



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

**Glyfosaattipohjaisen kasvintorjunta-aineen vaikutus *Beauveria bassiana*
-sienen kasvuun petrimaljoissa**

Oskar Connell

Biologia (linja)

LuK-tutkielma

Laajuus: 8 op

21.03.2025

Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu

Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

LuK-tutkielma

Pääaine: Biologia

Tekijä: Oskar Connell

Otsikko: Glyfosaattipohjaisen kasvintorjunta-aineen vaikutus *Beauveria bassiana* -sienen kasvuun petrimaljoissa

Ohjaaja: Marjo Helander

Sivumäärä: 18 sivua

Päivämäärä: 21.03.2025

Beauveria bassiana on hyönteisiä ja hämähäkkieläimiä tappava lois-sieni. Tästä syystä sitä voidaan käytetään maataloudessa tuholaishyönteisten biologiseen torjuntaan. Glyfosaatti taas on rikkakasvien torjuntaan käytetty synteettinen kemikaali, johon glyfosaattipohjaisten torjunta-aineiden (GBH="glyphosate based herbicide") vaikutus pohjautuu. GBH:t ovat maailman käytetyimpiä torjunta-aineita, joiden turvallisuus ympäristölle ja ihmisille on kiisteltyä. Tämän kandiditutkielman tarkoitus on selvittää vaikuttaako puhdas glyfosaatti tai GBH *B. bassianan* kasvuun. Kokeessa *B. bassiana* kasvatettiin petrimaljoissa, joissa oli eri määriä joko glyfosaattia tai GBH:ta, ja sienten kasvua mitattiin neljän viikon ajan. Kokeen perusteella glyfosaatti hidastaa *B. bassianan* kasvua, mutta GBH ei hidastanut sienen kasvua puhdasta glyfosaattia enempää. Kokeen tulokset herättivät kysymyksiä mahdollisista ajasta riippuvista tekijöistä, joissa glyfosaatti ja GBH vaikuttaisivat *B. bassianan* kasvuun eri tavoilla kasvatuksen alku- ja loppuvaiheilla. Kokeessa testattiin kuitenkin vain yhtä GBH:ta, joten kokeen tuloksia ei voida yleistää kaikkiin GBH:ihin.

Avainsanat: *Beauveria bassiana*, glyfosaatti, glyfosaattipohjainen herbisidi

Sisällys

1 Johdanto.....	1
1.1 Beauveria bassiana.....	1
1.2 Glyfosaatti ja GBH.....	2
1.3 Beauveria bassiana ja glyfosaatti.....	5
1.4 Tutkimuskysymys ja hypoteesi.....	5
2 Aineisto ja menetelmät.....	6
3 Tulokset.....	8
4 Tulosten tarkastelu.....	11
5 Kiitokset.....	13
6 Lähteet.....	14

1 Johdanto

1.1 *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana on laajalla alueella maailmassa esiintyvä kotelosieniin kuuluva lajikompleksi (Gasmi ym. 2021), joka aiheuttaa kuolemaan johtavaa tautia joissakin hyönteisissä ja hämähäkkieläimissä. Isäntälajeja löytyy ainakin nivelkärsäisistä, heinäsirkoista, ripsiäisistä, termiiteistä, muurahaisista, kärpäsisistä, kovakuoriaisista, perhosista ja punkeista. Erilaisia tunnettuja isäntälajeja on yli 700 (Ortiz-Urquiza 2021). Tutkimuksissa *Beauveria bassiana* on myös tappanut tehokkaasti lutikoita (Barbarin ym. 2012). Hyvin harvoin *B. bassiana* voi aiheuttaa selkärangkaisissa tulehdusta, ja yksittäisiä tautitapauksia on löytynyt muun muassa matelijoilta (Schmidt 2015) ja immuunipuutoksesta kärsiviltä ihmisillä (Tucker ym. 2004).

Hyönteisten lisäksi *Beauveria bassiana* voi kasvaa saprotrofina (eli karikkeenlahottajana) maaperässä tai endofyyttisienenä kasveissa, jolloin se muodostaa mutualistisen suhteen kasvin kanssa. *B. bassiana* saa kasvilta sokereita ja hyvän kasvusijainnin hyönteisiin tarttumista varten. Kasvi taas saa sieneltä puolustusta hyönteisiä vastaan. Hyönteis-patogeenisuuden lisäksi *B. bassiana* mahdollisesti tuottaa toksiineja, jotka ovat haitallisia hyönteisille, tai indusoi tämänlaisten toksiinien tuottoa kasveissa (Ortiz-Urquiza 2021). *B. bassiana* lisääntyy suvuttomasti, mutta Itä-Aasiasta on löytynyt suvullisesti lisääntyvä muoto, jolle on annettu tieteellinen nimi *Cordyceps bassiana* (Li ym. 2001).

B. bassiana on valjastettu käytettäväksi tuholaišhyönteisten torjuntaan. *B. bassiana* -pohjaiset torjunta-aineet sisältävät sienen itiöitä. Itiöt sekoitetaan kasviöljypohjaiseen seokseen, kapseloidaan mikroskooppisiin biopolymeereihin tai lisätään syöttinä toimivaan hyönteisruokaan (esim. teelehti jätteeseen) (Felizatti ym. 2021; García-Estrada ym. 2016).

1.2 Glyfosaatti ja GBH

Glyfosaatti on hapan organofosfaatti, jonka glyfosaattisuoloja käytetään rikkakasvien kemialliseen torjuntaan. Glyfosaattia käytetään glyfosaattipohjaisissa kasvintorjunta-aineissa (GBH=Glyphosate based herbicide), jotka sisältävät paljon muutakin kuin glyfosaattisuoloja. Ensimmäinen GBH oli Monsanto yrityksen kehittämä Roundup. Roundupin nykyinen valmistaja on Bayer, joka osti Monsanto vuonna 2018. Vuoden 2000 jälkeen patentin vanhennettua myös muut valmistajat ovat valmistaneet GBH:ta. Vuonna 2010 Yhdysvalloissa oli myynnissä yli 750 erilaista glyfosaattipohjaista tuotemerkkiä (Benbrook 2016; Henderson ym. 2010)

Glyfosaatti inhiboi 5-enolipyruvyylishikimaatti-3-fosfaattisyntaasi entsyymiä, jota kasvit, sienet, bakteerit, arkit, levät ja monet alkueläimet käyttävät sikimaattikierrossa. Sikimaattikierrossa valmistuu korismaattia, joka on aromaattisten aminohappojen (tryptofaanin, fenyyialaniinin ja tyrosiinin) esiaste (Helander ym. 2012). Lisäksi korismaatti on välttämätön ainesosa salisyalaattien, B9- ja K1-vitamiinien sekä monen muun aineen biosynteesissä (Dosselaere ja Vanderleyden 2001; Tohge ja Fernie 2017).

Glyfosaatti ei estä itämättömien vilja- tai rikkakasvien itämistä, joten sitä voidaan käyttää maanviljelyssä rikkakasvien torjuntaan ennen viljakasvin itämistä. Myös geneettisesti muokattuja glyfosaattiresistenttejä viljalajikkeita on kehitetty, mikä mahdollistaa glyfosaatin käytön viljelmillä myös viljakasvin itämisen jälkeen. EU:ssa ei tällä hetkellä (vuonna 2025) kasvateta geneettisesti muokattuja lajikkeita ihmisten ruuaksi (EFSA 2025). Nykyään monet rikkakasvitkin ovat luonnonvalinnan takia kehittyneet kestävämmän glyfosaattia paremmin (Baek ym. 2021).

Glyfosaattia käytetään myös viljakasvien pakkotuulennuttamiseen. Pakkotuulennuttaminen tarkoittaa viljakasvin tappamista torjunta-aineilla tai vesakkomyrkyllä juuri ennen sadonkorjuuta. Kuollut viljakasvi kuivuu nopeasti, joten tavallisesti aikaa vievää sadon kuivatusvaihetta (eli tuulennuttamista) voidaan pakkotuulennuttamisella nopeuttaa. Pakkotuulennuttaminen glyfosaatilla on Suomessa kielletty. Glyfosaattia voidaan kuitenkin joissakin tapauksissa ruiskuttaa jo valmiiksi

tuulentuneen eläimen rehuviljan sekaan ennen sadonkorjuuta (Turvallisuus- ja kemikaalivirasto 2020).

Glyfosaatin puoliintumisaika mullassa vaihtelee välillä 1-197 päivää, riippuen etenkin sääolosuhteista (kylmempi sää = pidempi puoliintumisaika). Glyfosaatti hajoaa aminometyylifosfonihapoksi (AMPA) lähinnä maaperän mikrobien toiminnan seurauksena. AMPA:n puoliintumsajan on arvioitu olevan 23-958 päivää (Bento ym. 2016).

Glyfosaatin jäämiä löytyy eniten viljoista ja vaeviljoista (kuten tattarista), sekä palkokasveista (Martins-Gomes ym. 2022). Maailmanlaajuisesti yli puolet glyfosaatti- ja AMPA-päästöistä on peräisin soija- tai maissipelloilta (Q. Zhang ym. 2024).

GBH:iden reseptit ovat liikesalaisuuksia. Ongelmana on, että glyfosaattia tutkitaan usein yksinään, vaikka käytännössä glyfosaattia käytetään aina seoksena muihin kemikaaleihin sekoitettuna. GBH-tuotteiden sisällöt vaihtelevat paljon valmistajien välillä, mikä vähentää GBH:ihin kohdistuvien tutkimusten yleistettävyyttä.

Eräs tutkimus analysoi kemiallisesti eri valmistajien GBH:ita (Defarge ym. 2018). Kyseinen tutkimus löysi GBH:ista monia raskasmetalleja. Suurin osa analysoiduista GBH:sta sisälsi etenkin arseenia monikertaisella konsentraatiolla verrattuna EU:n määrittämään sallittuun pitoisuuteen vedessä. Ei ole selvää, että miksi GBH:t sisältävät raskasmetalleja. Raskasmetalleja voi olla tuotteessa muiden ainesosien mukana tulevana jäminä, tai esim. arseenia saatetaan tahallaan lisätä GBH:ihin (arseenia käytettiin aiemmin torjunta-aineena, nykyään sen käyttö on kiellettyä) (Defarge ym. 2018).

Monista GBH:ista on löytynyt myös öljystä tislamalla tuotettua polyetoksyloitua taliialkyyliamiinia (POEA), jota käytetään GBH:issa tensidinä ja emulgointiaineena. POEA yksinään tappaa tutkimusten mukaan kasveja tehokkaammin kuin pelkkä glyfosaatti, ja on myös muille eliöille (etenkin akvaattisille) paljon myrkyllisempi (Defarge ym. 2018). POEA on kielletty EU:ssa (EcoWatch 2016).

GBH:t lienevät keskimäärin myrkyllisempiä kuin mitä puhdas glyfosaatti on (Marino ym. 2021; Mazuryk ym. 2024b, 2024a). Suuret GBH altistukset voivat olla tappavia, ja GBH:iden tappavuus on arvioitu johtuvan pitkälti niihin mahdollisesti sisältyvistä POEA:sta ja raskasmetalleista (Mazuryk ym. 2024b).

Glyfosaattitutkimuksen yhteiskunnallisella, poliittisella, ja taloudellisella kontekstilla on suuri vaikutus tutkimustuloksiin. Eräissä otoksessa torjunta-aineyritysten teettämistä tutkimuksista vain 1 % löysi glyfosaatilta ja GBH:lta haittavaikutuksia ihmisille, kun taas vastaavista riippumattomista tutkimuksista 70% löysi haittavaikutuksia (Benbrook 2019).

Japanin “Food Safety Commission of Japan” (FSCJ) totesi glyfosaatin aiheuttavan alhaisempaa kehon painoa, sekä haittavaikutuksia ruuansulatuselimistölle ja maksalle (Food Safety Commission of Japan 2016). Ihmisten suoliston mikrobiomi ei pysty hajoittamaan glyfosaattia, ja noin 54% ihmisten suoliston mikrobiomistosta on geneettisen analyysin perusteella glyfosaatille herkkä (Huch ym. 2022; Leino ym. 2021; Puigbò ym. 2022).

Rinta- ja maksasyövän riski korreloi virtsan glyfosaatti- ja AMPA-pitoisuuksien kanssa (Patel ym. 2024). Non-hodkinin lymfooma on ollut paljon julkisuudessa glyfosaatin mahdollisena terveyshaittana, mutta siihen liittyvät tulokset ovat ristiriitaisia (Boffetta ym. 2021; Hardell ym. 2023; L. Zhang ym. 2019).

On olemassa näyttöä myös siitä, että glyfosaatilla tai AMPA:lla saattaisi olla monenlaisia neurotoksisia vaikutuksia ihmisiin ja eläimiin (Bartholomew ym. 2024; Costas-Ferreira ym. 2022; Hsiao ym. 2023; Marins ym. 2024; Pu ym. 2020; Seneff ym. 2024) , mutta glyfosaatti-alan rahoittamat tutkimukset ovat asiasta eri mieltä (Chang ym. 2023; Moser ym. 2022). Glyfosaatti saattaa aiheuttaa tai lisätä muun muassa huonompaa lähimuistia, masennusta, kuulo-ongelmia, autismin kaltaisia oireita tai alzheimerin taudin oireita.

Glyfosaatin terveyshaitoista löytyy hyvin paljon tutkimusta hyvin monenlaisista mahdollisista terveyshaitoista, ja tässä kandidatiokielmässä on mainittu niistä hyvin pieni osuus. Glyfosaatin ja GBH:iden turvallisuus ihmisille, muille eliöille ja luonnolle yleisesti on kiisteltyä. Torjunta-aine alan vaikutus, GBH:iden salaisten reseptien heterogeenisuus, mahdollinen julkaisuharhan vaikutus ja syy-seuraussuhteiden todentamisen haastavuus ovat kaikki tekijöinä omiaan vaikeuttamaan tulkintaa.

1.3 *Beuveria bassiana* ja glyfosaatti

Beuveria bassiana ei ole resistentti glyfosaatille. Aiemmassa tutkimuksessa, jossa sientä kasvatettiin agarilla petrimaljoissa, puhdas glyfosaatti ei vaikuttanut *B. Bassianaan* millään tavalla, mutta GBH:t hidastivat *B. bassianan* kasvua (Morjan ym. 2002). Erään tutkimuksen mukaan glyfosaattialtistus lisäsi silkkiperhosen (*Bombyx mori*) toukan koulleisuutta *B. bassiana* infektiioon nelinkertaisesti. On mahdollista, että glyfosaattialtistus aiheuttaa jonkinäköistä immuunipuutostilaa silkkiperhosissa (Feng ym. 2023).

1.4 Tutkimuskysymys ja hypoteesi

Tutkimuksen tarkoitus on selvittää, vaikuttaako glyfosaatti tai GBH *B. bassiana* sienen kasvuun. Aiemman tutkimuksen perusteella puhdas glyfosaatti oletettavasti ei tule vaikuttamaan *B. bassianan* kasvuun tilastollisesti merkitsevällä tavalla, mutta GBH:n oletetaan hidastavan *B. bassianan* kasvua. (Morjan ym. 2002).

2 Aineisto ja menetelmät

B. bassiana sientä kasvatettiin petrimaljoissa PDA (potato dextrose agar) alustoilla laboratorioissa huoneenlämmössä. Petrimaljojen sisähalkaisija oli 8.4 cm. Käsittely- ja kontrolliryhmiä oli viisi ja petrimaljoja oli viisi kappaletta per ryhmä, yhteensä siis 25 petrimaljaa. Petrimaljoissa oli kenttäolosuhteita vastaavia määriä joko puhdasta glyfosaattia tai GBH:ta (taulukko 2). Taulukossa 1 on tietoa ryhmistä.

Taulukko 1: Käsittely- ja kontrolliryhmien lyhenteet ja selitteet. Puhtaan glyfosaatin ja GBH:n glyfosaattikonsentraatio oli sama, joten kokeen käsittelyryhmät vastasivat toisiaan glyfosaatin määrän osalta (G-L = GBH-L ja G-H = GBH-H).

Käsittely- ja kontrolliryhmät

Ryhmä	Lyhenne	Selite
Kontrolli	K	Kasvatusalustaan ei lisätty mitään.
Glyfosaatti-laimea	G-L	Kasvatusalustaan lisättiin 0,5 ml puhdasta glyfosaattia sisältävää liuosta.
Glyfosaatti-väkevä	G-H	Kasvatusalustaan lisättiin 1,0 ml puhdasta glyfosaattia sisältävää liuosta.
GBH-laimea*	GBH-L*	Kasvatusalustaan lisättiin 0,5 ml GBH:ta.*
GBH-väkevä*	GBH-H*	Kasvatusalustaan lisättiin 1,0 ml GBH:ta.*

*GBH = Glyfosaatti pohjainen herbisidi ("Glyphosate based herbicide")

Taulukko 2 : Kokeessa käytetyt tuotteet.

Kokeessa käytetyt tuotteet

Tuote	Tarkemmin
Puhdas glyfosaatti	Puhdas glyfosaatti valmistajalta Sigma-Aldrich (CAS: 1071-83-6, tuotenumero: 45521), joka liuotettiin veteen (konsentraatio 480 g/l).
Glyfosaattipohjainen herbisidi	Roundup Flex -tuotemerkkiä valmistajalta Bayer (CAS: 6229-014-3, glyfosaatin konsentraatio 480 g/l).
Beauveria bassiana	B. bassianan ATCC74040 -kanta, tuotemerkkiä Naturalis, valmistajalta Biogard.

*B. bassiana*a siirrostettiin steriloidussa vetokaapissa petrimaljojen keskelle, jonka jälkeen maljat suljettiin parafilmilla (kuva 1). Kaikki siirrostukset tehtiin saman session

aikana. Sienikasvustoa suunniteltiin mitattavan 5-8 päivän välein noin kuuden viikon ajan siirrostuksen jälkeen.

Koska *B. bassiana* kasvusto ei välttämättä ole ympyränmuotoinen, kasvustokohtainen halkaisija laskettiin ottamalla kasvuston pisimmän ja lyhyimmän halkaisijan keskiarvo. Tulokset kirjattiin millimetrin tarkkuudella. Sienikasvuston halkaisijaa mitattiin viivoittimella petrimaljan pinnalta, joten petrimaljoja ei avattu mittausta varten (tai mistään muustakaan syystä siirrostamisen jälkeen). Mittaukset tehtiin satunnaisessa järjestyksessä, ja jokaisen mittauskerran jälkeen petrimaljat aseteltiin laboratorion pöydälle pinoihin satunnaisessa järjestyksessä.

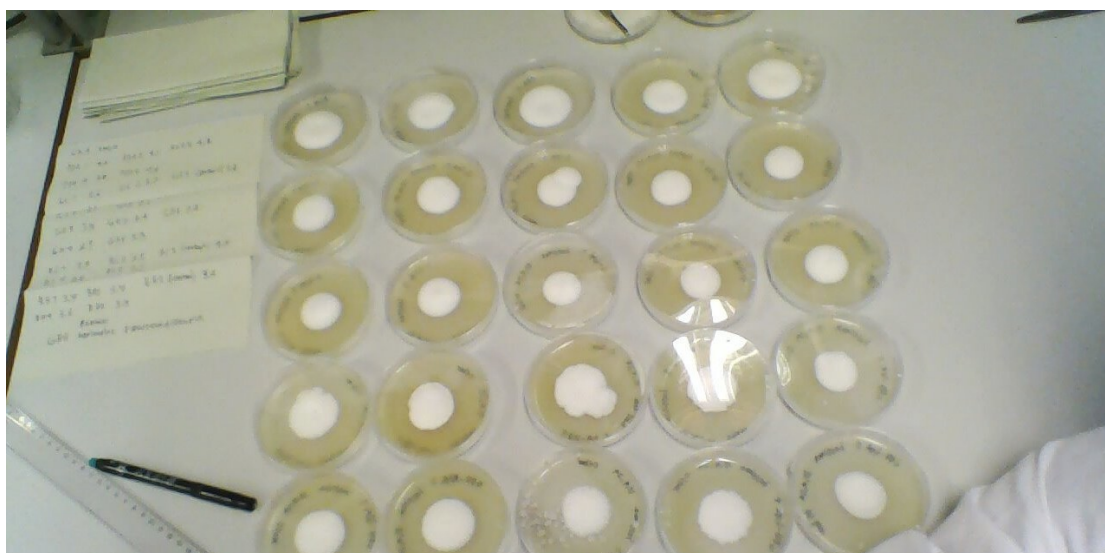
Tulosten tilastolliseen analyysiin käytettiin ”CGGC permutation test” menetelmää (CGGC = ”Compare Groups of Growth Curves”), jonka suorittamista varten löytyy nettisivu (Compare Groups of Growth Curves ei pvm.; Elso ym. 2004). Nettisivu tekee analyysin R-ohjelmointikielen statmod kirjaston ”compareGrowthCurves” funktion avulla. CGGC valittiin tämän tutkimuksen tilastollista analyysia varten sen takia, että sillä voidaan analysoida kasvatusryhmien kaikkia mittauksia kerralla yksittäisten mittauskertojen sijaan. Menetelmä soveltuu myös pienemmille otoskoille.

CGGC vertailee jokaista mahdollista kasvatusryhmäparia keskenään permutaatiotestin avulla. Tässä permutaatiotestissä jaetaan kasvatusryhmäparin petrimaljat uudelleen kahteen ryhmään monta kertaa, eli toisin sanottuna testissä tuotetaan permutaatioita uudelleenotostamalla. Käytetty permutaatioiden määrä oli 10 000. Alkuperäisen ryhmäparin välille lasketaan t-testisuure, ja tätä verrataan permutaatioille laskettujen t-testisuureiden jakaumaan merkitsevyyden selvittämistä varten (esim. p-arvoksi muodostuu 0.04 jos 4% permutaatioiden t-testisuureista on ryhmäparin t-testisuuretta suurempia).

3 Tulokset

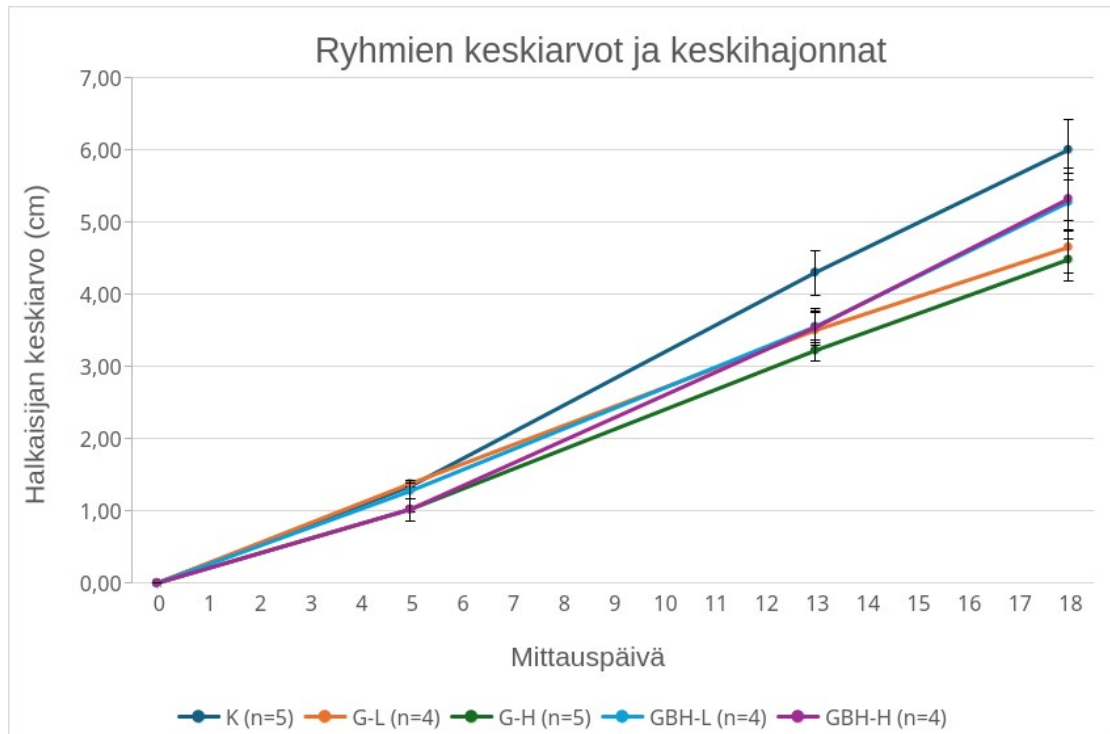
Sienet siirrostettiin päivänä 0, ja mittaukset tehtiin päivinä 5, 13, 18, 25 ja 30, jossa numero viittaa siirrostuksesta kuluneiden päivien määrään. Siirrotuspäivämäärä oli 10.04.2024.

Kolmessa petrimaljassa siirrostus epäonnistui, ja näitä petrimaljoja ei huomioitu tuloksissa. Kahdessa petrimaljassa *B. bassiana* oli levinnyt siirrostuksessa petrimaljan keskipisteen lisäksi muualle petrimaljaan, ja yhteen petrimaljaan kasvoi *B. bassianan* lisäksi jokin muu sieni. Nämä petrimaljat olivat ryhmissä G-L, GBH-L ja GBH-H, joten näiden käsittelyryhmien lopullinen otoskoko oli neljä.

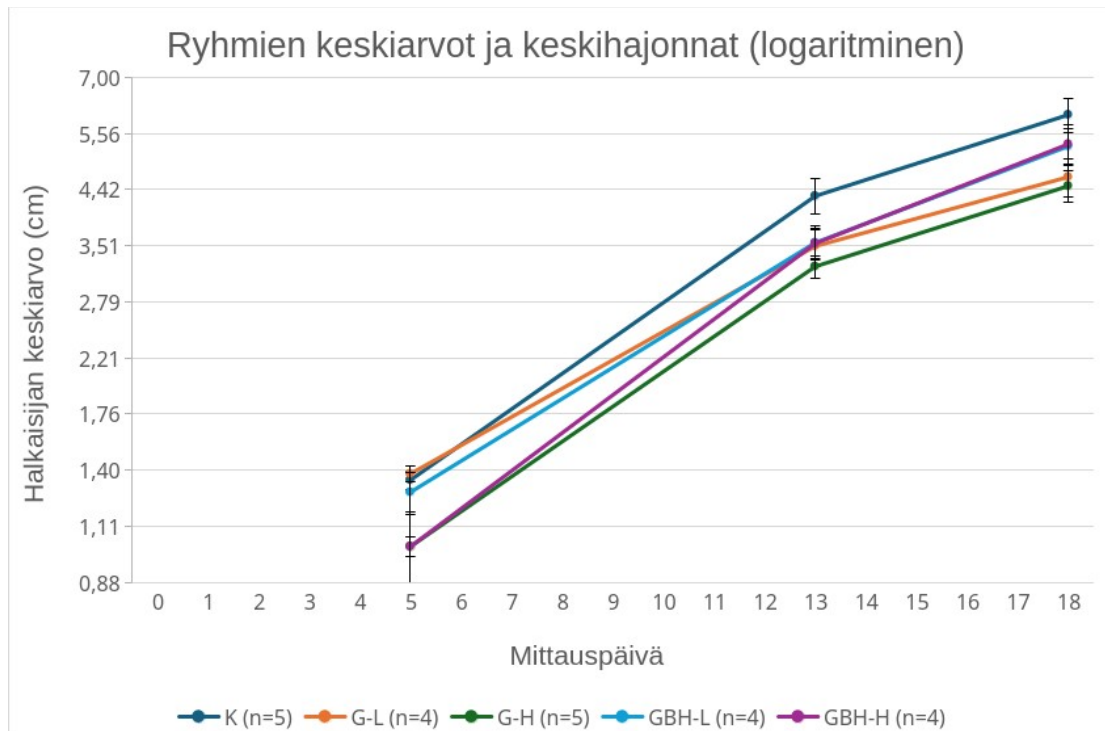


Kuva 1: Kokeen *Beauveria bassiana* sienikasvatukset laboratoriossa.

Kahta viimeisintä mittauskertaa (mittauspäivät 25 ja 30) ei myöskään otettu mukaan lopullisiin tuloksiin. Tämä johtuu siitä, että sienien kasvunopeus laski selkeästi, kun kasvusto lähestyi petrimaljan reunaa. Näin vaikutti tapahtuvan silloin, kun kasvuston keskiarvoinen halkaisija oli yli 7 cm. Mittauspäivänä 25 osa sienikasvustoista oli jo yli 7 cm (suurin oli 7,9 cm), jolloin eri kasvustojen kasvunopeudet eivät olleet enää vertailukelpoisia. *B. bassianan* kasvu oli odotettua nopeampaa, ja esimerkiksi kontrollikasvatusten kasvunopeus ensimmäisen 18 päivän aikana oli keskimäärin 1/3 cm per päivä. Tämänlaisella kasvunopeudella *B. bassianan* halkaisija kasvaa 7 cm mittaiseksi 21 päivässä eli kolmessa viikossa.



Kuva 2: Käsittely- ja kontrolliryhmien keskiarvolliset kasvukäyrät. Pisteet ovat ryhmien kasvustojen halkaisijoiden keskiarvoja tietyillä mittauskerroilla. Näille keskiarvoille on laskettu myös keskihajonnat, jotka näkyvät pieninä hajontahaarukoina pisteiden ympärillä. Kaavion alalaidassa on kerrottu ryhmien nimet sekä otoskoot sulkeissa. K = Kontrolli, G = Glyphosaatti, GBH = Glyphosaattipohjainen herbisidi, L = Laimea, H = Väkevä. Tarkemmat tiedot ryhmistä löytyvät taulukosta 1.



Kuva 3: Käsittely- ja kontrolliryhmien keskiarvolliset kasvukäyrät logaritmisella asteikolla. Pisteet ovat ryhmien kasvustojen halkaisijoiden keskiarvoja tietyillä mittauseroilla. Näille keskiarvoille on laskettu myös keskihajonnat, jotka näkyvät pieninä hajontahaarukoina pisteiden ympärillä. Kaavion alalaidassa on kerrottu ryhmien nimet sekä otoskoot sulkeissa. K = Kontrolli, G = Glyfosaatti, GBH = Glyfosaattipohjainen herbisidi, L = Laimea, H = Väkevä. Tarkemmat tiedot ryhmistä löytyvät taulukosta 1 (luvussa aineisto ja menetelmät).

Taulukko 3: Vasemmanpuoleiset kaksi saraketta kertovat, että mitä kahta ryhmää vertaillaan kyseisellä rivillä parittaisesti. CGGC menetelmästä ja sen tulkinnasta löytyy lisää tietoa luvun 2 (aineisto ja menetelmät) lopusta.

CGGC analyysin tulokset

Ryhmä 1	Ryhmä 2	T-arvo	P-arvo	P-arvo < 0.05	P-arvo < 0.01
G-H	G-L	4.553	0.0078	Kyllä	Kyllä
G-H	GBH-H	-2.359	0.0133	Kyllä	Ei
G-H	GBH-L	-3.165	0.0064	Kyllä	Kyllä
G-H	PDA	7.469	0.0078	Kyllä	Kyllä
G-L	GBH-H	1.435	0.0872	Ei	Ei
G-L	GBH-L	-0.256	0.775	Ei	Ei
G-L	PDA	2.367	0.0234	Kyllä	Ei
GBH-H	GBH-L	0.912	0.3095	Ei	Ei
GBH-H	PDA	4.337	0.0074	Kyllä	Kyllä
GBH-L	PDA	2.286	0.0326	Kyllä	Ei

Kontrollikasvatusten (K) kasvukäyrä eroaa merkitsevästi kaikista glyfosaatti- ja GBH-käsittelyistä (taulukko 3), mikäli merkitsevyyden ehtona käytetään yleisintä rajaa, jossa $P\text{-arvo} < 0,05$. Kontrollikasvatukset kasvoivat kaikista ryhmistä nopeiten.

Myös Glyfosaatti-väkevä (G-H) -ryhmä eroaa kaikista muista kasvukäyristä merkitsevästi. G-H ryhmä oli erityisen hidaskasvuinen. Muiden glyfosaatti- ja GBH-käsittelyryhmien kasvukäyrät eivät eroa toisistaan tilastollisesti merkitsevällä tavalla.

Logaritmista kuvaajaa (kuva 3) tarkastelemalla voi nähdä, että alussa korkean glyfosaattipitoisuuden ryhmät (G-H ja GBH-H) kasvoivat kaikista hitaiten, mutta loppua kohden hitaiten kasvoivat puhtaan glyfosaatin ryhmät (G-H ja G-L). Kasvun mahdollisia ajasta riippuvia tekijöitä on pohdittu tulosten tarkastelussa.

4 Tulosten tarkastelu

Glyfosaatti hidasti merkitsevästi *B. bassianan* kasvua. GBH:n muut komponentit eivät hidastaneet kasvua, ainakaan kyseisenlaisena seoksena tai tavalla, joka olisi näkynyt tässä kokeessa. Tulokset poikkeavat siis aiemmasta tutkimuksesta (Morjan ym. 2002), jossa pelkästään GBH vaikutti *B. bassianan* kasvuun, mutta puhdas glyfosaatti ei vaikuttanut. Kyseisen tutkimuksen metodologia poikkesi kuitenkin tämän kokeen metodeista.

Kokeessa on testattu pelkästään yhdenlaista GBH:ta, Roundup Flexiä (ks. Taulukko 2), joten kokeen tulokset eivät välttämättä edusta kaikkien GBH:iden vaikutuksia *B. bassianan* kasvuun. Erilainen GBH-resepti voikin olla syynä tai osasyynä siihen, että tämän kokeen tulokset poikkeavat aiemmasta kirjallisuudesta.

On mahdollista, että kasvun nopeuteen vaikuttavat mekanismit ovat ajasta riippuvaisia (kuva 3). Voi esimerkiksi olla, että glyfosaatin kasvua hidastava vaikutus pienenee tai katoaa kasvun myöhemmässä vaiheessa tai glyfosaatti jollain tavalla hajoaa ajan myötä. Lisäksi voi olla, että GBH:ssa on jokin ainesosa, joka jostain syystä kompensoi tai estää

glyfosaatin kasvua hidastavaa vaikutusta varsinkin kasvun myöhemmässä vaiheessa. Niinkin voi olla, että *B. bassiana* sopeutuu kasvuolosuhteisiinsa ajan kuluessa esimerkiksi geeniekspression avulla. On myös mahdollista, että tilanne johtuu tilastollisesta sattumasta. Olisi mielenkiintoista nähdä, että toistuuko tämä tilanne mahdollisissa tulevaisuuden toistokokeissa.

Mikäli kasvuun vaikuttavat mekanismit ja olosuhteet pysyisivät ajan kuluessa suunnilleen vakiona, kasvukäyrien kulmakertoimet eivät muuttuisi ja ryhmien kasvukäyrät näkyisivät melko suorina viivoina graafissa (kuvassa 2). Tämänlaiset erisuuruksilla vakiovauhdeilla kasvavat kasvukäyrät eivät myöskään risteäisi keskenään ainakaan kasvun myöhemmässä vaiheessa (kyseisenlaisten kasvuryhmien keskiarvot myös aina eroaisivat). Toisaalta silloin, kun kasvuun vaikuttaa ajasta riippuvia tekijöitä, on mahdollista syntyä tilanne, jossa kahden erilaisen mutta risteävän kasvukäyrän keskiarvot eivät eroa merkittävästi toisistaan. CGGC menetelmä käyttää t-testisuuretta, joten se erottaa ryhmiä toisistaan vain, mikäli ryhmien keskiarvot eroavat. Edellisessä kappaleessa kuvailtu tilanne ei siis välttämättä näyttäyty tilastollisesti merkittävänä erona CGGC:ssä.

Erilaisten glyfosaatti- ja GBH-käsittelyiden kasvukäyrät eivät kuitenkaan eronneet toisistaan millään erityisen selkeällä logiikalla. Myös se, millä tavalla *B. bassianan* kasvun hidastuminen riippuu glyfosaatin konsentraatiosta, jää näistä tuloksista epäselväksi. Mahdollisten eroavaisuuksien ja niiden taustamekanismien selvittäminen vaatii tarkempia tutkimuksia.

Jos tutkimus tehtäisiin uudestaan, voisi olla hyvä idea kasvattaa mittaustiheyttä, koska *B. bassiana* kasvoi nopeasti. Mittaustiheyttä kasvattamalla mahdolliset ajasta riippuvaiset olosuhteiden tai kasvumekanismien muutokset näkyisivät selkeämmin. Myös otoskokoa voisi olla syytä kasvattaa, jotta kasvukäyrien väliset mahdolliset eroavaisuudet erottuisivat varmemmin ja mahdolliset epäonnistuneet siirrostukset haittaisivat tulosten tarkkuutta vähemmän.

Tutkimustulosten yleistäminen kenttäolosuhteisiin lienee hankalaa, koska kenttäolosuhteissa käytetään monia erilaisia GBH:ita, ja on epäselvää, kuinka paljon *B. bassiana* on kontaktissa glyfosaattiin tai GBH:iden eri ainesosiin. Lisäksi kenttäolosuhteissa on monia muita vaihtelua aiheuttavia tai olosuhteita muuttavia tekijöitä (esim. erilaiset ja monenlaiset *B. bassiana* sienien kasvualustat luonnossa, sääolosuhteet).

Tutkimus antanee kuitenkin hyödyllisiä suuntavia tuloksia glyfosaatin ja GBH:iden vaikutuksesta *B. bassiana* sieneen. Nämä tulokset voivat olla hyödyllisiä maanviljelijöille, jotka käyttävät sekä GBH:ta että *B. bassiana* -pohjaista tuotetta pelloillaan, tai jatkotutkimuksille, joissa tutkitaan glyfosaatin ja GBH:iden vaikutusta luonnossa esiintyviin sieniin. Tutkimusasetelman selkeys ja kasvuympäristön rajaaminen jättää myös melko vähän tilaa virheiden synnylle. Mahdolliset kokeen virhelähteet lienevät satunnaisia, esimerkiksi kirjausvirheitä tai kasvatusalustojen valmistusvirheitä.

Tämänlaisen kokeen perusteella ei voida vielä tietää kasvukäyrien välisten erojen juurisyitä. Niiden selvittäminen vaatisi mahdollisesti *B. bassiana* sienien tarkastelua solutasolla, tai tietoa GBH:iden sisällöstä.

5 Kiitokset

Kiitos paljon Marjo Helanderille kandini ohjauksesta, hyvistä neuvoista, ja suuresta määrästä taustatietoa glyfosaattiin liittyen! Kiitos myös Sami Merilaidalle ja Jukka Suhoselle Kandidaattiseminaari kurssin pitämisestä, jonka ohjeista oli paljon apua kandin kirjoittamisessa.

6 Lähteet

Baek, Yousoon, Lucas K. Bobadilla, Darci A. Giacomini, Jacob S. Montgomery, Brent P. Murphy, ja Patrick J. Tranel. 2021. "Evolution of Glyphosate-Resistant Weeds". *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 255: 93–128. doi:10.1007/398_2020_55.

- Barbarin, Alexis M., Nina E. Jenkins, Edwin G. Rajotte, ja Matthew B. Thomas. 2012. "A preliminary evaluation of the potential of *Beauveria bassiana* for bed bug control". *Journal of Invertebrate Pathology* 111(1): 82–85. doi:10.1016/j.jip.2012.04.009.
- Bartholomew, Samantha K., Wendy Winslow, Ritin Sharma, Khyatiben V. Pathak, Savannah Tallino, Jessica M. Judd, Hector Leon, ym. 2024. "Glyphosate Exposure Exacerbates Neuroinflammation and Alzheimer's Disease-like Pathology despite a 6-Month Recovery Period in Mice". *Journal of Neuroinflammation* 21(1): 316. doi:10.1186/s12974-024-03290-6.
- Benbrook, Charles M. 2016. "Trends in Glyphosate Herbicide Use in the United States and Globally". *Environmental Sciences Europe* 28(1): 1–15. doi:10.1186/s12302-016-0070-0.
- Benbrook, Charles M. 2019. "How Did the US EPA and IARC Reach Diametrically Opposed Conclusions on the Genotoxicity of Glyphosate-Based Herbicides?" *Environmental Sciences Europe* 31(1): 1–16. doi:10.1186/s12302-018-0184-7.
- Bento, Célia P. M., Xiaomei Yang, Gerrit Gort, Sha Xue, Ruud van Dam, Paul Zomer, Hans G. J. Mol, Coen J. Ritsema, ja Violette Geissen. 2016. "Persistence of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in loess soil under different combinations of temperature, soil moisture and light/darkness". *Science of The Total Environment* 572: 301–11. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.07.215.
- Boffetta, Paolo, Catalina Ciocan, Carlotta Zunarelli, ja Enrico Pira. 2021. "Exposure to glyphosate and risk of non-hodgkin lymphoma: an updated meta-analysis". *La Medicina del Lavoro* 112(3): 194–99. doi:10.23749/mdl.v112i3.11123.
- Chang, Ellen T., Nnaemeka U. Odo, ja John F. Acquavella. 2023. "Systematic Literature Review of the Epidemiology of Glyphosate and Neurological Outcomes". *International Archives of Occupational and Environmental Health* 96(1): 1–26. doi:10.1007/s00420-022-01878-0.
- "Compare Groups of Growth Curves". <https://bioinf.wehi.edu.au/software/compareCurves/> (15. maaliskuuta 2025).
- Costas-Ferreira, Carmen, Rafael Durán, ja Lilian R. F. Faro. 2022. "Toxic Effects of Glyphosate on the Nervous System: A Systematic Review". *International Journal of Molecular Sciences* 23(9): 4605. doi:10.3390/ijms23094605.
- Defarge, N., J. Spiroux de Vendômois, ja G. E. Séralini. 2018. "Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides". *Toxicology Reports* 5: 156–63. doi:10.1016/j.toxrep.2017.12.025.
- Dosselaere, F., ja J. and Vanderleyden. 2001. "A Metabolic Node in Action: Chorismate-Utilizing Enzymes in Microorganisms". *Critical Reviews in Microbiology* 27(2): 75–131. doi:10.1080/20014091096710.
- EcoWatch. 2016. "EU Bans Glyphosate Co-Formulant, Restricts Use in Public Areas". *EcoWatch*. <https://www.ecowatch.com/eu-bans-glyphosate-co-formulant-monsanto-1917259116.html> (28. helmikuuta 2025).

- EFSA. 2025. "Genetically Modified Organisms"
<https://www.efsa.europa.eu/en/topics/genetically-modified-organisms> (15. maaliskuuta 2025).
- Elso, C. M., L. J. Roberts, G. K. Smyth, R. J. Thomson, T. M. Baldwin, S. J. Foote, ja E. Handman. 2004. "Leishmaniasis Host Response Loci (Lmr1-3) Modify Disease Severity through a Th1/Th2-Independent Pathway". *Genes and Immunity* 5(2): 93–100. doi:10.1038/sj.gene.6364042.
- Felizatti, Ana Paula, Roberta Maria Manzano, Inajá Marchizeli Wenzel Rodrigues, Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva, João Batista Fernandes, ja Moacir Rossi Forim. 2021. "Encapsulation of *B. bassiana* in Biopolymers: Improving Microbiology of Insect Pest Control". *Frontiers in Microbiology* 12: 704812. doi:10.3389/fmicb.2021.704812.
- Feng, Piao, Yuanfei Wang, Hongbin Zou, Qingyu Zhu, Yuying Ren, Qilong Shu, Wujie Su, ym. 2023. "The Effects of Glyphosate Exposure on Gene Transcription and Immune Function of the Silkworm, *Bombyx Mori*". *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 112(3): e21990. doi:10.1002/arch.21990.
- Food Safety Commission of Japan. 2016. "Glyphosate". *Food Safety* 4(3): 93–102. doi:10.14252/foodsafetyfscj.2016014s.
- García-Estrada, Carlos, Enrique Cat, ja Irene Santamarta. 2016. "Beauveria Bassiana as Biocontrol Agent: Formulation and Commercialization for Pest Management". *Teoksessa Agriculturally Important Microorganisms: Commercialization and Regulatory Requirements in Asia*, toim. Harikesh Bahadur Singh, Birinchi Kumar Sarma, ja Chetan Keswani. Singapore: Springer, 81–96. doi:10.1007/978-981-10-2576-1_5.
- Gasmi, Laila, Sehyeon Baek, Jong Cheol Kim, Sihyeon Kim, Mi Rong Lee, So Eun Park, Tae Young Shin, ym. 2021. "Gene Diversity Explains Variation in Biological Features of Insect Killing Fungus, *Beauveria Bassiana*". *Scientific Reports* 11(1): 91. doi:10.1038/s41598-020-78910-1.
- Hardell, Lennart, Michael Carlberg, Marie Nordström, ja Mikael Eriksson. 2023. "Exposure to Phenoxyacetic Acids and Glyphosate as Risk Factors for Non-Hodgkin Lymphoma- Pooled Analysis of Three Swedish Case-Control Studies Including the Sub-Type Hairy Cell Leukemia". *Leukemia & Lymphoma* 64(5): 997–1004. doi:10.1080/10428194.2023.2190434.
- Helander, Marjo, Irma Saloniemä, ja Kari Saikkonen. 2012. "Glyphosate in Northern Ecosystems". *Trends in Plant Science* 17(10): 569–74. doi:10.1016/j.tplants.2012.05.008.
- Henderson, A. M., Gervais, J. A., Luukinen, B., Buhl, K., Stone, D., Cross, A., ja Jenkins, J. 2010. "Glyphosate General Fact Sheet". <https://npic.orst.edu/factsheets/glyphogen.html#products> (29. marraskuuta 2024).
- Hsiao, Ching Chung, An-Ming Yang, ChiKang Wang, ja Chien-Yu Lin. 2023. "Association between glyphosate exposure and cognitive function, depression, and neurological diseases in a representative sample of US adults: NHANES 2013–2014 analysis". *Environmental Research* 237: 116860. doi:10.1016/j.envres.2023.116860.

- Huch, Melanie, Dominic A. Stoll, Sabine E. Kulling, ja Sebastian T. Soukup. 2022. "Metabolism of glyphosate by the human fecal microbiota". *Toxicology Letters* 358: 1–5. doi:10.1016/j.toxlet.2021.12.013.
- Leino, Lyidia, Tuomas Tall, Marjo Helander, Irma Saloniemi, Kari Saikkonen, Suvi Ruuskanen, ja Pere Puigbò. 2021. "Classification of the glyphosate target enzyme (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) for assessing sensitivity of organisms to the herbicide". *Journal of Hazardous Materials* 408: 124556. doi:10.1016/j.jhazmat.2020.124556.
- Li, Zengzhi, Chunru Li, Bo Huang, ja Meizhen Fan. 2001. "Discovery and Demonstration of the Teleomorph of *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill., an Important Entomogenous Fungus". *Chinese Science Bulletin* 46(9): 751–53. doi:10.1007/BF03187215.
- Marino, Marianna, Elena Mele, Andrea Viggiano, Stefania Lucia Nori, Rosaria Meccariello, ja Antonietta Santoro. 2021. "Pleiotropic Outcomes of Glyphosate Exposure: From Organ Damage to Effects on Inflammation, Cancer, Reproduction and Development". *International Journal of Molecular Sciences* 22(22): 12606. doi:10.3390/ijms222212606.
- Marins, Katuska, Cláudia Daniele Bianco, Adny Henrique da Silva, ja Ariane Zamoner. 2024. "Maternal Exposure to Glyphosate Increased the Risk of Adverse Neurodevelopmental Outcomes in Rodent Offspring: A Systematic Review". *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)* 363(Pt 1): 125086. doi:10.1016/j.envpol.2024.125086.
- Martins-Gomes, Carlos, Tânia L. Silva, Tatiana Andreani, ja Amélia M. Silva. 2022. "Glyphosate vs. Glyphosate-Based Herbicides Exposure: A Review on Their Toxicity". *Journal of Xenobiotics* 12(1): 21–40. doi:10.3390/jox12010003.
- Mazuryk, Jarosław, Katarzyna Klepacka, Włodzimierz Kutner, ja Piyush Sindhu Sharma. 2024a. "Glyphosate: Hepatotoxicity, Nephrotoxicity, Hemotoxicity, Carcinogenicity, and Clinical Cases of Endocrine, Reproductive, Cardiovascular, and Pulmonary System Intoxication". *ACS Pharmacology & Translational Science* 7(5): 1205–36. doi:10.1021/acspsci.4c00046.
- Mazuryk, Jarosław, Katarzyna Klepacka, Włodzimierz Kutner, ja Piyush Sindhu Sharma. 2024b. "Glyphosate: Impact on the microbiota-gut-brain axis and the immune-nervous system, and clinical cases of multiorgan toxicity". *Ecotoxicology and Environmental Safety* 271: 115965. doi:10.1016/j.ecoenv.2024.115965.
- Morjan, W. E., L. P. Pedigo, ja L. C. Lewis. 2002. "Fungicidal Effects of Glyphosate and Glyphosate Formulations on Four Species of Entomopathogenic Fungi". *Environmental Entomology* 31(6): 1206–12. doi:10.1603/0046-225X-31.6.1206.
- Moser, Virginia C., Keith Morris-Schaffer, Jason R. Richardson, ja Abby A. Li. 2022. "Glyphosate and Neurological Outcomes: A Systematic Literature Review of Animal Studies". *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B, Critical Reviews* 25(4): 162–209. doi:10.1080/10937404.2022.2083739.
- Ortiz-Urquiza, Almudena. 2021. "The Split Personality of *Beauveria bassiana*: Understanding the Molecular Basis of Fungal Parasitism and Mutualism". *mSystems* 6(4): e00766-21. doi:10.1128/mSystems.00766-21.

- Patel, Daxesh P., Christopher A. Loffredo, Benjarath Pupacdi, Siritida Rabibhadana, Panida Navasumrit, Jittiporn Chaisaingmongkol, Leila Toulabi, ym. 2024. "Associations of Chronic Liver Disease and Liver Cancer with Glyphosate and Its Metabolites in Thailand". *International Journal of Cancer* n/a(n/a). doi:10.1002/ijc.35282.
- Pu, Yaoyu, Jun Yang, Lijia Chang, Youge Qu, Siming Wang, Kai Zhang, Zhongwei Xiong, ym. 2020. "Maternal glyphosate exposure causes autism-like behaviors in offspring through increased expression of soluble epoxide hydrolase". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117(21): 11753–59. doi:10.1073/pnas.1922287117.
- Puigbò, Pere, Lydia I. Leino, Miia J. Rainio, Kari Saikkonen, Irma Saloniemi, ja Marjo Helander. 2022. "Does Glyphosate Affect the Human Microbiota?" *Life* 12(5): 707. doi:10.3390/life12050707.
- Schmidt, Volker. 2015. "Fungal Infections in Reptiles—An Emerging Problem". *Journal of Exotic Pet Medicine* 24(3): 267–75. doi:10.1053/j.jepm.2015.06.014.
- Seneff, Stephanie, Anthony M. Kyriakopoulos, ja Greg Nigh. 2024. "Is Autism a PIN1 Deficiency Syndrome? A Proposed Etiological Role for Glyphosate". *Journal of Neurochemistry* 168(9): 2124–46. doi:10.1111/jnc.16140.
- Tohge, Takayuki, ja Alisdair R. Fernie. 2017. "An Overview of Compounds Derived from the Shikimate and Phenylpropanoid Pathways and Their Medicinal Importance". *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 17(12): 1013–27. doi:10.2174/1389557516666160624123425.
- Tucker, D. L., C. H. Beresford, L. Sigler, ja K. Rogers. 2004. "Disseminated Beauveria bassiana Infection in a Patient with Acute Lymphoblastic Leukemia". *Journal of Clinical Microbiology* 42(11): 5412–14. doi:10.1128/JCM.42.11.5412-5414.2004.
- Turvallisuus- ja kemikaalivirasto (Tukes). 2020. "Glyfosaattia ei saa käyttää viljan tuleennuttamiseen" <https://tukes.fi/-/glyfosaattia-ei-saa-kayttaa-viljan-tuleennuttamiseen> (18. joulukuuta 2024).
- Zhang, Luoping, Iemaan Rana, Rachel M. Shaffer, Emanuela Taioli, ja Lianne Sheppard. 2019. "Exposure to glyphosate-based herbicides and risk for non-Hodgkin lymphoma: A meta-analysis and supporting evidence". *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 781: 186–206. doi:10.1016/j.mrrev.2019.02.001.
- Zhang, Qi, Yanan Li, Carolien Kroeze, Wen Xu, Lingtong Gai, Miltiadis Vitsas, Lin Ma, Fusuo Zhang, ja Maryna Stokal. 2024. "A Global Assessment of Glyphosate and AMPA Inputs into Rivers: Over Half of the Pollutants Are from Corn and Soybean Production". *Water Research* 261: 121986. doi:10.1016/j.watres.2024.121986.