gifeng E. Rd., Wufeng, Taichung 41301, Taiwan, 8 p.

Tseng, C.C., Shang, H.F., Wang, L.F., Su, B., Hsu, C.C., Kao, H.Y., Cheng, K.T. 2006. Antitumor and immunostimulating effects of *Anoectochilus formosanus* Hayata. – Phytomedicine, 13:366–370, doi: 10.1016/j.phymed.2004.01.016.

Wang, S.Y., Kuo, Y.H., Chang, H.N., Kang, P.L., Tsay, H.S., Lin, K.F., Yang, N.S., Shyur, L.F. 2002. Profiling and characterization antioxidant activities in *Anoectochilus formosanus* Hayata. – J. Agric. Food Chem., 50:1859–1865, doi: 10.1021/jf0113575.

Wang, L.F., Lin, C.M., Shih, C.M., Chen, H.J., Su, B., Tseng, C.C., Gau, B.B., Cheng, C. 2005. Prevention of cellular oxidative damage by an aqueous extract of *Anoectochilus formosanus*. – Ann. N. Y. Acad. Sci., 1042:379–386, doi: 10.1196/annals.1338.060.

Wu, J.B., Lin, W.L., Hsieh, C.C., Ho, H.Y., Tsay, H.S., Lin, W.C. 2007. The hepatoprotective activity of kinsenoside from *Anoectochilus formosanus*. – Phytother. Res., 21:58–61, doi: 10.1002/ptr.2025.

Zhang, A., Wang, H.Z., Shao, Q.S., Xu, M.J., Zhang, W.S., Li, M.Y. 2015. Large scale *in vitro* propagation of *Anoectochilus roxburghii* for commercial application: Pharmaceutically important and ornamental plant. – Ind. Crop. Prod., 70:158–162, doi: 10.1016/j.indcrop.2015.03.032.

HINDREK OLDER – 80

Põllumajandusdoktor **Hindrek Older** sündis 27.02.1938. Järvamaal Mäo lähedal Tarbja külas talupidaja kolmelapselises peres. Kooliteed alustas Mäo koolis, jätkas Paide Keskkoolis ja seejärel Eesti Põllumajanduse Akadeemias, mille lõpetas õpetatud agronoomina 1962. aastal. Töötamist alustas 1962. aastal EPA taimekasvatuse kateedris ja Sootaga sovhoosis. Oma õpinguid jätkas 1965–1968 EPA aspirantuuris dotsent Arnold Sau juhendamisel. Peale aspirantuuri töötas vanemteadurina EPA rohumaaviljeluse kateedris.

1973. aastal kaitses EPA teadusnõukogus kandidaadi väitekirja teemal "Lämmastikväetiste norm, väetamise aeg ja efektiivsus kultuurkarjamaal."

Aastatel 1972–2000 töötas Eesti Maaviljeluse Instituudis, kus tegi järjekindlalt aktiivset uurimistööd. Korraldas Sakus 9 aasta jooksul suuremahulisi lappkatseid heintaimedega, mille tulemuste alusel koostas doktori väitekirja teemal "Heintaimede bioloogiliste iseärasuste ratsionaalne kasutamine intensiivse viljelemise tingimustes nende toiteväärtuse tõstmiseks."

Hindrek Olderile omistati professorikraad 1990. aastal.

EMVIs alustas ta tööd kultuurrohumaade osakonna vanemteadurina, seejärel osakonnajuhatajana ja taimekasvatuse uurimiskeskuse juhatajana. Instituudi direktorina töötas aastatel 1994–2000.

1989–1992 oli Juhtimise Kõrgema Kooli professor Tartus ja 1992 EPA külalisprofessor.

2000–2011 aastani oli E-Piim konsultant.

Alates 1996. a omakapitalil põhineva perefirma OlderGrupp OÜ, nüüdse nimega Olderseeds omanik, mis on tegutsev söödakultuuride seemnete ostmise, katsetamise, kasvatamise ja müügiga.

Teadusliku uurimistöö põhivaldkonnaks on olnud rohumaateaduse arendamine optimaalse söödabaasi tagamiseks. Uurimistöö tulemustest:

- Söödabaasi kujundamine põhisöötade baasil võimaldab vähendada söödaratsioonis jõusööda osakaalu, suurendada piimakarja laktatsioonide arvu, suurendada väljalüpsi ning toota piima ökonoomsemalt.
- Eesti söötade tähtsustamine ja kohapeal toodetud proteiini- ja energiarikaste söötade kasvatamine.
- Kvaliteetse sööda tootmise agrotehniliste võtete kaasajastamine. Rohumaade rajamine seemnesegude koostamine, väetamine, hooldamine, saagikasutus.
- Kvaliteetse põhisööda tagamisega oleme Euroopas kõrgelt hinnatud piimatootmisriik.
- Eesti kliimasse sobivate kultuuride valik. Üleminek söödatootmises uute suurema saagivõime ja kõrgema toiteväärtusega maisi- ja lutsernisortide kasvatamisele. Maisi kasvatamise vajadusele pööras tähelepanu juba 1907. aastal üks esimesi eesti soost doktorikraadiga põllumehi Aleksander Eisenschmidt.
- Rohumaade regulaarne uuendamine koostöös usaldustaludega (alustatud juba 1993).

Usaldustalud: Pajumäe Viljandimaal, Takkasaare talu Järvamaal, Ivaski talu Võrumaal, Esko talu Sakus, Lepiku talu Kehtnas, Männiku talu Tartumaal.

Suuremad koostööpartnerid: Võhmuta PM Lääne-Virumaal, Viraito Jõgevamaal, Metsataguse Agro Järvamaal, Estonia OÜ Järvamaal, Väätsa Agro Järvamaal, Tartu Agro Tartumaal, Sadala Agro Jõgevamaal ja paljud teised.

Kongressid, konverentsid, sümpoosionid.

Lappkatsete ja noorkarja karjatamise tulemused. Üleliiduline noorte teadlaste konverents Moskvas, 1971. Piimakarjaga korraldatud katsetulemused (esitas koos prof Ü. Olliga). Rahvusvaheline Rohumaade Kongress Moskvas, 1974. Heintaimede toiteväärtuse muutumisest vegetatsiooniperioodil. Rahvusvaheline Rohumaade Juubelikongress (50 aastat) Leipzigis, 1977.

Mäletsejaliste farmide arendamine Ida-Euroopas (plenaaristungi ainus ettekanne NL-st). Rahvusvaheline Rohumaade Kongress USA-s Kentucky osariigis Lexingtonis, 1981.

Kaasautorid P. Stypinski Poolast ja N. Gabortšik Slovakkiast. Töö kandis ette L. Kadžiulis Leedust, ettekande koostaja H. Older.

Sellel istungil rahuldati Eesti Rohumaade Ühingu avaldus astumiseks Euroopa Rohumaade Föderatsiooni liikmeks (ERF).

Osalemine teaduslikel nõupidamistel ettekannetega.

Lahtis, Olszynis, Debrecenis, Thessalonikis, Arhusis, Wales Aberystwyth, Umeas, Braunschweigis.

Hindrek Older on esinenud teaduslik-praktiliste ettekannetega endises Nõukogude Liidus toimunud konverentsidel ja nõupidamistel. Ta on esinenud Arhangelskis, Joškar Olas, Stavropolis, Kiievis, Moskvas, Leningradis Üleliidulises Söötade Uurimise instituudis.

Söödakultuuride kasvatusalased koostööprojektid.

1993–1998 Eesti-Hollandi ühisprojekti "Piimakarjafarmide arendamine" Eestipoolne vastutav täitja.

Projekti raames arendati välja meie oludele sobiva jogurti, kohupiima ja gouda juustu valmistamise tehnoloogia EMVI Juuliku labori minimeiereis. Projekti raames õpetati välja vabariigis jogurti-kohupiima-juustu tootjad. Minimeierei rakendus Saku valla Esko talus jogurti-juustu-kohupiima tootmiseks.

Valminud mitmed õppefilmid teemal "Rohust piimani".

Jogurti valmistajate koolitus EMVI Juuliku laboris.

Eesti Rohumaade Ühingu (asutatud 1930, suletud 1940) taasastutamise mõtte algataja ja taasasutaja, 1993.

Liikmelisus.

Briti Rohumaade Ühingu liige, alates 1994.

Põllumajandusliku Nõuandekomisjoni liige.

Eesti Rohumaade Ühingu president, 1993–1999.

Ida-Euroopa põhja regiooni (Eesti, Läti, Leedu, Poola, Valgevene) esindaja Euroopa Rohumaade Föderatsiooni täitevkomitees, a-st 1994.

Tartu linna ja Harjumaa RSN saadik ERF täitevkomitees.

Vene Põllumajandusteaduste Akadeemia korrespondentliige (1991) ja välisliige (1992).

Akadeemilise Põllumajandusseltsi asepresident, 1992–1998.

Olnud Konsulentide Ühingu liige, atesteeritud vanemkonsulent.

Olnud teaduslik-tehnilise ühingu liige.

H. Older on üle 10 käsiraamatu autor ja mitme brožüüri toimetaja. Artiklid ajakirjades, ajalehtedes, kogumikes ja Older Gruppi OÜ seemnekataloogides, on ilmunud ligemale 200 trükist.

H. Olderi juhendamisel on kaitstud kaks magistriväitekirja ja kaks doktoriväitekirja.

Teadmiste levitamine nõustamise kaudu.

OlderGrupp/Olderseeds OÜ on täielikult omakapitalil töötav firma, kus nõustamine toimub süvateadmiste, pikaajaliste praktiliste kogemuste ja kaasaegsete viljelusvõtete põhjal.

Tähtsamaks on söödakultuuride valik kasvatamiseks Eesti agroklimaatilistes tingimustes.

Korraldatakse nõuandepäevi tootjate põldudel, kus selgitatakse kultuuride sobivust, uuemaid viljelusvõtteid ja tasuvust. Õppepäevadele kaasatakse vastavad tippspetsialistid, valdavalt USA-st ja Hollandist, kuid ka Austriast jt riikidest.

Põldkatsed korraldatakse Põllumajandusuuringute Keskuse Kuusiku katsebaasis, kusjuures katsete rahastamine toimub OlderGrupi OÜ poolt.

Viimastel aastatel nõustatakse ka Soome söödatootjaid. Seminarid on toimunud Seinajoel, Joensuus, Tamperes. Soome rohumaaviljelejad külastavad Eesti söödatootjaid igal aastal. Meilt õpitakse liblikõieliste kultuuride kasvatamist ja piimalehmade toodangu suurendamist.

Hobid.

Saku meeskvarteti "Viis" laulja ja solist aastast 1975. Lisaks Eestile on esinetud Saksamaal, Belgias, Hollandis, Soomes ja Rootsis.

Peres kaks poega ja tütar, kes tegelevad põllumajandusega.

Õnnitlevad Eesti Rohumaade Ühing ja kolleegid endisest Eesti Maaviljeluse Instituudist

Luule Tartlan
Saku, 14.11.2018

UNO TAMM – 80

Käesoleva aasta juulis jõudis väärilise verstapostini tunnustatud põllumajandusteadlane Uno Tamm. Ta sündis 14. juulil 1938. aastal Kanepi vallas Põlvamaal. Alghariduse sai ta Kanepi Mittetäielikus Keskkoolis, sealt edasi viis koolitee Antsla Põllumajandustehnikumi, mille lõpetas 1956. aastal. Noore agronoomina juhtis ta kolm aastat kolhoosi taimekasvatust Põlvamaal. Õpinguid jätkas juubilar EPA Agronoomiateaduskonnas, mille lõpetas 1964. aastal. Lõpetamise järel jäi ta tööle rohumaaviljeluse kateedrisse assistendina, 1970–1972 läbis aspirantuuri. 1973. aastal kaitses kandidaadidissertatsiooni teemal "Kultuurkarjamaade rajamisest Kagu-Eesti erodeeritud muldadel", mille põhjal talle omistati põllumajanduskandidaadi teaduslik kraad.

Samal aastal asus Uno Tamm tööle EMMTUI (Eesti Maaviljeluse ja Maaparanduse Teaduslik Uurimise Instituut) süsteemi kuuluva Antsla Sovhoostehnikumi direktori asetäitja kohale, 1974. aastal aga EMMTUI sookultuuri osakonna ja Tooma katsebaasi juhatajana. Reformide käigus 1977. aastal sookultuuride osakond likvideeriti. 1977–1979 töötas U. Tamm Hummuli näidissovhoosi direktorina. 1980. aastal valiti Uno Tamm EMMI kultuurrohumaade osakonna vanemteaduriks, hiljem osakonna juhatajaks. 1988. a asus juhtima taimekasvatuse keskuse söötade laboratooriumi (Juuliku katsefarmi). Instituudi reorganiseerimisel 1994. aastal moodustati rohumaaviljeluse ja söötade osakond, mille juhatajaks oli U. Tamm. Ta on uurinud kultuurrohumaade rajamise agrotehnikat, seemnesegusid, rohusöötade tootmise intensiivtehnoloogiat ning veiste suvise söötmise ratsionaalset korraldamist, söötade toiteväärtust ja söömust. Uuringutes on ta selgitanud suure jõudlusvõimega veiste karjatamise ja silotüübilise söötmise küsimusi, uurinud erinevates kasvufaasides koristatud heintaimede toiteväärtust ja sileerimist. Karjamaakatsetes selgitas valge ristiku osa lehmade toodanguvõimele. Katsetulemusi rakendati esialgu suurmajandites, hiljem piimakarjataludes ja põllumajandusühistutes. Katsefarmis rajati Eesti-Hollandi ühisprojekti (1993–1998) toel minimeierei põhiliste piimatoodete (kohupiim, jogurt, või) tootmisseadmetega ja õppeklass. Ajavahemikul 2002–2013 töötas Uno Tamm Eesti Maaviljeluse Instituudis vanemteadurina, laborijuhatajana ja osakonna juhatajana. Reformide käigus 2013. aastal Eesti Maaviljeluse Instituudi (EMVI) ja Jõgeva Sordiaretuse Instituudi (SAI) liitmisel töötas juubilar Eesti Taimekasvatuse Instituudis vanemteadurina ja 2016 aastast vanemagronoomina.

Ta on juhtinud Haridus ja Teadusministeeriumi sihtfinantseeritavat teemat "Põllu- ja rohumaakultuuride saagi kvantiteedi ja kvaliteedi optimeerimine agrotehniliste võtete ja erinevate tehnoloogiate integreerimisel" (2005−2008), Eesti Teadusfondi grante on talle määratud 13 aasta kestel. Maaeluministeeriumi rakendusuuringut "Suurema toiteväärtusega söödakultuuride ja -sortide kasvatamisvõimaluste uurimine" (2003−2007), RUP 1-10 "Rohusööda kvantitatiivsete muutuste dünaamika" (2008−2012), ning olnud mitmete projektide "Teadmistepõhise lambakasvatuse arendamine Läänemere saartel" (2010−2013), "Sööda seos lüpsilehmade heaolu ja karjast väljamineku eaga" (2008–2012), "Mahepõllumajanduses soovitatavad proteiini- ja energiarikkad kultuurid ja karjamaasegud" (2016–2018) põhitäitja.

Ta on osalenud rohumaade rahvusvahelisel kongressil Moskvas, Euroopa Rohumaade Föderatsiooni konverentsil Lahtis ja esinenud EGF sümpoosiumidel.

Aastate jooksul on ta avaldanud ligi 150 teadusliku ja populaarteadusliku artiklit. Ta on raamatute "Rohumaaviljelus talupidajale", 1992; "Piimakarjapidaja käsiraamat", 1997; "Eritüübiliste rohumaade rajamine ja kasutamine" 2006 ja "Kohalikud söödad" 2011 kaasautor. 2005. aastal ilmus käsiraamat "Rohusööda toiteväärtus", 2006. aastal "Lutsernikasvatuse käsiraamat", 2017. aastal E-raamat "Parema toiteväärtusega rohusööt". Euroopa Rohumaade Föderatsiooni (EGF) konverentsi kogumikes on ta publitseerinud autori- ja kaasautorina üle 10 rohumaaviljeluse ja silo teemalise artikli. 2005. aastast tänaseni on ta koostanud ülevaadet siloseire optimaalse koristusaja kohta.

Märkimisväärne on Uno Tamme panus ühiskondlikes ametites. Ta on aktiivne Eesti Rohumaade Ühingu liige, Akadeemilise Põllumajanduse Seltsi liige, 2004–2011 oli U. Tamm Eesti Maaviljeluse Instituudi Teadusnõukogu esimees.

Teaduslike saavutuste eest on Uno Tamme tunnustatud 2007. aastal Põllumajandusministeeriumi sinise teenetemärgiga, Akadeemilise Põllumajanduse Seltsi viljakam teadlane 2006. aastal.

Kõige selle kõrval on Uno ja abikaasa Silvi Tamm väga oluliseks pidanud pereväärtusi. Koos on nad üles kasvatanud ja koolitanud kaks tütart ja poja ning on vanavanemateks kolmele lapselapsele. Sakku on nad rajanud hubase kodu mida ümbritseb kaunis ilu-ja tarbeaed.

Akadeemiline Põllumajanduse Selts, kolleegid Eesti Taimekasvatuse Instituudist, ja Eesti Rohumaade Ühingust soovivad juubilarile head tervist, õnne ja häid kordaminekuid edaspidiseks eluks!

Heli Meripõld

MALLE JÄRVAN – 75

2018 aasta kuumal juulikuu 31. päeval pühitses oma juubelisünnipäeva Eesti Taimekasvatuse Instituudi vanemteadur põllumajandusdoktor Malle Järvan. Juubilar on sündinud Viljandimaal Auksi külas Lapi talus Magda ja Eduard Maasepa viielapselise pere esimese lapsena, õppis kohalikus Auksi algkoolis ja Carl Robert Jakobsoni nimelises Viljandi I keskkoolis. Haridustee jätkus Eesti Põllumajanduse Akadeemias, mille ta lõpetas 1966. aastal õpetatud agronoomina *cum laude*.

Alates 01.08.1966 sai Malle Järvani elukohaks Saku ja töökohaks Eesti Maaviljeluse ja Maaparanduse Teadusliku Uurimise Instituudi (EMMTUI) juurde kuuluv Vabariiklik Agrokeemia Laboratoorium, ametinimetuseks agronoom-agrokeemik. Õpihimulise noorena sai temast 1972. aastal aspirant köögiviljanduse erialal. Esimene väitekiri teemal "Väetiste mõju porgandi ja söögipeedi saagile ning kvaliteedile Eesti leetunud kamarkarbonaatmuldadel" valmis 1975. aastal, kuid seoses Eestis kaitsmisnõukogude töö aastatepikkuse katkestamisega õnnestus see kaitsta venekeelsena 1978. aastal Läti Maaviljeluse Instituudis. Eduka kaitsmise tulemusena omistati Malle Järvanile põllumajandusteaduste kandidaadi kraad agrokeemia erialal. Aspirantuuri lõpetamise järel töötas ta aastail 1975–1992 EMMTUI köögiviljanduse osakonnas – algul nooremteadurina, seejärel vanem- ja juhtivteadurina. Uuris avamaa- ja katmikköögiviljade väetamist ning saagi kvaliteeti, samuti viljelusviiside mõju köögiviljade saagile ja bioloogilisele kvaliteedile. Malle Järvani olulisimaks uurimisvaldkonnaks tol nn "nitraadi-buumi" perioodil, mil paljude köögiviljaliikide nitraatidesisaldus oli Eestis rangelt reglementeeritud ja piirnormide ületamisel järelevalve organid – süüdistades põllumehi liigses väetiste kasutamises – tunnistasid sellised köögiviljapartiid inimtoiduks kõlbmatuks, sai nitraadiprobleemi agronoomiliste ja agrokeemiliste aspektide mitmekülgne selgitamine teaduskatsete varal. Ligemale kahekümne aasta jooksul kogunenud uurimistulemuste põhjal valmis väitekiri "Köögiviljade nitraatidesisaldust mõjutavad tegurid" põllumajandusdoktori teaduskraadi taotlemiseks taimekasvatuse erialal. Selle eduka kaitsmise tulemusena Eesti Põllumajandusülikoolis 1994. aastal sai Malle Järvanist Eesti kõigi aegade esimene naisdoktor agronoomiateaduste alal.

Seoses otsustavate ümberkorraldustega põllumajandusteaduses muutusid töökohtade ja ametite nimetused ka Eesti Maaviljeluse Instituudis. Malle Järvanist sai 11.02.1992 agrokeemia osakonna juhtteadur ja 19.09.1994 saagi kvaliteedi analüüsi osakonna juhataja. Aastail 2002–2007 töötas ta põllukultuuride osakonna juhatajana ning 2008–2013 taimekasvatuse osakonna vanemteadurina. Seoses instituudi liitumisega Jõgeva Sordiaretuse Instituudiga 01.07.2013 jätkab Malle Järvan töötamist Eesti Taimekasvatuse Instituudi agrotehnoloogia osakonna vanemteadurina.

Aastatel 1997–2003 uuris ta Eestis asuvate suurtööstuste (AS Silmet, AS Kunda Nordic Tsement, AS Nordkalk) jääk- ja kõrvalproduktide keskkonna- ning ressursisäästliku kasutamise võimalusi põllumajanduses ning haruldaste muldmetallide mikrolisandi toimet taimede väetamisel. Agrokeemikuna arendas Malle Järvan edasi ka muldade lupjamise teoreetilisi aluseid ja praktikat seoses põlevkivituha asendumisega klinkritolmu ja paekivijahudega.

Aastail 2003–2015 juhtis ta Põllumajandusministeeriumi finantseerimisel nelja mahukat rakendusuuringuprojekti, mille eesmärgiks oli uurida põllukultuuride toitumistingimuste parandamise ja kasvatamise tasuvuse suurendamise võimalusi, võrrelda mahe- ja tavaviljeluse mõju mulla viljakusele, bioloogilisele mitmekesisusele ning külvikorrakultuuride saagikusele ja kvaliteedile, uurida tõrjevõtteid ning hinnata nende tõhusust raskesti tõrjutavate umbrohtudega (tuulekaer, puju) saastunud tootmispõldudel. Malle Järvani panuseks võib lugeda ka seda, et oma katsetega alates 2003. aastast esmakordselt Eestis tegi ta kindlaks – ja järgnevate aastate katsetulemused ning praktika vaid kinnitasid seda veenvalt – et talinisu saagikus ja küpsetuskvaliteet sõltuvad olulisel määral väävliga varustatusest.

Praktilise katsetöö kõrval on Malle Järvan olnud väga viljakas autor. Tema sulest on praeguseks ilmunud 368 publikatsiooni, millest 138 on teadusartiklid ja 10 raamatud. Väärib märkimist, et viimase viie aasta jooksul on Malle Järvanilt (esiautorina) ilmunud 6 *Web of Science* andmebaasides kajastatud (1.1.) teadusartiklit. Samuti on ta olnud ühe doktoritöö ja kahe magistritöö juhendaja. Korduvalt on ta andnud asjalikku nõu ETV ja Eesti Raadio saadetes "Vaata aeda", "Vaata kööki", "Maahommik", "Aiatark" ja "Maatund".

Aastatel 1996–2005 oli Malle Järvan EPMÜ põllumajandusteaduste ja majandusteaduste doktorinõukogu liige, 2000–2002 Eesti Teadusfondi põllumajandusteaduste ekspertkomisjoni liige, aastatel 1998–2006 APSi eestseisuse liige ja APSi teaduspreemia laureaat 1995.

Aastatel 1999, 2001 ja 2002 esitati Malle Järvan EV teaduspreemia nominendiks põllumajandusteaduste valdkonnas. Teda on autasustatud Põllumajandusministeeriumi sinise teenetemärgiga ning medalitega "Külvaja" ja "Kalevipoeg kündmas". Lisaks viljakale teadustööle on Malle koos abikaasa Uudoga rajanud oma kodumaja ja aia Sakus Vääna jõe kaldale ning üles kasvatanud ja koolitanud kaks andekat poega. Ka vanavanaisa rajatud ja kestvalt suguvõsa valduses hoitud isatalus Lapil on nad perega olnud oodatud abilised.

Õnne ja jõudu järgmiseks veerandsajaks!

Erika Vesik

PROFESSOR JAAN LEPAJÕE – 90

Põllumajandusteaduste doktor, professor Jaan Lepajõe (3.03.1928–9.04.1999) sünnikodu asub Lepakosel Navesti jõe lõunapoolsel kaldal Kaansoo lähedal. Kolmandal märtsil 2018. a möödus tema sünnist 90 aastat. Lapsepõlv möödus vanematekodus Lepakosel. Jaan Lepajõe isa, samuti Jaan, pidas talu ja oli lõpetanud Põhja-Eesti Põllutöökeskkooli Jänedal, Ema Kati aga oli lõpetanud Vigala Põllutöökooli. Nendest koolidest omandatud teadmised ja oskused võimaldasid noorel perel viia talu mõne aastaga õitsvale järjele. Ka Jaanil tuli maastmadalast tutvust teha maatöödega. Alustas koos vanaisaga karjas käimisega, hiljem juba omal vastutusel koos nooremate vendadega. Sealt tekkis ka huvi põllumajanduse ja üldse loodusteaduste, eriti botaanika ja zooloogia vastu. Botaanikaõpetajaks oli põhiliselt isa, kes tundis ka taimede ladinakeelseid nimetusi.

Haridustee algas Jaanil lähedal asuvas Rääka algkoolis. Edasi jätkus koolitee Lahmuse koolis ja seejärel Viljandi 2. keskkoolis. Lahmuse koolis tekkis Jaanil huvi ajaloo, võõrkeelte ja filosoofia vastu. Ta tegeles aktiivselt spordiga, eriti maadlusega ja raskejõustiku aladest veel tõstmisega ning hiljem Tartus ka vehklemisega. Nooruses tekkinud mitmekülgsed huvid laiendasid silmaringi, arendasid tulevaseks teadustööks vajalikku kujutlusvõimet ning eruditsiooni.

Jaan Lepajõel oli keskkooli järel kindel soov õppida põllumajandust. Kõrgharidusteed alustas ta Tartu Ülikoolis, kuid lõpetas agronoomia erialal *cum laude* vastloodud Eesti Põllumajanduse Akadeemias. Aastatel 1955 kuni 1957 õppis ta Leningradi Põllumajandusinstituudi aspirantuuris. Lõpetamise järel asus tööle EPA-sse, kus töötas õppejõuna kokku 36 aastat. Alustas assistendi ametikohal (1957–1960), seejärel oli vanemõpetaja (1960–1963), dotsent (1963–1975) ning professor (1975–1992). Algul õpetas ta agronoomia aluseid, edaspidi taimesaaduste säilitamise ja töötlemise tehnoloogiat. Tema sulest ilmusid ka vastavad õpikud ja õppematerjalid, samuti komplekteeris ta ise laboratooriumi seadmestiku. Üldse oli ta ametis oleku aastate jooksul jaganud teadmisi rohkem kui kuuele tuhandele üliõpilasele ja tuhatkonnale täienduskursuslasele.

Põllumajandusteaduste kandidaadi kraad anti Jaan Lepajõele 1958. aastal dissertatsiooni "Taliteraviljade talvekahjustuste põhjused ja nende vastu võitlemise abinõud Eesti NSV-s" eest, doktorikraad aga 1973. aastal väitekirja "Teoreetilised alused ja praktilised võtted odra saagikuse suurendamiseks ja tehnoloogiliste omaduste parandamiseks" kaitsmise järel. Tema uurimustele tuginesid arvukad avaldatud teadustööd peamiselt teraviljakasvatusega seotud teemadel. Ta selgitas, et vastupidiselt üldlevinud seisukohtadele, ei ole teraviljaoraste talvekahjustuste põhjuseks mitte pakane, vaid üleliia kõrge mulla temperatuur. Uurinud rukki ja taliodra saagikust mõjutavaid tegureid tegi J. Lepajõe kindlaks, et nende saagikusele ei avalda määravat mõju mitte talvitumistingimused, vaid kevadisel loomiseelsel perioodil valitsevad kasvuolud. Suurt tähelepanu pööras ta oma uurimustes ka leivavilja küpsusomaduste parandamise ning linnaseodra tootmise ja kvaliteediga seotud probleemidele. Jaan Lepajõe on kirjutanud ja avaldanud 11 monograafiat ja oli 15 raamatu kaasautor. Tema 1997. aastal koostatud "Personaalnimestikus" on esitatud 590 artikli ja käsikirjalise materjali nimetused.

Jaan Lepajõe oli ka Üliõpilaste Teadusliku Ühingu (ÜTÜ) juurde kuuluva väljaspool korralist õppetööd tegutseva huviringi juht. Oma õppetöö kõrge taseme, kompetentsuse ja loova mõtlemisviisiga tõmbas prof Jaan Lepajõe kaasa ärksamaid üliõpilasi, koordineerides aastaid üliõpilaste maaviljeluse erialaringi liikmete tegevust. Sealt sai täiendust noorte teadlaste pere. Tema otsesel juhendamisel valmis üle 70 diplomitöö, kolm kandidaadidissertatsiooni ja magistritöid. Populaarsed olid tema lõpuloengud alates 1979. aastast, kokku kaheteistkümne lennu lõpetajatele. Oma akadeemilises tegevuses järgis kolleegi, prof. Elmar Halleri poolt väljaöeldud seisukohta, et "teaduses on peamine mõtlemine ja loominguline keskkond" ning seda selgitas ta sageli ka oma õpilastele. Jaan Lepajõe leidis, et nii nagu mõnikord teistel loovinimestel (kunstnikud, heliloojad jt) võiksid ka teadusloomega tegelevatel teadlastel välja kujuneda oma koolkonnad. Need rajaneksid õpetajate ning nende loomingut edasi arendavate õpilaste ideede ja sisuliste teadustulemuste järjepidevusele. Neid võimalikke variante tutvustas ta 1998. a artiklis "Põllumajandusteaduse koolkondadest Tartus".

Jaan Lepajõe siirdus 1993. aastal vanaduspensionile ja talle omistati emeriitprofessori tiitel. Kuid aktiivne ühiskondlik ja teaduslik tegevus jätkus ka edaspidi. Ta hakkas enam tähelepanu pöörama keskkonnaprobleemidele. Põhjaliku omapoolse nägemuse inimese elukeskkonda mõjutavatest teguritest esitas ta 1994. a töös "Inimkonna elukeskkonna häiringutest". Ta märkis, et pööratakse küll tähelepanu loodushoidlikule taimekasvatusele, kuid keskkonnasõbralik saagi säilitamine ja töötlemine jäävad piisava tähelepanuta. Jaan Lepajõe järgi sisaldub mõistes "keskkonnasõbralik maaviljelus" kolm komponenti: inimsõbralikkus, loomasõbralikkus ja taimesõbralikkus. Ta osutas tähelepanu ka looduse ja kultuuri seotusele, mille ta võttis lõpuks kokku ühte lausesse: looduskeskkond on kultuuri materiaalne ja geneetiline baas.

Jaan Lepajõe osales arvukate teadusorganisatsioonide ja seltside tegevuses. Ta oli Akadeemilise Põllumajanduse Seltsi volikogu liige, B.G. Forseliuse Seltsi asutajaliige, Tartu Põllumajanduse Seltsi nõukogu liige, Eesti Agronoomide Seltsi liige, Fr. Bergi Fondi

Hooldekogu asutajaliige, Soomaa Rahvuspargi nõukogu liige ja kuulus Eesti Põllumajandusmuuseumi nõukogusse. Jaan Lepajõe osales ajakirja "Akadeemia" taas asutamisel ning toimetuskolleegiumi töös aastast 1988 kuni 1999. aastani. Ka tema teadaolevalt viimane artikkel "Kartulivabariik" leidis selles ajakirjas avaldamist.

Jaan Lepajõele meeldis viibida oma isakodus Lepakosel ning tegeleda kodukandi kultuuriloo uurimise ja tutvustamisega. Ta korraldas Suure-Jaanis kultuuriloolisi uuringuid ja kihelkonna koduloopäevi. Oma Lepakose sünnitalus viis ta suviti läbi Eestis ainulaadseid sümpoosione "Lepakose lugemised" eesti rahvuskultuuri käsitlevatel teemadel. Esimene neist peeti 15. augustil 1992. aastal. Jaan Lepajõe esines seal teemaga "Alternatiivne põllumajandus ja alternatiivne eluviis" ning rääkis Lepakose küla ja selle ümbruse ajaloost. Viimane kogunemine oli Lepakosel 1999. aasta augustis juba ilma Jaan Lepajõeta. Taas hakati asjahuviliste ettevõtmisel "Lepakose lugemisi" korraldama alates 2008. aastast. Oma kultuuriloolised ja filosoofilised kirjutised võttis ta kokku raamatus "Lepakose aastaringid", mis ilmus küll alles pärast tema surma 2000. a lõpul.

Tänutäheks Suure-Jaani kultuurielule pühendumusega kaasaaitamisele, omistati Jaan Lepajõele 1998. aasta märtsis tiitel "Suure-Jaani aasta inimene 1997". Tema panus ülikooli teadlase ja õppejõuna märgiti 1989. aastal ära Eesti Maaülikooli teenetemedaliga.

Jaan Kuht

DOKTORIKRAADI KAITSJAD EESTI MAAÜLIKOOLIS 2018. AASTAL
THESIS DEFENDERS ESTONIAN UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES IN 2018

LEA TUVIKENE, PKI
THE EFFECT OF NATURAL VARIABILITY ON THE ASSESSMENT OF ECOLOGICAL STATUS OF SHALLOW LAKES
LOODUSLIKU MUUTLIKKUSE MÕJU MADALATE JÄRVEDE ÖKOSEISUNDI HINDAMISELE

SHUAI LI, PKI
INDUCTION OF VOLATILE ORGANIC COMPOUND EMISSIONS FROM LEAVES UPON OZONE AND METHYL JASMONATE (MEJA) TREATMENTS
TAIMELEHTEDE LENDUVÜHENDITE EMISSIOONI INDUKTSIOON OSOONI JA METÜÜL JASMONAADI MÕJUL

KANAGENDRAN AROORAN, PKI
DIFFERENTIAL REGULATION OF RELEASE OF LEAF STRESS VOLATILES: FROM TERPENE SYNTHASE GENE EXPRESSION TO EMISSION RESPONSES UNDER HEAT, OZONE AND WOUNDING STRESSES
BIOGEENSETE LENDUVÜHENDITE EMISSIOONI REGULATSIOON STRESSITINGIMUSTES: GEENIEKSPRESSIOONIST LENDUVÜHENDITE EMISSIOONIVASTUSTENI ERINEVATE ABIOOTILISTE STRESSIDE KORRAL

KAAREL SOOTS, TI
POST-HARVEST PROCESSING TECHNOLOGY FOR CULTIVATED BERRIES
KULTUURMARJADE KORISTUSJÄRGSE TÖÖTLEMISE TEHNOLOOGIA

ANDRES JÄÄRATS, MMI
THE EFFECT OF PLANTING STOCK AND SOIL SCARIFICATION ON FOREST REGENERATION
ISTUTUSMATERJALI JA MAAPINNA ETTEVALMISTAMISE MÕJU METSA UUNEDAMISELE

KATRIN KALDRE, VLI
*INVASIVE NON-INDIGENOUS CRAYFISH SPECIES AS A THREAT TO THE NOBLE CRAYFISH (*ASTACUS ASTACUS *L.) POPULATIONS IN ESTONIA*
INVASIIVSED VÄHI VÕÕRLIIGID JA NENDE OHUSTAV MÕJU JÕEVÄHI (*ASTACUS ASTACUS* L.) ASURKONDADELE EESTIS

PILLE TOMSON, PKI
ROLE OF HISTORICAL SLASH AND BURN CULTIVATION IN THE DEVELOPMENT OF CULTURAL LANDSCAPES AND FOREST VEGETATION IN SOUTH ESTONIA
AJALOOLISE ALEPÕLLUNDUSE ROLL LÕUNA-EESTI MAASTIKE JA METSATAIMESTIKU KUJUNEMISEL

GABRIELLA KOVÁCS, PKI
EFFECT OF HOST PLANTS AND LAND USE ON CABBAGE SEED WEEVIL INFESTATION AND ASSOCIATED PARASITOIDS
PEREMEESTAIME JA MAAKASUTUSE MÕJU KÕDRA-PEITKÄRSAKA KAHJUSTUSE JA PARASITEERITUSE TASEMELE

MARI TILK, MMI
GROUND VEGETATION DIVERSITY AND GEOBOTANICAL ANALYSIS IN THE SOUTH-WEST ESTONIAN DUNE PINE FORESTS
ALUSTAIMESTIKU MITMEKESISUS JA GEOBOTAANILINE ANALÜÜS EDELA-EESTI LUITEMÄNNIKUTES