

Glyfosaatin epäsuorat vaikutukset viljelykasveihin

Anna Pauna

Pro gradu -tutkielma

Turun yliopisto
Biologian laitos
17.5.2017

Tutkinto-ohjelma: Biologian opettaja
Erikoistumisala: Ekologia

Laajuus: 40 op

Tarkastajat:

1:

2:

Hyväksytty:

Arvolause:

TURUN YLIOPISTO
Biologian laitos
Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

PAUNA, ANNA: Glyfosaatin epäsuorat vaikutukset viljelykasveihin [*How glyphosate indirectly affects crops*]

Pro gradu -tutkielma, 54 s.
Ekologia
Toukokuu 2017

Glyfosaatti on maailmanlaajuisesti eniten käytetty rikkakasvintorjunta-aine, jonka hajoaminen erityisesti pohjoisissa ekosysteemeissä on oletettua hitaampaa. Glyfosaattijäämiä voi maaperässä esiintyä useita viikkoja käsittelyn jälkeen, mutta jäämien epäsuorista vaikutuksista viljelykasveihin on vain vähän tietoa. Glyfosaattivalmisteet sisältävät glyfosaatin lisäksi erilaisia apuaineita, jotka tehostavat glyfosaatin sitoutumista kasveihin. Selvitin pro gradu -tutkielmani peltokokeessa glyfosaattijäämien epäsuoria vaikutuksia härkävavun, kauran, perunan ja rypsin versojen pituuskasvuun ja biomassaan. Lisäksi selvitin puhtaan glyfosaatin ja Roundup Gold -glyfosaattivalmisteen epäsuoria vaikutuksia härkävavun, kauran, perunan ja rypsin itämiseen ja versojen pituuskasvuun kasvihuoneolosuhteissa. Peltokokeen alussa kontrollikaurat kasvoivat 23–49 % pidemmiksi kuin glyfosaattikäsitellyssä maassa kasvaneet kaurat. Peltokokeen glyfosaattikäsitellyssä maassa kasvaneet perunat puolestaan kasvoivat 6,5 % pidemmiksi kuin kontrolliperunat, ja niiden mukulat painoivat 14,4 % enemmän kuin kontrolliperunoiden mukulat. Kasvihuonekokeessa Roundup Gold -käsitelty kaura iti huomattavasti nopeammin ja jäi lyhyemmäksi verrattuna kontrollikauraan ja puhdas glyfosaatti -kauraan. Kasvihuonekokeessa kontrollikäsitellyn härkävavun itäminen nopeammin ja kasvoivat nopeammin kumpaakin glyfosaattikäsitelyyn verrattuna, mutta Roundup Gold ja puhdas glyfosaatti käsiteltyssä pavut sen sijaan eivät poikenneet toisistaan. Kasvihuonekokeessa kontrollirypsi iti ja kasvoi paremmin kuin Roundup Gold -käsitelty rypsi, eikä puhdas glyfosaatti -käsitely ei eronnut kummastakaan. Mitä voimakkaammin glyfosaattia sitoutuu maaperään, sitä kauemmin se saattaa myös säilyä siellä aiheuttaen mahdollisesti haittaa viljelykasveille. Glyfosaatti saattaa aiheuttaa muutoksia maaperän hajotustoiminnassa ja ravinteiden kierrossa, mikä voi heikentää viljelykasvien kasvua. Glyfosaattijäämien vaikutukset vaihtelevat kasvilajin ja kasvin kehitysasteen mukaan. Roundup Gold apuaineinen vaikuttaa itämiseen ja varhaiseen kasvuun ainakin kauralla ja rypsilä voimakkaamman negatiivisesti kuin puhdas glyfosaatti. Olisi tärkeää tuntea paremmin glyfosaatin hajoaminen ja kokonaisvaikutukset ekosysteemeihin, jotta rikkakasvintorjuntaa voitaisiin kehittää kestävämpään suuntaan.

ASIASANAT: agroekologia, glyfosaatti, torjunta-ainejäämät, viljelykasvit, biologiset vaikutukset

Glyphosate is most widely used herbicide in the world. Its decomposition especially in the northern ecosystems is slower than expected, and residues of glyphosate may remain in the soil for several weeks after treatment. There is little information about the indirect effects of glyphosate residues on crops. Glyphosate products contain glyphosate in addition to various excipients that enhance glyphosate binding to plants. Few studies have been carried out on the effects of these excipients on crops. In my field experiment I studied the indirect effects of glyphosate residues on the growth of broad bean, oat, potato and rapeseed. In addition, I investigated the indirect effects of pure glyphosate and Roundup Gold on growth of broad bean, oat, potato and rapeseed in greenhouse conditions. At the beginning of the field experiment, the control oats were 23-49 % taller than glyphosate oats. In the field experiment glyphosate potatoes were 6,5 % taller than control potatoes and their tubers were 14,4 % heavier than the control potato tubers. In the greenhouse experiment Roundup Gold -treated oat germination was worse and they were shorter than the control and pure glyphosate oats. In the greenhouse experiment, control broad bean germinated and grew faster than both glyphosate treatments, while Roundup Gold and pure glyphosate did not differ from each other. In the greenhouse experiment the control rapeseed germinated and grew better than Roundup Gold -treated rapeseed, but pure glyphosate treatment did not differ from either. The stronger the glyphosate binds to the soil, the longer it will remain there, possibly causing damage to the crops. Glyphosate may cause changes in soil disintegration and nutrient cycle, which can affect the growth of crops. The effects of glyphosate residues vary according to plant species and plant development. Roundup Gold with excipients affects sprouting and early growth of oat and rapeseed more negatively than pure glyphosate. It would be important to know better the degradation of glyphosate and its overall effects on ecosystems in order to develop weed control in a more sustainable direction.

Sisällys

1	JOHDANTO	1
1.1	Glyfosaatti ja Roundup.....	1
1.2	Glyfosaatti maatalousympäristössä	5
1.3	Tutkielman tavoitteet.....	7
2	MATERIAALIT JA MENETELMÄT	7
2.1	Peltokoe	8
2.2	Kasvihuonekoe	11
2.3	Tilastolliset analyysit.....	16
3	TULOKSET	16
3.1	Kaura peltokokeessa.....	16
3.2	Kaura kasvihuonekokeessa.....	20
3.3	Peruna peltokokeessa	22
3.4	Peruna kasvihuonekokeessa	23
3.5	Härkäpapu peltokokeessa	23
3.6	Härkäpapu kasvihuonekokeessa.....	24
3.7	Rypsi peltokokeessa	26
3.8	Rypsi kasvihuonekokeessa	26
4	POHDINTA	29
4.1	Kaura ja glyfosaatti	29
4.2	Peruna ja glyfosaatti	32
4.3	Härkäpapu ja glyfosaatti.....	34
4.4	Rypsi ja glyfosaatti	38
4.5	Maaperän ominaisuudet, glyfosaatti ja koekasvit	40
4.6	Maaperän mikrobit, glyfosaatti ja koekasvit	44
5	YHTEENVETO	47
6	KIRJALLISUUS	50

1 JOHDANTO

1.1 Glyfosaatti ja Roundup

Glyfosaatti eli N-(Fosfonometyyli)glysiini on luonnollisesta aminohaposta, glysiinistä, tehty fosfaattijohdannainen, jota käytetään rikkakasvien kemialliseen torjuntaan. Glyfosaattia myydään monilla kauppanimillä, joista yleisin lienee ”Roundup”. Se on laaja-vaikutteinen rikkakasvintorjunta-aine, jota myytiin viljelijöiden käyttöön ensimmäisen kerran vuonna 1974, ja tähän päivään tultaessa glyfosaattia sisältävien rikkakasvintorjunta-aineiden käyttö on lisääntynyt noin satakertaisesti alkuvaiheen käyttömääristä (Myers ym. 2016). Glyfosaattivalmisteet kehitettiin korvaamaan muita rikkakasvintorjunta-aineita, joilla oli havaittu olevan haitallisia vaikutuksia viljelykasveille ja ihmisille (Myers ym. 2016). Teollisuuden myrkyllisyystestien mukaan glyfosaattivalmisteet aiheuttavat suhteellisen vähän haittaa muille kuin rikkakasveille, joten glyfosaatille on maailmanlaajuisesti asetettu suuret sallitut käyttömäärät (Myers ym. 2016). Glyfosaatin käyttö on mahdollistanut suorakylvön, jossa rikkakasvit poistetaan glyfosaatilla, minkä jälkeen viljelykasvit kylvetään peltoon ilman suurempaa maanmuokkausta. Suorakylvön etuna suhteessa tavanomaiseen muokkaukseen on se, että suorakylvössä ravinteet säilyvät tavanomaista muokkausta paremmin maaperässä, jolloin lannoitteita tarvitaan vähemmän, sillä huuhtoutumat vesistöihin ovat pienemmät. Suorakylvö on yksi syy glyfosaatin suurelle maailmanlaajuiselle käytölle. Glyfosaatin käyttö saattaa tulevaisuudessa kasvaa edelleen, sillä glyfosaattia käytetään joissain maissa ennen sadonkorjuuta viljelykasvien tuleennuttamiseen eli yhtäaikaisiin kypsyttämiseen ja kuivaamiseen (Myers ym. 2016). Glyfosaatin käyttöä ovat myös lisänneet geeniteknologian avulla kehitetyt glyfosaattia sietävät eli glyfosaattiresistentit viljelykasvilajikkeet, joiden vuoksi glyfosaatin sallittuja käyttömääriä on nostettu paljon (Myers ym. 2016). Näihin viljelykasveihin on siirretty geeni, joka tekee kasvista resistentin glyfosaatille, jolloin glyfosaattia voidaan käyttää rikkakasvien torjuntaan myös viljelykasvien kasvun aikana (Dill 2005). Maailmalla paljon viljellyistä kasvilajeista, kuten soijasta, maissista, rypsiä ja puuvillasta, on kehitetty glyfosaattiresistenttejä lajikkeita (Dill 2005). Uusia ja paranneltuja glyfosaattiresistenttejä viljelykasveja kehitetään, jotta glyfosaattia voidaan käyttää rikkakasvintorjunnassa useampia kertoja, suurempia määriä ja useampina eri ajankohtina (Green 2009), mikä puolestaan mahdollistaa tehokkaamman viljelyn. Glyfosaattiresistenttejä kasvilajeja viljellään lähinnä Pohjois-Amerikassa, ja esimerkiksi

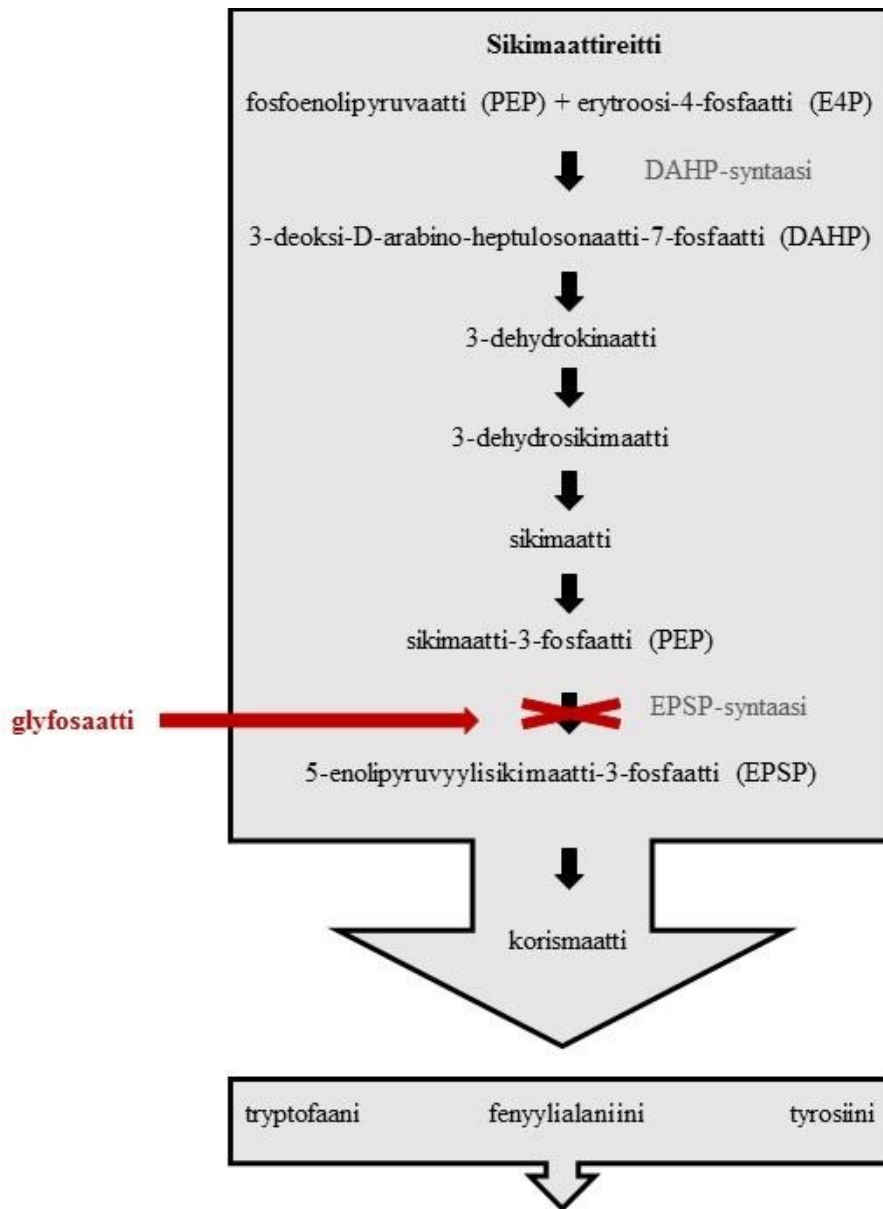
Euroopan unionin alueella glyfosaattiresistenttien viljelykasvien käyttö on erittäin rajoitettua.

Lisääntyvä tieto glyfosaatin kertymisestä ja kulkeutumisesta maaperässä sekä vuorovaikutuksista kohdekasvien, ei-kohdekasvien ja muiden organismien kanssa on kyseenalaistanut glyfosaatin jatkuvan ja lisääntyvän käytön (Helander ym. 2012). Tutkimukset glyfosaatin vuorovaikutuksista maaperän mikrobien kanssa ovat osoittaneet, että vaikka osa mikrobeista hajottaa glyfosaattia, osalle se on myrkyllistä (Wardle & Parkinson 1992; Busse ym. 2001), ja osan kasvua se kiihdyttää (Kremer & Means 2009). Tutkimusten mukaan toistuvien glyfosaattikäsittelyiden aiheuttama maaperän mikrobien määrän väheneminen tai muutos niiden yhteisörakenteessa hidastaa glyfosaatin hajoamista maaperässä (de Andréa ym. 2003). Useasti toistetut glyfosaattikäsittelyt saattavat johtaa glyfosaatin kertymiseen maaperässä, jolloin riski sen huuhtoutumiseen tai kulkeutumiseen kasvaa (Helander ym. 2012). Toistuvat glyfosaattikäsittelyt ovat maataloudessa arkipäivää, sillä voimakkaasti yleistynyt suorakylvö vaatii vuosittaisia tai jopa useampia glyfosaattikäsittelyitä. Lisäksi pohjoisen, eli esimerkiksi Suomen, ekosysteemit ovat erittäin herkkiä glyfosaatin vaikutuksille, sillä niissä on runsaat pohjavesivarat, alhainen pH ja omanlaisensa maaperätyyppi (Helander ym. 2012). Olisi tärkeää selvittää useiden perättäisten glyfosaattikäsittelyiden vaikutuksia maaperään, eliöihin ja kasveihin, sillä viljelyssä on usein käytäntönä, että glyfosaattikäsittelyt tehdään samoille pelloille pari kertaa vuodessa ja monena peräkkäisenä vuotena. Myös glyfosaatin vaikutuksista useita viikkoja glyfosaattikäsittelyiden jälkeen olisi tärkeää saada lisää tietoa, sillä glyfosaatti ei mahdollisesti hajoa maaperässä niin nopeasti kuin aiemmat tutkimukset ovat olettaneet.

Kasvien ja hyödyllisten maaperämikrobien välinen vuorovaikutus on ratkaisevaa kasvivyhteisöjen rakenteen ja dynamiikan kannalta (Druille ym. 2016). Näitä hyödyllisiä mikrobeja ovat monet sienet ja bakteerit, kuten mykorritsa-sienet eli sienijuuret, endofyytit eli kasvien sisällä elävät mikrobit ja vapaana elävät diazotrofit eli ilmakehän tyyppiä sitovat bakteerit. Hyödylliset mikrobit tehostavat kasvien ravinteiden ja veden saantia sekä suojelevat niitä taudinaiheuttajilta. Glyfosaatti saattaa vaikuttaa eri tavoin maaperän hyödyllisiin mikrobeihin, millä puolestaan voi olla merkittäviä vaikutuksia myös kasvien ravinteiden ja veden saantiin sekä taudinaiheuttajilta suojautumiseen. Koska

glyfosaattia käytetään maailmanlaajuisesti ja suuria määriä, on yhä tärkeämpää ymmärtää, miten glyfosaatti vaikuttaa maaperän mikrobeihin. Useat tutkimukset ovat arvioineet glyfosaatin vaikutuksia mikrobeihin yksittäisen annostelukerran perusteella, vaikka todellisuudessa viljelyssä glyfosaattia annostellaan toistuvasti samoihin paikkoihin (Druille ym. 2016).

Glyfosaatti inaktivoi entsyymiin nimeltä 5-enolipyruvyyilisikimaatti-3-fosfaattisyntaasi eli EPSPS (Kuva 1.). EPSPS on kasvin sikimaattireitin entsyymi, jota tarvitaan monien kasvin aineenvaihduntatuotteiden, kuten välttämättömien aminohappojen tuottamiseen (Franz ym. 1997). Välttämättömistä aminohapoista tryptofaania tarvitaan mm. tärkeän kasvunediäjäjän indolylyietikkahapon (IAA) synteisiin, ja mikäli IAA:n synteesi estyy, kasvin kasvu hidastuu ja se lopulta kuolee (Franz ym. 1997). Glyfosaatin päähajoamistuote aminometyylifosfonihappo (AMPA) on myös fytotoksinen, muttei niin tehokas kuin glyfosaatti, sillä AMPA:n ei havaittu vaikuttavan kasvien sikimaattireittiin (Reddy ym. 2004). Kasvit voivat altistua AMPA:lle paitsi glyfosaattia hajottamalla, myös kontakteilla ympäristönsä veden ja maaperän kanssa (Cerdeira & Duke 2006). AMPA:n vaikutuksia kasveihin ei kuitenkaan ole vielä tutkittu paljoa.



fytoaleksiini, ligniini, indolietikkahappo (IAA) jne.:
 vaikuttavat kasvien ja mikrobien selviytymiseen, kasvuun, puolustukseen
 ja sekundaaristen aineenvaihduntatuotteiden koostumukseen

Kuva 1. Glyfosaatti estää sikimaattireitin 5-enolipyruvylisikimaatti-3-fosfaattisyntaasin (EPSPS) toiminnan ja häiritsee siitä syystä tryptofaania, fenyylialaniinia tai tyrosiinia sisältävien aineenvaihduntatuotteiden muodostusta. Osa näistä aineenvaihduntatuotteista on kasvien kasvutekijöitä (esim. indolietikkahappo) tai puolustusaineita (esim. tanniinit, antosyaniinit, flavonoidit ja ligniini). Sikimaattireitti löytyy kasveilta ja mikrobeilta. Kuva ja kuvateksti: Helander et al. (2012).

Glyfosaatin itsensä lisäksi myös sen pääasiallinen hajoamistuote AMPA sekä glyfosaativalmisteiden sisältämät apuaineet saattavat olla haitallisia, jopa haitallisempia kuin glyfosaatti itse (Tsui & Chu 2003; Richard ym. 2005). Glyfosaatti on vaikuttavana aineena muun muassa Roundup-rikkakasvintorjunta-aineissa, kuten Roundup Goldissa. Roundup-rikkakasvintorjunta-aineet sisältävät glyfosaattia isopropyylimiamiinisuolana sekä apuaineita, jotka tehostavat glyfosaatin siirtymistä kasviin. Useat tutkimukset ovat

osoittaneet, että glyfosaattia sisältävien rikkakasvintorjunta-aineiden haitallisuus kasveille johtuu pääasiassa niiden sisältämistä apuaineista. Erityisesti polyetoksyloituja taliamiineja sisältävät glyfosaattivalmisteet ovat haitallisia eliöille, jopa haitallisempia kuin puhdas glyfosaatti (Uren Webster ym. 2014), ja näiden glyfosaattivalmisteiden jakelu, myynti ja käyttö on tulossa kielletyksi Euroopan unionin alueella vuosista 2017 ja 2018 lähtien.

1.2 Glyfosaatti maatalousympäristössä

Glyfosaatti on valikoimaton ja systeeminen eli koko kasvissa vaikuttava rikkakasvintorjunta-aine, jota käytetään useille eri rikkakasveille. Glyfosaatti mahdollistaa suorakylvön, jossa rikkakasvit hävitetään ensin glyfosaatilla, ja tämän jälkeen siemenet kylvetään suoraan muokkaamattomaan peltoon (Yamada ym. 2009). Glyfosaatin käyttö maailmanlaajuisesti on erittäin suurta, sillä Global Market Insights -sivuston (2017) mukaan vuonna 2015 glyfosaattia käytettiin 850 tuhatta tonnia, ja käytön uskotaan lisääntyvän vuoteen 2024 mennessä viisi prosenttia. Glyfosaatin käyttö maailmanlaajuisesti on suurta ja edelleen kasvussa siitä syystä, että suorakylvö ja glyfosaattiresistenttien viljelykasvien käyttö ovat yleistyneet.

Glyfosaatin on ajateltu olevan haitatonta eläimille ja ihmisille, koska niillä ei ole siki-maattireittiä (Duke & Powles 2008), johon glyfosaatin teho perustuu. Lisäksi glyfosaatin on ajateltu inaktivoituvan nopeasti maaperässä (Baylis 2000; Giesy ym. 2000; Busse ym. 2001; Vereecken 2005; Duke & Powles 2008). Viimeisimmät tutkimukset ovat kuitenkin kyseenalaistaneet glyfosaatin turvallisuuden. Glyfosaatti saattaa säilyä ja kulkeutua maaperässä, ja sillä saattaa olla vaikutuksia muille kuin kohde-eliöille (Benachour ym. 2007; Laitinen ym. 2009; Helander ym. 2012). Nämä prosessit saattavat olla erityisen haitallisia pohjoisissa ekosysteemeissä, joissa on pitkät biologisen toiminnan kannalta inaktiiviset talvet ja lyhyet kasvukaudet (Laitinen ym. 2006; Laitinen ym. 2007; Laitinen ym. 2009; Helander ym. 2012). Glyfosaatti on markkinoiden ylivoimaisin rikkakasvintorjunta-aine, sillä se on halpaa (Duke & Powles 2008) ja se tehoaa kortteita lukuun ottamatta kaikkiin vihreisiin kasveihin. Glyfosaatin käyttöä on peruteltu myös sillä, että se mahdollistaa suorakylvön, joka puolestaan vähentää maaperän eroosiota ja ravinteiden huuhtoutumista (Duke & Powles 2008). Glyfosaattia käytetään myös juuri ennen puintia synkronoimaan ja nopeuttamaan viljojen kypsymistä sekä

varmistamaan viljan kuivuminen, sillä esimerkiksi Keski-Euroopassa ei käytetä vilja-kuivureita viljan kuivaamiseen (Helander ym. 2012).

Glyfosaatin maailmanlaajuinen käyttö on lisääntymässä, ja monissa maissa sitä käytetään ainoana rikkakasvintorjunta-aineena (Woodburn 2000). Glyfosaatin intensiivisen käytön vaikutuksia pohjoisissa ekosysteemeissä tulisi tutkia enemmän, sillä näissä ekosysteemeissä glyfosaatti saattaa säilyä maaperässä pidempään johtuen kylmästä ilmastosta ja maaperän ominaisuuksista (Helander ym. 2012). Tutkimukset rikkakasvintorjunta-aineiden jäännöksistä boreaalisissa ympäristöissä ovat osoittaneet, että glyfosaattia ja AMPA:a löytyy maaperästä jopa vuosia glyfosaattikäsittelyn jälkeen (Roy ym. 1989; Stenrød ym. 2005; Laitinen ym. 2009). Boreaalilla alueilla maaperän pH on yleensä alhainen, mikä edesauttaa glyfosaatin sitoutumista mineraalipartikkeleihin (Borggaard & Gimsing 2008), jolloin biologisten prosessien on hankalampi päästä katkaisemaan glyfosaattimolekyylin hiili-fosfori-sidoksia. Maaperän mikrobit, pääasiassa *Pseudomonas*-suvun bakteerit (Borggaard & Gimsing 2008), hajottavat vapaan glyfosaatin hiilidioksidiksi ja ammoniakiksi. *Pseudomonas*-suvun bakteerien toimintaan vaikuttaa maaperän lämpötila, happamuus ja kosteus (Insam 1990). Pohjoisen ilmasto-oloissa vuodenaikojen vaihtelu rajoittaa glyfosaatin hajoamisen kesäkuukausille, minkä lisäksi glyfosaattikäsittelyt tehdään pohjoisessa yleensä myöhemmin keväällä, jotta rikkakasvit saadaan poistettua ennen kylvöä (Helander ym. 2012). Tästä syystä glyfosaatin hajoamisaika saattaa pohjoisissa ekosysteemeissä olla oletettua paljon pidempi (Laitinen ym. 2006; Borggaard & Gimsing 2008).

Kohdekasvien eli rikkakasvien lisäksi glyfosaatti vaikuttaa myös ei-kohteena oleviin eliöihin eli viljelykasveihin, mikrobeihin ja eläimiin sekä terrestrisissä että akvaattisissa ympäristöissä. Glyfosaatin on havaittu kertyvän kasvien juuriin, josta sitä vapautuu juuria ympäröivään maaperään (Coupland & Caseley 1979; Laitinen ym. 2007). Glyfosaatti vaikuttaa maaperän mikrobiaktiivisuuteen ja mikrobiyhteisöjen koostumukseen (Lévesque & Rahe 1992; Wardle & Parkinson 1992; Busse ym. 2001), sillä myös joillain bakteereilla ja sienillä on sikimaattireitti, jonka glyfosaatti katkaisee. Mikäli glyfosaatti vaikuttaa negatiivisesti orgaanista ainesta hajottaviin mikrobeihin, hajotusnopeus ja ravinteiden kierto saattavat muuttua (Helander ym. 2012). Toistuvat glyfosaattikäsittelyt saattavat vähentää glyfosaattia hajottavien mikrobien määrää, jolloin gly-

fosaattijäämien määrä maaperässä voi kasvaa (Helander ym. 2012). Glyfosaatin on myös todettu hyödyttävän taudinaiheuttajamikrobeja ja sitä kautta lisäävän kasvitauteja ainakin vehnällä (*Triticum aestivum*) ja ohralla (*Hordeum vulgare*) (Fernandez ym. 2007; Fernandez ym. 2009). Ei-tappavat annokset glyfosaattia saattavat alentaa kasvien vastustuskykyä taudinaiheuttajille ja kasvinsyöjille, sillä pienet glyfosaattimäärät vähentävät kasvien sekundaaristen aineenvaihduntatuotteiden valmistusta ja ravinteidenottoa (Eker ym. 2006; Neumann ym. 2006; Cakmak ym. 2009; Johal & Huber 2009; Senem Su ym. 2009).

1.3 Tutkielman tavoitteet

Pro gradu -tutkielmani tavoitteena on selvittää glyfosaattikäsittelystä aiheutuvien mahdollisten maaperän glyfosaattijäämien vaikutusta viljelykasvien itämiseen ja kasvuun boreaalisella vyöhykkeellä. Peltokokeessa on tarkoitus selvittää peltoon ruiskutetun Roundup Goldin epäsuoria vaikutuksia ruiskutuksen varoajan jälkeen kylvettyjen viljelykasvien kasvuun. Pro gradu -tutkielmani kasvihuonekokeen tavoitteena on selvittää, miten puhdas glyfosaatti ja rikkakasvintorjunta-aine Roundup Gold vaikuttavat viljelykasvien itämiseen ja kasvuun, ja onko niiden vaikutuksissa eroa.

2 MATERIAALIT JA MENETELMÄT

Glyfosaatti on huoneenlämmössä kiinteä, värittömistä kiteistä muodostuva yhdiste, jonka kemiallinen kaava on $C_3H_8NO_5P$ ja rakennekaava $HOOCCH_2NHCH_2PO(OH)_2$. Glyfosaatin molekyyli­massa on 169,1 g/mol. Rikkakasvintorjunta-aineissa glyfosaatti on isopropyylamiinisuolana. Sekä peltokokeessa että kasvihuonekokeessa käytetyt viljelykasvilajit olivat härkäpapu (*Vicia* 'Kontu'), kaura (*Avena* 'Iiris'), peruna (*Solanum* 'Ditta') ja rypsi (*Brassica* 'Apollo'). Sekä pelto- että kasvihuonekokeissa kylvettiin tai istutettiin eri lajien siemeniä tai mukuloita (Kuva 2.) glyfosaattikäsiteltyyn tai kontrolli­maahan.



Kuva 2. Kokeissa käytettyjen kasvien siemenet/mukulat ennen kasvihuonekokeen kylvöä. Ylhäällä vasemmalla rypsi (peitatut siniset siemenet), ylhäällä keskellä ohra, jota ei käytetty kokeissa ja ylhäällä oikealla perunan mukulat. Alhaalla vasemmalla kaura (peitatut vaaleanpunaiset siemenet), alhaalla keskellä härkäpapu ja alhaalla oikealla tomaatti, jota ei käytetty kokeissa. Peitatut siemenet ovat peittausaineella käsiteltyjä siemeniä, yleensä siemenviljaa. Peittausaine on sienikasvustoa ja tuhohyönteisiä torjuva maatalouden torjunta-aine.

2.1 Peltokoe

Peltokoe toteutettiin Turun yliopiston Ruissalon kasvitieteellisellä puutarhalla olevalla koepellolla. Koepelto koostuu radoista, jotka ovat noin 23 metriä pitkiä ja noin 1,5 metriä leveitä. Pellolla vuorottelevat kontrollikäsitelty raita ja Roundup Goldilla käsitelty raita. Näiden välissä on noin 0,5 metrin suoja-alue. Koepellon glyfosaattiraidat on käsitelty myös vuosina 2014 ja 2015 sekä keväällä että syksyllä. Peltokokeen ensimmäisessä vaiheessa Roundup Gold -rikkakasvintorjunta-ainetta ruiskutettiin käsikäyttöisellä ruiskutuslaitteella käsittelyraidoille toukokuun puolivälissä. Käsitelyssä käytetty Roundup Gold -rikkakasvintorjunta-aine sisälsi tehoaine glyfosaattia 450 g/l. Ruiskutuksen tavoitepitoisuus glyfosaatille oli 105,35 mg/m². Koska raitojen pinta-ala oli yhteensä 448,5 m² (23 m x 1,5 m x 13 kpl), tarvittava glyfosaattimäärä oli 47,25 g. Ruiskutusliuos tehtiin siten, että 1,05 dl Roundup Goldia sekoitettiin veteen ja liuos täytettiin vedellä 13 litraan. Tästä liuksesta otettiin 1 litra jokaista raitaa kohti ja lisättiin siihen 4 litraa pelkkää vettä, jolloin ruiskutustilavuus kullekin raidalle oli yhteensä 5 litraa nestettä. Kontrolliraidat käsiteltiin siten, että niille ruiskutettiin samalla puhdistetulla ruiskutuslaitteella pelkkää vettä 5 litraa raitaa kohden. Kaikille radoille tehtiin ruiskutusten jälkeen kevytmuokkaus peräjyrsimellä. Jyrsiminen ei ollut riittävää pellon kuivuuden ja kovuuden vuoksi, joten raidat jysittiin toiseen kertaan. Pellon kylvöt tehtiin kolme

viikkoa glyfosaattiruiskutuksen jälkeen siten, että raitojen 2–11 (10 toistoa Roundup Gold -käsittelyä ja 10 toistoa kontrollikäsiteltyä) päihin tehtiin vierekkäin neljä ruutua, jotka olivat kooltaan noin 1,5 m x 1,5 m. Ruutujen väliin jätettiin noin 0,5 metrin suoja-alue. Ruutuihin tehtiin kuokalla 4–6 kylvöraitaa, joihin siemenet kylvettiin (Kuva 3.).



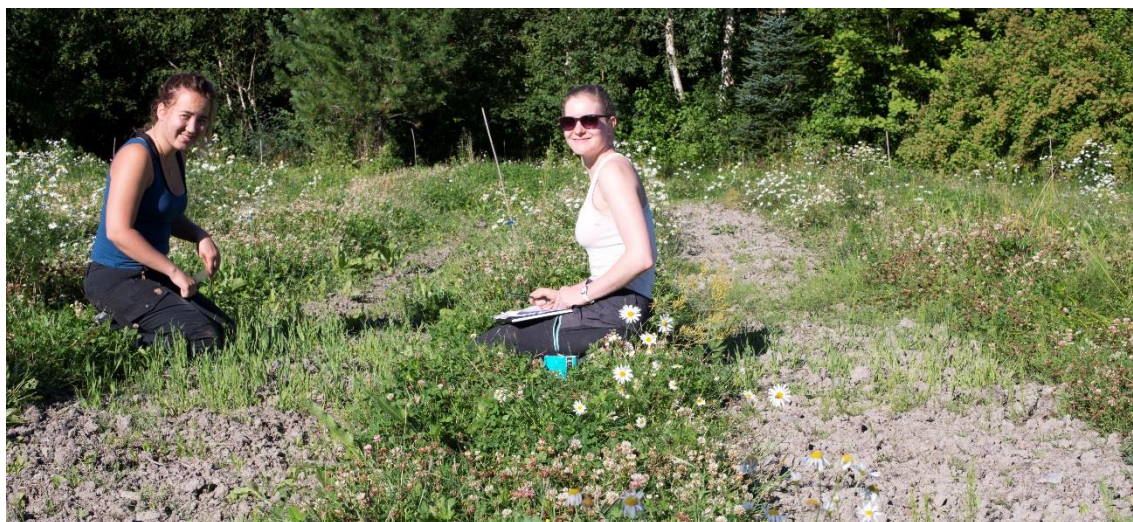
Kuva 3. Peltokokeen koekasvit ruuduissaan; neljä ruutua, jotka kooltaan noin 1,5 m x 1,5 m, ruutujen välissä noin 0,5 metrin suoja-alue. Etualalla kaura, keskellä peruna ja taka-alalla härkäpapu. Rypsi ei näy kuvassa. Kuva: Kari Saikkonen.

Härkäpapua kylvettiin 40 g eli noin 80 siementä ruutua kohti, kauraa 27 g eli noin 600 siementä ruutua kohti, rypsiä 0,72 mg eli noin 300 siementä ruutua kohti ja perunaa 16 mukulaa ruutua kohti. Peltokokeen toteutus ja satunnaistaminen on esitetty kuvassa 4.

	G2	K2	G3	K3	G4	K4	G5	K5	G6	K6	G7	K7	G8	K8	G9	K9	G10	K10	G11	K11
TIE	k	k	r	r	h	h	p	p	h	h	k	k	p	p	r	r	k	k	p	p
	h	h	k	k	p	p	r	r	r	r	p	p	h	h	k	k	r	r	h	h
	p	p	h	h	r	r	k	k	k	k	h	h	r	r	p	p	h	h	r	r
	r	r	p	p	k	k	h	h	p	p	r	r	k	k	h	h	p	p	k	k

Kuva 4. TIE = tien sijainti pellon vieressä, G1 = Roundup Gold -käsitelty raita numero 1, K1 = kontrollikäsitelty raita numero 1 jne. Vuorotellen 10 Roundup Gold -käsiteltyä raitaa ja 10 kontrollikäsiteltyä raitaa. k = kaura, h = härkäpapu, p = peruna, r = rypsi. Kunkin raidan kokonaispituus n. 23 m (kuvassa esitetty vain kylvöruudut), leveys n. 1,5 m ja raitojen välissä n. 0,5 m suoja-alue (ei näy kuvassa). Kylvöruudut olivat kooltaan n. 1,5 m x 1,5 m ja niiden välissä oli n. 0,5 m suoja-alue (ei näy kuvassa).

Raidat kasteltiin vesiletkulla kahdesti kokeen aikana. Lisäksi raidat kitkettiin kahteen kertaan kokeen aikana. Raidoilta otettiin myös maaperänäytteet glyfosaattianalyysia varten. Kasvien mittaukset aloitettiin 6 viikkoa kylvön jälkeen, ja niitä jatkettiin 4 viikkoa. Mittaukset lopetettiin 10 viikkoa kylvöstä. Härkäpavusta ja kaurasta merkittiin mitattavaksi satunnaiset 20 kasvia jokaista ruutua kohden. Koska perunaa ja rypsiä oli vähemmän, kaikki kasviyksilöt otettiin mukaan mittauksiin. Härkäpavusta, kaurasta, perunasta ja rypsestä mitattiin verson pituus mittanauhalla kerran viikossa (Kuva 5.).



Kuva 5. Härkäpavusta, kaurasta, perunasta ja rypsestä mitattiin verson pituus mittanauhalla kerran viikossa. Kuvasa kauran verson mittaamista peltokokeen alkuvaiheessa. Kuva: Kari Saikkonen.

Kauralla arvioitiin selkärankaisten syöntijäljet (0 = ei syöty lainkaan, 1 = syöty vähän, 2 = syöty paljon). Kukkivien kaurujen määrä ruutua kohden laskettiin myös. Pellon perunoista otettiin yksi lehti jokaisesta perunayksilöstä glyfosaattianalyysia varten. Kaikki perunat nostettiin pelloilta 11 viikkoa kylvön jälkeen kaivamalla koko kasvi lapiolla ylös. Tämän jälkeen perunoiden versot punnittiin yksittäin vaa'alla (Biltema, max. 5000 g) ja niiden mukulat pestiin, laskettiin ja punnittiin. Lisäksi yksi satunnaisesti valittu mukula otettiin talteen kustakin kasvista glyfosaattianalyysia varten. Myös tutkimuksessa mukana olleet härkäpavut kerättiin pelloilta 11 viikkoa kylvön jälkeen. Härkäpapujen versot leikattiin sirpillä juuren tyveltä, palot irroitettiin versoista ja versot punnittiin. Lisäksi jokaisesta kasviyksilöstä otettiin yksi lehti glyfosaattianalyysia varten. Härkäpavun palot laskettiin ja punnittiin. Kaura leikattiin sirpillä ja punnittiin 11 viikkoa kylvön jälkeen ruuduittain. Myös kultakin kauraruudulta otettiin glyfosaattianalyysia varten 10 satunnaisesti valittua lehteä. Rypsi kerättiin pelloilta niin ikään 11 viikkoa kylvön jälkeen. Kaikki kasviyksilöt yhdeltä ruudulta leikattiin saksilla juuren tyveltä, kerättiin yhteen ja punnittiin yhdessä ruuduittain.

Koepelloilta otetuille maaperänäytteille tehtiin viljavuustutkimus (Eurofins Viljavuuspalvelu Oy), jonka mukaan koepellon pintamaan maalaji on hiuesavea (HeS), jossa on savea 30–60 %, hiesua 20–50 % sekä hietaa ja hiekkaa 20–50 %. Koepellon johtoluku vaihteli välillä 0,5–0,8 10x mS/cm. Kalsiumpitoisuus oli 1500–1900 mg/l, mikä on pellon viljavuuden kannalta välttävä määrä. Kaliumin, magnesiumin, rikin, kuparin ja sinkin määrät olivat viljavuusanalyysin mukaan tyydyttävät tai hyvät. Mangaania oli vain välttävästi. Viljavuusanalyysin mukaan fosforin varastoarvo vaihteli välillä 227–288 mg/l.

2.2 Kasvihuonekoe

Kasvihuonekoe toteutettiin Turun yliopiston kasvitieteellisellä puutarhalla Ruissalossa heinäkuun ja syyskuun 2016 välisenä aikana. Kaikista lajeista oli kolme käsittelyä; puhdas glyfosaatti -käsittely ja Roundup Gold -käsittely sekä kontrolli. Kaikista kolmesta käsittelystä oli jokaisella lajilla 15 toistoa. Toistot oli toteutettu siten, että kaikilla lajeilla oli jokaisesta käsittelystä 15 ruukkuja eli yhteensä 45 ruukkuja lajia kohden. Roundup Gold -käsittelyssä käytetty Roundup Gold -rikkakasvintorjunta-aine sisälsi tehoaine glyfosaattia 450 g/l. Roundup Gold -rikkakasvintorjunta-aineen käyttöohjeen mukainen suurin sallittu käyttömäärä syksyllä on 6,4 l/ha Roundup Goldia sekoitettuna 100–200 l vettä. Roundup Goldista tehtiin kantaliuos, jossa oli 6,4 dl Roundup Goldia ja 10 l vettä. Tässä kantaliuoksessa oli tehoaine glyfosaattia $450 \text{ g/l} \cdot 0,64 \text{ l} = 288 \text{ g}$. Kasvihuonekokeessa käytetty puhdas glyfosaatti oli Sigma Aldrichin analyttiseen käyttöön tarkoitettua puhdasta glyfosaattia (PESTANAL®, $(\text{HO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CO}_2\text{H}$, molekyyli-paino 169,07 g/mol). Puhdasta glyfosaattia oli 250 mg. Siitä tehtiin kantaliuos, joka sisälsi 250 mg puhdasta glyfosaattia ja 5,5 ml vettä.

Kasvihuonekokeessa käytetty kasvualusta oli pakattu seosmulta (Biolan luomu kylvö- ja taimimulta), jonka raaka-aineina olivat kompostiseos (puukuitupuriste, broilerinlanta, puunkuorirouhe, vaalea kasvuturve) ja hiekka. Kasvualusta sisälsi myös mykorritsaa *Glomus intraradices* ($> 40 \text{ kpl/l}$) ja *Gliocladium* sp. ($> 10^8 \text{ pmy/l}$). Kasvualustan kalkitusaine oli Mg-pitoinen kalkkikivijauhe (4 kg/m^3), pH 6,2, johtokyky 30 mS/m ja karkeusaste $< 15 \text{ mm}$. Kasvualustan ravinnepitoisuudet olivat seuraavat: vesiliukoinen typi 100 mg/l (420 mg/kg ka), liukoinen fosfori 70 mg/l (300 mg/kg ka), liukoinen kalium

400 mg/l (1680 mg/kg ka). Kasvualustat valmisteltiin kokeeseen 20.7.2016. Kontrollikäsittelyssä 48 l Biolan luomu kylvö- ja taimimultaa laitettiin ensin betonimyllyyn. Tämän jälkeen kastelukannuun laitettiin 4 litraa vettä ja lisättiin siihen pipetillä 5,1 ml vettä. Tämä liuos sekoitettiin huolellisesti kasvualustaan betonimyllyssä, jonka jälkeen kasvualusta siirrettiin saaviin, vietiin kasvihuoneeseen ja peitettiin muovilla. Puhdas glyfosaatti- ja Roundup Gold -käsittely kasvualustoille tehtiin täysin samalla tavoin kuin kontrolli, poikkeuksena, että puhdas glyfosaatti -käsittelyssä 4 litraan vettä lisättiin 5,1 ml puhtaan glyfosaatin liuosta ja Roundup Gold -käsittelyssä 4 litraan lisättiin 5,1 ml Roundup Gold -liuosta (Kuva 6.).



Kuva 6. Multaa laitettiin betonimyllyyn, jonka jälkeen kastelukannuun laitettiin 4 litraa vettä ja siihen lisättiin 5,10 ml vettä, puhdasta glyfosaattia tai Roundup Goldia. Liuokset sekoitettiin huolellisesti kasvualustaan betonimyllyssä. Kuva: Maija Jortikka.

Kasvualustat jaettiin ruukkuihin reilu viikko käsittelyiden jälkeen. Perunoille käytettiin ruukkuja, jotka olivat kooltaan 13 cm x 13 cm x 13 cm, muille lajeille ruukkuja, jotka olivat kooltaan 5 cm x 5 cm x 5 cm. Perunoiden ruukkuihin laitettiin noin 12 dl multaa ruukkua kohti, muille lajeille noin 4 dl ruukku kohti. Jokaiseen ruukkuun suihkaistiin kahdesti vettä suihkupullolla, ruukut peitettiin muovilla ja jätettiin kasvihuoneen pöydille odottamaan varoajan umpeutumista. Roundup Goldin varoaika on 10 vuorokautta.

Kylvö tehtiin 14 vuorokauden kuluttua kasvualustojen käsittelystä (4.8.2016). Kauraa ja rypsiä kylvettiin neljä siementä ruukkua kohti, mutta härkäpapua kaksi siementä ruukkua kohti, koska sen siemenet olivat suurempia. Perunaa istutettiin yksi idätetty mukula jokaiseen ruokkuun. Kauran ja rypsin siemenet laitettiin ruukkuihin pinseteillä, härkäpapu ja peruna sormin. Kylvetyt ruukut satunnaistettiin kasvihuoneeseen numero seitsemän (Kuva 7.) ja kasteltiin vesiletkulla kolme sekuntia ruukkua kohden, perunalla neljä sekuntia ruukkua kohden kylvön jälkeen.

IKKUNA																
Pöytä 1			Pöytä 2			Pöytä 3			Pöytä 4			Pöytä 5				
6 G	6 R	6 K	3 R	5 G	6 R	2 G	1 G	2 K	5 K	5 K	1 G	6 G	2 K	5 G		
1 R	3 G	5 R	1 R	4 G	4 G	6 G	1 K	4 G	3 K	4 K	1 K	4 R	2 G	3 G		
5 K	5 G	4 K	1 G	1 R	3 G	4 R	1 R	6 K	3 R	6 K	1 R	4 K	5 G	5 K		
6 K	4 G	4 G	6 K	1 K	4 R	3 G	6 G	3 R	2 G	1 R	3 R	2 R	5 R	4 R		
5 G	3 K	5 G	5 K	2 K	5 K	3 R	6 K	2 R	2 K	3 R	4 K	3 G	3 K	3 R		
3 K	1 G	2 G	4 G	5 K	6 K	1 G	6 R	1 K	2 R	2 G	5 R	5 K	4 G	5 R		
4 G	4 R	1 K	4 K	6 G	4 K	1 K	2 G	4 K	4 G	6 G	2 R	6 R	1 G	3 K		
1 G	1 K	5 K	3 K	2 G	1 K	2 R	5 G	1 R	5 G	2 R	5 K	3 R	6 R	6 R		
3 G	2 G	4 R	5 R	3 K	3 R	3 K	3 R	2 G	1 R	1 K	6 K	1 R	3 G	4 K		
5 R	1 R	1 R	6 G	4 R	1 G	5 K	4 G	3 K	6 R	3 G	4 G	6 K	3 R	6 K		
1 K	2 K	2 K	6 R	3 G	6 G	2 K	4 K	4 R	1 G	4 R	4 R	5 R	4 K	2 R		
3 R	5 R	3 G	1 K	4 K	5 G	5 R	5 R	5 G	3 G	6 R	5 G	3 K	1 K	1 R		
4 R	2 R	3 R	2 K	2 R	1 R	6 K	4 R	6 R	1 K	5 R	6 G	4 G	6 K	2 G		
2 G	6 G	6 R	2 R	6 K	2 R	1 R	3 G	5 K	4 K	3 K	6 R	2 G	5 K	1 G		
4 K	3 R	3 K	4 R	6 R	5 R	5 G	2 K	1 G	6 K	5 G	3 K	1 G	4 R	1 K		
6 R	4 K	2 R	5 G	3 R	2 K	4 G	5 K	5 R	5 R	4 G	2 K	5 G	6 G	4 G		
2 K	6 K	1 G	2 G	1 G	3 K	6 R	3 K	3 G	6 G	2 K	3 G	1 K	2 R	2 K		
2 R	5 K	6 G	3 G	5 R	2 G	4 K	2 R	6 G	4 R	1 G	2 G	2 K	1 R	6 G		
					OVI						OVI					

Kuva 7. Satunnaistus kasviuonekokeessa. Jokaisella pöydällä oli ruukkuja kolmessa sarakkeessa, 18 ruukku kussakin sarakkeessa. 1 = kaura, 2 = ohra, 3 = tomaatti, 4 = peruna, 5 = härkäpapu, 6 = rypsi, R = Roundup Gold -käsittely, G = puhdas glyfosaatti -käsittely, K = kontrolli.

Kastelun jälkeen ruukut peitettiin muovilla, jotta kosteus säilyisi niissä paremmin. Kasviuoneen lämpötila säädettiin pysymään ympäri vuorokauden vähintään 18 °C:ssa, ja ilmankosteus säädettiin pysymään noin 70 %:ssa. Valojaksona oli luonnollinen elokuun valojakso.



Kuva 8. Kasvihuonekokeen ruukut 11 vuorokautta kylvöstä pöydällä 2, osa ruukuista on jo itänyt, osa ei vielä.

8.8.–29.8.2016 välisenä aikana eli 4–25 vuorokautta kylvön jälkeen itäneet taimet laskettiin ja niiden versojen pituudet mitattiin viivaimella kolme kertaa viikossa (Kuva 8.). Ruukut kasteltiin tarvittaessa. Härkäpavun lehdet laskettiin suunnilleen kokeen puolivälissä. Härkäpavut punnittiin vaa’alla (Mettler Toledo PB5001) kokeen lopussa, verso ja lehdet erikseen. Härkäpavusta otettiin myös lehtinäytteet glyfosaattianalyysia varten. Myös rypsit punnittiin kokeen lopussa vaa’alla (Mettler Toledo, 1/10 d) siten, että kunkin ruukun versot punnittiin yhdessä. Rypsistä otettiin lehtinäytteet glyfosaattianalyysia varten. Kokeen lopussa myös perunat laskettiin ja punnittiin (Mettler Toledo PB5001). Versot kustakin ruukusta punnittiin yhdessä. Perunasta otettiin lehtinäytteet glyfosaattianalyysia varten. Myös kaurat laskettiin ja punnittiin kokeen lopussa (Mettler Toledo, 1/10 d), jokainen verso erikseen. Kaurasta otettiin lehtinäytteet glyfosaattianalyysia varten.

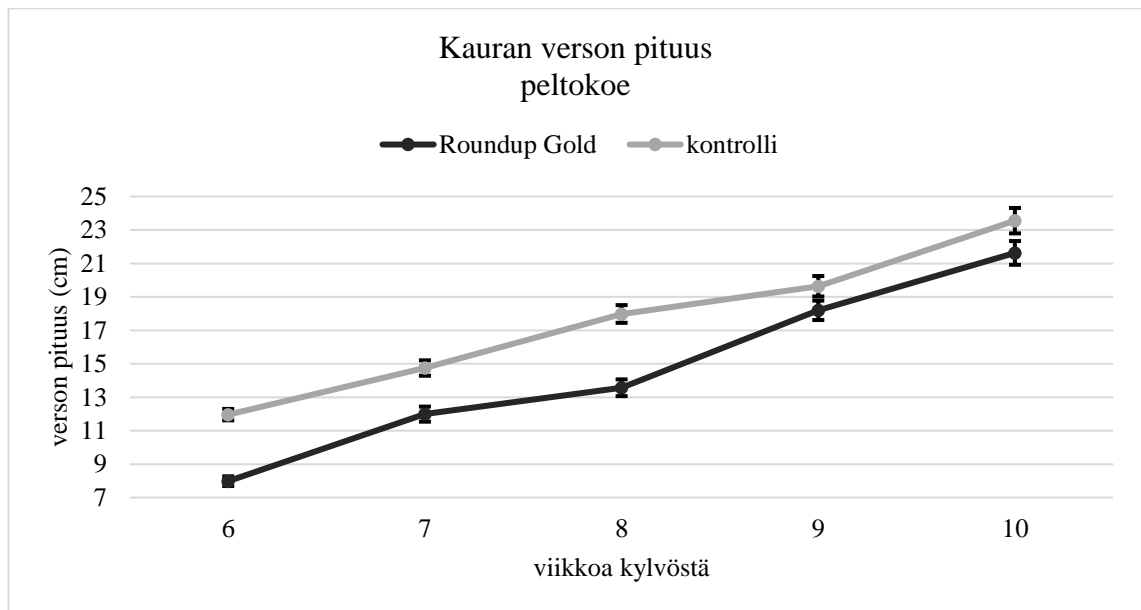
2.3 Tilastolliset analyysit

Kokosin datan Microsoft Excel -ohjelmaan ja analysoin sitä SAS Enterprise Guide -tilasto-ohjelmalla ja GraphPad Software -ohjelmalla. Tein luokitteleville muuttujille (kauran syöntijäljet peltokokeessa ja itämiset kasvihuonekokeessa) G-testit, joissa valitsin taulukoiden muuttujiksi käsittelyn ja syöntijäljet. Valitsin testiin havaitut ja odotetut arvot sekä G-testin statistiikan. Vertailin jatkuvia muuttujia (verson pituus, verson paino jne.) kahden riippumattoman otoksen t-testillä. T-testeissä käytetyt aineistot olivat riittävän normaalijakautuneita, joten niille ei tarvinnut tehdä muunnoksia. Kauran 18.7. mitattuun pituuteen vaikutti käsittelyn lisäksi myös pellolla vierailleet selkärankaistet. Testasin lineaarisella mallilla käsittelyn, syöntijälkien ja niiden yhteisvaikutuksen merkitystä kauran pituuteen eri mittausajankohtina. Selittävinä tekijöinä olivat käsittely, syönti sekä niiden interaktio. Tutkin mallin oletuksen ja totesin residuaalien jakauman normaaliksi. Keskiarvoja kuvaavat luvut on esitetty muodossa keskiarvo (ka.) ± keskiarvon keskivirhe (se.), otoskoko (n). Tilastollisten testien tulokset on ilmoitettu seuraavasti: testisuureen arvo, testin vapausasteet, testin p-arvo. Merkitsevän p-arvon rajana on käytetty 0,05. Tein tuloksista kuvaajat Microsoft Excel -ohjelmalla. Kasvihuonekokeen tuloksissa itämiset kauralla, härkäpavulla ja rypsillä esitetään kuvaajissa tutkimuspäivään mennessä itäneiden siementen määränä (summa kaikista itäneistä yksilöistä) Verson pituudet ja painot sisältävät kaikki itäneet ja mittaushetkellä elossa olleet kasviyksilöt.

3 TULOKSET

3.1 Kaura peltokokeessa

Peltokokeessa kontrollikaura kaura kasvoi glyfosaattikäsiteltyä kauraa paremmin (Kuva 9.). Kolmella ensimmäisellä mittauskerralla eli 6–8 viikkoa kylvön jälkeen verson pituudessa oli ryhmien välillä tilastollisesti merkitsevä ero (t-testisuure välillä 4,3–8,9; df = 390, $p < 0,0001$). Kontrollikaura oli noin 50 % pidempi kuin Roundup Gold -käsitelty kaura 6 viikkoa kylvön jälkeen, noin 23 % pidempi 7 viikkoa kylvön jälkeen ja noin 33 % pidempi 8 viikkoa kylvön jälkeen. Roundup Gold -käsittelyn ja kontrollin välillä ei enää esiintynyt tilastollisesti merkitsevää eroa 9–10 viikkolla kylvön jälkeen.



Kuva 9. Kauran verson pituus Roundup Gold -käsittelyllä ja kontrollikäsittelyllä peltokokeessa 6–10 viikkoa kylvön jälkeen. Keskiarvo verson pituudesta senttimetreinä ± keskiarvon keskivirhe.

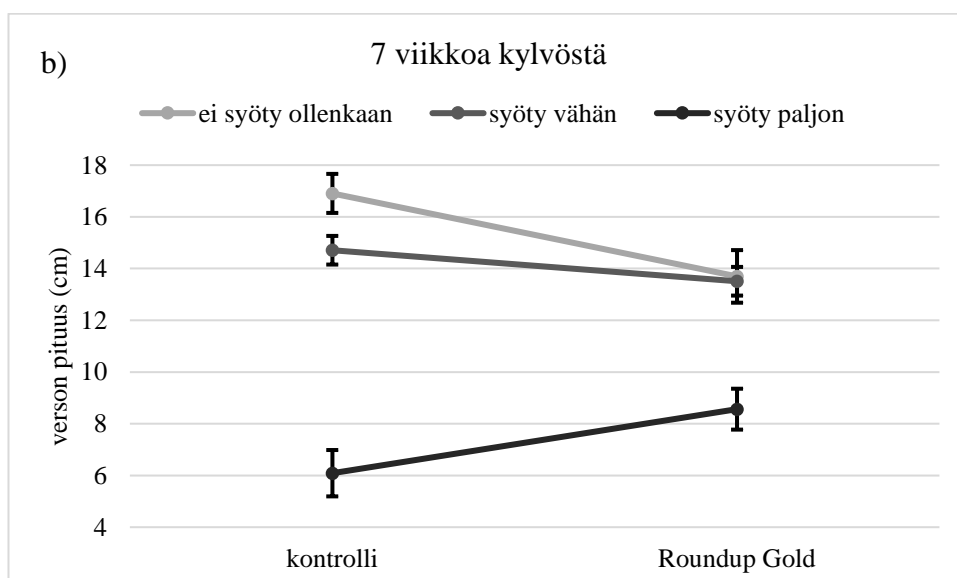
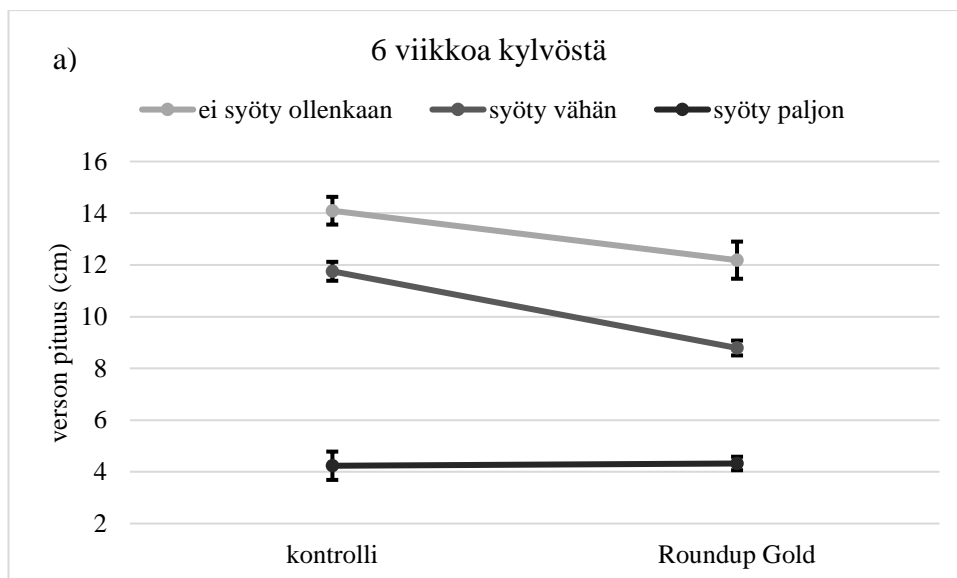
Kasvun alussa taimia vioittivat selkärankaistet kasvinsyöjät, todennäköisimmin valkopoiskihanhet (*Branta leucopsis*) tai jänikset (*Lepus sp.*). Kauran syöntiä arvioitiin 6 viikkoa kylvön jälkeen, ja tällöin Roundup Gold -käsiteltyjä kuroja oli syöty kontrollikuroja enemmän (Kuva 10.; Kauran syöntijäljet peltokokeessa, $G = 41,47$, $df = 2$, $p < 0,001$).

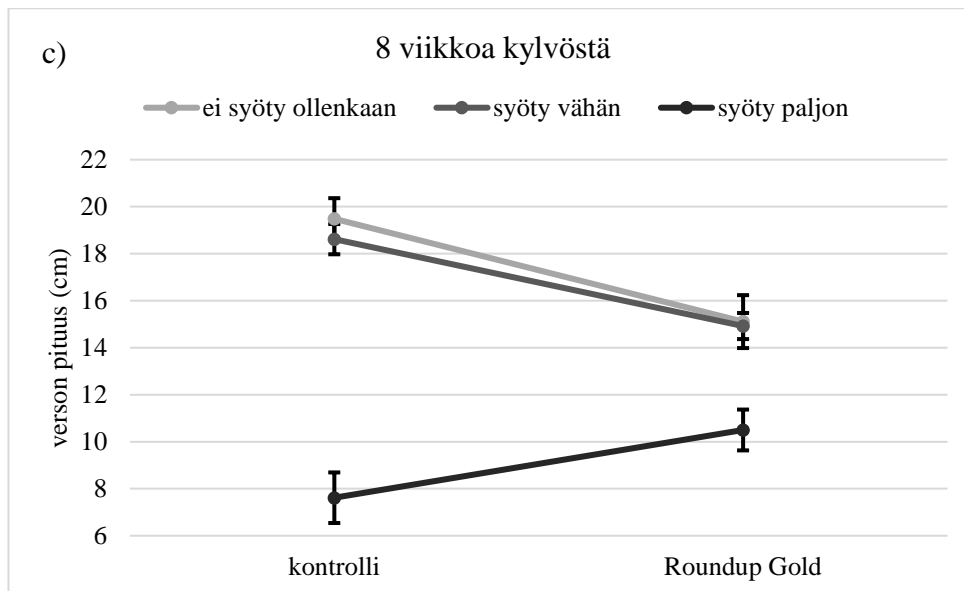
Kauran syöntijäljet peltokokeessa				
		Käsittely		
Syöntijäljet		Roundup Gold	kontrolli	Yhteensä
ei syöty ollenkaan	havaitut	38	72	110
	odotetut	55	55	
syöty vähän	havaitut	97	110	207
	odotetut	104	103	
syöty paljon	havaitut	65	17	82
	odotetut	41	41	
Yhteensä		200	199	399

Kuva 10. Kauran syöntijäljet Roundup Gold -käsittelyllä ja kontrollikäsittelyllä peltokokeessa 6 viikkoa kylvön jälkeen. Kauran syöntijäljet luokiteltiin kolmeen luokkaan: ei syöty ollenkaan, syöty vähän, syöty paljon. Havaittu yksilöiden määrä ja odotettu yksilöiden määrä, jos syönnissä on eroa.

Kauran syönti yhdessä käsittelyn kanssa selitti kauran verson pituutta ensimmäisellä mittauskerralla eli 6 viikkoa kylvön jälkeen. Lisäksi syömättömät ja vähän syödyt kontrollikaurat olivat pidempiä kuin syömättömät ja vähän syödyt Roundup Gold -käsitellyt kaurat (Kuva 11. a), $F = 72,09$, $df_1 = 5$, $df_2 = 393$, $p < 0,001$). Kauran syönti yhdessä

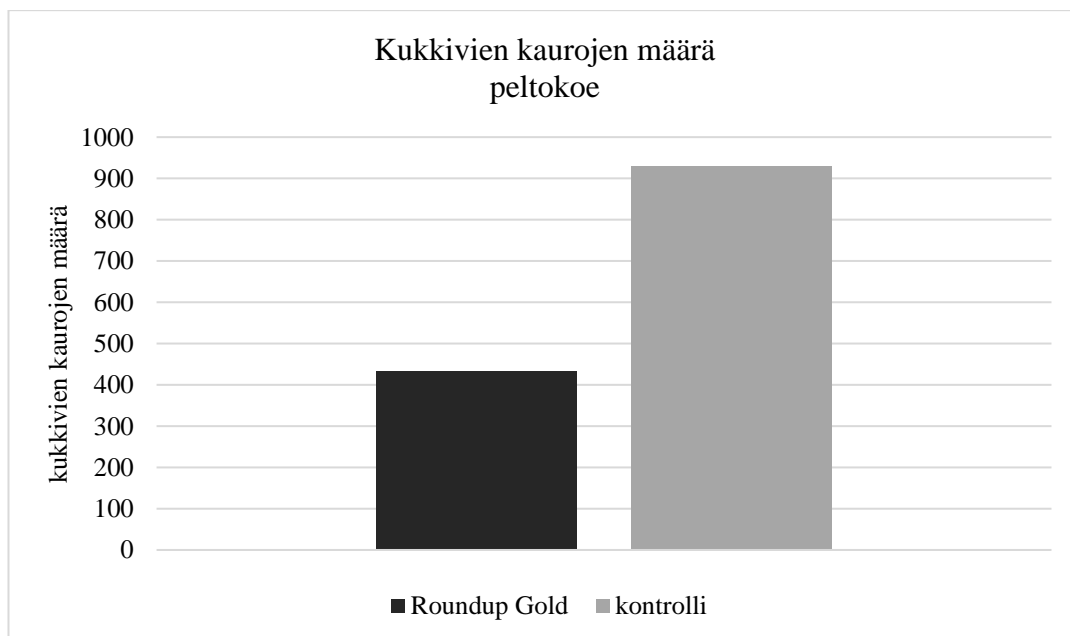
käsittelyn kanssa vaikuttivat verson pituuteen myös myöhempinä mittausajankohtina; 7 viikkoa kylvön jälkeen syömättömät kontrollikaurat olivat pisimpiä ja paljon syödyt kaurat kummassakin käsittelyssä lyhyimpiä (Kuva 11. b)), $F = 19,85$, $df1 = 5$, $df2 = 388$, $p < 0,001$). Paljon syödyt Roundup Gold -käsitellyt kaurat olivat kuitenkin pidempiä kuin paljon syödyt kontrollikaurat, mikä saattaa johtua siitä, että lyhyimmiksi syödyistä Roundup Gold -käsitellyistä kauraista 3 % (6 yksilöä) kuoli, jolloin Roundup Gold -käsittelyn kauran keskiarvo nousi. Paljon syödyistä kontrollikauraista vain 1,5 % (3 yksilöä) kuoli. Myös 8 viikkoa kylvön jälkeen tilanne oli sama kuin 7 viikkoa kylvön jälkeen; syömättömät kontrollikaurat olivat pisimpiä ja paljon syödyt kontrollikaurat lyhyimpiä (Kuva 11. c)), $F = 20,86$, $df1 = 5$, $df2 = 385$, $p < 0,001$). 9–10 viikkoa kylvön jälkeen kauran syönti yhdessä käsittelyn kanssa ei enää selittänyt kauran verson pituutta.





Kuva 11. Käsittelyn ja syönnin yhteisvaikutus kauran verson pituuteen Roundup Gold -käsittelyllä ja kontrollikäsitte-lyllä 6–8 viikkoa kylvön jälkeen. Kaurat luokiteltu kolmeen ryhmään: ei syöty ollenkaan, syöty vähän, syöty paljon. Keskiarvo verson pituudesta senttimetreinä \pm keskiarvon keskivirhe.

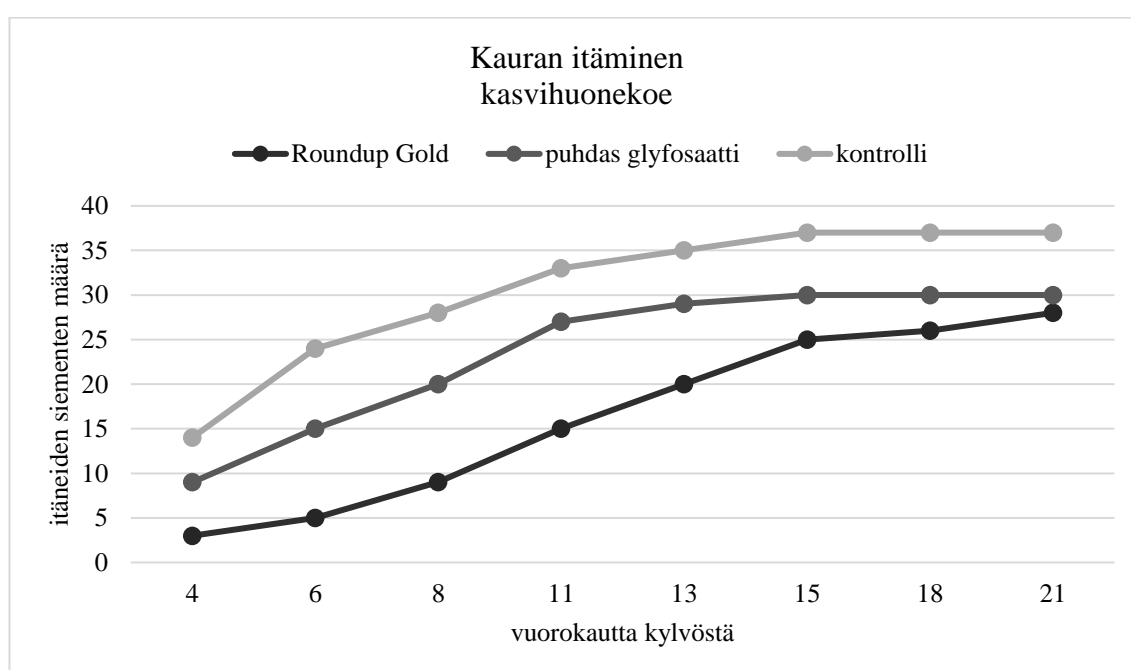
Peltokokeen lopussa eli 10 viikkoa kylvön jälkeen kukkivia kontrollikauroja oli 115 % enemmän kuin kukkivia Roundup Gold -käsiteltäjä kauroja (Kuva 12., $\chi^2 = 180,76$, $df = 1$, $p < 0,0001$).



Kuva 12. Kukkivien kaurojen määrä Roundup Gold -käsittelyllä ja kontrollikäsitte-lyllä peltokokeessa 10 viikkoa kylvön jälkeen.

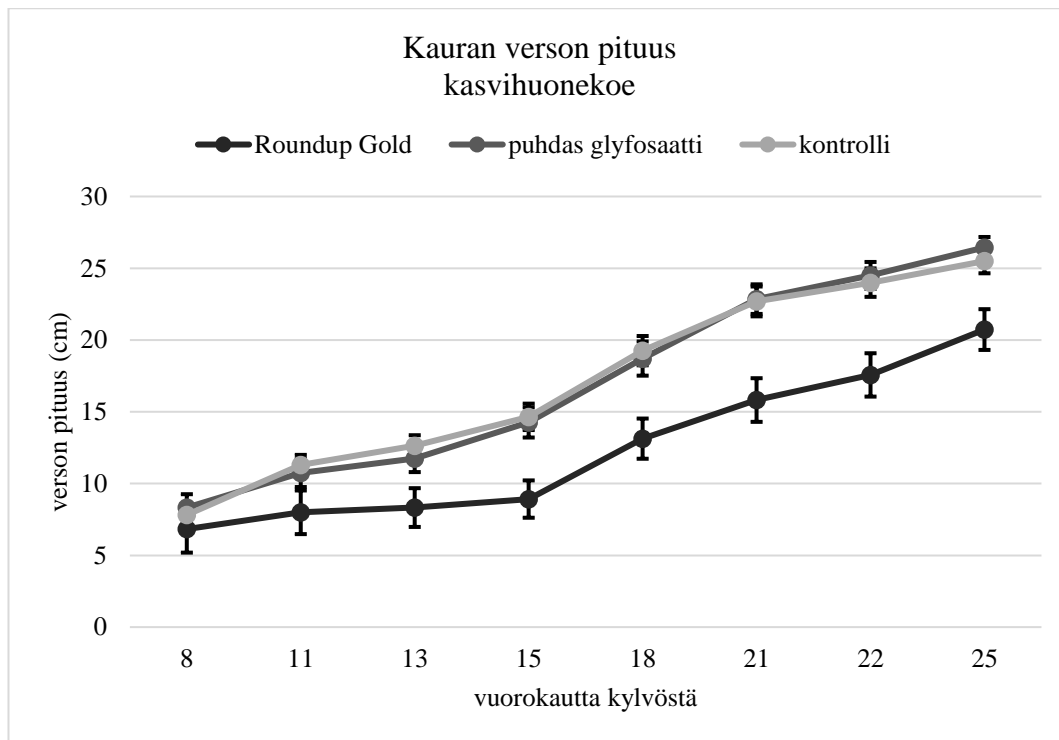
3.2 Kaura kasvihuonekokeessa

Kasvihuoneessa Roundup Gold -käsittely kaura iti huonoiten ja kontrollikaura parhaiten (Kuva 13.). Ero itämisessä oli tilastollisesti merkitsevä vain kokeen alkupuolella; 4 vuorokautta kylvöstä ($\chi^2 = 5,9$, $df = 2$, $p < 0,04$), 6 vuorokautta kylvöstä ($\chi^2 = 11,19$, $df = 2$, $p < 0,004$), 8 vuorokautta kylvöstä ($\chi^2 = 9,58$, $df = 2$, $p < 0,009$) ja 11 vuorokautta kylvöstä ($\chi^2 = 9,58$, $df = 2$, $p < 0,009$). Kauran itämisessä ei enää ollut tilastollista eroa eri käsittelyiden välillä 13 vuorokautta kylvön jälkeen, mikä tarkoittaa sitä, että eroa oli kauran itämisnopeudessa, muttei kokonaisitävyydessä.



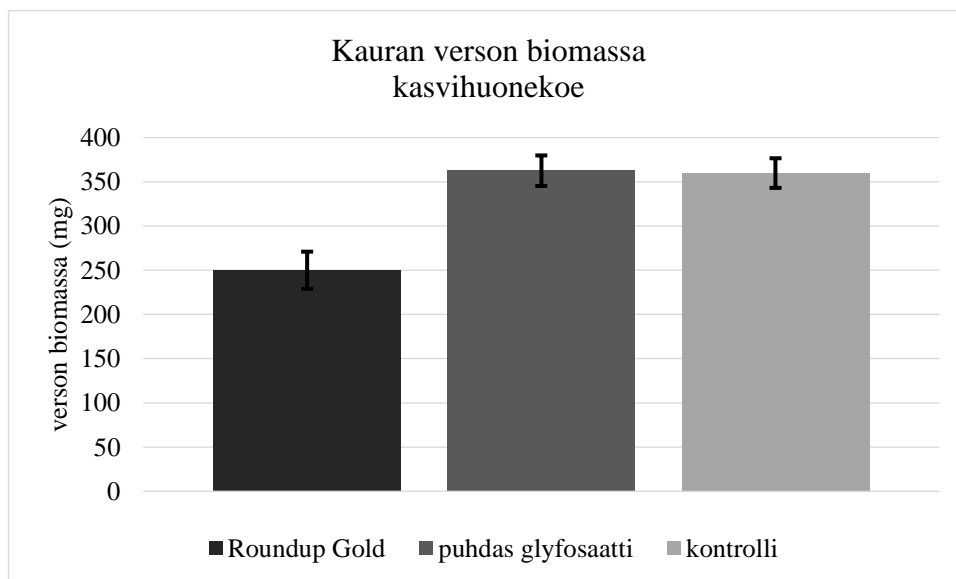
Kuva 13. Kauran itäneiden siementen määrä Roundup Gold -käsittelyllä, puhdas glyfosaatti -käsittelyllä ja kontrollikäsittelyllä kasvihuonekokeessa 4–21 vuorokautta kylvön jälkeen.

Kasvihuonekokeessa kauran verson pituudessa Roundup Gold -käsittely erosi kontrollista ja puhdas glyfosaatti -käsittelystä (Kuva 14.) 13–25 vuorokautta kylvön jälkeen. Pienimmillään ero verson pituudessa oli 13 vuorokautta kylvöstä, jolloin puhdas glyfosaatti oli noin 41 % pidempi kuin Roundup Gold ($t = 2,14$, $df = 47$, $p < 0,04$), ja kontrolli oli noin 52 % pidempi kuin Roundup Gold ($t = 3,06$, $df = 53$, $p < 0,004$). Suurimmillaan ero kauran verson pituudessa oli 21 vuorokautta kylvöstä, jolloin puhdas glyfosaatti -käsittelyt kaurayksilöt olivat noin 44 % pidempiä kuin Roundup Gold ($t = 3,88$, $df = 56$, $p < 0,001$), ja kontrollikäsittely olivat noin 43 % pidempiä kuin Roundup Gold ($t = 3,86$, $df = 63$, $p < 0,001$). Kauran verson pituudessa ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa eri käsittelyiden välillä 8–11 vuorokautta kylvön jälkeen.



Kuva 14. Kauran verson pituus Roundup Gold -käsittelyllä, puhdas glyfosaatti -käsittelyllä ja kontrollikäsittelyllä kasvihuonekokeessa 8–25 vuorokautta kylvön jälkeen. Keskiarvo verson pituudesta senttimetreinä \pm keskiarvon keskivirhe.

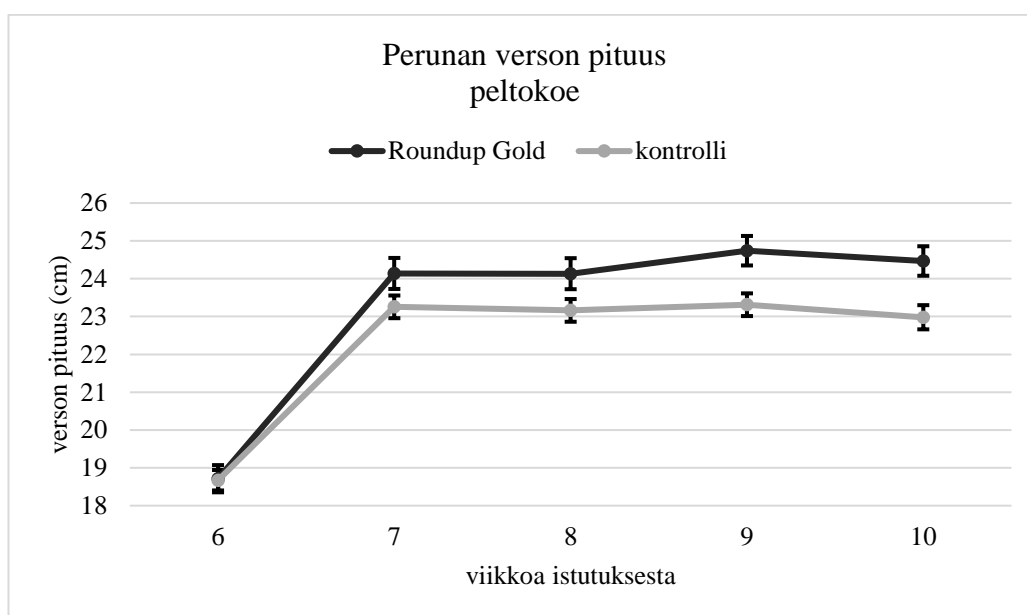
Roundup Gold -käsiteltyjen kauranversojen loppupainot jäivät kahta muuta ryhmää kevyemmiksi (Kuva 15.). Kauran keskipaino oli puhtaalla glyfosaatilla 45 % enemmän kuin Roundup Gold -käsittelyllä ($t = 4,16$, $df = 56$, $p < 0,001$) ja kontrollilla 44 % enemmän kuin Roundup Gold -käsittelyllä ($t = 4,14$, $df = 63$, $p < 0,001$).



Kuva 15. Kauran verson biomassa Roundup Gold -käsittelyllä, puhdas glyfosaatti -käsittelyllä ja kontrollikäsittelyllä kasvihuonekokeen lopussa. Keskiarvo verson biomassasta \pm keskiarvon keskivirhe.

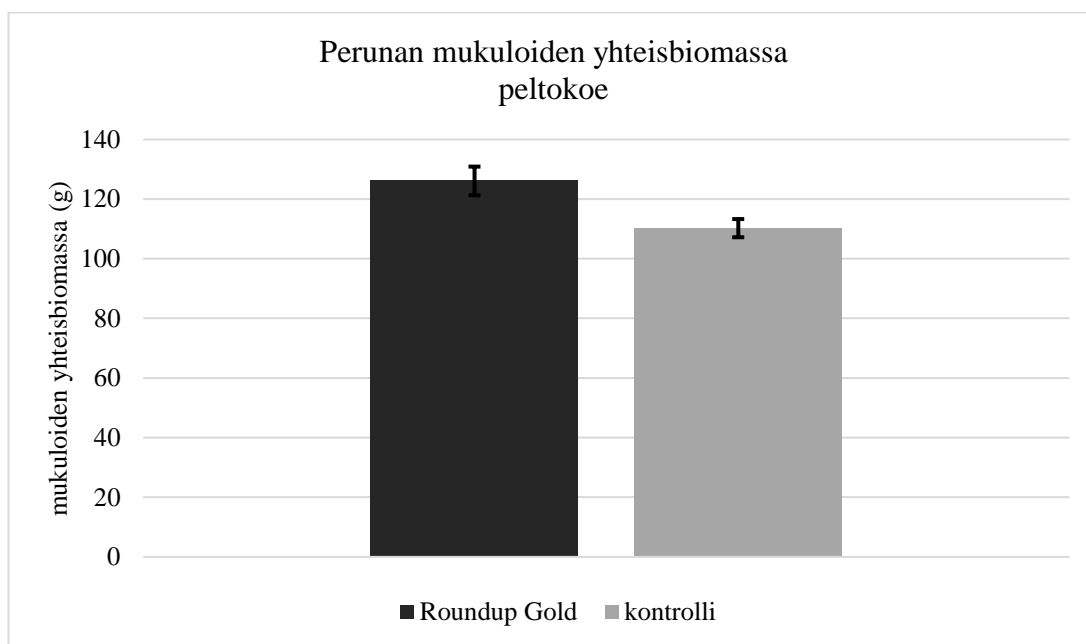
3.3 Peruna peltokokeessa

Perunan versot kasvoivat Roundup Gold -käsittelyssä ruuduissa noin 4 % pidemmiksi (Kuva 16.) kuin kontrolliruuduissa 8 viikkoa istutuksesta ($t = 2,03$, $df = 289$, $p < 0,044$), ja kokeen loppua kohti ero vielä kasvoi: 10 viikkoa istutuksen jälkeen Roundup Gold -peruna oli noin 7 % pidempi kuin kontrolliperuna ($t = 2,97$, $df = 304$, $p < 0,004$).



Kuva 16. Perunan verson pituus Roundup Gold -käsittelyllä ja kontrollikäsittelyllä peltokokeessa 6–10 viikkoa istutuksen jälkeen. Keskiarvo verson pituudesta senttimetreinä \pm keskiarvon keskivirhe.

Peltokokeen lopussa perunan mukuloiden yhteispaino (Kuva 17.) kasvia kohden oli noin 14 % suurempi Roundup Gold -käsittelyssä verrattuna kontrollikasveihin ($t = 2,78$, $df = 263$, $p < 0,006$).



Kuva 17. Perunan mukuloiden yhteisbiomassa Roundup Gold -käsittelyllä ja kontrollikäsitellyllä peltokokeen lopussa. Keskiarvo mukuloiden yhteisbiomassasta \pm keskiarvon keskivirhe.

3.4 Peruna kasvihuonekokeessa

Perunan itäminen ei eronnut puhdas glyfosaatti -käsittelyn (55 itänyttä versoa), Roundup Gold -käsittelyn (57 itänyttä versoa) ja kontrollin (62 itänyttä versoa) välillä kasvihuonekokeessa 25 vuorokautta istutuksesta. Myöskään perunan verson pituudessa (25 vuorokautta istutuksesta: puhdas glyfosaatti $25,68 \pm 2,48$ cm vs. Roundup Gold $28,87 \pm 1,71$ cm vs. kontrolli $24,48 \pm 2,17$ cm) sekä perunan verson painossa (puhdas glyfosaatti $20,17 \pm 2,57$ g vs. Roundup Gold $23,01 \pm 1,51$ g vs. kontrolli $20,80 \pm 1,94$ g) ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa eri käsittelyiden välillä. Roundup Gold -käsittelyn verson pituudessa ja painossa oli kuitenkin samansuuntainen ero kuin peltokokeessa, sillä Roundup Gold -käsittelyn perunan verso oli hieman pidempi ja painavampi kuin puhtaan glyfosaatin ja kontrollin.

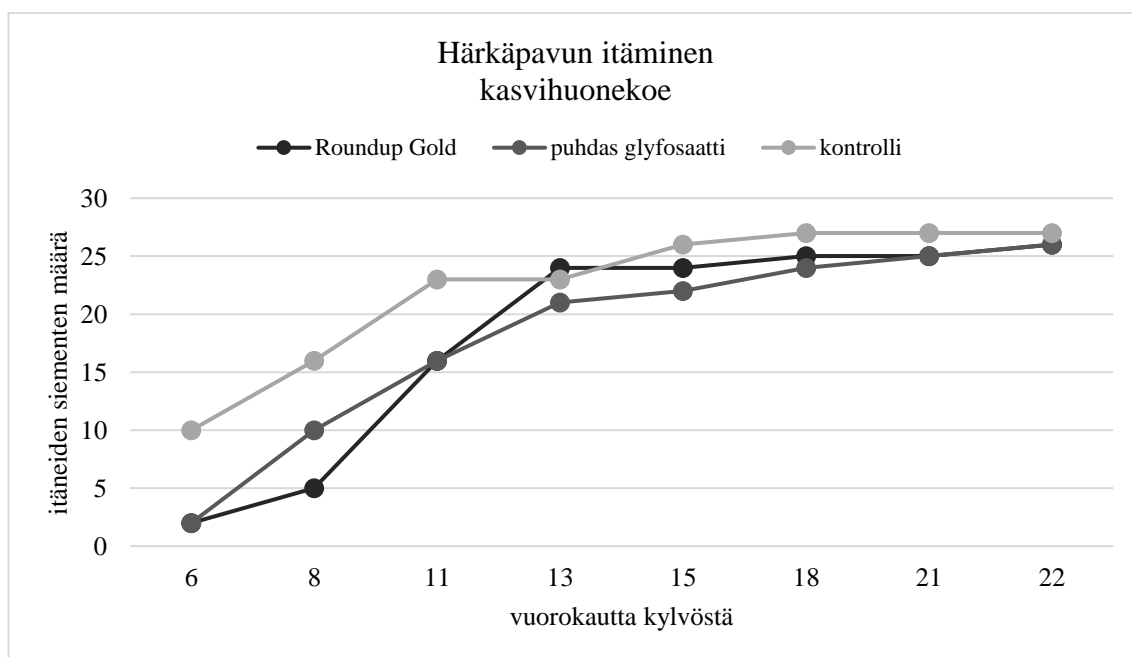
3.5 Härkäpapu peltokokeessa

Peltokokeessa härkäpavun verson pituus ei eronnut Roundup Gold -käsittelyn ja kontrollin välillä eri mittausajankohtina (lopullinen verson pituus 10 viikkoa kylvöstä: Roundup Gold $63,87 \pm 1,09$ cm vs. kontrolli $61,67 \pm 1,12$ cm, $t = 1,41$, $df = 392$, $p > 0,05$). Myöskään härkäpavun verson painossa (Roundup Gold $29,50 \pm 1,44$ g vs. kont-

rolli $26,79 \pm 1,50$ g, $t = 1,30$, $df = 391$, $p > 0,05$), palkojen kappalemäärässä (Roundup Gold $9,73 \pm 0,45$ palkoa vs. kontrolli $9,10 \pm 0,47$ palkoa, $t = 0,96$, $df = 392$, $p > 0,05$) tai palkojen yhteispainossa (Roundup Gold $20,43 \pm 1,22$ g vs. kontrolli $18,16 \pm 1,23$ g, $t = 1,31$, $df = 392$, $p > 0,05$) ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa Roundup Gold -käsittelyn ja kontrollin välillä.

3.6 Härkäpapu kasvihuonekokeessa

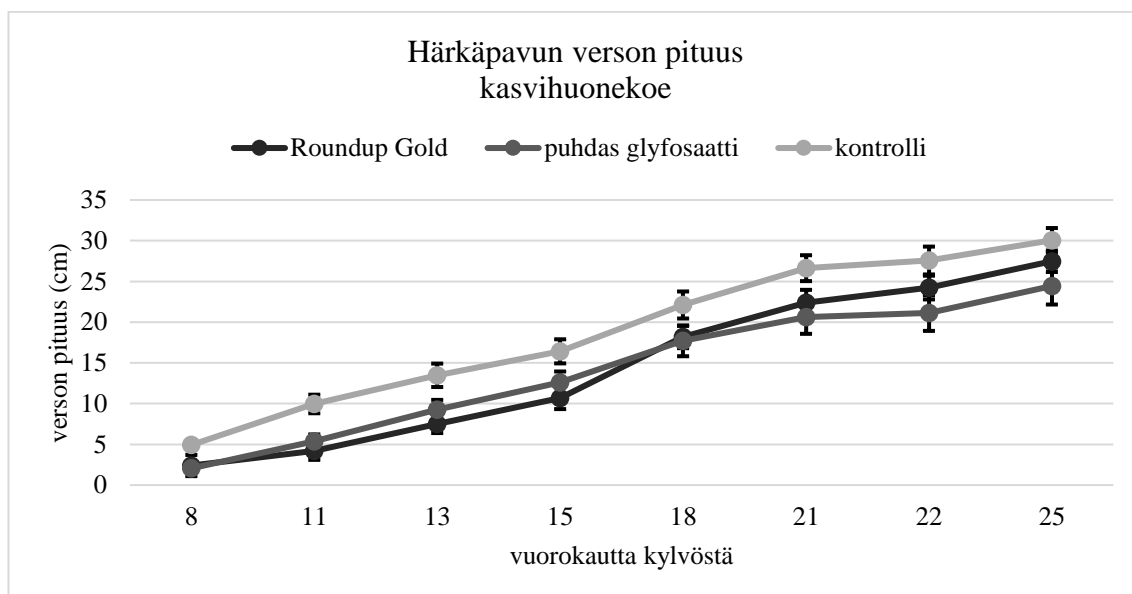
Kontrollikäsitellyn pavut itivät glyfosaattikäsiteltyjä papuja nopeammin kasvihuoneessa (Kuva 18.). Kasvihuonekokeen ensimmäisenä mittausajankohtana eli 6 vuorokautta kylvön jälkeen kontrollipapuja oli itänyt selvästi eniten ($\chi^2 = 7,80$, $df = 2$, $p < 0,030$). Härkäpavun itäminen ei kuitenkaan eronnut tilastollisesti merkitsevästi 8–22 vuorokautta kylvön jälkeen puhdas glyfosaatti -käsittelyn, Roundup Gold -käsittelyn ja kontrollin välillä.



Kuva 18. Härkäpavun itäneiden siementen määrä Roundup Gold -käsittelyllä, puhdas glyfosaatti -käsittelyllä ja kontrollikäsitellyllä kasvihuonekokeessa 6–22 vuorokautta kylvön jälkeen.

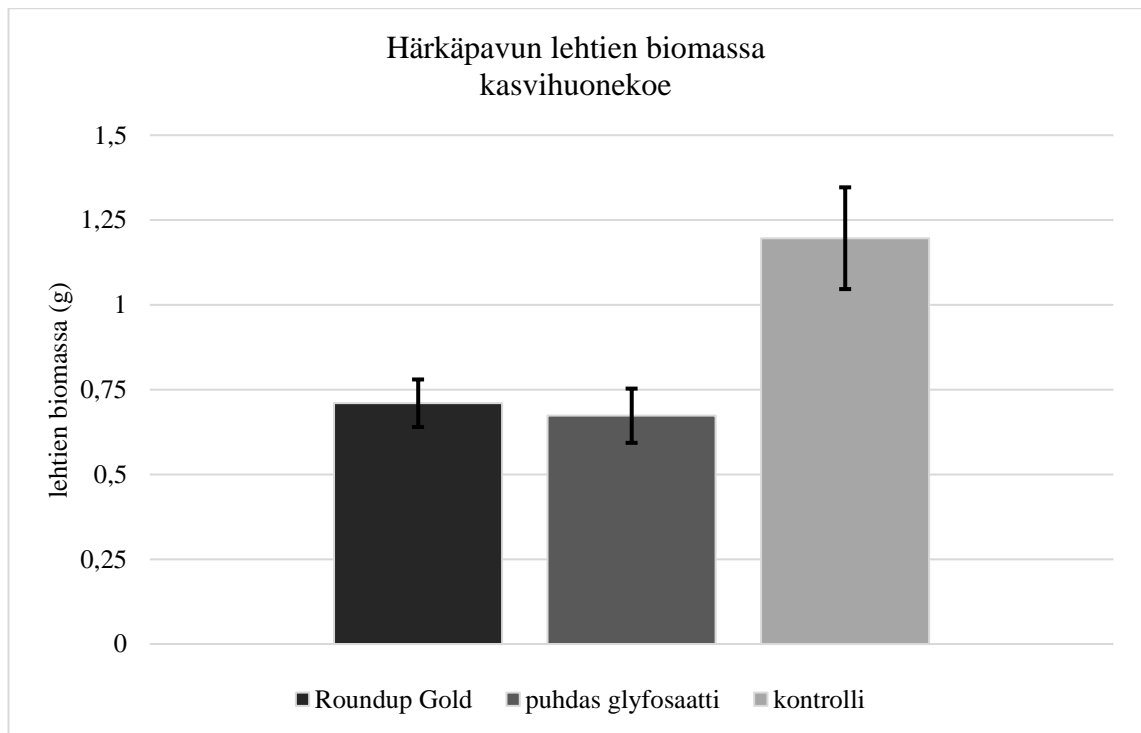
Kontrollikäsitellyn verso oli pisin, mutta Roundup Gold -käsittely ja puhdas glyfosaatti eivät poikenneet toisistaan (Kuva 19.). Suurimmillaan ero kontrollin ja käsittelyiden välillä oli 11 vuorokautta kylvön jälkeen, jolloin kontrolli oli noin 138 % pidempi kuin Roundup Gold -käsittely ($t = 3,52$, $df = 37$, $p < 0,002$) ja noin 86 % pidempi kuin puhdas glyfosaatti -käsittely ($t = 3,11$, $df = 40$, $p < 0,004$). Pienimmillään ero oli 15 vuoro-

kautta kylvöstä, jolloin kontrolli oli noin 54 % pidempi kuin Roundup Gold -käsittely ($t = 2,86, df = 48, p < 0,007$), muttei eronnut puhtas glyfosaatti -käsittelystä.



Kuva 19. Härkäpavun verson pituus Roundup Gold -käsittelyllä, puhtas glyfosaatti -käsittelyllä ja kontrollikäsittelyllä kasvihuonekokeessa 8–25 vuorokautta kylvön jälkeen. Keskiarvo verson pituudesta senttimetreinä \pm keskiarvon keskivirhe.

Kasvihuonekokeen lopussa kontrollikäsittelyn härkäpavun lehdet (Kuva 20.) olivat noin 64 % painavampia verrattuna puhtaaseen glyfosaattiin ($t = 2,80, df = 28,3, p = 0,008$) ja noin 66 % painavampia verrattuna Roundup Gold -käsittelyyn ($t = 2,82, df = 39,7, p = 0,008$). Härkäpavun lehtien paino korreloi positiivisesti lehtien määrän kanssa ($r_s = 0,39, p < 0,002$).



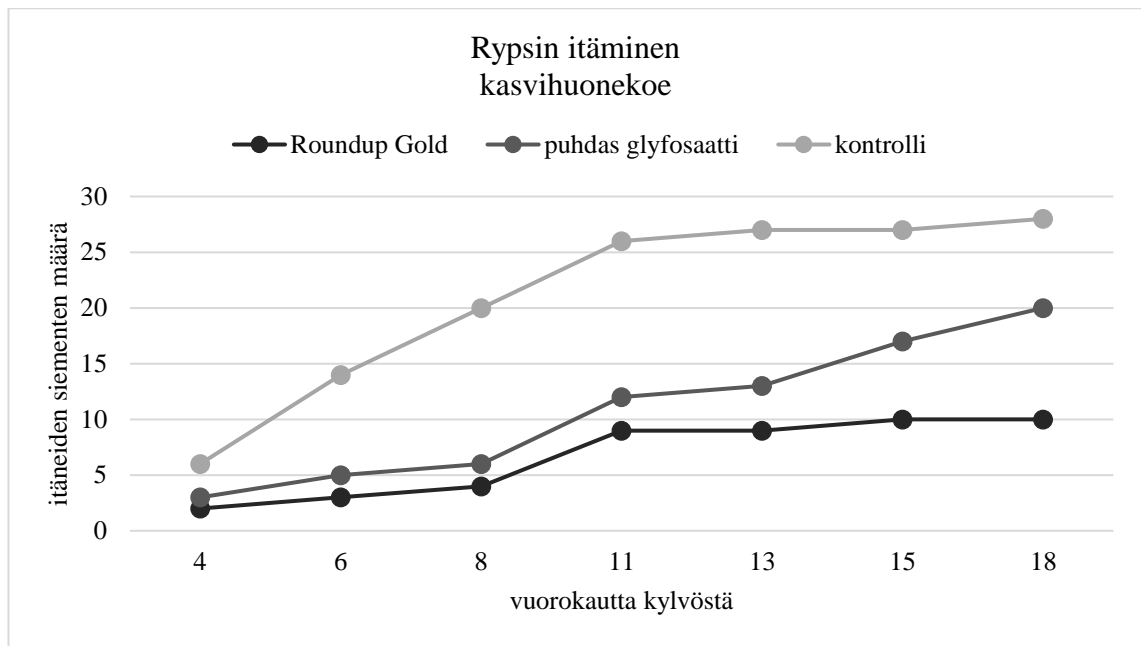
Kuva 20. Härkäpavun lehtien biomassa Roundup Gold -käsittelyllä, puhdas glyfosaatti -käsittelyllä ja kontrollikäsitteyllä kasvihuonekokeen lopussa. Keskiarvo lehtien biomassasta \pm keskiarvon keskivirhe.

3.7 Rypsi peltokokeessa

Rypsi iti ja kasvoi peltokokeessa huonosti. Kontrollikäsitteilyssä vain neljässä ruudussa kymmenestä rypsi itivät, mistä syystä kontrollirypsiensä määrä jäi huomattavan pieneksi. Itäneiden rypsiensä verson pituus (Roundup Gold $32,12 \pm 1,19$ cm, $n = 114$ yksilöä vs. kontrolli $27,77 \pm 2,59$ cm, $n = 26$ yksilöä) tai rypsiensä yhteispaino ruutua kohden (Roundup Gold $53,20 \pm 22,03$ g, $n = 10$ ruutua vs. kontrolli $13,25 \pm 6,29$ g, $n = 4$ ruutua) ei eronnut tilastollisesti merkitsevästi Roundup Gold -käsittelyn ja kontrollin välillä 10 viikkoa kylvöstä ($t = 1,74$, $df = 10,32$, $p > 0,05$), mutta huono itäminen erityisesti kontrollirypsiensä heikentää tulosten luotettavuutta.

3.8 Rypsi kasvihuonekokeessa

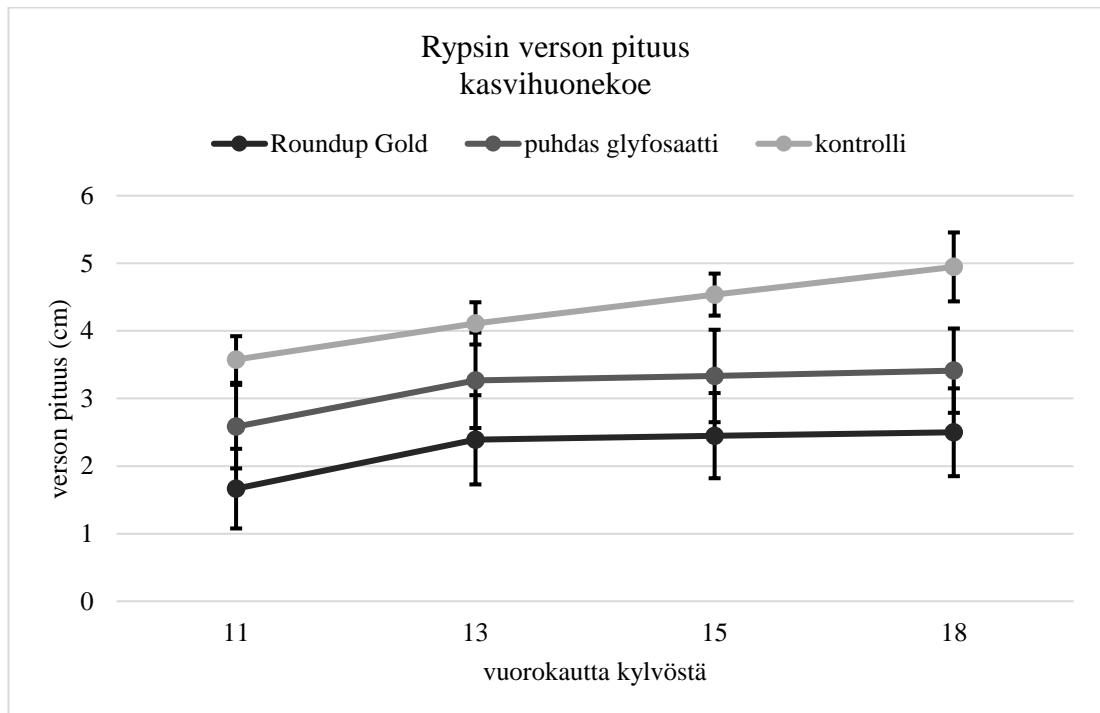
Kasvihuonekokeessa rypsiensä kokonaisitäminen oli parempaa peltokokeeseen verrattuna, ja kontrollikäsitteilyssä itäminen oli nopeinta koko kokeen ajan (Kuva 21.). Suurimmillaan ero rypsiensä itämisessä oli 8 viikkoa kylvön jälkeen ($\chi^2 = 15,20$, $df = 2$, $p < 0,001$) ja pienimmillään 6 viikkoa kylvön jälkeen ($\chi^2 = 7,36$, $df = 2$, $p < 0,03$).



Kuva 21. Rypsin itäneiden siementen määrä Roundup Gold -käsittelyllä, puhdas glyfosaatti -käsittelyllä ja kontrolli-käsittelyllä kasvihuonekokeessa 4–18 vuorokautta kylvön jälkeen.

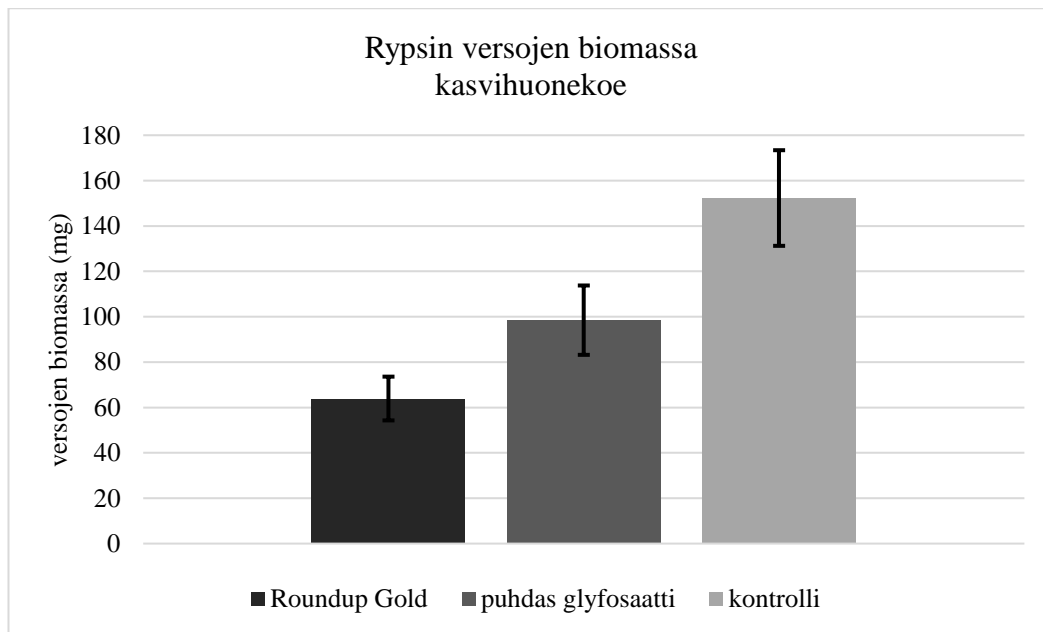
Kontrollirypsi kasvoi nopeammin kuin Roundup Gold -käsitelty rypsi (Kuva 22.).

Kontrollirypsi oli Roundup Gold -käsiteltyä rypsiä pidempi koko mittausajan eli 11–18 vuorokautta kylvön jälkeen. Kontrollirypsi oli Roundup Gold -rypsyä pidempää koko tarkasteluajan (t-arvot välillä 2,6 ja 3,3, df = 35, p-arvo vähintään 0,02). Puhdas glyfosaatti -käsittely ei tilastollisesti eronnut kontrollista (t-arvo välillä 0,99–1,85, df välillä 17–43, p-arvo välillä 0,34–0,07) ja Roundup Gold -käsittelystä (t-arvo välillä 0,93–1,04, df välillä 9–12, p-arvo välillä 0,36–0,31).



Kuva 22. Rypsin verson pituus Roundup Gold -käsittelyllä, puhdas glyfosaatti -käsittelyllä ja kontrollikäsittelyllä kasvihuonekokeessa 11–18 vuorokautta kylvön jälkeen. Keskiarvo verson pituudesta senttimetreinä \pm keskiarvon keskivirhe.

Kokeen lopussa kontrollirypsin versot ($152,33 \pm 21,08$ mg, $n = 14$) olivat ruukkua kohti selvästi painavampia (Kuva 23.) verrattuna Roundup Gold -käsittelyn ($63,94 \pm 9,65$ mg, $n = 7$; $t = 3,81$, $df = 17$, $p < 0,002$), ja puhtaaseen glyfosaattikäsittelyyn ($98,48 \pm 15,29$ mg, $n = 12$; $t = 2,01$, $df = 24$, $p = 0,056$). Glyfosaattikäsittelyiden välinen ero ei ollut merkitsevä ($t = 1,61$, $df = 17$, $p = 0,127$).



Kuva 23. Rypsin versojen biomassa Roundup Gold -käsittelyllä, glyfosaattikäsittelyllä ja kontrollikäsittelyllä kasvihuonekokeen lopussa. Keskiarvo versojen yhteisbiomassasta ruukkaa kohden \pm keskiarvon keskivirhe.

4 POHDINTA

4.1 Kaura ja glyfosaatti

Peltokokeessa kontrollikaura kasvoi glyfosaattikäsiteltyä kauraa paremmin kokeen alussa, mutta kokeen loppua kohti ero käsittelyiden välillä tasoittui. Tämä johtuu todennäköisesti siitä, että kauran kasvun alkuvaiheen herbivoria vaikutti voimakkaammin glyfosaattikäsiteltyihin kauraihin kuin kontrollikauraihin, sillä niitä oli syöty enemmän, jolloin ne olivat myös keskimäärin lyhyempiä kuin kontrollikaurat. Käsittelyiden välisen eron häviäminen kokeen loppua kohti saattaa selittyä sillä, että lyhyimmäksi syödyt glyfosaattikäsitellyt kaurat kuolivat ja jäivät pois aineistosta, jolloin niiden keskimääräinen pituus kasvoi ja tasoitti eron kontrollikauraihin.

Khan & Marriage (1979) havaitsivat kasvihuonekokeessaan, että glyfosaattia siirtyi suurella glyfosaattimäärällä käsitellystä maaperästä kauran juuriin ja versoon. On siis erittäin todennäköistä, että glyfosaattia on siirtynyt kauraan myös kasvihuone- ja peltokokeessani.

Kasvihuonekokeessa Roundup Gold -käsitelty kaura iti huonoiten ja kontrollikaura parhaiten (Kuva 24.). Ero oli tilastollisesti merkitsevä vain kokeen alkupuoliskolla, muttei enää loppupuoliskolla, mikä kertoo siitä, että eroa oli kauran itämisnopeudessa, muttei

kokonaisuudessa. Kasvihuonekokeeni oli toistomäärältään melko pieni, joten suuremmalla toistomäärällä ero eri käsittelyiden itämisessä olisi saattanut olla tilastollisesti merkitsevä myös kokeen loppupuolella. Glyfosaattikäsittelyt siis viivästyivät kauran itämistä kontrolliin verrattuna; Roundup Gold -käsittely voimakkaammin kuin puhdas glyfosaatti -käsittely, mikä luultavasti johtuu Roundup Gold -käsittelyn sisältämistä glyfosaatin vaikutusta tehostavista apuaineista. Kasvihuonekokeessa Roundup Gold -käsittelyn kaurat olivat myös lyhyempiä ja kevyempiä kuin puhdas glyfosaatti -käsittelyn kaurat ja kontrollikaurat, mikä todennäköisesti johtuu siitä, että Roundup Gold -käsittelyn kaurat itivät myöhäisemmässä vaiheessa, jolloin ne eivät ehtineet kasvaa yhtä pitkiksi kuin puhdas glyfosaatti -käsittelyn kaurat ja kontrollikaurat.



Kuva 24. Kasvihuonekokeen kaurat kokeen lopussa 31.8. Vasemmalla Roundup Gold -käsitelty kaura, keskellä puhdas glyfosaatti -käsitelty kaura ja oikealla kontrollikaura. Silmämääräisestikin eri käsittelyiden välillä on nähtävissä eroa itämisessä ja kasvussa, kuten tillerien määrässä.

Roundup Gold -käsittely siis heikensi kaurajen pituuskasvua ja sitä myöden myös biomassan muodostamista, mikä saattaa tässäkin tapauksessa johtua Roundup Goldin sisältämistä apuaineista. Glyfosaatin biologinen aktiivisuus on kauralla suurempaa käytettäessä apuaineita sisältäviä glyfosaattivalmisteita kuin glyfosaattivalmisteisita, joissa ei ole apuaineita (van Toor ym. 1994). Tämä tulos on samansuuntainen kasvihuonekokeeni tuloksen kanssa, jossa apuaineita sisältävä Roundup Gold vaikutti voimakkaammin kauraan kuin puhdas glyfosaatti, joka ei sisältänyt apuaineita.

Maaperän mikrobit huolehtivat lukuisista toiminnoista, kuten ravinteiden kierrätyksestä, maaperän kerrosten muodostumisesta ja orgaanisen materiaalin hajotuksesta, joten muutokset mikrobiyhteisöissä saattavat vaikuttaa maaperän hedelmällisyyteen ja viljelytuotantoon (Nguyen ym. 2016). Kasvunsa aikana kaura kuluttaa maaperästä paljon typpeä. Mikäli glyfosaattikäsittelyt ovat vaikuttaneet maaperän mikrobien hajotustoimintaan ja sitä kautta typen vapautumiseen kasvien käytettäväksi, on mahdollista, että glyfosaattikäsittelyillä kauroilla on ollut käytettävissään vähemmän typpeä kuin kontrollikauroilla, mikä on vaikuttanut negatiivisesti niiden kasvuun. Kasvin kukintaan valmistautuminen vaatii runsaasti vettä (Connor et al. 1992, s. 363). On mahdollista, että peltokokeen glyfosaattikäsittelyn maaperän oletettavasti pienempi orgaanisen aineksen määrä on pidättänyt vettä vähemmän kuin kontrollikäsittelyn suurempi orgaanisen aineksen määrä, joten kontrollikauroille on ollut enemmän vettä tarjolla ennen kukkimista kuin glyfosaattikäsittelyille kauroille. Tämä saattaa olla yksi syy sille, miksi kukkivia kontrollikauroja oli selvästi enemmän kuin kukkivia glyfosaattikäsittelyjä kauroja. Kukkivien glyfosaattikäsittelyjen kaurojen vähäinen määrä voi selittyä myös sillä, että glyfosaattikäsittelyt kaurat olivat syödympiä ja siksi kasvustaan jäljessä, jolloin ne eivät kukkimista laskettaessa olleet vielä ehtineet kukkimisvaiheeseen.

Gomes ym. (2017) tutkivat glyfosaatin ja Roundup R:n vaikutuksia siementen itämiseen palkokasveihin kuuluvalla puulajilla (*Dimorphandra wilsonii*). Sekä glyfosaatti että Roundup R vähensivät itämistä pienentämällä siementen hengitystä. Lisäksi glyfosaatti ja Roundup R vaikuttivat negatiivisesti mitokondrioiden elektroninsiirtoketjujen entsyymeihin. Roundup R:n vaikutukset olivat haitallisemmat kuin glyfosaatin, sillä se vaikutti voimakkaammin siementen hengitykseen. Glyfosaatti saattaa vaikuttaa *D. wilsonii* -lajilla siementen itämiseen siten, että se häiritsee mitokondrioiden soluhengitystä, josta seuraa ATP-tuotannon väheneminen (Gomes ym. 2017). Gomesin ym. (2017) tutkimuksen tulokset vastaavat oman kasviuonekokeeni tuloksia, joissa Roundup Gold vaikutti puhtaasta glyfosaattia voimakkaammin kauran, härkävavun ja rypsin itämiseen. On siis hyvin mahdollista, että myös kasviuonekokeessani glyfosaatti on häirinnyt siementen mitokondrioiden soluhengitystä, jolloin niiden ATP-tuotanto on vähentynyt ja itäminen vähentynyt, Roundup Goldilla voimakkaammin kuin puhtaalla glyfosaatilla.

Kasvin kokema kemikaalien, kuten glyfosaatin, aiheuttama stressi voi vaikuttaa korrelaatioon hiilidioksidin ja fotosynteesikoneiston elektroninsiirron välillä (Olesen & Cedergreen 2010). Glyfosaatti vaikuttaa fotosynteesin elektroninsiirtoon epäsuorasti estä-

mällä tiettyjä prosesseja (Olesen & Cedergreen 2010). Mikäli kasvin fotosynteesi häiriintyy, sen glukoosintuotanto pienenee ja myös kasvu hidastuu ja biomassan tuotto pienenee. On mahdollista, että Roundup Goldin sisältämä glyfosaatti apuaineineen vaikutti sekä pelto- että kasvihuonekokeessa kauran fotosynteesiin hidastaen näin kauran kasvua. Samanlainen glyfosaatin negatiivinen vaikutus fotosynteesiin on mahdollinen myös härkäpavulla ja rypsilä kasvihuonekokeessa. Gomes ym. (2016) selvittivät tutkimuksessaan, että glyfosaatin hajoamistuote AMPA:n ja glyfosaatin epäsuorat vaikutukset klorofyllien määrän ja fotosynteesin vähentymiseen pajuilla erosivat toisistaan. AMPA häiritsee klorofyllien biosynteesiä, kun taas glyfosaatti lisää klorofyllien hajoamista oksidatiivisen stressin kautta; kumpikin pienentää fotosynteesitehoa (Gomes ym. 2016). Saattaa olla, että myös omissa kokeissani AMPA on häirinnyt klorofyllien biosynteesiä ja glyfosaatti lisännyt niiden hajoamista, mikä on johtanut fotosynteesitehon heikkenemiseen kauralla molemmissa kokeissa ja härkäpavulla ja rypsilä kasvihuonekokeessa. Fotosynteesitehon heikkeneminen näkyy sitten heikentyneenä kasvuna ja biomassan muodostamisena.

4.2 Peruna ja glyfosaatti

Peltokokeessa Roundup Gold -käsittelyt perunat kasvoivat pidemmiksi kuin kontrollikäsittelyt perunat. Versot kasvoivat loppupituuteensa elokuun alkuun mennessä, jonka jälkeen ero Roundup Goldin ja kontrollin välillä oli tilastollisesti merkitsevä. Sekä peltokokeen että kasvihuonekokeen perusteella oli nähtävissä, että kasvun alkuvaiheessa perunan itämisessä ja verson pituudessa ei ollut eroa käsittelyiden välillä (Kuva 25.), mikä saattaa johtua siitä, että perunalla taimet aloittivat kasvunsa jo idätetystä mukulasta, joka tarjoaa reilusti ravinteita alkuvaiheen kasvun tueksi. On mahdollista, että tämän vuoksi glyfosaatti vaikuttaa perunalla vasta kasvun myöhempään vaiheeseen, ei niinkään itämiseen ja kasvun varhaiseen vaiheeseen.



Kuva 25. Kasvihuonekokeen perunat kokeen lopussa 30.8. Vasemmalla Roundup Gold -käsittely peruna, keskellä puhdas glyfosaatti -käsittely peruna ja oikealla kontrolliperuna. Eroa eri käsittelyiden välillä ei nähtäväksi ole.

Roundup Gold -käsittely vaikutti myös perunan mukuloihin kasvattaen niiden kokoa verrattuna kontrolliin. Roundup Gold -käsittelyn pidemmät versot selittänevät mukuloiden suurempaa painoa. Perunan parempaan kasvuun ja mukuloiden tuottoon glyfosaatilla verrattuna kontrolliin vaikuttaa mahdollisesti myös se, että koska glyfosaattikäsittely on poistanut perunan kanssa kilpailevat rikkakasvit, glyfosaattikäsitellyt perunat ovat joutuneet kilpailemaan resursseista vähemmän kuin kontrolliperunat, jolloin myös niiden kasvu ja tuotto on ollut suurempaa. Peruna on heikko kilpailija, joten glyfosaatin positiiviset vaikutukset näkyvät hyvin. Peltokokeessa raidat kitkettiin vain pariin kertaan kokeen aikana, mikä tarkoittaa sitä, että raidoilla on ollut jonkin verran rikkakasveja, jotka ovat saattaneet häiritä kontrolliperunoiden kasvuja ja sitä kautta mahdollisesti osaltaan vaikuttaneet peltokokeen tuloksiin.

Glyfosaatin tappaman kasvin juurista vapautuu hiiliyhdisteitä, mikä suosii nopeasti kasvavia bakteereita, joilla on nopea aineenvaihdunta ja ravinteidenotto sekä suuri hiilenkulutus (Imparato ym. 2016). Samansuuntaisia glyfosaatin suoria vaikutuksia maaperän mikrobeihin on löydetty muissakin tutkimuksissa (Busse ym. 2001; Mijangos ym. 2009), ja myös hajoavista juurista vapautuvien orgaanisten hiilten stimuloiva vaikutus mikrobeihin tiedetään (Jones ym. 2004). Nopeasti kasvavat bakteerit vastaavat merkittävästä osasta maaperän ekosysteemipalveluista, kuten hajotusprosesseista, joten niiden määrän lisääntyminen saattaa vaikuttaa muuttuneisiin ravintoainepitoisuuksiin glyfosaattiannostelun jälkeen (Imparato ym. 2016). Pellon glyfosaattikäsittelyssä kuolleet

rikkakasvit ovat vapauttaneet hiiliyhdisteitä pellon maaperän, mikä on saattanut lisätä nopeasti kasvavien bakteerien määrää ja sitä kautta myös hajotusta sekä ravintoainepitoisuuksia. On siis mahdollista, että glyfosaattik sitellyill  raidoilla on ollut kontrolliraitoja enemmän ravintoaineita kasvien käytettävissä, mikä on edesauttanut glyfosaattik sitelyjen perunoiden kasvua ja satoa. Maaperän mikrobit huolehtivat lukuisista toiminnoista, kuten ravinteiden kierrätyksestä, maaperän kerrosten muodostumisesta ja orgaanisen materiaalin hajotuksesta, joten muutokset mikrobiyhteisöissä saattavat vaikuttaa maaperän hedelmällisyyteen ja viljelytuotantoon (Nguyen ym. 2016). On mahdollista, että glyfosaatti on aiheuttanut muutoksia pellon mikrobiyhteis ss , ja perunan tapauksessa nämä muutokset ovat vaikuttaneet maaperän hedelmällisyyteen ja viljelytuotantoon positiivisesti.

Parin tutkimuksen mukaan glyfosaatilla oli negatiivisia vaikutuksia perunan kasvuun (Smid & Hiller 1981; Masiunas & Weller 1988), kolmannen tutkimuksen mukaan taas glyfosaatilla oli vain pieni vaikutus perunan mukuloihin niiden painoa pienentävästi (Olszyk ym. 2010). Omassa peltokokeessani glyfosaatti vaikutti perunan kasvuun positiivisesti, mikä poikkeaa muista kokeista. Kokeessani oli kuitenkin kyse aiemman käsitelyn glyfosaattij m mist  pellolla, joten niiden vaikutus perunaan saattaa poiketa varsinaisen kasviin kohdistuvan glyfosaattikäsittelyn vaikutuksista. Tutkimuksessani käytetty perunalajike oli luomua, mikä saattaa osaltaan selittää kokeeni poikkeavan tuloksen, sillä on mahdollista, että luomuperuna hy t y glyfosaatin aiheuttamasta rikkakasvien vähäisyydestä ei-luomuperunaa paremmin.

4.3 Härkäpapu ja glyfosaatti

Härkäpavulla glyfosaatti vaikuttaa kasvihuonekokeen mukaan itämiseen ja kasvun varhaisempiin vaiheisiin (Kuva 26.), mutta vaikutukset eivät peltokokeen perusteella enää näy myöhemmässä kasvussa ja papujen tuotannossa. Kasvihuonekokeen alussa kontrollipavut itivät kumpaakin glyfosaattik sittely  nopeammin, ja kontrollipapujen verso oli kokeen loppupuolta lukuun ottamatta pidempi kuin kummankaan glyfosaattikäsittelyn, mikä kertoo siitä, että glyfosaattikäsittelyt viivästyttävät härkäpavun itämistä ja häiritsevät alkuvaiheen pituuskasvua. Kontrollipavut olivat glyfosaattik siteltyj  papuja pidempiä todennäköisesti siitä syystä, että kontrollipavut itivät varhaisemmassa vaiheessa, jolloin ne myös ehtivät kasvaa keskimäärin pidemmiksi kuin glyfosaattik siteltyt pavut.



Kuva 26. Kasvihuonekokeen härkäpavut kokeen lopussa 29.8. Vasemmalla Roundup Gold -käsittely härkäpapu, keskellä puhdas glyfosaatti -käsittely härkäpapu ja oikealla kontrollihärkäpapu. Silmämääräisestikin on nähtävissä eroa erityisesti Roundup Gold -käsittelyn ja kontrollin välillä.

Kasvihuonekokeessa kontrollihärkäpapujen lehdet olivat painavampia kuin kummallakaan glyfosaattikäsittelyllä, ja lehtien paino korreloi positiivisesti lehtien määrän kanssa. Schrübbersin ym. (2016) mukaan glyfosaattialtistus saattaa vähentää nuorten kasvien tuottoisuutta vähentämällä niiden lehtien määrää, mikä mahdollisesti selittää sen, että kummallakin glyfosaattikäsittelyllä härkäpavulla lehtien paino oli pienempi kuin kontrollilla. Glyfosaattikäsittelyn ajankohta on siis merkittävä, sillä nuoremmat vielä kasvuvaiheessa olevat kasvit ovat alttiimpia glyfosaatin vaikutuksille (Schrübbers ym. 2016), mikä näkyy myös tuloksissani; glyfosaatilla on vaikutuksia kasvihuonekokeen alkuvaiheessa, muttei peltokokeessa, jossa mittaukset aloitettiin kasvien ollessa pidemmällä kasvussaan.

Roundup Gold -käsittely ja puhdas glyfosaatti -käsittely eivät kasvihuonekokeeni perusteella eronneet toisistaan härkäpavulla, mikä tarkoittaa sitä, että Roundup Gold ja sen sisältämät apuaineet eivät härkäpavulla vaikuttaneet voimakkaammin kuin puhdas glyfosaatti. Härkäpavun siemen on melko suuri ja tarjoaa hyvin ravinteita taimen kasvun alkuvaiheessa. Roundup Goldin apuaineet eivät mahdollisesti tästä syystä vaikuta härkäpavun taimen kasvuun niin suuresti kuin esimerkiksi kauralla, jolla on pienempi siemen ja suurempi ympäristötekijöiden vaikutus. Kasvihuonekokeessa härkäpavun itämisessä oli tilastollisesti merkitsevä ero kontrollin ja glyfosaattikäsittelyiden välillä vain kokeen ensimmäisenä mittausajankohtana, mikä saattaa johtua muistakin syistä kuin

glyfosaatista. Peltokokeessa eroa kontrollin ja glyfosaattikäsittelyn välillä ei ollut, joten on mahdollista, että härkäpavun siemen turvasi taimien kasvua alkuvaiheessa, ja myöhemmissä vaiheessakaan glyfosaatti ei päässyt vaikuttamaan, sillä sen määrä maaperässä on saattanut pienentyä ajan kuluessa. Härkäpapujen kanssa elää symbioosissa Rhizobia-juuribakteereita, jotka kykenevät sitomaan typpeä ilmakehän typpikaasusta ja muuttamaan sitä kasveille sopivaan muotoon. Typpi on usein kasvien kasvua eniten rajoittava ravinne, joten typen lisääntynyt saatavuus peltokokeessa on saattanut olla eduksi härkäpavun kasvuun ja mahdollisesti kompensoinut glyfosaatin aiheuttamaa negatiivista vaikutusta kasvuun.

Glyfosaattipitoisuuden pieneneminen kasvissa saattaa johtua laimennusvaikutuksesta kasvin kasvun aikana, kuten esimerkiksi maissilla (Bernal ym. 2012). Glyfosaatin biologista tehokkuutta säätelee sen liikkuvuus kasvin sisällä, sillä vaikutuskohteena olevat EPSPS-entsyymit ovat pääasiassa aktiivisten meristeemien sytoplasmassa (Shaner 2009). Glyfosaattiresistentillä kanadankoiransilmällä (*Conyza canadensis*) tehdyt tutkimukset (Ge ym. 2010; Ge ym. 2011) ovat osoittaneet, että glyfosaatin siirtäminen kasvisolun vakuoleihin vähentää glyfosaatin biologista tehokkuutta ja toimii siten vastustusmekanismina glyfosaatille. Saattaa olla, että glyfosaatin vaikutusten häviäminen kasvihuonekokeen edetessä ja puuttuminen peltokokeessa selittyy sillä, että glyfosaattipitoisuus pieneni härkäpavuissa kasvusta johtuvan laimennusvaikutuksen vuoksi. Glyfosaatin vaikutukset ovat saattaneet poistua myös siksi, että sen liikkuvuus härkäpavun aktiivisiin meristeemeihin on vähentynyt tai sitä on siirretty härkäpavun soluissa vakuoleihin, jolloin sen biologinen tehokkuus on vähentynyt.

Glyfosaatin vaikutuksia härkäpapuun pelto-olosuhteissa on selvitetty aiemmassa tutkimuksessa. Pienet glyfosaattimäärät eivät aiheuta härkäpavulle näkyviä oireita, mutta suuret glyfosaattimäärät saavat aikaan kloroosia, apikaalilehtien kiertymistä ja kasvun heikentymistä (Mesa-García ym. 1984). Härkäpapu on herkempi glyfosaatin vaikutuksille vegetatiivisen kasvun alkuvaiheessa kuin kukinnan jälkeen. Lisäksi glyfosaatti vähentää siementuottoa pienentämällä palkojen määrää, mutta itäminen, kuitusisältö ja siementen bruttoenergia eivät vähenny (Mesa-García ym. 1984). Kyseisen tutkimuksen tulokset ovat osittain samansuuntaiset omien kokeideni tulosten kanssa, sillä peltokokeen glyfosaattijäämät olivat mahdollisesti niin pieniä, etteivät ne aiheuttaneet näkyviä oireita härkäpavulle. Kasvihuonekokeessa kasvualustan glyfosaattijäämät saattoivat olla suurempia vähäisemmän hajoamisen vuoksi, joten glyfosaatti sai aikaan kasvun heiken-

tymistä härkäpavulla. Lisäksi härkäpapu on herkempi glyfosaatin vaikutuksille vegetatiivisen kasvun alkuvaiheessa, mikä näkyy kasvihuonekokeen tuloksissa, muttei enää peltokokeessa. Mesa-Garcían ym. (1984) kokeessa glyfosaatti vähensi härkäpavun palkojen määrää, mutta omassa kokeessani näin ei ollut. On mahdollista, että peltokokeeni glyfosaattijäämät olivat niin pieniä, etteivät ne vähentäneet härkäpavun palkojen muodostusta. Mesa-Garcían ym. (1984) tutkimuksessa glyfosaatti sen sijaan ei vaikuttanut itämiseen, mutta kasvihuonekokeessani vaikutusta itämiseen oli. Glyfosaattikäsittelyt tosin hidastivat härkäpavun itämistä vain vähän kontrolliin verrattuna, ja ainoastaan aivan kokeen alussa, joten tulokseni eivät poikkea Mesa-Garcían ym. (1984) tuloksista suuresti.

Eri mikrobilajeilla on erilaiset mekanismit glyfosaatin hajottamiseen, ja suuri glyfosaattipitoisuus maaperässä sekä fosfaatin määrä tai puuttuminen aiheuttavat valintapaineen mikrobeille (Dick & Quinn 1995; Duke 2011). Peltokokeessa fosfaatin määrä vaihteli välillä 3,9–5,6 mg/l ollen näin hyvin pieni ja pellon viljavuuden kannalta välttävä. Glyfosaattikäsittely peltokokeessa nosti maaperän glyfosaattipitoisuutta. Fosfaatin vähäinen määrä saattoi edistää glyfosaatin sitoutumista pellon maaperään, mikä puolestaan on saattanut aiheuttaa valintapaineen mikrobeille. Runsaas fosfaattilannoittaminen voi saada aikaan fosfaatin kertymisen maaperään, jolloin glyfosaatin sitoutuminen heikkenee (Helander ym. 2012). Kasvihuonekokeen mullassa oli liukoista fosforia 70 mg/l, mikä on melko runsaasti. Fosfori oli kuitenkin liukoisena, joten sen ei pitäisi vaikuttaa glyfosaatin sitoutumiseen. Pohjoisissa ekosysteemeissä mikrobit todennäköisesti hajottavat glyfosaattia saadakseen siitä fosfaattia, joka on typen ohella kasvua rajoittava tekijä (Helander ym. 2012). On siis todennäköistä, että glyfosaattikäsittelyn jälkeen pellon mikrobit hajottivat glyfosaattia saadakseen siitä fosfaattia kasvuaan varten, jolloin glyfosaattipitoisuus pellossa pieneni, ja sen vaikutukset kasveihin vähenivät. On mahdollista, että härkäpapu ei ole niin herkkä glyfosaatin vaikutuksille kuin vaikkapa kaura, joten pellon mahdollisesti pienentynyt glyfosaattimäärä ei vaikuttanut härkäpapuun.

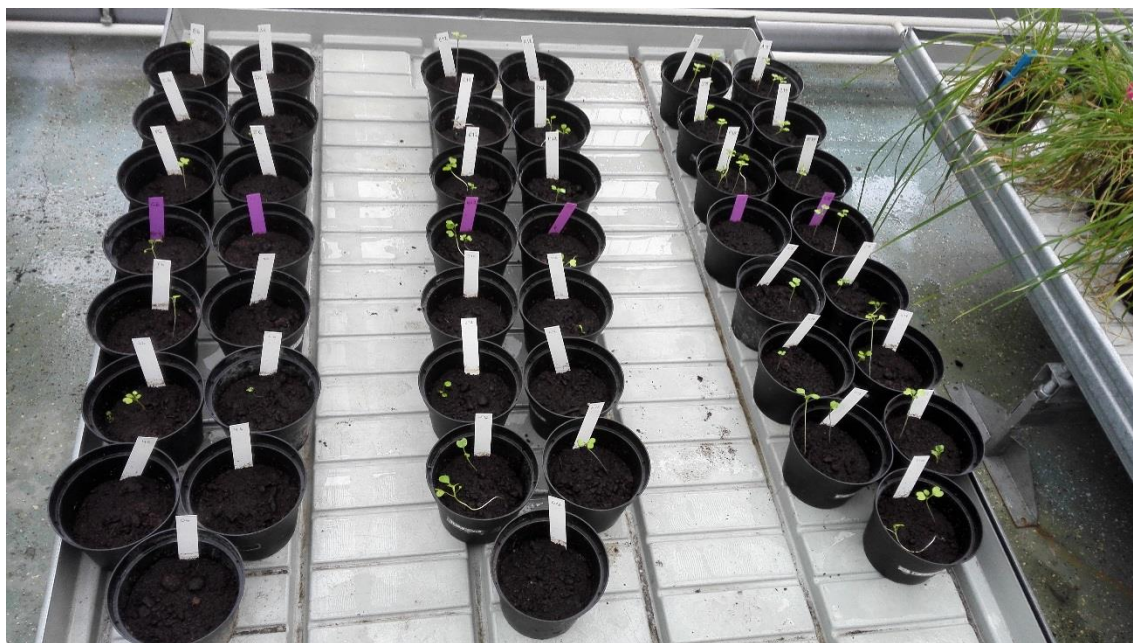
Pitkäaikaisten glyfosaattikäsittelyiden aiheuttamia muutoksia kasvien juuribakteerien geeniekspressiossa on selvitetty (Newman ym. 2016b). Tutkimuksessa selvisi, että hiilihydraatti- ja aminohappometabolian geeniekspressio (RNA-transkriptien määrä) väheni, mutta proteiinimetabolian ja soluhengityksen geeniekspressio sen sijaan voimistui. Pitkäaikaisella glyfosaattikäsittelyllä oli vaikutusta myös bakteerien ravintoaineiden, kuten raudan, typen, fosfaatin ja kaliumin, geeniekspressioon. Lisäksi bakteerien ja sienten

fosfolipidi-biomarkkereiden määrä väheni kontrolliin verrattuna. Newmanin ym. (2016b) tulokset osoittavat, että glyfosaatin pitkäaikainen käyttö saattaa vaikuttaa juuribakteerien toimintaan ja mahdollisesti muuttaa bakteeriyhteisön lajikoostumusta siten, että glyfosaattia paremmin sietävät bakteerilajit hyötyvät. Voi olla, että härkäpavulla on glyfosaattia paremmin sietäviä juuribakteerilajeja, minkä vuoksi glyfosaatilla ei peltokokeessani ollut vaikutusta härkäpavun kasvuun. Muutokset juuribakteerien toiminnassa ja bakteeriyhteisön lajikoostumuksessa saattavat osaltaan selittää sen, että pelto- ja kasvihuonekokeissani glyfosaatilla on yhtäältä kasvien itämistä ja kasvua hidastavia vaikutuksia (kaura ja rypsi) ja toisaalta neutraaleja vaikutuksia (härkäpapu ja peruna) tai jopa kasvua edistäviä vaikutuksia (peruna).

4.4 Rypsi ja glyfosaatti

Rypsin itäminen ja kasvaminen savipitoisessa peltomaassa onnistui huonosti, jolloin rypsin otoskoko jäi aivan liian pieneksi, eikä sille saatu tehtyä tilastollisia testejä. Rypsi vaatii paljon torjuntaa rikkakasveja ja tuholaisia vastaan, jotta sen viljely onnistuu. Peltokokeessa ei käytetty torjunta-aineita muuten kuin kevään glyfosaattiruiskutuksessa, mikä melko varmasti heikensi rypsin itämistä ja kasvamista. Jotta rypsin peltokoe olisi saatu onnistumaan, rikkakasveja ja tuholaisia, kuten kirppoja (*Phyllotreta cruciferae*), olisi pitänyt torjua. Lisäksi viljavuustutkimuksen mukaan Ruissalon koepellon ravinnearvot olivat suurimmaksi osaksi välttävät tai tyydyttävät, mikä on varmasti vaikuttanut siihen, että rypsin kasvu pellolla ei ollut niin hyvää kuin se olisi voinut olla paremmassa maaperässä. Kasvihuonekokeessa rikkakasvit ja tuholaiset eivät päässeet häiritsemään rypsin itämistä ja kasvua, ja kontrollirypsit itivät nopeimmin ja niitä iti eniten verrattuna glyfosaattikäsitelyihin (Kuva 27.). Roundup Gold -käsittelyn ja puhdas glyfosaatti -käsittelyn välillä ei ollut eroa itämisessä kokeen alkupuolella, mutta loppupuolella eroa löytyi; Roundup Gold -käsiteltyä rypsiä iti kaiken kaikkiaan vähemmän kuin puhdas glyfosaatti -käsiteltyä rypsiä. Kasvihuonekokeessa kontrollirypsi kasvoi myös pidemmäksi ja painoi enemmän kuin Roundup Gold -käsitelty rypsi, mikä johtuu todennäköisesti siitä, että kontrollirypsi iti varhaisemmassa vaiheessa kuin Roundup Gold -käsitelty rypsi, jolloin kontrollirypsit ehtivät kasvaa pidemmiksi. Puhdas glyfosaatti -rypsi ei eronnut tilastollisesti merkitsevästi kontrollista ja Roundup Goldista version pituudessa ja painossa. Mikäli otoskoko olisi ollut suurempi ja hajonta pienempää, rypsin yhteispainon keskiarvojen välinen suuri ero olisi saattanut olla tilastollisesti merkit-

sevä. Rypsin tulokset voidaan kuitenkin tulkita suuntaa antavasti merkitseviksi, sillä keskiarvoja tarkastellessa ne näyttävät biologisesti merkitseviltä. Kasvihuonekokeessa kylvö tehtiin myöhään kesällä (elokuussa), jolloin on kenties ollut liian vähän valoa, mikä on saattanut vaikuttaa siihen, että monet rypsin siemenet jäivät kokonaan itämättä. Kasvihuonekoe olisi siis kannattanut toteuttaa jo aiemmin kesällä, jolloin rypsin itäminen olisi saattanut olla parempaa ja sitä myöden mahdollisesti myös kokeen tulokset. Purkkien kastelusta on myös saattanut aiheutua vahinkoa herkille rypsin taimille, joten purkkien kastelu olisi ollut parempi suorittaa altakasteluna.



Kuva 27. Kasvihuonekokeen rypsit kokeen lopussa 29.8. Vasemmalla Roundup Gold -käsitelty rypsi, keskellä puhdas glyfosaatti -käsitelty rypsi ja oikealla kontrollirypsi. Silmämääräisesti on nähtävissä eroa rypsin itämisessä eri käsittelyiden välillä.

Vaikuttaa siis siltä, että glyfosaatti ja erityisesti Roundup Gold apuaineineen hidastavat rypsin itämistä ja kasvun varhaisvaiheita johtuen mahdollisesti muutoksista maaperässä, mikrobistossa ja rypsin fysiologiassa. Rypsin merkittävimpiä tuholaisia eli kirppoja torjutaan neonikotinoideja sisältävillä torjunta-aineilla, joiden vaikutus on suurin heti rypsin itämisen jälkeen. Mitä vähemmän rypsi on alttiina kirpoille kasvun alussa, sitä parempi rypsin lopullinen sato on. Mikäli kirppoja on liikkeellä paljon, sadon onnistuminen saattaa riippua muutamasta päivästä, sillä kylvö muutamaa päivää myöhemmin voi pelastaa sadon. On todennäköistä, että rypsin kylvö pellolle tehtiin sellaiseen aikaan, että kirppoja oli paljon, kun rypsit itivät ja aloittivat kasvunsa. Peltokokeen rypsitaimet

joutuivat pahasti kirppojen syömiksi, mistä syystä harvat itäneet yksilöt eivät päässeet kunnolla kasvuun. Rypsin versojen pituutta mitattaessa huomattiin, että Roundup Gold -käsiteltyjä yksilöitä oli huomattavasti enemmän (114 yksilöä) kuin kontrollikäsiteltyjä yksilöitä (26 yksilöä). Lisäksi rypsin yhteispainoa punnitessa havaittiin, että Roundup Gold -käsiteltyä rypsiä kasvoi kaikilla kymmenellä ruudulla, kun taas kontrollirypsiä kasvoi vain neljällä ruudulla kymmenestä. Mikäli glyfosaatti viivästyttää rypsin itämistä ja alkuvaiheen kasvua, on mahdollista, että peltokokeen Roundup Gold -rypsit itivät hieman myöhemmin kuin kontrollirypsit, jolloin ne säästyivät pahimmalta kirppojen tuholta, ja siitä syystä niitä on kontrollirypsiä enemmän ja useammalla ruudulla. Valitettavasti itäneiden rypsin määrää ei laskettu peltokokeen alkuvaiheessa, joten ei ole varmuutta, itikö Roundup Gold -käsitelty rypsi myöhemmin kuin kontrollirypsi, ja että sitä siitä syystä olisi ollut enemmän kuin kontrollirypsiä.

Fosfataasit ovat entsyymejä, jotka hydrolysoivat estereitä ja fosforihapon anhydrideitä. Maaperässä on erilaisia fosfataaseja, kuten fosfomonesteraasit, fosfodiesteriäsi, fosfotriesteriäsi ja fosfolipaasi (Wang ym. 2011). Maaperän glyfosaatti ja Roundup vaikuttivat eräässä laboratoriotutkimuksessa fosfataaseista voimakkaimmin fosfomonoesteraasiin ja fosfodiesteriäsiin (Platkowski & Telesiński 2016). Roundupilla, joka sisälsi glyfosaatin isopropyylimiamiinisulua sekä polyetoksyloituja taliamiineja, oli suurempi inhiboiva vaikutus fosfataasien aktiivisuuteen kuin puhtaalla glyfosaatilla (Platkowski & Telesiński 2016). Kasvihuonekokeessa kauralla ja rypsilä Roundup Gold -käsittelyn kasvit itivät huonommin ja jäivät pienemmiksi kuin puhdas glyfosaatti -käsittelyn kasvit, mikä saattaa johtua muun muassa Roundup Goldin negatiivisesta vaikutuksesta fosfataasien aktiivisuuteen.

4.5 Maaperän ominaisuudet, glyfosaatti ja koekasvit

Glyfosaatin sitoutumiseen vaikuttavia maaperän ominaisuuksia ovat savipartikkelien määrä, fosfaatin määrä, nesteen määrä, savikationit, lämpötila, pH ja orgaanisen aineksen määrä. Viljelykäytössä glyfosaatti annostellaan kasvin lehdille, mutta sitä päätyy myös maaperään, jossa se sitoutuu savimineraaleihin ja vesipitoisiin oksideihin fosforihappo-osansa avulla (Platkowski & Telesiński 2016). Myös peltokokeessani glyfosaattia on epäilemättä päätenyt maaperään, ja pellon suuren savipitoisuuden vuoksi sitä on

sitoutunut runsaasti savimineraaleihin. Glyfosaatin sitoutumisnopeus korreloi fosfaatin sitoutumisen kanssa siten, että mitä enemmän maaperässä on fosfaattia, sitä vähemmän glyfosaattia sitoutuu. Koska pellolla oli vähän fosfaattia (3,9–5,6 mg/l), fosfaatti ei todennäköisesti ole heikentänyt glyfosaatin sitoutumista peltoon. Maaperissä, joissa on runsaasti savimineraaleja ja vesipitoisia oksideja, glyfosaattia sitoutuu voimakkaasti savimineraaleihin ja se saattaa säilyä maaperässä jopa 170 vuorokautta, normaalin puoliintumisaajan ollessa 45–60 vuorokautta (Vereecken 2005). Peltokokeen savipitoinen maaperä aiheuttaa todennäköisesti sen, että glyfosaatin puoliintumisaika siinä on normaalia pidempi. Puoliintumisaikaa pidentää myös Suomen kylmä ilmasto ja vuodenaikojen vaihtelu, sillä nämä hidastavat mikrobien hajotustyötä. Ruissalon koepellolle on ruiskutettu glyfosaattia jo kolmena perättäisenä keväänä (2014, 2015, 2016), ja pellossa on ollut glyfosaattijäämiä aiempien vuosien käsittelyistä vielä yli kuukausi kevään ruiskutusten jälkeen. Glyfosaattikäsittelyillä radoilla oli glyfosaattia vuonna 2014 keskimäärin 2,76 mg/kg ja vuonna 2015 keskimäärin 3,28 mg/kg, mikä osoittaa, että glyfosaattijäämien määrä radoilla kasvoi toisen glyfosaattikäsittelyn jälkeen. Kontrolliradoilla glyfosaattia oli keskimäärin 0,11 mg/kg molempina vuosina, mikä johtuu todennäköisesti siitä, että glyfosaattia kulkeutuu hieman myös kontrolliradoille esimerkiksi ruiskutettaessa. Analyysit koepellon glyfosaattijäämistä on tehty Turun yliopiston Kemian laitoksella (Ibáñez ym. 2005; Yoshioka ym. 2011) käyttämien menetelmien mukaan. Maaperän savimineraalit ja orgaaninen aines pidättävät vettä ja ioneita eli kasvien ravinteita ja vaihtavat niitä kasvien juurien kanssa (Connor et al. 1992, s. 191). Peltokokeen kontrollikäsittelyssä maaperässä on mahdollisesti enemmän orgaanista ainesta kuin glyfosaattikäsittelyssä, joten kontrollimaaperä on saattanut pidättää vettä ja ioneita paremmin kuin glyfosaattimaaperä. Vettä ja ravinteita on tällöin ollut kontrollikasvien saatavilla enemmän, mikä auttoi niitä kasvamaan perunaa lukuun ottamatta glyfosaattikäsittelyjä kasveja paremmin.

Glyfosaatin hajoamisen puoliintumisaika vaihtelee maaperän mukaan muutamasta päivästä useaan kuukauteen jo jopa useaan vuoteen sekä laboratorio- että pelto-olosuhteissa (Nomura & Hilton 1977; Smith & Aubin 1993; Gimsing ym. 2004b; Vereecken 2005). Glyfosaatin hajoamisesta vastaavat pääasiassa maaperän mikrobit, ja hajottamiseen tarvitaan hiili-tyyppi-sidoksia tai hiili-fosfori-sidoksia katkovia entsyymejä, jolloin muodostuu AMPA:a tai sarkosiinia (Ternan ym. 1998). Viljelyssä glyfosaattia käytetään kasvien varhaisessa kasvullisessa vaiheessa, mikä johtaa kuolleen kasvimateriaalin ker-

tymiseen maanpinnalle. Hyvin vähän tiedetään siitä, kuinka paljon tämän kuolleen kasvimateriaalin lajikoostumus vaikuttaa glyfosaatin hajoamiseen (Cassigneul ym. 2016). Glyfosaatin sitoutuminen vaihtelee maaperän ominaisuuksien mukaan paljon (Nicholls & Evans 1991; Beltran ym. 1998). Pellon savipartikkelien määrä on suuri, joten myös glyfosaatin sitoutuminen on luultavasti melko suurta. Fosfaatin määrä pellossa on melko pientä (3,9–5,6 mg/l), mikä edelleen voimistaa glyfosaatin sitoutumista. Glyfosaatin sitoutuminen on pienempää kasveilla kuin maaperässä, ja orgaanisen aineksen määrä ja laatu kasvissa vaikuttavat glyfosaatin sitoutumiseen (Cassigneul ym. 2016). Myös kasvien hajoamisaste vaikuttaa glyfosaatin sorptiovakioon, sillä mitä suurempi kasvin hajoamisaste on, sitä suurempi on myös glyfosaatin sorptiovakio (Cassigneul ym. 2015). Kun koepelto käsiteltiin glyfosaatilla, siellä kasvoi jonkin verran rikkakasveja, jotka sitten jäivät kuolleeksi kasvimateriaaliksi pellon pinnalle. Mitä pidemmälle tämän kasvimateriaalin hajoaminen eteni, sitä enemmän se mahdollisesti satoi itseensä vielä hajotamatonta glyfosaattia, jolloin peltoon jäi sitoutunutta glyfosaattia. Glyfosaatin hajoamisen puoliintumisaika kasvoi maanpinnalle jääneen kuolleen kasvimateriaalin myötä (Cassigneul ym. 2016). Kasvihuonekokeessa käytetty kasvualusta sisälsi paljon orgaanista ainesta, joten on mahdollista, että glyfosaattia sitoutui siihen melko paljon. Mikäli glyfosaattia on ollut paljon sitoutuneena, se ei mahdollisesti ole päässyt vaikuttamaan koekasveihin kovin voimakkaasti.

Maaperän fosfaatti on glyfosaatin sitoutumisen kannalta merkittävä, sillä fosfaatilla ja glyfosaatilla on sama sitoutumismekanismi ja -kohde (Gimsing ym. 2004a; Bott ym. 2011). Fosfaatti saattaa omalla sitoutumisellaan estää glyfosaatin sitoutumisen esimerkiksi happamassa maaperässä, sillä glyfosaatin sitoutuminen korreloi negatiivisesti maaperän happamuuden kanssa (Borggaard & Gimsing 2008), kun taas fosforin sitoutumiseen maaperän pH ei juuri vaikuta (Carlisle & Trevors 1988; Gimsing ym. 2004a). Peltokokeessa maaperän pH vaihteli välillä 5,6–6,2. On mahdollista, että niissä osissa peltoa, joissa pH oli alle 6,0, glyfosaatin sitoutuminen maaperään on hieman vähentynyt, ja sitä on jäänyt liukoiseksi enemmän. Kasvihuonekokeen mullan pH oli 6,2 eli melko lähellä neutraalia, mikä tarkoittaa sitä, että mullan happamuus ei juuri ole vaikuttanut glyfosaatin sitoutumiseen. Maaperän korkea fosfaattipitoisuus saattaa pienentää glyfosaatin sorptiovakiota 25–44 % verrattuna kontrollimaaperään, mikä kertoo siitä, että lievästi happamassa tai lievästi emäksisessä maaperässä, jossa on runsaasti fosfaattia, glyfosaatti saattaa muuttua liukoiseksi maaperän veteen (Munira ym. 2016). Kasvi-

huonekokeen mullan fosfaattipitoisuus oli melko korkea (liukoisena 70 mg/l) ja pH lievästi hapan (6,2), joten saattaa olla, että glyfosaattia on muuttunut liukoiseksi kasvihuonekokeen mullassa. Mikäli glyfosaattia on muuttunut liukoiseksi, sitä on saattanut valua kasteluveden mukana pois ruukuista, jolloin myös sen vaikutukset koekasveihin ovat pienentyneet. Tämä voi osaltaan selittää sen, että erot glyfosaattikäsiteltyjen kasvien ja kontrollikasvien välillä häviävät kasvihuonekokeen loppua kohti. Olisi tärkeää tehdä glyfosaattiin liittyviä kokeita pelto-olosuhteissa, sillä laboratorio- ja kasvihuonekokeiden tuloksista ei voida luotettavasti tehdä johtopäätöksiä siitä, mitä tapahtuu pellolla.

Okada ym. (2016) esittävät tutkimuksessaan, että glyfosaattia sitoutuu voimakkaasti erityyppisiin maaperiin. Saven koostumus ja kationinvaihtokapasiteetti eli maaperän kyky pidättää positiivisesti varautuneita ioneita (kationeita) vaikuttavat positiivisesti glyfosaatin adsorptiokertoimeen, pH ja fosfaatti puolestaan vaikuttavat negatiivisesti glyfosaatin adsorptiokertoimeen (Okada ym. 2016). Koepellon kationinvaihtokapasiteetti oli 17–18 mmol/kg, mikä todennäköisesti vaikutti positiivisesti glyfosaatin sitoutumiseen pellon maaperään. Peltokokeessa maaperän pH vaihteli välillä 5,6–6,2, joten sillä ei välttämättä ollut merkittävää vaikutusta glyfosaatin adsorptiokertoimeen. Fosforin määrä pellolla vaihteli välillä 3,9–5,6 mg/l ollen näin hyvin pieni, mikä luultavasti on vaikuttanut positiivisesti glyfosaatin adsorptiokertoimeen ja lisännyt glyfosaatin sitoutumista pellon maaperään. Glyfosaatti kiinnittyy pääasiassa saven ja epäorgaanisten saostumien pinnalle (Newman ym. 2016a). Sitoutuminen lisääntyy, kun mineraalien pinta-ala kasvaa (Duke ym. 2012). Pellon maaperän savipitoisuus oli tutkimuksessani melko korkea (30–60 %), jolloin myös mineraalien pinta-ala oli suuri. Tästä syystä voin olettaa, että glyfosaatin sitoutuminen maaperään oli suhteellisen suurta tutkimuksessani. Glyfosaattikäsitellyille raidoille sitoutunut glyfosaatti on todennäköisesti heikentänyt ainakin kauran kasvua kontrolliin verrattuna.

Maaperän rakenne vaikuttaa glyfosaatin kulkeutumiseen (Aronsson ym. 2011). Useat laboratoriokokeet ja lysimetriset mittaukset ovat osoittaneet, että glyfosaatti saattaa kulkeutua oikovirtausten välityksellä maaperissä, joissa on selkeä rakenne (Vereecken 2005). Glyfosaattia kulkeutuu maaperän huokosten välityksellä vielä kuukausia glyfosaatin ruiskutuksen jälkeen (Kjær ym. 2011). Glyfosaattia saattaa myös suodattua savimaassa olevaan veteen (Aronsson ym. 2011). Peltokokeen maaperä on savimaata, joten on mahdollista, että glyfosaattia on suodattunut siellä veteen. Mikäli näin on ta-

pahtunut, glyfosaattia on voinut veden mukana kulkeutua pois koekasvien ulottuvilta, jolloin myös glyfosaatin vaikutukset ovat vähentyneet. Tämä saattaa osaltaan selittää sitä, että eroa eri käsittelyiden välillä ei ollut härkävavulla lainkaan, ja kaurallakin glyfosaatin vaikutukset pituuteen näyttivät häviävän kokeen edetessä.

4.6 Maaperän mikrobit, glyfosaatti ja koekasvit

Glyfosaatti vaikuttaa maaperän mikrobeihin eri tavoin, ja sitä kautta myös hajotustoimintaan ja ravinteiden kiertoon. Glyfosaatti kaksinkertaistaa nopeasti kasvavien bakteerien määrän verrattuna kontroleihin, mutta ei kuitenkaan vaikuta bakteerien kokonaismäärään, mikä kertoo siitä, että glyfosaatti vaikuttaa bakteerilajien osuuksiin, muttei bakteerien kokonaismäärään (Imparato ym. 2016). Nopeasti kasvavien bakteerien määrän lisääntyminen glyfosaattikäsittelyssä johtuu luultavasti glyfosaatin aiheuttamista muutoksista kasvien juurten biomassan laatuun ja/tai orgaanisen materiaalin saatavuuteen (Imparato ym. 2016). Glyfosaatti saa aikaan juurten epätyypillistä tiikumista (Damin ym. 2010), mikä saattaa johtua aminohappojen ja hiilihyaattien kasvaneesta määrästä juurissa (Kremer ym. 2005). Kasvisolukot ottavat glyfosaatin nopeasti sisäänsä ja siirtävät sitä maaperään, sillä Laitinen ym. (2007) huomasivat tutkimuksessaan, että 10 % annostellusta glyfosaatista oli siirtynyt maaperän ylimpiin kerroksiin tunti lehdille annostelun jälkeen. On siis todennäköistä, että peltokokeeni glyfosaattikäsittelyssä rikakasvit ovat ennen kuolemistaan siirtäneet glyfosaattia maaperään, mikä on nostanut maaperän glyfosaattipitoisuutta. Bakteriyhteisön koostumus on mikrobiprosessien kannalta tärkeämpää kuin lajirunsaus itsessään (Peter ym. 2011), joten glyfosaatin aiheuttamat muutokset bakteriyhteisön koostumuksessa saattavat olla huomattavat maaperän hiilen ja ravintoaineiden hajoamisen kannalta (Imparato ym. 2016).

Maaperän bakteerien biomassan ja hengityksen vaihtelevat vasteet glyfosaatille liittyvät glyfosaatin annostelumäärään ja altistuksen kestoon (Nguyen ym. 2016). Maaperät, joiden pH on neutraali (5,5–7,5), ovat herkempiä glyfosaatin aiheuttamalle mikrobien biomassan ja hengityksen vähenemiselle kuin happamat maaperät (pH < 5,5). Peltokokeessa maaperän pH vaihteli välillä 5,6–6,2 ollen neutraali. Glyfosaatti on siis todennäköisesti vähentänyt mikrobien biomassaa ja hengitystä koepellon maaperässä. Myös

kasvihuonekokeen mullan pH oli neutraali (6,2), jolloin glyfosaatti on todennäköisesti vähentänyt mullan mykorritsan ja *Gliocladium*-mikrobien biomassaa ja hengitystä myös kasvihuonekokeessa. Tämä saattaa johtua siitä, että glyfosaatin hajoamisesta vapautuva fosfaatti tehostaa mikrobien kasvua happamassa maaperässä, jossa fosfaatti on normaalisti sitoutuneena maaperän mineraaleihin, ja siten mikrobeilta saavuttamattomissa (Nguyen ym. 2016). Glyfosaatti lisää mikrobien hengitystä, mutta vähentää mikrobien biomassaa maaperissä, joissa orgaanista hiiltä on vähän. Tämä saattaa Nguyenin ym. (2016) mukaan johtua siitä, että maaperissä, joissa on vähän orgaanista hiiltä, on myös vähemmän mikrobitoimintaa puskurina glyfosaatin aiheuttamalla stressillä. Peltokokeeni maaperässä on todennäköisesti ollut orgaanista hiiltä jonkin verran, sillä sitä on vapautunut maaperään keväisen glyfosaattikäsittelyn jälkeen, kun mikrobit ovat hajottaneet käsittelyssä kuolleen kasvimateriaalin. Orgaanisen hiilen määrä ei kuitenkaan välttämättä ole ollut kovin suuri, joten on mahdollista, että glyfosaattikäsittely on lisännyt pellon mikrobien hengitystä, mutta vähentänyt niiden biomassaa. Tämä puolestaan on saattanut johtaa koekasveille saatavilla olevien ravinteiden määrän vähenemiseen, mikä on heikentänyt koekasvien kasvua.

Druille ym. (2016) arvioivat tutkimuksessaan vuosittain annostellun glyfosaatin vaikutuksia mykorritsa-sieniin, enfytyttisiin ja vapaana eläviin diazotrofeihin. He käyttivät glyfosaattipitoisuuksina ei-tappavaa annosta (0,8 l / ha⁻¹ glyfosaattivalmistetta) ja peltojen suositusannosta (3 l / ha⁻¹ glyfosaattivalmistetta). Neljännen vuosittaisen annostelukerran jälkeen mykorritsa-sienten itiömäärät vähenivät 56 % ja vapaana elävien diazotrofien itiömäärät 82 %, myös ei-tappavalla annoksella. Koepellolla kolmena peräkkäisenä kesänä käytetyt glyfosaattivalmistemäärät ovat olleet suunnilleen peltojen suositusannoksen mukaisia, joten on mahdollista, että koepellon vuosittaiset glyfosaattikäsittelyt ovat vähentäneet mykorritsa-sienten ja vapaana elävien diazotrofien itiömääriä. Koska mikrobit vaikuttavat voimakkaasti kasviyhteisöihin, muutokset mikrobeissa, kuten mykorritsa-sienissä ja vapaana elävissä diazotrofeissa, saattavat vaikuttaa negatiivisesti kasviyhteisöjen tuottavuuteen ja monimuotoisuuteen (Druille ym. 2016).

Kasvihuonekokeessa käytetty kasvualusta oli pakattua seosmultaa, joka sisälsi juuristoa vahvistavaa mykorritsaa *Glomus intraradices* (> 40 kpl/l) ja kasvin kasvua vahvistavia *Gliocladium* sp. -mikrobeja (> 10⁸ pmy/l). Mykorritsa on kasvin juurien ja sienien muo-

dostama molempia osapuolia hyödyttävä symbioosi, jossa kasvi saa mykorritsan avulla maaperästä ravinteita ja vettä tehokkaammin. Lisäksi mykorritsat suojaavat kasvia taudinaiheuttajilta ja kuivuudelta sekä parantavat kasvin stressinsietokykyä. *Gliocladium*-mikrobit ovat itämistä parantavia ja juurten kasvua edistäviä mikrobeja, jotka lisäksi parantavat kasvin stressinsietokykyä ja antavat kasville paremman vastustuskyvyn. Glyfosaatti voi aiheuttaa dominoivan mykorritsa-sienilajin vaihtumisen toiseksi, mahdollisesti muuttamalla isäntäkasvin fysiologiaa (Sheng ym. 2012). Kyseisessä tutkimuksessa glyfosaatti stimuloi juuribakteerien kasvua. On mahdollista, että glyfosaattikäsittelyt ovat vaikuttaneet negatiivisesti mullan mykorritsaan ja *Gliocladium*-mikrobeihin, jolloin kasvihuonekokeen kasvien itäminen ja verson kasvu heikentyivät verrattuna kontrolliin.

Newman ym. (2016b) havaitsivat tutkimuksessaan, että glyfosaattiresistentin maissin (*Zea mays*) ja soijapavun (*Glycine max*) juuribakteereissa oli eniten lajeja Proteobakteerien, Asidobakteerien ja Aktinobakteerien pääjaksoista. Kaikki näiden pääjaksojen sisältämät taksonit esiintyvät yleisesti kasvien juuribakteereina, ja niillä on monia vaikutuksia kasvien terveyteen hyödyllisten ja haitallisten vuorovaikutusten välityksellä (Lee ym. 2008; Berendsen ym. 2012; Philippot ym. 2013). Esimerkiksi monet Proteobakteereihin kuuluvat *Pseudomonas*-suvun lajit hyödyttävät kasveja stimuloimalla niiden kasvua ja osallistumalla kasvitautien biologiseen kontrollointiin (Lugtenberg & Kamilova 2009). Newmanin ym. (2016b) tutkimuksessa suurimmat glyfosaatin aiheuttamat muutokset suhteellisessa runsaudessa havaittiin Proteobakteereilla ja Asidobakteereilla. Proteobakteerien suhteellisen runsauden kasvu glyfosaattitolerantilla maissilla ja soijapavulla johtui Xanthomonadaceae-heimon bakteerien runsauden kasvusta, joka puolestaan oli seurausta glyfosaattikäsittelystä, sillä oletetaan, että Xanthomonadaceae-bakteerit ovat sopeutuneet glyfosaattia sisältäviin ympäristöihin (Newman ym. 2016a). Myös Asidobakteerien suhteellinen runsaus pieneni glyfosaattikäsittelyssä. Asidobakteerien on todettu olevan hallitseva bakteeriryhmä kasvien juuristossa, ja niiden uskotaan olevan merkittäviä juuriston maaperän biogeokemiallisille prosesseille, erityisesti selluloosan hajoamiselle (Lee ym. 2008; Eichorst ym. 2011; Stursová ym. 2012). Mikäli Asidobakteerien määrä maaperässä vähenee pitkällä aikavälillä, sillä saattaa olla vaikutusta maaperän biogeokemiallisten prosessien toteutumiseen (Newman ym. 2016a). On mahdollista, että toistuneet glyfosaattikäsittelyt koepellolla ovat saaneet Asidobakteerien määrän vähenemään, mikä puolestaan on vaikuttanut maaperän biogeokemiallisiin pro-

sesseihin, ja sitä kautta myös kokeessa käytettyihin kasveihin hidastaen niiden kasvua. Asidobakteerien väheneminen oli voimakkaampaa glyfosaattitolerantilla maissilla kuin soijapavulla, joten myös muutokset biogeokemiallisissa prosesseissa saattavat olla suurempia maissilla kuin soijapavulla (Newman ym. 2016a). Tästä voidaan päätellä, että glyfosaatin vaikutukset bakteereihin ovat eri kasvilajeilla erilaiset, mikä saattaa selittää sen, että glyfosaatti vaikutti negatiivisesti kauran kasvuun, muttei härkäpavun. Vaikka glyfosaatti vaikutti tiettyihin bakteerien pääjaksoihin, glyfosaatin kokonaisvaikutusta bakteeriyhteisön monimuotoisuuteen ei löytynyt, mikä korostaa tarvetta selvittää bakteeriyhteisöjen vastetta glyfosaatille sekä taksonomisesti että toiminnallisesti (Newman ym. 2016a). Pitkäaikainen glyfosaatin käyttö saattaa aiheuttaa muutoksia bakteerien populaatioissa, vaikkakaan ei tiedetä, vaikuttavatko nämä muutokset maaperän toimintaan (Newman ym. 2016a). Lisää tutkimusta glyfosaatin epäsuorista vaikutuksista mikrobeihin ja maaperään siis tarvittaisiin.

5 YHTEENVETO

Pro gradu -tutkielmani tavoitteena oli selvittää glyfosaattikäsittelystä aiheutuvien maaperän glyfosaattijäämien vaikutusta viljelykasvien itämiseen ja kasvuun Suomen oloissa, joissa glyfosaatin hajoaminen on kenties hitaampaa. Selvitin pro gradu -tutkielmassani glyfosaatin vaikutuksia useita viikkoja glyfosaattikäsittelyn jälkeen. Glyfosaatin sitoutumiseen vaikuttavia maaperän ominaisuuksia ovat savipartikkelien määrä, fosfaatin määrä, nesteen määrä, savikationit, lämpötila, pH ja orgaanisen aineksen määrä. Peltokokeessa glyfosaattia on sitoutunut maaperään melko paljon Ruissalon koepellon savipitoisuuden vuoksi. Kasvihuonekokeessa glyfosaatin sitoutuminen kasvualustaan on luultavasti ollut melko voimakasta, mutta glyfosaattia on myös saattanut huuhtoutua kastelun mukana pois purkeista. Mitä voimakkaammin glyfosaattia sitoutuu maaperään, sitä vähemmän sitä saattaa olla mikrobien hajotettavaksi, ja sitä kauemmin se myös mahdollisesti säilyy maaperässä aiheuttaen mahdollisesti haittaa kasveille ja muille eliöille. Mikrobit ovat maaperän hajotustoiminnan ja ravinteiden kierron kannalta eriarvoisen tärkeitä niin kasveille kuin sitä kautta myös kaikille muillekin eliöille. Glyfosaatti saattaa vaikuttaa maaperän mikrobitoimintaan, mikä puolestaan saattaa johtaa muutoksiin hajotuksessa ja ravinteiden kierrossa. Tämä voi edelleen heikentää viljelykasvien kasvua. Glyfosaattijäämät maaperässä saattavat vaikuttaa viljelykasvien fysio-

logiaan, jolloin seurauksena voi olla häiriöitä viljelykasvien itämisessä, kasvussa ja tuotossa.

Glyfosaattijäämien vaikutukset vaihtelevat kasvilajin ja kasvin kehitysasteen mukaan. Tutkielmani perusteella glyfosaatti vaikuttaa kauralla sekä itämiseen ja kasvun varhaiseen vaiheeseen että myöhempään kasvuun ja kukkien muodostukseen. Perunalla glyfosaatin vaikutukset näkyvät tutkielmani mukaan ainoastaan kasvun myöhemmässä vaiheessa, ja nämä vaikutukset ovat muista koekasvilajeista poiketen kasvua lisääviä. Perunalla glyfosaatin aikaansaama rikkakasveihin liittyvän kilpailun väheneminen on todennäköisesti vaikuttanut perunan kasvuun enemmän kuin glyfosaatti itsessään. Härkäpavun vasteet glyfosaatille ovat tutkielmani perusteella nähtävissä vain itämisessä ja varhaisessa kasvussa, eivät enää myöhäisemmässä kasvussa ja tuotossa. Rypsilä glyfosaatti vaikuttaa tutkielmani mukaan itämiseen ja varhaiseen kasvuun, mutta peltokokeen epäonnistumisen vuoksi glyfosaatin vaikutuksista rypsin myöhempään kasvuun ei ole tuloksia. Tutkielmani perusteella voin todeta, että glyfosaattijäämät vaikuttavat eri viljelykasvilajeihin eri tavoin, ja myös viljelykasvin kylvöaika vaikuttaa siihen, miten glyfosaattijäämät vaikuttavat niihin.

Pro gradu -tutkielmani kasvihuonekokeen tavoitteena oli selvittää, miten puhdas glyfosaatti ja rikkakasvintorjunta-aine Roundup Gold apuaineineen vaikuttavat viljelykasvien itämiseen ja kasvuun, ja onko niiden vaikutuksissa eroa. Tutkielmani perusteella voin todeta, että Roundup Gold apuaineineen vaikuttaa itämiseen ja varhaiseen kasvuun ainakin kauralla ja rypsilä voimakkaamman negatiivisesti kuin puhdas glyfosaatti. Glyfosaatin ja glyfosaattivalmisteiden, kuten Roundupin, vaikutukset agroekosysteemeihin ovat merkittäviä, sillä glyfosaattia on käytetty maailmanlaajuisesti ja suuria määriä jo vuosikymmeniä. Glyfosaatin vaikutukset muihin kuin kohde-eliöihin, viljelykasvien ja rikkakasvien välisiin vuorovaikutuksiin sekä ravintoverkkoihin ovat monimutkaisia ja usein hankalia havaita (Helander ym. 2012). Olisi tärkeää tuntea paremmin glyfosaatin siirtyminen kasveihin, hajoaminen ja kokonaisvaikutukset ekosysteemeihin, jotta rikkakasvintorjuntaa voitaisiin kehittää kestävämpään suuntaan (Helander ym. 2012). Tämä vaatii monialaista pitkäaikaista kenttätutkimusta, joka yhdistää fysiologiaa ja ekologiaa (Helander ym. 2012). On mahdollista, että muihin kuin kohde-eliöihin kohdistuvat glyfosaatin vaikutukset ovat pohjoisissa ekosysteemeissä selvempiä ja pitkäkestoisempia, sillä niissä kylmä ilmasto hidastaa glyfosaatin hajoamista (Helander ym. 2012). Lisäksi kasvihuonekokeeni perusteella oli nähtävissä, että Roundup Gold -käsittely vaikuttaa

kasvualustaan sekä kasvien itämiseen ja kasvuun voimakkaammin kuin puhdas glyfosaatti -käsittely, mikä kertoo siitä, että Roundup Goldin sisältämät apuaineet saavat aikaan erilaisen ja mahdollisesti voimakkaamman negatiivisen vaikutuksen kuin pelkkä glyfosaatti itsessään. Tästä syystä olisi mielestäni erittäin tärkeää tutkia lisää rikkakasvintorjunta-aineiden sisältämien apuaineiden hajoamista maaperässä ja vaikutuksia eliöihin.

6 KIRJALLISUUS

- Aronsson H, Stenberg M, and Ulén B. 2011. Leaching of N, P and glyphosate from two soils after herbicide treatment and incorporation of a ryegrass catch crop. *Soil use Manage.* 27, 54-68.
- Baylis AD. 2000. Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects. *Pest Manag. Sci.* 56, 299-308.
- Beltran J, Gerritse RG, and Hernandez F. 1998. Effect of flow rate on the adsorption and desorption of glyphosate, simazine and atrazine in columns of sandy soils. *Eur. J. Soil Sci.* 49, 149-156.
- Benachour N, Sipahutar H, Moslemi S, Gasnier C, Travert C, and Sralini GE. 2007. Time- and dose-dependent effects of roundup on human embryonic and placental cells. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 53, 126-133.
- Berendsen RL, Pieterse CMJ, and Bakker, P A H M. 2012. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci.* 17, 478-486.
- Bernal J, Martin MT, Soto ME, Nozal MJ, Marotti I, Dinelli G, and Bernal JL. 2012. Development and application of a liquid chromatography-mass spectrometry method to evaluate the glyphosate and aminomethylphosphonic acid dissipation in maize plants after foliar treatment. *J. Agric. Food Chem.* 60, 4017-4025.
- Borggaard OK & Gimsing AL. 2008. Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest Manag. Sci.* 64, 441-456.
- Bott S, Tesfamariam T, Kania A, Eman B, Aslan N, Römheld V, and Neumann G. 2011. Phytotoxicity of glyphosate soil residues re-mobilised by phosphate fertilisation. *Plant Soil* 342, 249-263.
- Busse MD, Ratcliff AW, Shestak CJ, and Powers RF. 2001. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. *Soil Biol. Biochem.* 33, 1777-1789.
- Cakmak I, Yazici A, Tutus Y, and Ozturk L. 2009. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. *Eur. J. Agron.* 31, 114-119.
- Carlisle SM & Trevors JT. 1988. Glyphosate in the environment - (Review Article). *Water Air Soil Pollut.* 39, 409-420.
- Cassigneul A, Alletto L, Benoit P, Bergheaud V, Etiévant V, Dumény V, Le Gac AL, Chuette D, Rumpel C, and Justes E. 2015. Nature and decomposition degree of cover crops influence pesticide sorption: Quantification and modelling. *Chemosphere* 119, 1007-1014.
- Cassigneul A, Benoit P, Bergheaud V, Dumény V, Etiévant V, Goubard Y, Maylin A, Justes E, and Alletto L. 2016. Fate of glyphosate and degradates in cover crop residues and underlying soil: A laboratory study. *Sci. Total Environ.* 545-546, 582-590.
- Cerdeira AL & Duke SO. 2006. The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: A review. *J. Environ. Qual.* 35, 1633-1658.
- Olesen CF & Cedergreen N. 2010. Glyphosate uncouples gas exchange and chlorophyll fluorescence. *Pest Manag. Sci.* 66, 536-542.
- Connor DJ, Loomis RS and Cassman G. 1992. Crop ecology: productivity and management in agricultural systems. 2nd edition, Cambridge University Press, ISBN 978-0-521-74403-4.
- Coupland D & Caseley JC. 1979. Presence of ¹⁴C activity in root exudates and guttation fluid from *Agropyron repens* treated with ¹⁴C-labelled glyphosate. *New Phytol.* 83, 17-22.

- Damin V, Trivelin PCO, Carvalho SJP, Moraes MF, and Barbosa TG. 2010. Herbicide application increases nitrogen (¹⁵N) exudation and root detachment of *Brachiaria decumbens* Stapf. *Plant Soil* 334, 511-519.
- de Andréa MM, Peres TB, Luchini LC, Bazarin S, Papini S, Matallo MB, and Tedeschi Savoy VL. 2003. Influence of repeated applications of glyphosate on its persistence and soil bioactivity. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 38, 1329-1335.
- Dick RE & Quinn JP. 1995. Glyphosate-degrading isolates from environmental samples: occurrence and pathways of degradation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43, 545-550.
- Dill GM. 2005. Glyphosate-resistant crops: history, status and future. *Pest Manag. Sci.* 61, 219-224.
- Druille M, García-Parisi PA, Golluscio RA, Cavagnaro FP, and Omacini M. 2016. Repeated annual glyphosate applications may impair beneficial soil microorganisms in temperate grassland. *Agric. Ecosyst. Environ.* 230, 184-190.
- Duke SO. 2011. Glyphosate degradation in glyphosate-resistant and -susceptible crops and weeds. *J. Agric. Food Chem.* 59, 5835-5841.
- Duke SO & Powles SB. 2008. Glyphosate: A once-in-a-century herbicide. *Pest Manage. Sci.* 64, 319-325.
- Duke SO, Lydon J, Koskinen WC, Moorman TB, Chaney RL, and Hammerschmidt R. 2012. Glyphosate effects on plant mineral nutrition, crop rhizosphere microbiota, and plant disease in glyphosate-resistant crops. *J. Agric. Food Chem.* 60, 10375.
- Eichorst SA, Kuske CR, and Schmidt TM. 2011. Influence of plant polymers on the distribution and cultivation of bacteria in the phylum *Acidobacteria*. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 586-596.
- Eker S, Öztürk L, Yazici A, Erenoğlu B, Romheld V, and Cakmak I. 2006. Foliar-applied glyphosate substantially reduced uptake and transport of iron and manganese in sunflower (*Helianthus annuus L.*) plants. *J. Agric. Food Chem.* 54, 10019-10025.
- Fernandez MR, Zentner RP, Basnyat P, Gehl D, Selles F, and Huber D. 2009. Glyphosate associations with cereal diseases caused by *Fusarium* spp. in the Canadian Prairies. *Eur. J. Agron.* 31, 133-143.
- Fernandez MR, Zentner RP, DePauw RM, Gehl D, and Stevenson FC. 2007. Impacts of crop production factors on common root rot of barley in Eastern Saskatchewan. *Crop Sci.* 47, 1585-1595.
- Franz JE, Mao MK and Sikorski JA. 1997. Glyphosate: A unique global herbicide. American Chemical Society.
- Ge X, d'Avignon DA, Ackerman JJH, and Douglas Sammons R. 2010. Rapid vacuolar sequestration: The horseweed glyphosate resistance mechanism. *Pest Manage. Sci.* 66, 345-348.
- Ge X, d'Avignon DA, Ackerman JJ, Duncan B, Spaur MB, and Sammons RD. 2011. Glyphosate-resistant horseweed made sensitive to glyphosate: Low-temperature suppression of glyphosate vacuolar sequestration revealed by ³¹P NMR. *Pest Manage. Sci.* 67, 1215-1221.
- Giesy JP, Dobson S, and Solomon KR. 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 167, 35-120.
- Gimsing AL, Borggaard OK, and Bang M. 2004a. Influence of soil composition on adsorption of glyphosate and phosphate by contrasting Danish surface soils. *Eur. J. Soil Sci.* 55, 183-191.
- Gimsing AL, Borggaard OK, Jacobsen OS, Aamand J, and Sørensen J. 2004b. Chemical and microbiological soil characteristics controlling glyphosate mineralisation in Danish surface soils. *Appl Soil Ecol.* 27, 233-242.
- Gomes MP, Le Manac'h SG, Maccario S, Labrecque M, Lucotte M, and Juneau P. 2016. Differential effects of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) on photosynthesis and chlorophyll metabolism in willow plants. *Pestic. Biochem. Physiol.* 130, 65-70.

- Gomes MP, da Silva Cruz FV, Bicalho EM, Borges FV, Fonseca MB, Juneau P, and Garcia QS. 2017. Effects of glyphosate acid and the glyphosate-commercial formulation (Roundup) on *Dimorphandra wilsonii* seed germination: Interference of seed respiratory metabolism. *Environ. Pollut.* 220, 452-459.
- Green JM. 2009. Evolution of Glyphosate-Resistant Crop Technology. *Weed Sci.* 57, 108-117.
- Helander M, Saloniemi I, and Saikkonen K. 2012. Glyphosate in northern ecosystems. *Trends Plant Sci.* 17, 569-574.
- Ibáñez M, Pozo OJ, Sancho JV, López FJ, and Hernández F. 2005. Residue determination of glyphosate, glufosinate and aminomethylphosphonic acid in water and soil samples by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1081, 145-155.
- Imparato V, Santos SS, Johansen A, Geisen S, and Winding A. 2016. Stimulation of bacteria and protists in rhizosphere of glyphosate-treated barley. *Appl. Soil Ecol.* 98, 47-55.
- Insam H. 1990. Are the soil microbial biomass and basal respiration governed by the climatic regime? *Soil Biol. Biochem.* 22, 525-532.
- Johal GS & Huber DM. 2009. Glyphosate effects on diseases of plants. *Eur. J. Agron.* 31, 144-152.
- Jones DL, Hodge A, and Kuzyakov Y. 2004. Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. *New Phytol.* 163, 459-480.
- Khan SU & Marriage PB. 1979. Uptake of Glyphosate and N-Nitrosoglyphosate from soil by oat plants. *J. Agric. Food Chem.* 27, 1398-1400.
- Kjær J, Ernsten V, Jacobsen OH, Hansen N, de Jonge LW, and Olsen P. 2011. Transport modes and pathways of the strongly sorbing pesticides glyphosate and pendimethalin through structured drained soils. *Chemosphere* 84, 471-479.
- Kremer RJ & Means NE. 2009. Glyphosate and glyphosate-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms. *Eur. J. Agron.* 31, 153-161.
- Kremer R, Means N, and Kim S. 2005. Glyphosate affects soybean root exudation and rhizosphere microorganisms. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 85, 1165-1174.
- Laitinen P, Rämö S, Nikunen U, Jauhiainen L, Siimes K, and Turtola E. 2009. Glyphosate and phosphorus leaching and residues in boreal sandy soil. *Plant Soil* 323, 267-283.
- Laitinen P, Rämö S, and Siimes K. 2007. Glyphosate translocation from plants to soil - Does this constitute a significant proportion of residues in soil? *Plant Soil* 300, 51-60.
- Laitinen P, Siimes K, Eronen L, Rämö S, Welling L, Oinonen S, Mattsoff L, and Ruohonen-Lehto M. 2006. Fate of the herbicides glyphosate, glufosinate-ammonium, phenmedipham, ethofumesate and met- amitron in two Finnish arable soils. *Pest Manage. Sci.* 62, 473-491.
- Lee SH, Ka JO, and Cho JC. 2008. Members of the phylum *Acidobacteria* are dominant and metabolically active in rhizosphere soil. *FEMS Microbiol. Lett.* 285, 263-269.
- Lévesque CA & Rahe JE. 1992. Herbicide interactions with fungal root pathogens, with special reference to glyphosate. *Annu. Rev. Phytopathol.* 30, 579-602.
- Lugtenberg B & Kamilova F. 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63, 541-556.
- Masiunas JB & Weller SC. 1988. Glyphosate activity in potato (*Solanum tuberosum*) under different temperature regimes and light levels. *Weed Sci.* 36, 137-140.
- Mesa-García J, De Haro A, and García-Torres L. 1984. Phytotoxicity and yield response of broad bean (*Vicia faba*) to glyphosate. *Weed Sci.* 32, 445-450.

- Mijangos I, Becerril JM, Albizu I, Epelde L, and Garbisu C. 2009. Effects of glyphosate on rhizosphere soil microbial communities under two different plant compositions by cultivation-dependent and -independent methodologies. *Soil Biol. Biochem.* 41, 505-513.
- Munira S, Farenhorst A, Flaten D, and Grant C. 2016. Phosphate fertilizer impacts on glyphosate sorption by soil. *Chemosphere* 153, 471-477.
- Myers JP, Antoniou MN, Blumberg B, Carroll L, Colborn T, Everett LG, Hansen M, Landrigan PJ, Lanphear BP, Mesnage R, *et al.* 2016. Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: a consensus statement. *Environ. Health* 15, 19.
- Neumann G, Kohls S, Landsberg E, Stock-Oliveira Souza K, Yamada T, and Römheld V. 2006. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. *J. Plant. Dis. Prot.* 963-969.
- Newman MM, Hoilett N, Lorenz N, Dick RP, Liles MR, Ramsier C, and Kloepper JW. 2016a. Glyphosate effects on soil rhizosphere-associated bacterial communities. *Sci. Total Environ.* 543, 155-160.
- Newman MM, Lorenz N, Hoilett N, Lee NR, Dick RP, Liles MR, Ramsier C, and Kloepper JW. 2016b. Changes in rhizosphere bacterial gene expression following glyphosate treatment. *Sci. Total Environ.* 553, 32-41.
- Nguyen DB, Rose MT, Rose TJ, Morris SG, and van Zwieten L. 2016. Impact of glyphosate on soil microbial biomass and respiration: A meta-analysis. *Soil Biol. Biochem.* 92, 50-57.
- Nicholls PH & Evans AA. 1991. Sorption of ionisable organic compounds by field soils. Part 2: Cations, bases and zwitterions. *Pestic. Sci.* 33, 331-345.
- Nomura NS & Hilton HW. 1977. The adsorption and degradation of glyphosate in five Hawaiian sugarcane soils. *Weed Res.* 17, 113-121.
- Okada E, Costa JL, and Bedmar F. 2016. Adsorption and mobility of glyphosate in different soils under no-till and conventional tillage. *Geoderma* 263, 78-85.
- Olszyk D, Pflieger T, Lee E, and Plocher M. 2010. Potato (*Solanum tuberosum*) greenhouse tuber production as an assay for asexual reproduction effects from herbicides. *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 111-121.
- Peter H, Beier S, Bertilsson S, Lindström ES, Langenheder S, and Tranvik LJ. 2011. Function-specific response to depletion of microbial diversity. *Isme J.* 5, 351-361.
- Philippot L, Raaijmakers JM, Lemanceau P, and Van Der Putten, W H. 2013. Going back to the roots: The microbial ecology of the rhizosphere. *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 789-799.
- Platkowski M & Telesiński A. 2016. Response of soil phosphatases to glyphosate and its formulations - Roundup (laboratory conditions). *Plant Soil Environ.* 62, 286-292.
- Reddy KN, Rimando AM, and Duke SO. 2004. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. *J. Agric. Food Chem.* 52, 5139-5143.
- Richard S, Moslemi S, Sipahutar H, Benachour N, and Seralini GE. 2005. Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. *Environ. Health Perspect.* 113, 716-720.
- Roy DN, Konar SK, Banerjee S, Charles DA, Thompson DG, and Prasad R. 1989. Persistence, movement, and degradation of glyphosate in selected Canadian boreal forest soils. *J. Agric. Food Chem.* 37, 437-440.
- Schrübbbers LC, Valverde BE, Strobel BW, and Cedergreen N. 2016. Glyphosate accumulation, translocation, and biological effects in *Coffea arabica* after single and multiple exposures. *Eur. J. Agron.* 74, 133-143.
- Senem Su Y, Ozturk L, Cakmak I, and Budak H. 2009. Turfgrass species response exposed to increasing rates of glyphosate application. *Eur. J. Agron.* 31, 120-125.

- Shaner DL. 2009. Role of translocation as a mechanism of resistance to glyphosate. *Weed Sci.* 57, 118-123.
- Sheng M, Hamel C, and Fernandez MR. 2012. Cropping practices modulate the impact of glyphosate on arbuscular mycorrhizal fungi and rhizosphere bacteria in agroecosystems of the semiarid prairie. *Can. J. Microbiol.* 58, 990-1001.
- Smid D & Hiller LK. 1981. Phytotoxicity and translocation of glyphosate in the potato (*Solanum tuberosum*) prior to tuber initiation. *Weed Sci.* 29, 218-223.
- Smith AE & Aubin AJ. 1993. Degradation of 14 C-glyphosate in Saskatchewan soils. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 50, 499-505.
- Stenrød M, Eklo OM, Charnay M, and Benoit P. 2005. Effect of freezing and thawing on microbial activity and glyphosate degradation in two Norwegian soils. *Pest Manag. Sci.* 61, 887-898.
- Ternan NG, Mc Grath JW, Mc Mullan G, and Quinn JP. 1998. Review: organophosphonates: occurrence, synthesis and biodegradation by microorganisms. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 14, 635-647.
- Tsui MTK & Chu LM. 2003. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere* 52, 1189-1197.
- Stursová M, Zifčáková L, Leigh MB, Burgess R, and Baldrian P. 2012. Cellulose utilization in forest litter and soil: identification of bacterial and fungal decomposers. *FEMS Microbiol. Ecol.* 80, 735-746.
- Uren Webster TM, Laing LV, Florance H, and Santos EM. 2014. Effects of glyphosate and its formulation, Roundup, on reproduction in zebrafish (*Danio rerio*). *Environ. Sci. Technol.* 48, 1271-1279.
- van Toor RF, Hayes AL, Cooke BK, and Holloway PJ. 1994. Relationships between the herbicidal activity and foliar uptake of surfactant-containing solutions of glyphosate applied to foliage of oats and field beans. *Crop Prot.* 13, 260-270.
- Vereecken H. 2005. Mobility and leaching of glyphosate: a review. *Pest Manag. Sci.* 61, 1139-1151.
- Wang JB, Chen ZH, Chen LJ, Zhu AN, and Wu ZJ. 2011. Surface soil phosphorus and phosphatase activities affected by tillage and crop residue input amounts. *Plant Soil Environ.* 57, 251-257.
- Wardle DA & Parkinson D. 1992. Influence of the herbicides 2,4-D and glyphosate on soil microbial biomass and activity: a field experiment. *Soil Biol. Biochem.* 24, 185-186.
- Woodburn AT. 2000. Glyphosate: production, pricing and use worldwide. *Pest Manage. Sci.* 56, 309-312.
- Yamada T, Kremer RJ, de Camargo e Castro PR, and Wood BW. 2009. Glyphosate interactions with physiology, nutrition, and diseases of plants: Threat to agricultural sustainability? *Eur. J. Agron.* 31, 111-113.
- Yoshioka N, Asano M, Kuse A, Mitsuhashi T, Nagasaki Y, and Ueno Y. 2011. Rapid determination of glyphosate, glufosinate, bialaphos, and their major metabolites in serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using hydrophilic interaction chromatography. *J. Chromatogr. A* 1218, 3675-3680.
- Global Market Insight. 2017. Glyphosate Market Size By Application (Conventional crops, GM crops), Industry Analysis Report, Regional Outlook (U.S, Canada, Germany, UK, France, Italy, Spain, Russia, China, India, Japan, Australia, South Korea, Malaysia, Indonesia, Brazil, Argentina, Mexico, Saudi Arabia, UAE, South Africa) Application Potential, Price Trends, Competitive Market Share & Forecast, 2016–2024.
<<https://www.gminsights.com/industry-analysis/glyphosate-market>> [Luettu 28.3.2017]