



# Biotorjunta osana ekologista kasvinsuojelua

Kari Tiilikkala (toim.)



Maa- ja elintarviketalous 10  
78 s.

# **Biotorjunta osana ekologista kasvinsuojelua**

Kari Tiilikkala (toim.)

ISBN 951-729-681-9 (Verkkójulkaisu)

ISSN 1458-5081 (Verkkójulkaisu)

[www.mtt.fi/met](http://www.mtt.fi/met)

Copyright

MTT

Kirjoittajat

Julkaisija ja kustantaja

MTT, 31600 Jokioinen

Jakelu ja myynti

MTT, Tietopalvelut, 31600 Jokioinen

Puhelin (03) 4188 2327, telekopio (03) 4188 2339

sähköposti [julkaisut@mtt.fi](mailto:julkaisut@mtt.fi)

Julkaisuvuosi

2002

Kannen kuvat

Sirkka Jaakkola

Reijo Karjalainen

# Bitorjunta osana ekologista kasvinsuojelua

Kari Tiilikkala<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>MTT Kasvintuotannon tutkimus, Kasvinsuojelu, 31600 Jokioinen, [kari.tiilikkala@mtt.fi](mailto:kari.tiilikkala@mtt.fi)

## Tiivistelmä

Vuosina 1999-2001 toteutetun Bitorjunta osana ekologista kasvinsuojelua - tutkimushankkeen tavoitteena oli selvittää, miten ekologisen viljelyn kasvinsuojeluongelmia voidaan hallita kasvien omia, bioaktiivisia, aineita hyödyntäen. Tutkimuksessa oli kolme tieteellistä osaa: tuholaisten infokemikaalit, biomolekyylit kasvitautien torjunnassa ja kasvipenäiset glukosinolaatit kasvinsuojelussa. Neljäntenä osana olivat soveltavat tutkimukset, jotka toteutettiin käytännön viljelmillä yhteistyössä maamme parhaimmiston kuuluvien viljelijöiden kanssa.

Tuholaistorjunnan tärkein tulos oli se, että houkutuskaistat tehosivat kaalikärpäsiin ja kirppoihin. Kiinankaali *Yamiko* houkutteli kuusinkertaisen määrän kaalikärpäsiä keräkaaliin verrattuna. Myös kirppojen siirtyminen pientareilta peltoon pysähtyi houkutuskaistaan lähes täydellisesti. Porkkanakemppin torjuntaan saatiin tärkeää tietoa porkkanalajikkeiden kemiallisista eroista. Kasvinsuojeluaime limoneenin teho kemppien karkotteena osoittautui lyhytkestoiseksi. Uutta kasvinsuojeluteknologiaa onkin syytä kehittää feromonien levitykseen kehitettyjen ratkaisujen pohjalta.

Parhailla elistoreilla eli heräteaineilla (BION) saatiin mansikan härmä torjuttua tehokkaasti. Messenger -elisoriti lisäsi myös satoa 10-20 %:a. Marjakasvien sisältämien fenolisten yhdisteiden määrät vaihtelivat paljon lajikkeittain. Tämä osoitti, että jalostuksella voidaan vaikuttaa kasvien tautikestävyys ja niin sanottujen terveyskomponenttien määriin.

Glukosinolaattien hajoamisessa syntyneet kaasut estivät erittäin tehokkaasti rikkakasvien itämistä ja sirkkajuuren kasvamista. Parhaita glukosinolaattilähteitä olivat sareptansinappi ja keltasinappi. Glukosinolaatteihin perustuvaa rikkakasvien torjuntaa voidaan tehdä kahdella tavalla: levittämällä siemenpuuristeita riviväleihin tai sekoittamalla kasvimursketta maahan ennen kasvien istuttamista. Molemmat menetelmät edellyttävät uuden teknologian ja viljelyjärjestelmien kehittämistä.

---

*Avainsanat: kasvinsuojelu, biologinen torjunta, karkotus, houkuttelu, induoitu resistenssi, allelopatia, IPM, ekologinen viljely*

---

# Phytochemicals offer new opportunities in biointensive IPM

Kari Tiilikkala<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>MTT Agrifood Research Finland, Plant Production Research, Plant Protection, FIN-31600 Jokioinen, Finland, [kari.tiilikkala@mtt.fi](mailto:kari.tiilikkala@mtt.fi)

## Abstract

Project *Biocontrol as a part of ecological pest management* was carried out within MTT's research program *Plant derived biomolecules in food production* in 1998-2001. Aim of the project was to prove the potential of phytochemicals in biointensive IPM and test utility of new control methods in IP-farming and organic farming systems. The work was divided into three scientific tasks. Fourth task of the project consisted of on-farm trials which were established for testing usefulness of new biocontrol technology.

Results of infochemical studies proved that Chinese cabbage effectively attracted flea beetles and cabbage root fly (*Delia radicum*). Volatiles of carrot leaves showed great differences between carrot varieties. Limonene and some other terpenoids are potential components in control of carrot psyllids (*Trioza apicalis*). Limonene as repellent had only a short time effect if sprayed on plants and thus other release methods are suggested.

Laboratory and field experiments showed that elicitors enhanced phenolic compound production and resistance to powdery mildew on strawberry. Percentage of important compounds varied clearly between different varieties of berry plants.

Allelochemicals of Brassicas effectively inhibited germination and growth of weeds. In field studies many of the tested biochemicals were also found to be phytotoxic and thus new technology for use of "Fumigation Brassicas" is needed.

---

*Key words: IPM, biological control, trap crop, volatiles, monoterpenes, elicitors, induced resistance, allelopathy, weed allelochemicals*

---

# Sisällysluettelo

Biomolekyylit kasvien puolustusaineina, <i>Kari Tiilikkala</i> .....	6
Infokemikaalit tuholaistorjunnassa, <i>Anne Nissinen, Jarmo Holopainen, Marja Kallela, Mohamed Ibrahim, Antti Hirvonen, Petri Leinonen ja Kari Tiilikkala</i> .....	9
Heräteaineet ja fenoliyhdisteet kasvitautien torjunnassa, <i>Reijo Karjalainen, Anne Hukkanen, Mikko Anttonen, Kari Tiilikkala, Harri Kokko ja Sirpa Kärenlampi</i> .....	29
Kaalikasvien glukosinolaatit rikkakasvien torjunnassa, <i>Sirkka Jaakkola</i> ...	50
Biotorjunnan tutkimus jatkuu – uusia keinoja tulossa, <i>Irene Vänninen</i> .....	72

# Biomolekyylit kasvien puolustusaineina

Kari Tiilikkala<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>MTT, Kasvintuotannon tutkimus, Kasvinsuojelu, 31600 Jokioinen, [kari.tiilikkala@mtt.fi](mailto:kari.tiilikkala@mtt.fi)

Vihannesten ja marjojen LUOMU-viljely ei ole laajentunut kysyntää vastaa-  
vasti. Syitä tähän etsittiin jo 1996 – 1998 tehdyssä MTT:n LUOMUKAS –  
hankkeessa, joka osoitti, että hallitsemattomat kasvinsuojeluongelmat ovat  
usein tuotantoa ja sen kannattavuutta rajoittava tekijä. Myös IP-tuotannossa  
on ollut jatkuva tarve löytää luonnon omiin torjuntamekanismeihin perustu-  
via ratkaisuja, joilla voidaan korvata tai täydentää kasvinsuojelun nykyisiä  
menetelmiä. Entistä vähäisempi riippuvuus kemiallisista tuotantopanoksista  
on ollut myös ympäristötukeen sitoutuneiden viljelijöiden tavoitteena Suo-  
messa. Näiden tarpeiden tyydyttämiseksi käynnistettiin ”*Biotorjunta osana  
ekologista kasvinsuojelua*” –tutkimus, jonka päätavoitteena oli löytää uudet,  
faktiset perusteet ekologisen viljelyn kasvinsuojelun kehittämiseksi. Kansain-  
välisesti samansuuntaista tutkimuskehitystä ovat vauhdittaneet laajamittai-  
seen kasvinsuojeluaineiden käyttöön liittyneet ympäristöriskit sekä torjunta-  
aineresistenssi.

”*Biotorjunta osana ekologista kasvinsuojelua*” tutkimus oli osa MTT:n tut-  
kimusohjelmaa: ”*Kasviperäiset biomolekyylit elintarviketuotannossa*”. Tut-  
kimuksen rahoittajina olivat Maa- ja metsätalousministeriö, Maa- ja elintar-  
viketalouden tutkimuskeskus, Kuopion yliopisto, Lännen Tehtaat Oy:n ja  
Saarioinen Oy:n sopimustuottajat sekä Etelä- ja Itä-Suomen mansikanviljeli-  
jät. Elisitoritutkimuksesta tehtiin tutkimussopimus myös amerikkalaisen  
Eden Bioscience -yhtiön kanssa.

Tutkimus oli poikkeuksellisen poikkitieteellinen kasvinsuojelu- ja elintarvi-  
ketutkimuksen sekä viljelytutkimuksen yhdistänyt prosessi. Yhteistyön tär-  
keänä lähtökohtana oli tieto, jonka mukaan kasvit käyttävät puolustusjärjes-  
telmissään samoja bioaktiivisia aineita, jotka ovat monien terveystaitamien  
ja funktionaalisten ravintoaineiden perustana. Lisää todisteita kasvien ja ih-  
misten puolustusaineiden samankaltaisuudesta saatiinkin tutkimuksen useissa  
eri vaiheissa. Myös analytiikan tasolla oli monia synergiatarpeita, jotka to-  
teutuivat hyvin. Erityisen tuloksellista oli MTT:n glukosinolaattianalytiikan  
kehittyminen rikkakasvitutkimuksen tarpeisiin sekä Kuopion yliopiston val-  
miudet haihtuvien yhdisteiden karakterisoinnissa ja fenolisten yhdisteiden  
mittaamisessa. Infokemian tutkimukset liittyivät myös ympäristötutkimuk-  
seen ja erityisesti UV-säteilyn aiheuttamiin muutoksiin kasveissa ja niitä  
ravintona käyttävissä tuholaisissa.

Tutkimuksessamme oli kolme tieteellistä osaa: a) tuholaisten infokemikaalit,  
b) biomolekyylit kasvitautien torjunnassa ja c) kasviperäiset glukosinolaatit

kasvinsuojelussa. Tieteellisten ja tarkkojen laboratoriotutkimusten ohella aloitettiin myös lupaavimpien torjuntamenetelmien käyttökelpoisuuden kokeilu maataloilla. Tilatutkimukset osoittivat, että kasvien tuottamat bioaktiiviset aineet vaikuttavat hyönteisten, kasvitautien ja rikkakasvien torjuntaan tavalla, joka edellyttää uuden teknologian kehittämistä ekologisen ja integroidun torjunnan tarpeisiin sekä menetelmien kustannusvaikutusten laskentaa biologisen tutkimuksen kanssa samanaikaisesti. Poikkitieteellisyyttä on siten edelleen laajennettava biotieteistä teknologian ja ekonomian suuntaan.

Nimitys ”sekundäärimetaboliitit” antavat selvästi väärän kuvan kasvien tuottamien bioaktiivisten aineiden merkityksestä kasvinsuojelussa aivan kuten ravinnontuotannossakin. Tärkein kasvien menestymisen perusta on ollut niiden kyky tuottaa stressitilanteissa aineita, joilla stressi (kylmä, säteily, suola, mikrobi, tuholainen tai kilpaileva kasvi) on voitu poistaa tai sen vaikutukset rajoittaa siedettäväksi. Kasvien tuottamien bioaktiivisten aineiden merkityksestä, tutkimushistoriasta ja uusista sovelluksista julkaistiin uutta tietoa projektiin liittyneissä kolmessa laajassa kirjallisuuskatsauksessa.

Nyt tiedetään, että kasvien tuottamilla haihtuvilla yhdisteillä on suuri vaikutus hyönteisten käyttäytymiseen. Osa aineista houkuttelee tuholaisia tai karkottaa niitä. Entomologien tuntema ”push and pull” -teoria olikin tämän tutkimuksen tuholaiсторjunnan pääväittäjä, jonka mukaisesti haettiin aineita ja ratkaisuja, joilla tuholaiset voidaan karkottaa suojeltavasta kasvustosta ja houkutella kasvuston ulkopuolella olevalle alueelle.

Kasvitautien torjunnassa lähdettiin liikkeelle kasvien omien aineiden hyödyntämisestä tauteja aiheuttavien mikrobien torjunnassa. Fenoliset yhdisteet muodostavat tärkeimmän ainekokonaisuuden, jolla kasvien on onnistunut säilyä sienien, bakteerien ja virusten aiheuttamalla stressiltä sekä solujen kasvuhäiriöihin johtavilta muilta tekijöiltä. Samat häiriöt ja riskit aiheuttavat myös eläinten ja ihmisten terveysongelmia joten on loogista, että ravintoon joutuessaan monet kasveja suojanneet aineet toimivat vapaiden radikaalien sitojina ja tauteja aiheuttavien mikrobitorjunnan perustana. Tautitutkimuksen keskeisenä tavoitteena oli mm. kasvien metaboliareittien tunteminen ja erityisesti tarve oppia metabolian ohjaaminen hyödyllisten biomolekyylien tuotannossa. Metaboliaan vaikuttavien heräteaineiden eli elisitorien käyttö tautien torjunnassa on avaamassa kansainvälisestikin laajan uusajattelun ja tuotekehityksen kasvitautitorjunnassa. Tutkimuksemme tautiosa liittyi osaltaan bitorjunnan kansainväliseen tuotekehitykseen sekä uudentyyppisen torjunnan tuloon osaksi käytännön kasvinsuojelua.

Hankkeen kolmas tutkimusalue liittyi allelopatiaan – kasvien tuottamiin aineisiin, joilla ne käyvät kilpailua toisia kasveja vastaan. Allelopatia on vanha ilmiö, joka kuvattiin jo 300 ekr. Allelopatian laajamittainen tutkiminen ja hyödyntäminen rikkakasvien integroidussa torjunnassa alkoi vasta 1990 luvulla, kun tuli tarve korvata maandesinfiointiaineet ympäristöä vähemmän



haittaavilla torjuntamenetelmillä. Allelopaattisia aineita voi muodostua kasvien kaikissa osissa lajista riippuen. Paljon tutkittuja allelopaattisia viljelykasveja ovat mm. ruis, vehnä, sinimailanen sekä monet ristikukkaiskasvit. Myös 30 000 rikkakasvilajin joukosta löytyy monia allelopaattisia kasveja.

Rikkakasvitutkimuksemme pääkohteeksi valittiin kaalikasvit ja niiden tuottamat glukosinolaatit , joita torjuntakäyttöön saadaan eniten ristikukkaiskasvien siemenistä sekä kukintavaiheen versoista. Maan mikrobien vaikutuksesta glukosinolaatit hajoavat mm. isotiosyanaateiksi, joilla on suuri merkitys maan biologisina desinfionitiaineina . Termi ” biofumigation brassicas” kuvaa hyvin ristikukkaiskasvien merkitystä maan desinfiointiaineena.

Uuden torjunta-ajattelun ja teknologian testaamiseen käytännön tiloilla osallistui suuri joukko IP- ja LUOMU-viljelyn ammattilaisia, joiden työ oli korvaamaton osa tätä tutkimusta. Ilman viljelijöiden aktiivista panosta ei uusi tieto muutu käyttökelpoiseksi teknologiaksi, jolla voidaan vastata kuluttajien odotuksiin ja tuotannon ekologisen ja ekonominen kestävyuden lisäämistarpeeseen.

# Infokemikaalit tuholaiсторjunnassa

Anne Nissinen<sup>1,2)</sup>, Jarmo Holopainen<sup>1)</sup>, Marja Kallela<sup>3)</sup>, Mohamed Ibrahim<sup>1)</sup>,  
Antti Hirvonen<sup>4)</sup>, Petri Leinonen<sup>5)</sup> ja Kari Tiilikkala<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Kuopion yliopisto, Ekologisen ympäristötieteen laitos, PL 1627, 70211 Kuopio,  
[jarmo.holopainen@uku.fi](mailto:jarmo.holopainen@uku.fi)

<sup>2)</sup>MTT, Kasvintuotannon tutkimus, Kasvinsuojelu, 31600 Jokioinen, [kari.tiilikkala@mtt.fi](mailto:kari.tiilikkala@mtt.fi),

<sup>3)</sup>MTT, Kasvintuotannon tutkimus, Puutarhatuotanto, Toivonlinnantie 518, 21500 Piikkiö,  
[marja.kallela@mtt.fi](mailto:marja.kallela@mtt.fi)

<sup>4)</sup>Helsingin yliopisto, Soveltavan biologian laitos, PL 27, 00014 Helsingin yliopisto

<sup>5)</sup>Elomestari Oy, Partalan kartano, 51900 Juva, [petri.leinonen@elomestari.fi](mailto:petri.leinonen@elomestari.fi)

## Tiivistelmä

Tutkimuksen tavoitteena oli etsiä houkutuskasveja, joita voitaisiin hyödyntää kaalin ja porkkanan tuholaiсторjunnassa sekä tuottaa uutta tietoa kasvipe-  
räisten bioaktiivisten aineiden vaikutuksesta porkkanan ja mansikan tuholai-  
siin. Kaalikokeet tehtiin IP-tilalla Köyliössä sekä Kokemäen vihanneskoepai-  
kalla. Kaalikärpästen munintaa tarkkailtiin viikoittain kesä-elokuun ajan.  
Kiinankaalilajikkeet Yamiko ja Vitimo keräsivät noin kuusinkertaisen mää-  
rän pikkukaalikärpäsen munia keräkaaliin verrattuna. Yamiko-kiinankaali  
houkutteli tehokkaimmin myös kirppoja. Kukkakaalilajike Fremont keräsi  
eniten kaalikärpästen munia loppukesällä, mutta vain pieni osa munista pääsi  
kehittymään koteloiksi saakka. Porkkanatutkimukset toteutettiin häkkikokei-  
na MTT:n kasvihuoneissa. Kokeissa mitattiin porkkanakemppien munintaa  
eri porkkanalajikkeille sekä porkkanan lehtien kemiallista koostumusta. Ke-  
mialliset analyysit tehtiin Kuopion yliopistolla. Houkuttelevimmat pork-  
kanalajikkeet olivat Lobbericher, Kundulus ja Amager. Sen sijaan porkkanan  
lehtien haittuvien aineiden koostumuksella ei ollut yhteyttä porkkanakemppien  
isäntäkasvin valintaan. Tutkimuksessa kokeiltiin myös limoneenia pork-  
kanakemppien ja hillanälvikkään karkotteena. Tulokset vaihtelivat lajikkeittain  
sekä porkkanalla että mansikalla. Porkkanalla suoraan kasvustoon ruiskutettu  
limoneeni aiheuttaa ilmeisesti sekundaariaineiden indusoitumista lehdissä,  
mikä muuttaa lehtien kemiallista koostumusta ja houkuttelevuutta. Limonee-  
nin levittäminen suoraan kasvustoon ei näin ollen ole suositeltavaa. Mansikan  
lehtien altistaminen lyhytaaltoiselle ultraviolettisäteilylle (UV-B alue 280-  
320 nm) huononsi hieman niiden kelpavuutta aikuisille hillanälvikkäille.  
Sen sijaan toukkien kehitykseen lehtien säteilytys ei vaikuttanut. Honeoye-  
lajike kärsi Jonsokia vähemmän hillanälvikkäiden vioituksesta, koska Ho-  
neoyen lehdissä on enemmän fenoleita.

---

*Avainsanat: kasvinsuojelu, luonnonmukainen maataloustuotanto, kaalit, porkkana, mansikka, tuhoeläimet, torjunta, biologinen torjunta, karkotteet, houkutteet, ultraviolettisäteily*

---

## Johdanto

Kasvit ovat joutuneet kehittämään erilaisia puolustusjärjestelmiä menestyäkseen kilpailussa erilaisia biologisia tuhonaiheuttajia ja ympäristöstressejä vastaan. Kemiallinen puolustautuminen perustuu yhdisteisiin, jotka haisevat tai maistuvat epämiellyttäviltä kasvinsyöjän aisteissa tai estävät tuhonaiheuttajien kasvua ja suurina pitoisuuksina yhdisteet voivat olla jopa tappavia. Karkottavien ja syöntiä ehkäisevien yhdisteiden avulla kasvit pitävät useimmat kasvinsyöjät kurissa, mutta joukko eläimiä on onnistunut kehittämään entsyymitoimintoja, jotka tekevät kasvin haitalliset aineet haitattomiksi. Näistä lajeista on tullut kullekin kasvilajille erikoistuneita tuholaislajeja, jotka käyttävät monia kasvin puolustukseen kehittämiä yhdisteitä sopivan isäntäkasvin tunnistamiseen. Näin nerokas kemiallinen ase on kääntynyt kasvia itseään vastaan. Kasvinsuojelussa tätä kasvien kykyä houkutellessa spesiaalittuholaisiaan voidaan hyödyntää esim. sijoittamalla viljelykasvuston läheisyyteen kasvilajeja ja lajikkeita, jotka ovat selvästi houkuttelevampia kuin varsinainen viljelykasvi ja siten ohjata tuholaiset pois kasvustosta.

Kasvit eivät ole kuitenkaan tyhmiä ja ne ovat siirtyneet sodankäynnissä tuholaisia vastaan seuraavalle tasolle. Joutuessaan tuholaisen hyökkäyksen kohteeksi kasvit voivat aloittaa syöntiä ehkäisevien yhdisteiden tuotannon. Silloin puhutaan ns. indusoituvasta resistenssistä. Kasvi puolustautuu kemiallisesti vain silloin kun vaara todella uhkaa. Lisäksi vioituksen indusoimien haihtuvien infokemikaalien avulla ne pystyvät viestittämään ympäristöönsä ilmenneestä hätätilasta. Kasveja vioittavien hyönteisten ja punkkien luontaiset viholliset pystyvät tunnistamaan nämä kasvien haihtuvat hätäsignaalit ja suunnistamaan niiden avulla hyökkäyksen uhriksi joutuneelle kasville. Monien loispistiäisten, petokuoriaisten, petoluteiden ja petopunkkien tiedetään reagoivan vioittuneiden kasvien päästämiin yhdisteisiin. Lisäksi nämä vioituksen indusoimat yhdisteet voivat toimia signaaliyhdisteinä kasvien välillä. Vioittumattomat naapurikasvit lisäävät haihtuvien merkkiyhdisteiden vaikutuksesta omaa kemiallisten puolustusyhdisteiden tuotantoaan. Kun tutkimuksen avulla saadaan lisätietoa eri viljelykasvien haihtuvista infokemikaaleista ja niiden merkityksestä kasvien ja tuholaisen luontaisten vihollisten kannalta, voidaan jatkossa kehittää luomuviljelyynkin sopivia torjuntamenetelmiä, jotka perustuvat viljelykasvien itse tuottamiin kemiallisiin yhdisteisiin.

Ruotsalaisissa tutkimuksissa (Valterová ym. 1997) on havaittu limoneenin karkottavan porkkanakemppejä ja päättynyt MTT:n *Luomukas-projekti* osoitti porkkanakemppien vioituksen keskittyvän porkkanapellon reunoihin. Näiden havaintojen perusteella tässä projektissa lähdettiin etsimään porkkanalajikkeita, jotka houkuttelisivat porkkanakemppejä mahdollisimman tehokkaasti ja toisaalta testaamaan limoneenin karkotusvaikutusta. Lopullisena päämääränä oli luoda uusi ekologinen torjuntastrategia, jossa pellon reuna-

osissa voitaisiin käyttää mahdollisimman houkuttelevaa porkkanalajiketta houkutuskasvina ja pellon keskiosassa oleva varsinainen viljelylaji voitaisiin suojata karkottavalla yhdisteellä tai karkottavilla yhdisteillä.

Porkkanakemпин perusbiologia tunnetaan monilta osin vielä heikosti, joten uuden torjuntastrategian luominen vaatii ensin perusteiden tutkimista. Porkkanatutkimuksessa oli kolme kokonaisuutta: porkkanakemпин isäntäkasvinvalintakäyttäytyminen, karkotusvaikutteisten aineiden testaus sekä indusoituvan resistenssin tutkimus. Isäntäkasvinvalintakokeissa oli tavoitteena löytää houkutuskasveiksi sopivia porkkanalajikkeita sekä selvittää, mikä rooli porkkanan lehtien haihtuvilla aineilla on porkkanakemпин isäntäkasvinvalinnassa. Indusoituvan resistenssin tutkimuksessa oli tavoitteena selvittää, muuttaako porkkanakemпин imentävöitys porkkanan haihtuvien aineiden koostumusta tai pitoisuuksia. Porkkanakemпин indusoimilla aineilla saattaa olla kemпин kannalta oleellinen ekologinen merkitys, joka vaikuttaa karkotusvaikutteisten aineiden levitystapaan.

Kaalikasveilla tutkimus oli selvästi käytännönläheisempää. Kaalikärpäsen isäntäkasvinvalintaa ja siihen vaikuttavia kemiallisia aineita on tutkittu runsaasti eripuolilla maailmaa. Houkutuskasvitekniikkaa on kokeiltu eri maissa muiden kaalikasvien tuholaisten hallinnassa, mutta sitä ei ole aiemmin sovellettu kaalikärpäsen torjunnassa. Tämän tutkimuksen lähtökohtana oli selvittää, voidaanko kaalikärpäsen torjunnassa hyödyntää houkutuskasveja. Aloite tutkimukseen tuli viljelijöiltä ja tutkimusta kannusti se, että kaalikoiden hallinnasta lehtikaali-houkutuskaistan avulla oli saatu USA:ssa hyviä tuloksia (Mitchell 2000).

Mansikka on monivuotinen viljelykasvi, jolle voi muodostua pysyviä tuholaiskantoja. Luomuviljelyssä ovat yleistyneet mm. hillanälvikkäiden aiheuttamat vioitukset. Nälvikäs vioittaa mansikan lehtiä sekä aikuisena että toukana ja lisäksi aikuiset munivat munansa kasvin lehtiin. Yhtenä syynä lajin vioitusten runsastumiseen voi olla vähäinen torjunta-ainekäsittelyjen määrä luomutuotannossa, mutta ilmastonmuutokseen liittyvät tekijät saattavat osaltaan edesauttaa lajin menestymistä. Tässä tutkimuksessa arvioitiin UV-B säteilyn lisääntymisen vaikutusta mansikoiden lehtien laadullisiin ominaisuuksiin ja siten hillanälvikkäälle altistavan tekijänä. Lisäksi selvitettiin kasviperäisten haihtuvien öljyjen sopivuutta hillanälvikkään torjuntaan.

# Aineisto ja menetelmät

## Porkkanakempin isäntäkasvin valinta

Porkkanakempin isäntäkasvinvalintakokeessa testattiin ensin porkkanakempin munintaa 16 eri porkkanalajikkeelle elokuun lopussa 1999. Koe tehtiin 60\*60\*60 cm –kokoisissa häkeissä. Häkin kuhunkin kulmaan sijoitettiin yksi taimikennosto, johon kaikki 16 porkkanalajiketta oli arvottu satunnaiseen järjestykseen. Kunkin häkin keskeltä vapautettiin 16 kemppeä (8 naarasta ja 8 koirasta). Kempit oli kerätty kesäkuussa luomuporkkanapelloilta ja toinen sukupolvi, jota kokeessa käytettiin, oli kasvatettu kasvihuoneessa. Kempeillä oli lisävalotus klo 20-03 välisenä aikana, jolloin valojakson pituudeksi tuli noin 21 h, mikä vastaa kesäkuun alun olosuhteita, kun hämärän ajat laskettiin päivänpituuteen mukaan. Kokeessa seurattiin kemppeiden ruokailua päivittäin eri porkkanalajikkeilla. Kemppeihavainnoista laskettiin kumulatiivinen summa yhdeksän vuorokauden ajalta. Lisäksi kokeen loputtua laskettiin munamäärät jokaiselta kasvilta.

Lajikekoetta jatkettiin kesäkuussa 2000 monivalintahäkkikokeena, jossa oli mukana 8 aiemmin testatuista 16 lajikkeesta. Kokeeseen valittiin sekä ruokailuhavaintojen että munamäärien perusteella suosituimmat ja vähiten suositut lajikkeet. Kokeessa käytettiin pienempiä (33\*33\*60 cm) häkkeitä. Häkin keskelle sijoitettiin yksi taimikennosto, johon 8 porkkanalajiketta sijoitettiin satunnaisessa järjestyksessä. Kempit, jotka oli kerätty luomuporkkanapelloilta juuri ennen koetta, vapautettiin porkkanalajikkeiden keskellä olevasta tyhjistä taimipotista. Kuhunkin häkkiin vapautettiin vain yksi naaras. Kokeessa oli kaikkiaan 24 kerrannetta.

Porkkanalajikkeista otettiin lehtinäytteet haihtuvien aineiden analysointia varten molempina koevuosina. Näytteet otettiin ennen häkkikokeen aloittamista. Kustakin lajikkeesta otettiin neljä näytettä, joihin kerättiin yksi lehti kolmesta eri taimesta. Näytteet jäädytettiin nopeasti nestetyypessä, säilytettiin -80 asteessa, uutettiin heksaanilla ja analysoitiin Kuopion yliopistossa kaasukromatografi-massaspektrometrillä. Häkkikokeessa saatuja munintatuloksia verrattiin eri porkkanalajikkeiden lehtien mono- ja seskviterpeenipitoisuuksiin monimuuttujamenetelmien (MDS) avulla. Munamäärien erot lajikkeiden välillä testattiin ei-parametrisellä Kruskal-Wallis testillä.

Isäntäkasvinvalintakokeessa käytettyjä lajikkeita testattiin myös kenttäkokeessa Partalassa kasvukausien 1999 ja 2000 aikana. Kenttäkokeessa selvitettiin lajikkeiden viljelyominaisuuksia sekä haluttiin selvittää kemppeiden valintakäyttäytymistä luonnon olosuhteissa.

## Porkkanan indusoitu resistenssi

Kemppivioituksen aiheuttaman indusoituvan resistenssin muodostumista tutkittiin kahdella eri porkkanalajikkeella (Parano, Splendid). Koe tehtiin ensimmäisen kerran vuoden vaihteessa 1999-2000. Kokeessa käytetty kemppikanta oli ollut vuoden jatkuvassa kasvatuksessa laboratorio-oloissa. Tutkittavat porkkanat altistettiin kemppivioitukselle kasvatuskammiossa niin kauan (18 vrk), että vioitusoireet tulivat näkyviin kasvustossa. Tämän jälkeen sekä vioittuneiden porkkanoiden että vioittumattomien porkkanoiden haihtuvat aineet kerättiin Tenax GR-hartsin lehvästä ympäröivästä ilmatilasta. Ilmanäytteiden haihtuvat aineet analysoitiin kaasukromatografimassapetrometrillä Kuopion yliopistossa.

Toinen vioituskoetehtiin kesäkuussa 2000. Kokeeseen kerättiin porkkanakempejä luomuporkkanapellolta Haukivuorelta. Porkkanat altistettiin vioitukselle kasvatuskammioissa 7 vrk, jonka jälkeen lehtiä ympäröivästä ilmatilasta kerättiin haihtuvat yhdisteet Tenax TA-hartsin ja analysoitiin kaasukromatografi-massapetrometri-laitteistolla. VOC-näytteissä ei käytetty sisäistä standardia. Eri yhdisteiden absoluuttiset pitoisuudet saatiin laskettua näytteistä käyttäen ulkoista standardia, jossa olivat mukana yleisimmät monoterpeenit, joitakin yleishaihtuvia ja seskviterpeenejä sekä porkkanalla tyypilliset propenyylibentseenit metyyli-isoeugenoli ja  $\alpha$ -asaroni.

Haihtuvien aineiden keräyksen jälkeen porkkanan lehtinäytteet uutettiin heksaanilla ja uutoliuosnäytteet analysoitiin kaasukromatografimassapetrometri-laitteistolla. Uutosnäytteissä käytettiin sisäisenä standardina 1-klooriohtaania. Ulkoisessa standardissa olivat mukana samat aineet kuin VOC-näytteiden standardissa lukuunottamatta yleishaituvia, jotka eivät varastoidu kasviin, eivätkä tule uutoksenäytteissä näkyviin. Käsitelyjen väliset erot edellä mainittujen aineiden pitoisuuksissa testattiin t-testillä.

## Limoneenin karkotusvaikutuksen testaaminen

Limoneenin karkotusvaikutusta porkkanakempeihin tutkittiin häkkikokeessa helmikuussa 2001. Koe tehtiin yhteistyössä Kuopion yliopiston *Possibilities of the exogenous use of plant essential oils in plant protection and growth activation in organic vegetable production* -projektin kanssa.

Porkkanan taimet käsiteltiin puhtaalla laboratoriolaatuisella limoneenilla joko 3 tai 6 prosentin väkevyisellä liuoksella. Liuoksiin lisättiin 5 % alkoholia, jotta limoneeni saatiin sekoittumaan veteen. Kontrolleina olivat pelkästään vedellä käsitellyt taimet ja 5 % alkoholiliuoksella käsitellyt taimet. Kokeessa oli mukana kaksi porkkanalajiketta, Parano ja Splendid. Paranolla on luontaisesti alhainen ja Splendidillä korkea lehtien limoneenipitoisuus. Kempit (1 naaras/häkki) vapautettiin häkkeihin joko 2 tai 24 h kuluttua käsittelystä.

Kokeen aikana havainnoitiin kemppien asettumista porkkanoille ja kokeen päätyttyä kemppien munat laskettiin kasveilta mikroskoopin avulla.

## **Kaalikärpästen hallinta houkutuskasvien avulla**

Kaalikasveilla tutkittiin mahdollisuutta kaalikärpästen hallintaan houkutuskasvien avulla. Ensimmäiset häkkikokeet tehtiin huhti-toukokuussa 2000. Yksi pikkukaalikärpäsnaaras laitettiin monivalintakokeeseen (ns. yksilökoe), jossa vaihtoehtoina oli yksi keräkaalilajike ja kolme lanttulajiketta tai yksi keräkaalilajike ja kolme kiinankaalilajiketta. Toisessa häkkikokeessa tutkittiin pikkukaalikärpäsen isäntäkasvinvalintaa tilanteessa, jossa oli läsnä useita naaraita ja useita kaalilajikkeita (ns. populaatiokoe). Kokeessa oli mukana kolme keräkaalilajiketta, kolme lanttulajiketta ja kolme kiinankaalilajiketta.

Köyliön Vanhakartanossa kokeiltiin houkutuskasveja käytännön olosuhteissa. Kaalipellon laitaan perustettiin 300 m pitkä houkutuskaista, johon kaksi houkuttelevinta kiinankaalilajiketta ja yksi lanttulajike sijoitettiin kukin neljänä kerranteena. Houkutuskasvit kylvettiin siemenestä samaan aikaan, kun keräkaali istutettiin pellolle. Sekä houkutuskaistalta että samalta kohtaa keräkaalipellon reunasta otettiin kaalikärpästen munanäytteet viikoittain. Kirppojen määrän selvittämiseksi otettiin D-vac-hyönteisimurinäytteet 9.6.2000 sekä keräkaalilta että houkutuskaistalta.

Yhteistyössä *Luomuvihannesten tuotanto teollisuudelle* -projektin kanssa perustettiin houkutuskasvikoekenttä MTT:n vihanneskoepaikalle Kokemäelle. Vuonna 2000 kentälle istutettiin taimista kahta kiinankaalilajiketta, kahta lanttulajiketta, yhtä naurislajiketta, yhtä kukkakaalilajiketta sekä itämaisia vihanneksia komatsunaa ja mizunaa. Näiltä kasveilta seurattiin kaalikärpästen munintaa läpi koko kasvukauden, mikä antoi arvokkaan lisän Köyliön kokeessa saatuihin tuloksiin. Houkutuskasvikäyttöön sopivien kukkakaalilajikkeiden etsintää jatkettiin Kokemäellä kasvukaudella 2001. Tällöin kokeessa oli mukana neljä kukkakaalilajiketta (Fremont, Mayflower, Helsinki, Talbot) ja yksi kiinankaalilajike (Yamiko). Kukkakaalilajike Talbot valittiin kokeeseen, koska se oli osoittautunut kaalikärpäsiä hyvin houkuttelevaksi, mutta myös vioitusta hyvin sietäväksi lajikkeeksi sveitsiläisessä tutkimuksessa (Freuler ym. 1999).

## **PCR-diagnostiikan kehittäminen kaalikärpäselle**

PCR-diagnostiikan kehittäminen kaalikärpästen tunnistamiseksi aloitettiin yhteistyössä Scottish Crop Research Institutun kanssa. Kolmen viikon jakson aikana sekvenssoitiin molempien kaalikärpästen ITS-alueet, jotta olisi pystytty kehittämään ITS-alueella toimivat spesifiset alukkeet PCR-tunnistustestiä varten.

## **Mansikan herbivoriresistenssi ja UV-B**

Kasvukausina 1998 ja 1999 suoritettiin UV-B ja UV-A säteilyn altistuskoeket mansikkalajikkeilla Jonsok ja Honeoye Jokioisissa ja Kuopiossa. Käytössä oli Kuopion yliopiston tutkimuspuutarhaan rakennettu UV-B ja UV-B – altistusjärjestelmä, jossa on avokenttäaltistuyksiköt neljänä toistona. Samanlainen järjestelmä rakennettiin MTT:lle Jokioisiin käyttäen kolmea kerranetta. Järjestelmä mittaa auringon UV-B säteilytasoa jatkuvasti ja kohottaa altistuskäsittelyssä UV-B säteilyä 30% taustasäteilyyn nähden. Samassa suhteessa säätyvä UV-A järjestelmä toimii kontrollina jossa UV-A alueen säteily kohoaa vain n. 2-5% taustaan nähden. Kasvien altistus suoritettiin solarium-lampuilla, joiden säteilystä valittiin haluttu aallonpituusalue suodatinkalvojen avulla.

## **Limoneeniruiskutuksen vaikutus mansikan kelpaavuuteen hillanälvikkäälle**

Laboratoriokokeissa selvitettiin puhtaan limoneenin ja limoneenikarvoniseoksen vaikutusta hillanälvikkäiden ravintokasvinvalintaan. Kokeet tehtiin lehtikiekkokokeina petrimaljoilla. Lehtikiekot leikattiin joko 2 tai 24 tuntia aiemmin ruiskutettujen mansikoiden lehdistä. Hillanälvikkään koiraiden ja naaraiden ravintokasvin valintaa seurattiin 24 tuntia ja kulutettu lehtiala mitattiin.

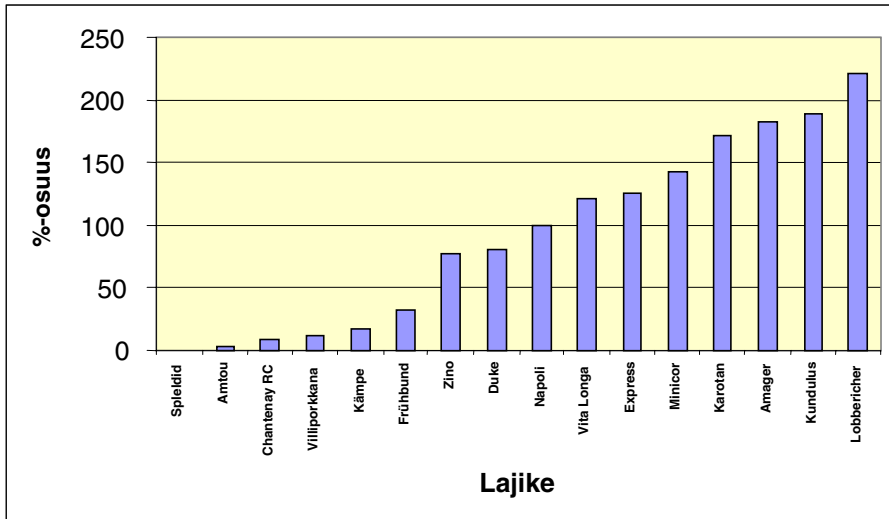
## **Tulokset ja tulosten tarkastelu**

### **Porkkanankemppien isäntäkasvin valinta**

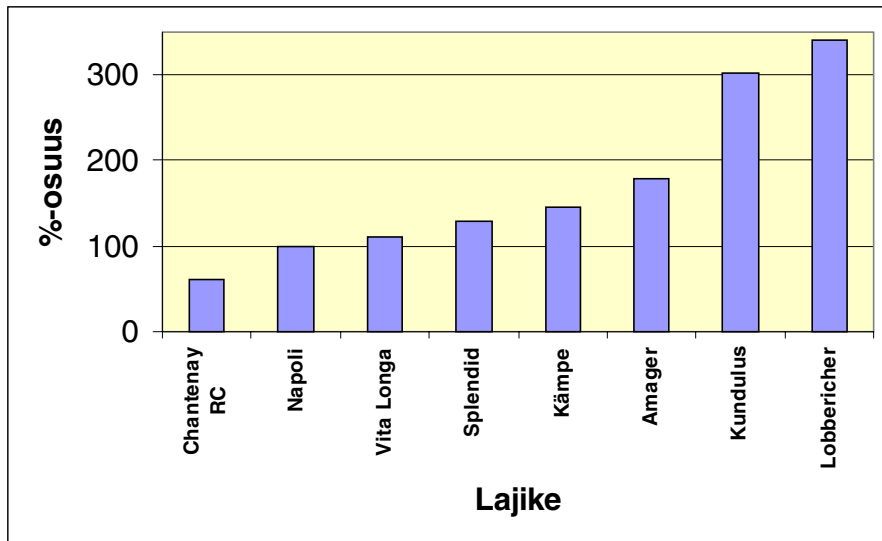
Molempina vuosina häkkikokeessa kempit munivat eniten samoille kolmelle lajikkeelle, jotka olivat Lobbericher, Kundulus ja Amager. Chantenay Red Cored säilyi molempina vuosina vähiten suosittujen lajikkeiden joukossa. Napolin ja Splendidin keskinäiset sijoitukset muuttuivat vuosien välillä eniten ( Kuvat 1 ja 2).

Kemiallinen koostumus mitattiin molempina vuosina kokeessa mukana olleista lajikkeista. Oheisessa kuvassa on esitetty tärkeimpien monoterpeenien prosenttiosuudet erilajikkeilla vuonna 2000. Kundulus poikkeaa kemiallisesti muista lajikkeista korkean sabineenipitoisuutensa osalta ja Splendid vastavasti erittäin matalan sabineenipitoisuutensa takia (Kuva 3). Kundulusen lehtien haihtuvan öljyn koostumus poikkeaa selvästi myös muista korkean munamäärän saavuttaneista lajikkeista (Amager ja Lobbericher).

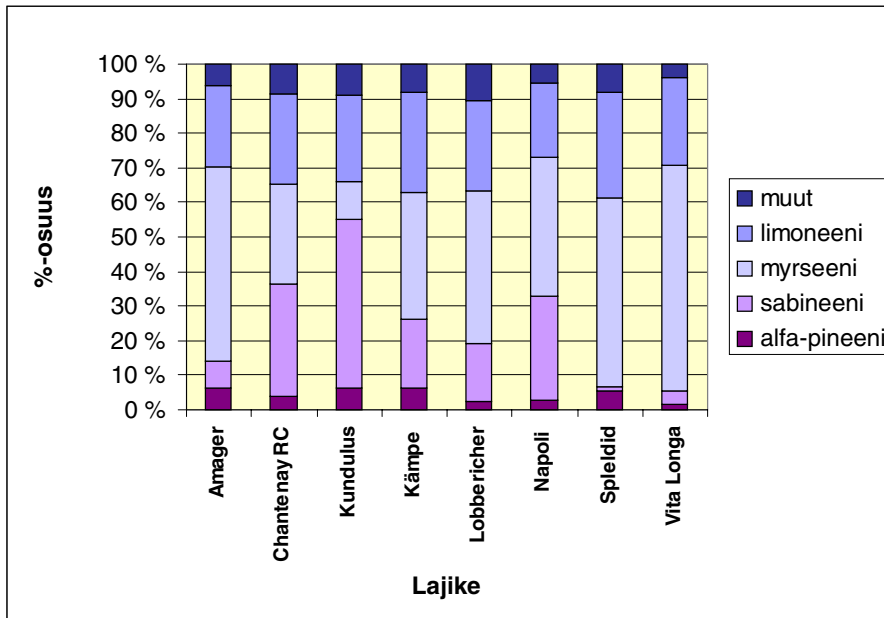




Kuva 1. Porkkanakempin munien määrät eri porkkanalajikkeilla vuonna 1999 prosenttiosuksina suhteessa verranteena olleeseen Napoli-lajikeeseen.



Kuva 2. Porkkanakempin munien määrät eri porkkanalajikkeilla vuonna 2000 prosenttiosuksina suhteessa verranteena olleeseen Napoli-lajikeeseen.



Kuva 3. Tärkeimpien monoterpeenien prosenttiosuudet eri porkkanalajikkeiden lehdistä 2000.

Tilastollisessa testauksessa (Kruskall-Wallis) kemppeiden munamäärissä eri lajikkeilla ei löydetty merkitseviä eroja. Tilastollisen testauksen kannalta ongelmia aiheuttaa porkkanakempein munintakäyttäytyminen. Kemppi asettuu jollekin kasville ja munii sen ensin täyteen ennen kuin siirtyy seuraavalle kasville. Näin ollen muninta-aineiston jakauma on erittäin vino ja tilastollisesti hankala käsitellä. Porkkanakempeet ilmeisesti suosivat kuitenkin joitakin porkkanalajikkeita, koska suurimmat munamäärät saatiin molempina vuosina samoille kolmelle lajikkeelle, mikä viittaa siihen, että nykyisiä viljelykäytössä olevia lajikkeita houkuttelevampia lajikkeita on mahdollista löytää.

Kokonaismunamäärän ja porkkanan lehtien haihtuvien aineiden välillä ei löydetty korrelaatioita. Yksi syy tähän on se, että saman lajikkeen sisälläkin porkkanan lehtien hahtuvien aineiden määrät vaihtelevat huomattavasti kasvuyksilöiden välillä. Toinen selitys on se, että Kundulus poikkeaa kempeiltä koostumukseltaan huomattavasti kahdesta muusta eniten munia keränneestä lajikkeesta. Dendrogrammin perusteella Kundulus muistutti kempeiltä ominaisuuksiltaan eniten ranskalaista villiporkkanakantaa, joka oli koeksessa mukana ensimmäisenä vuonna. Yleensä villit kantamuodot sisältävät enemmän puolustusaineita kuin jalostetut lajikkeet. Villiporkkana oli odotetusti vähiten suosittujen isäntäkasvien joukossa, mutta yllättävää on, että Kundulus sijoittui molempina koevuosina toiseksi suosituimmaksi lajikkeeksi munamäärien perusteella.

Kundulus on pyöreä porkkana (juuren paino keskimäärin 29,2 g, pituus 3,5 cm ja halkaisija 3,4 cm) ja Lobbericher on rehporkkana (juuren paino keskimäärin 76,2 g, pituus 15,2 cm ja halkaisija 3,0 cm). Molemmat lajikkeet ovat vanhoja ei-hybridilajikkeita. Kokeeseen valittiin vanhoja ei-hybridilajikkeita, koska kokeen yhtenä tarkoituksena oli etsiä potentiaalisia houkutuskasvikäyttöön soveltuvia lajikkeita. Ei-hybridilajikkeiden etuna houkutuskasvikäytössä olisi niiden alhaisempi siemenkustannus hybridilajikkeisiin verrattuna.

Kemppien käyttäytymisestä pelto-olosuhteissa ei juurikaan saatu tietoa, sillä kemppien esiintyminen Juvalla vuosina 1999-2000 oli erittäin vähäistä. Vaikka koelohkolla ei tehty kemppien torjuntaa ollenkaan, vioitukset eri lajikkeilla vaihtelivat 0-9 %. Vastaavasti vaikeina kemppivuosina alueilla, jossa torjuntaa ei ole tehty ollenkaan, on tuho voinut olla 100-prosenttinen.

## **Porkkanan indusoitu resistenssi**

Tulokset on tässä esitetty vain kesän 2000 osalta. Porkkanakemppin vioitus nosti useimpien terpenoidien pitoisuuksia sekä Splendidin että Paranon lehdissä, mutta vaikuttaa, että vioitus ei indusoinut kokonaan uusien yhdisteiden tuotantoa. Paranolla vioittuneiden kasvien keskimääräiset terpeenipitoisuudet olivat uutostäytteissä 1,5–8 kertaa suuremmat kuin vioittumattomien kasvien, mutta vain  $\alpha$ -pineenin, kamfeenin ja limoneenin pitoisuudet olivat merkittävästi korkeammat vioittuneissa kasveissa. Splendidillä uutostäytteissä asaronin (propenyylibentseeni) ja osimeenin (monoterpeeni) määrät olivat pienemmät vioittuneissa kasveissa kuin vioittumattomissa. Muiden tepeenin määrät olivat vioittuneissa kasveissa 1,1–4,7 kertaa suuremmat kuin vioittuneissa. Vain sabineenin, bornylasetatin ja longifoleenin määrät olivat vioittuneilla kasveilla merkittävästi suuremmat kuin terveillä kasveilla.

Parano- lajikkeen lehtiä ympäröivästä ilmatilasta kerätyissä näytteissä erot vioittuneiden ja terveiden kasvien välillä tulivat selvemmin esiin, kun aineistosta poistettiin kaksi kemiallisesti täysin muista poikkeavaa havaintoa. Toisessa kasvissa epäiltiin virussaastuntaa poikkeavan kasvun takia ja toinen kasvi vioittui keräysastiaan laitettaessa. Yleishaihtuvista aineista näytteissä esiintyi vain nonanaalia ja metyyylisalisylaattia. Metyyylisalisylaatin pitoisuus oli kuitenkin pienempi vioittuneilla kuin terveillä kasveilla. Muiden haihtuvien aineiden pitoisuudet nousivat 1,5-14 kertaa suuremmiksi vioittuneilla kuin terveillä kasveilla. Eniten Paranolla nousivat  $\beta$ -karyofylleenin, metyyliisoeugenolin ja  $\alpha$ -pineenin pitoisuudet. Splendidillä lehtiä ympäröivästä ilmatilasta kerätyissä näytteissä ei esiintynyt ollenkaan cis-osimeenia, joka kuuluu tyypillisesti indusoitaviin aineisiin. Limoneenin ja  $\alpha$ -terpinoleenin määrät olivat vioittuneissa kasveissa pienemmät kuin terveissä kasveissa. Metyyliisoeugenolin ja metyyylisalisylaatin määrät olivat molemmissa käsittelyissä samat ja muiden haihtuvien aineiden pitoisuudet olivat vioittuneissa

kasveissa 1,7–3,6 kertaa suuremmat kuin terveissä. Eniten Splendidillä nousivat  $\beta$ -karyofylleenin, longifoleenin ja  $\alpha$ -pineenin pitoisuudet.

Kasviyksilöiden välillä oli runsaasti vaihtelua haihtuvien aineiden määrissä sekä uutos- että ilmanäytteissä, mikä aiheuttaa sen, että monien aineiden hajonta nousi niin suureksi, ettei tilastollisesti merkitsevää eroa käsittelyiden välille syntynyt. Suurempaan eroon terveiden ja vioittuneiden kasvien haihtuvien aineiden pitoisuuksissa Paranolla kuin Splendidillä on saattanut vaikuttaa se, että Paranolla havaittiin kolmella kasvilla kemppivioituksen lisäksi myös kirvoja. Porkkanalla haihtuvien aineiden pitoisuuksien nousu on kuitenkin vähäistä verrattuna limapapuun, jonka indusoituvaa resistenssiä on tutkittu runsaasti vihannespunkkien vioitusten yhteydessä. Vihannespunkkien vioittamalla limapavuilla haihtuvien aineiden pitoisuudet nousivat 33–855-kertaisiksi verrattuna vioittumattomiin kontrollikasveihin (Dicke ym. 1999).

Kemppien vioittamien persikkapuiden lehtien haihtuvista aineista on todettu metyyllisalisylaatin, (E,E)- $\alpha$ -farneseenin ja yleishaihtuvista (Z)-3-heksenyylisetaatin, (Z)-3-heksen-1-olin, heksenylasetaatin ja 1-penten-3-olin määrän nousevan merkitsevästi (Scutareanu ym. 1997). Kemppien vioittamista porkkanoista yleishaihtuvia ei tavattu ollenkaan lukuunottamatta nonanaalia. Lisäksi heksenyylisetaattia esiintyi yhdessä vioittuneessa kasvissa Splendid-lajikkeella. Porkkanakemppivioituksen yhteydessä myös metyyllisalisylaattipitoisuus pysyi ennallaan tai jopa laski hieman vioittuneilla kasveilla. Metyyllisalisylaatti on kasvien haihtuva signaaliaine, jonka pitoisuus nousee useilla kasveilla hyönteis-, punkki- tai kasvitautivioituksen yhteydessä. Joidenkin petolajien, kuten nokkaluteiden ja petopunkkien, on havaittu reagoivan metyyllisalisylaattiin ja suunnistavan sen perusteella vioittuneille kasveille. Porkkanakemppin syljen aineosia ei tunneta, eikä tarkkaan tiedetä, mitä muutoksia kemppi kasvin metaboliassa aiheuttaa (Laurema 1989). Kasvin sykeröityminen jo sinänsä suojaa kemppin toukkia, mutta pystyvätkö porkkanakemppit lisäksi estämään metyyllisalisylaatin indusoitumisen ja samalla estämään luontaisia vihollisia löytämästä vioittuneita kasveja. Toinen mahdollinen selitys metyyllisalisylaatin mataliin tasoihin tässä kokeessa on se, että näytteet kerättiin liian myöhään metyyllisalisylaatin vapautumisen kannalta. On mahdollista, että kasvi tuottaa runsaasti metyyllisalisylaattia heti vioituksen alettua, mutta myöhemmin sen määrä voi laskea.

Vuodenvaihteessa 1999-2000 tehtyjen kokeiden tuloksia ei ole käsitelty tässä tarkemmin, koska talvella tehdyssä kokeessa käytettiin jo useiden sukupolvien ajan laboratorio-oloissa kasvatettua kemppikantaa. Vioitus porkkanoilla tuli näkyviin vasta 18 vuorokauden kuluttua, kun kirjallisuustietojen mukaan sen pitäisi tulla näkyviin keskimäärin kahden vuorokauden kuluessa (Markkula ym. 1976). Vioituksen hitaaseen ilmenemiseen saattaa myös vaikuttaa porkkanoiden kasvu, joka oli sydäntalvella erittäin hidasta. Lisäksi kokeessa käytetty Tenax GR-hartsin osoittautui terpeenien keräämiseen huonosti sopi-

vaksi; yksi porkkanan haihtuvien aineiden pääkomponenteista, sabineeni, hajosi analysointivaiheen aikana useaksi muuksi yhdisteeksi.

## Karkotusvaikutteisten aineiden testaus

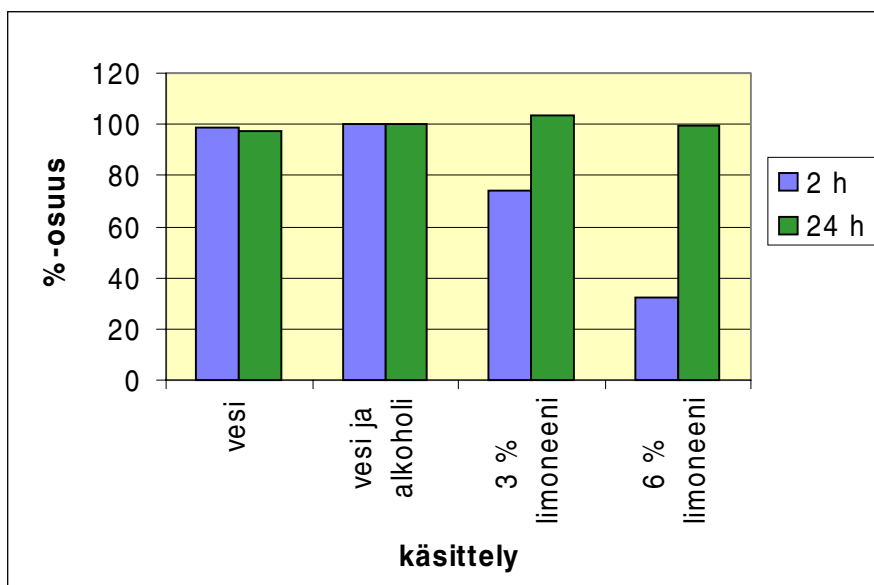
Limoneenikäsittelyjen ja kontrollitaimien välillä ei ollut munamäärissä tilastollisesti merkitseviä eroja. Tarkasteltaessa kokonaismunamääriä voidaan kuitenkin nähdä jotain suuntaviivoja. Paranolla, jolla on luontaisesti alhainen limoneenipitoisuus, munien kokonaismäärä jäi limoneenikäsittelyissä selvästi alhaisemmaksi kuin kontrollitaimissa, kun kempit vapautettiin häkkeihin kaksi tuntia käsittelyn jälkeen (Kuva 4). Kun kempit vapautettiin vuorokauden kuluttua käsittelystä, kokonaismunamäärät kaikissa käsittelyissä olivat suunnilleen samat. Tämä saattaa johtua siitä, että lehtien pinnoille ruiskutettu limoneeni oli haihtunut eikä sillä ollut enää mitään vaikutusta porkkanakemppien isäntäkasvinvalintaan.

Slendidillä, jolla on luontaisesti korkea limoneenipitoisuus lehdissä, limoneenin karkotusvaikutus ei näy kokonaismunamäärissä yhtä selkeästi kuin Paranolla vapautettaessa naaraat kasveille kahden tunnin kuluttua. Vapautettaessa naaraat porkkanoille vuorokauden kuluttua käsittelystä kokonaismunamäärät nousevat molemmissa limoneenikäsittelyissä verrattuna kontrollikäsittelyihin (Kuva 5). Tämä saattaisi johtua siitä, että limoneeni ruiskutettuna porkkanan lehdille indusoi joidenkin sekundaariaineenvaihduntatuotteiden tuotantoa porkkanan lehdissä ja siten muuttaa käsitellyt porkkanat jopa houkuttelevammiksi hyönteisille kuin käsittelemättömät.

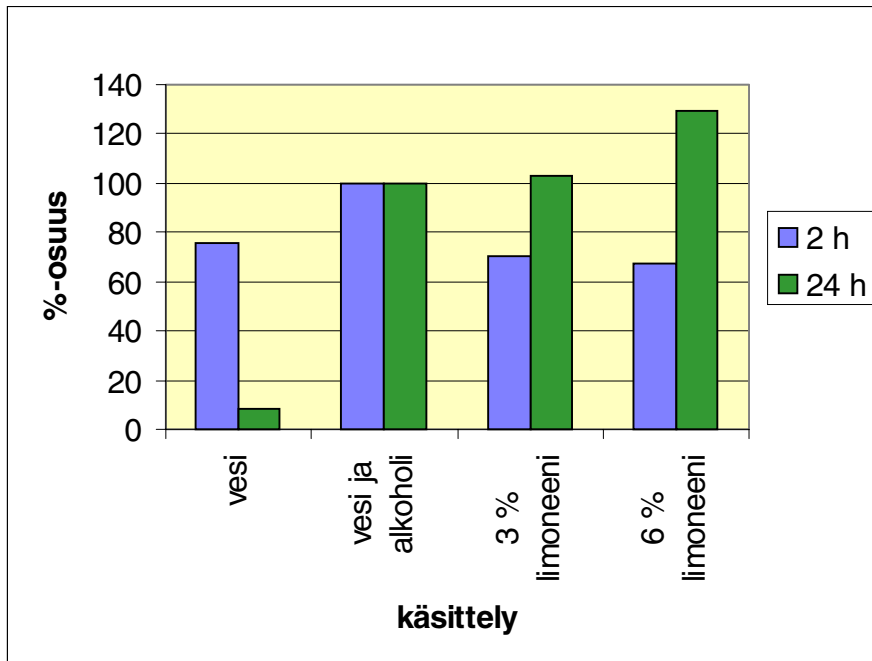
Limoneenikokeen tulokseen on saattanut vaikuttaa kokeen ajankohta ja silloin vallinnut valojakson pituus. Ruotsalaiset kokeet tehtiin kesällä peltoolosuhteissa. Tämä koe tehtiin helmikuussa kasvihuoneessa 20 h lisävalotuksessa. Ruotsalaisessa tutkimuksessa kemppien talvehtimisen kannalta kriittiseksi valojaksoksi on osoitettu 17 h, mutta kokeessa ei mitattu muuta käyttäytymistä kuin muninnan alkamista (Valterová ym. 1997). Valojakson pien-tenkin muutosten vaikutus porkkanakemppien isäntäkasvinvalintakäyttäytymiseen kävi ilmi vasta myöhemmissä *Kaalin ja porkkanan tuholaisen hallinta houkutus-karkotustekniikan avulla* –projektissa tehdyissä kokeissa. Valojakson lyhetessä ainakin osa kemppeistä siirtyy fysiologiseen talvehtimistilaan ja suunnistaa kuuselle. Kuusen luontainen limoneenipitoisuus on huomattavasti korkeampi kuin porkkanan, joten suurempi munien määrä limoneenikäsittelyillä taimilla on saattanut johtua myös siitä, että osa kemppeistä on pitänyt korkeampaa limoneenipitoisuutta houkuttelevampana talvehtimistilansa vuoksi. Valojakson vaikutus ei kuitenkaan selitä munamäärien kasvua limoneenikäsittelyillä taimilla vasta 24 tunnin kuluttua käsittelystä, joten todennäköisimpänä selityksenä voidaan pitää limoneenin aiheuttamaa sekundaariaineenvaihduntatuotteiden indusoitumista lehdissä. Toistaiseksi ei kuitenkaan tiedetä varmasti, mitkä kaikki tekijät vaikuttavat porkkanakemppin

isäntäkasvin vaihtoon keväällä ja syksyllä. Tästä syystä jatkossa karkotusvai-  
kutteisten aineiden testaus on tehtävä aikana, jolloin kempit olisivat luontai-  
sesti siirtymässä porkkanakasvustoon, jotta tuloksia voitaisiin pitää luotetta-  
vina.

Ruotsalaisissa tutkimuksissa on aiemmin todettu limoneenin karkottavan  
porkkanakempejä, mutta niissä kokeissa limoneeni haihdutettiin väliaineesta  
niin, ettei se suoranaisesti koskettanut porkkanan lehtiä. Suoraan kasvustoon  
ruiskutettuna limoneeni saattaa haihtua nopeammin kuin väliaineesta va-  
pautettuna, jolloin teho jää heikommaksi tai limoneeniruiskutus saattaa indu-  
soida porkkananlehdissä jopa kempejä houkuttelevia aineita. Tästä syystä  
olisi syytä tarkistaa kemiallisin analyysein, aiheuttaako limoneeniruiskutus  
muutoksia porkkanan lehtien haihtuvien aineiden määrässä tai laadussa. Väli-  
aineesta haihduttaminen voi olla helpommin hallittavissa oleva karkotusme-  
netelmä, koska se lisää vain limoneenin määrää porkkanaa ympäröivässä  
ilmatilassa, eikä todennäköisesti vaikuta porkkanan lehtien muiden sekundaarimetaboliittien pitoisuuteen. Torjuntastrategiana karkottavan aineen levittäminen feromonikapselin tyyppisestä haihduttimesta olisi kaikkein turvallisin vaihtoehto, koska se ei myöskään aiheuta jäämäriskiä itse kasvissa.



Kuva 4. Limoneeniruiskutuksen vaikutus porkkanakempein munintaan. Porkkanakemppi vapautettiin häkin keskeltä 2 ja 24 tunnin kuluttua käsittelystä. Porkkanalajikkeena oli Parano. Kuvassa on esitetty munien suhteellinen määrä verrattuna kontrollikäsittelyyn, jossa porkkanan lehdet on ruiskutettu 5 % alkoholiliuoksella.



Kuva 5. Limoneeniruiskutuksen vaikutus porkkanakempin munintaan. Porkkanakemppi vapautettiin häkin keskeltä 2 ja 24 tunnin kuluttua käsittelystä. Porkkanalajikkeena oli Splendid. Kuvassa on esitetty munien suhteellinen määrä verrattuna kontrollikäsittelyyn, jossa porkkanan lehdet on ruiskutettu 5 % alkoholiliuoksella.

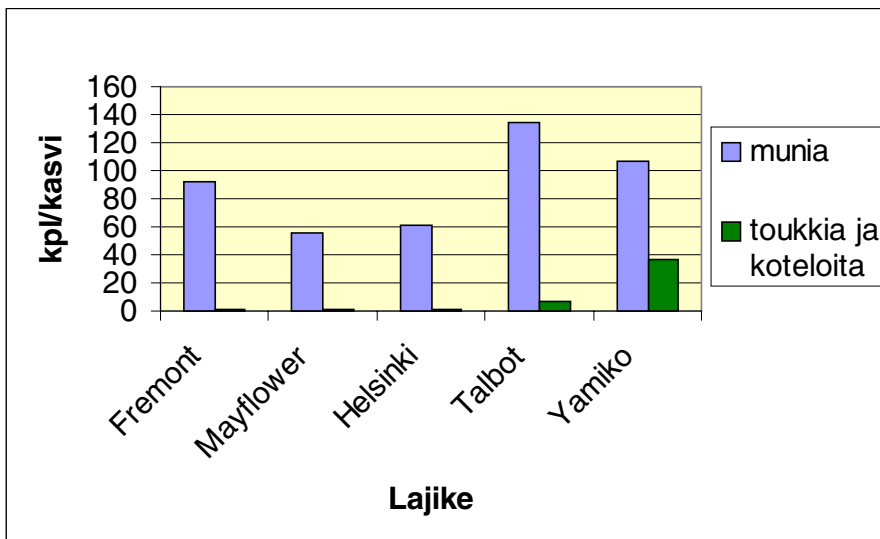
## Houkutuskasvien käyttö kaalikärpästen hallinnassa

Sekä häkkikokeista että ensimmäisen kasvukauden (2000) aikana kenttäkokeista saadut tulokset antoivat viitteitä siitä, että on mahdollista löytää kaalilajeja ja -lajikkeita jotka houkuttelevat kaalikärpäsiä tehokkaammin kuin keräkaali (Nissinen ym. 2001b). Vuoden 2000 kenttäkokeista on valmistunut myös pro gradu -työ, jossa houkutusvaikutus tuli hyvin esiin.

Ongelmia kaalikärpäseen kohdistuneen tehon mittaamisessa (vuoden 2000 houkutuskaistakokeessa) aiheuttivat kirpat, jotka söivät huomattavan osan houkutuskaistan kasveista niiden taimettuessa. Myöhemmin kirppavioitus johti houkutuskaistan voimakkaaseen rikkaruohottumiseen, jonka vuoksi koe jouduttiin keskeyttämään heinäkuun alussa. Siihen mennessä saatujen tulosten perusteella nähtiin kuitenkin, että pikkukaalikärpäsen ensimmäisen munintahuipun aikana kiinankaaleille tuli noin 6-kertainen määrä munia keräkaaliin verrattuna. Myös Kokemäellä kiinankaalit osoittautuivat houkuttelevimmiksi pikkukaalikärpäsen ensimmäisen munintahuipun aikana. Myöhemmin kesällä munanäytteiden perusteella houkuttelevimmaksi kasviksi

näytti nousevan kukkakaalilajike Fremont. Fremont osoittautui erityisen kiinnostavaksi houkutuskasviksi, koska se keräsi runsaasti kaalikärpästen munia – koko kesän aikana keskimäärin 153 munaa kasvia kohti – mutta tuotti keskimäärin vain 1,6 koteloa kasvia kohti.

Näiden havaintojen perusteella suunniteltiin kasvukaudeksi 2001 houkutuskaistasysteemi, jossa hyödynnettiin sekä kiinan- että kukkakaalia. Yamiko-kiinankaalilajike valittiin houkuttelemaan kirppoja ja pikkukaalikärpäsen ensimmäistä sukupolvea ja Fremont kukkakaalilajike valittiin houkuttelemaan isokaalikärpästä ja pikkukaalikärpäsen toista sukupolvea. Houkutuskaista päätettiin istuttaa taimista samaan aikaan keräkaalin kanssa, jotta houkutuskasvit kestäisivät paremmin kirppojen voitusta. Tämä koe kuului jo *Kaalin ja porkkanan tuholaiden hallinta houkutus-karkotustekniikan avulla* -projektin koetoimintaan ja sen tulokset raportoidaan myöhemmin.



Kuva 6. Kaalikärpästen munien ja koteloiden määrä kasvia kohti Yamiko-kiinankaalilla ja neljällä kukkakaalilajikkeella Kokemäen houkutuskasvikentällä 2001.

Kesällä 2001 jatkettiin houkutuskasvikäyttöön sopivien kukkakaalilajikkeiden etsintää. Uusien kukkakaalilajikkeiden joukosta mielenkiintoisimmaksi osoittautui Talbot, jolla munamäärät munintahuipun aikana kohosivat korkeammiksi kuin edellisen kesän parhaalla lajikkeella Fremontilla. Talbot-lajikkeen houkuttelevuus jatkui myös pitempään kuin Fremontin, mikä johtuu Talbot-lajikkeen vaatimasta pitemmästä kasvuajasta. Myös Talbotilla kaalikärpästen jälkeläisten tuotanto jäi melko alhaiseksi, keskimäärin 6,9 koteloa tai toukkaa kasvia kohti, vaikka se keräsi koko kasvukauden aikana keskimäärin 135 munaa kasvia kohden (Kuva 6). Fremontilla vastaavasti



munien kumulatiivinen summa kasvukauden aikana oli keskimäärin 92 munaa kasvia kohti ja koteloiden 0,8 kpl/kasvi.

Heikko kaalikärpäsien jälkeläistuotanto kukkakaalilla johtunee siitä, että niiden juuret ovat toukille liian kovat. Tanskalaisissa kokeissa on todettu, että kolme viikkoa istutuksen jälkeen 10-15 pikkukaalikärpäsien munaan riittää tuottamaan 5%:n kuiva-ainepitoisuuden laskun kukkakaalin juurissa. Neljä viikkoa istutuksen jälkeen tarvittiin jo vähintään 100 pikkukaalikärpäsien munaan kasvia kohti aiheuttamaan sama kuiva-ainepitoisuuden lasku juurissa. Nopean kaalikärpästoukkien sietokyvyn nousun selittänee se, että kukkakaalien juurten kuiva-ainepitoisuus kasvaa eksponentiaalisesti 6-7 viikon ajan istutuksen jälkeen (Bligaadr 1999). Toukokuun puolessa välissä istutetun houkutuskaistan kasvit olisivat noin 10-viikkoisia heinäkuun alussa, jolloin kukkakaalien houkuttelevuus lisääntyy ja isokaalikärpäsien lento alkaa. Iso-kaalikärpäset siis käytännössä tulevat liian myöhään paikalle tuottaakseen jälkeläisiä kukkakaalilla ja pikkukaalikärpäsien ensimmäisen sukupolven kiinnostus kohdistuu kiinankaalikaistaan. Houkutuskaistan istutusajankohtaan on syytä kiinnittää huomiota. Houkutuskaista on istutettava viimeistään heti kesäkuun alussa, jotta kukkakaalit ehtivät ohittaa alteimman vaiheensa ennen isokaalikärpäsien lennon alkua.

## **PCR-diagnostiikan kehittäminen kaalikärpäselle**

Sekvenssoinnin aikana selvisi, että kaalikärpästen ITS-alueen rakenne on varsin monimutkainen ja hankala alukkeiden suunnittelun kannalta. Toimivimmaksi ratkaisuksi osoittautui jo aiemmin äkämäpukkien tunnistusta varten suunniteltujen alukkeiden käyttö. Menetelmää testattiin aikuisista kärpäsisistä ja koteloista eristetyllä DNA:lla. Kokemäen houkutuskasvikentältä otettiin kesän 2000 aikana munanäytteitä PCR-tunnistusmenetelmän kehittämistä varten. PCR-tunnistusmenetelmää kokeiltiin kaalikärpäsien munille, mutta se ei toiminut lähdeäessä liikkeelle suoraan murskatusta munasta. Menetelmä olisi vaatinut ensin DNA:n puhdistusprosessin, esim. jonkun pudistuskitin käytön. Suurien munamäärien käsittelyyn tällainen prosessi on liian hidaskas ja liian kallis. Silloin, kun lajin määrittäminen oli ehdottomasti tutkimuksen kannalta välttämätöntä, päädyttiin kasvattamaan munista toukia. Toukat ovat tunnistettavissa lajilleen varsin varhaisessa vaiheessa peräpäässä olevien kitiiniharjujen perusteella.

## **Mansikan herbivoriresistenssi ja UV-B**

Mansikanlehtiaineistoista on tehty jo tuholaiskestävyydestä kemiaaliset määrittäykset, jotka valmistuivat vuoden 2000 aikana. Aineistosta on valmis-teilla käsikirjoitus tieteelliseen julkaisusarjaan. Muutamit yksittäiset fenoliset yhdisteet kohosivat UV-B altistuksen seurauksena kesän 1999 aineistossa,

mutta lajikekohtaiset erot olivat huomattavia. Typpi-analyysit osoittivat, että mansikan lajike, viljelypaikkakunta ja tutkimusvuosi vaikuttavat voimakkaammin typpipitoisuuteen kuin UV-käsittelyt. UV-B altistus alensi hieman mansikan lehtien kelpaavuutta aikuisille hillanälvikkaille, mutta toukkien kehityksessä ei havaittu selvää vastetta UV-altistuksiin. Merkillepantavaa oli että, Honeoye-lajike, jolla on korkeampi lehtien kokonaisfenolipitoisuus, kärsi vähemmän hillanälvikkaiden vioituksesta. Lajikkeiden välisistä kestävyyseroista hillanälvikästä vastaan on raportoitu kansainvälisessä mansikkakokouksessa heinäkuussa 2000 (Käyhkö ym. 2002). Tutkimuksen tuloksia on raportoitu myös kansallisessa UV-kokouksessa Turussa 31.8.-1.9.2000 sekä kansainvälisessä UV-B workshopissa Argentinan Mar del Platassa marraskuussa 2000.

## **Limoneeniruiskutuksen vaikutus mansikan kelpaavuuteen hillanälvikkälle**

Kesällä 1999 tehtyjen kokeiden tulokset koottiin yhteen ja niistä valmistui Pro Gradu -tutkielma, jonka tuloksia on myös esitelty review-artikkelissa (Ibrahim et al. 2001). Puhtaalla limoneenilla ja limoneenin ja karvonin seoksella (75%+25%) saatiin vain muutamissa osakokeissa nälvikäsaikuisten ja -toukkien syönti lievästi vähenemään käytettäessä 1% tai 3% liuosta. Korkeampina konsentraatioina limoneeni oli fytotoksinen mansikalle. Tutkimuksen johtopäätös oli, että limoneenikäsittelyillä ei saada riittävää tehoa hillanälvikkään torjuntaan vioittamatta samalla mansikkakasveja. Limoneenin sopivuutta tuholaistorjuntaan kannattaisi testata viljelykasveilla, jotka itse sisältävät vähäisessä määrin limoneenia ja sietävät siten korkeampia käsittelypitoisuuksia.

## **Yhteenveto**

### **Porkkana**

Tutkimuksessa löydettiin porkkananlajikkeita, jotka näyttävät houkuttelevan porkkanakemppiä paremmin kuin tällä hetkellä viljelyssä olevat hybridilajikkeet. Tutkimuksessa ei kuitenkaan pystytty osoittamaan selkeää yhteyttä porkkanan lehtien haituvien aineiden koostumuksen ja porkkanakemppin isäntäkasvinvalintakäyttäytymisen välillä. Vaikka houkuttelevuuden kemiallista perustaa ei vielä ole pystytty ratkaisemaan, kokeessa löydettyjä eniten houkuttelevia lajikkeita voitaisiin jatkossa testata houkutuskasvisyhteisöissä yhdessä karkotusvaikutteisten aineiden kanssa.

Suoraan kasvustoon ruiskutettuna limoneeni tai muut karkoteaineet saattavat aiheuttaa terpeenien indusoitumista lehdissä. Lehtien kemiallisen koostumuksen

sen muutos saattaa vaikuttaa kempin käyttäytymiseen. Porkkana voi karkoteaineen indusoimien aineiden takia muuttua jopa houkuttelevammaksi, joten karkoteaineiden aiheuttama indusoituminen on syytä tutkia ennen kuin tekniikkaa sovelletaan käytäntöön. Väliaineesta tai haihduttimista vapauttaminen voisi karkoteaineilla olla toimivampi ratkaisu kuin kasvustoon ruiskuttaminen, koska tällöin on mahdollista välttää sekundaariaineiden indusoitumista ja jäämäärisiä kasvissa sekä lisätä karkoteaineen pysyvyyttä kasvustossa.

Porkkanakemпин perusbiologia tunnetaan joltain osin edelleen huonosti, koska se on tuholaisena merkittävä vain suhteellisen pienellä alueella Pohjois-Euroopassa. Tästä johtuen tutkimuksen aikana on tullut esille yllättäviä seikkoja porkkanakemпин käyttäytymisestä, mikä on vaikeuttanut tutkimuksen toteuttamista. Viimevuosien aikana ainoat porkkanakemppiin keskittyvät tutkimukset on tehty Suomessa, joten tutkimusta vaikeuttaa myös tutkijakollegoiden ja kansainvälisten yhteistyömahdollisuuksien puute.

## **Kaali**

Houkutuskasvien käyttö kaalikärpästen ja myös kirppojen torjunnassa osoitautui lupaavaksi tekniikaksi. Tutkimusta jatketaan Kuopion yliopiston ja MTT:n yhteisprojektissa *Kaalin ja porkkanan tuholaiden hallinta houkutus-karkotustekniikan avulla*. Projektissa kehitetään houkutuskaistasysteemin viljelytekniikkaa yhteistyössä viljelijöiden kanssa sekä lasketaan houkutuskaistasysteemin viljelijälle aiheuttamia kustannuksia. Projektin tuloksista tarkemmin: Nissinen ym. 2001a ja Nissinen ym. 2002. Tulevan kasvukauden aikana on tarkoitus paneutua myös houkutuskaistasysteemissä käytettävien kaalilajien ja -lajikkeiden haihtuvien aineiden koostumukseen.

Houkutuskasvitekniikan käyttöönottoa rajoittavat nykyiset tukisäädökset, joiden mukaan houkutuskasvikaistaa ei voida sijoittaa päästeeseen, koska houkutuskasvi tulkitaan istutettaessa viljelykasviksi, vaikka siitä ei ole tarkoitus satoa tuottaakaan ja päiste on periaatteessa viljelemätöntä aluetta. Kasvulohkoon houkutuskaistaa taas ei voida hyväksyä kuuluvaksi, koska kansallisissa tuissa on korjuuvelvoite, eikä houkutuskaistalta korjata satoa. Tässä tilanteessa houkutuskasvien käytöstä aiheutuvat kustannukset jäävät kokonaan viljelijän maksettavaksi. Suurin kustannus aiheutuu viljelypinta-alan sitoutumisesta muuhun käyttöön. Suhteellisen pienikin viljelypinta-alan sitoutuminen houkutuskasvikäyttöön, siis tuholaiden ekologiseen hallintaan kuuluva resurssi, voi olla korkeasatoisilla puutarhakaasveilla, kuten kaalilla ja porkkanalla, varsin merkittävä tuotantokustannus. Näin ollen tukipolitiikkaa olisi syytä muuttaa siihen suuntaan, että se kannustaisi viljelijöitä ottamaan käyttöön uusia ympäristöystävällisempiä tuholaiden hallintakeinoja.

## Mansikka

Tämän tutkimuksen havainto oli, että jos auringon lähettämään UV-B säteily kohotetaan kenttäoloissa tasolle, jota viimeisimmät otsonikatoa koskevat mallit ennustavat, ei mansikkakasvien kemiallinen laatu muutu oleellisesti. Tämä merkitsee myös sitä, että huomattavaa lisääntymistä hillanälvikkään vioituksissa ei UV-B säteilyn muuttumisen vuoksi ole odotettavissa. Lämpötilan kohoamisen ja ilmehän hiilidioksidipitoisuuden nousun vaikutukset hillanälvikävioituksiin voivat olla huomattavasti voimakkaammat.

Limoneenikäsittelyjen vaikutusta selvittäneet kokeet osoittivat, että kasvien tuottamat haihtuvat öljyt ruiskutettuina kasvien lehdille eivät sellaisenaan ole ratkaisu tuholaisten vioituksen vähentämiseen karkottamiseen mansikkakasvustoista. Liian korkeina pitoisuuksina yhdisteet voivat aiheuttaa suurempaa tuhoa kuin tuhohyönteiset. Erilaisten haihtuvien kasviperäisten yhdisteiden merkityksestä kasvien kemiallisen puolustuksen vahvistamisessa tarvitaan lisää tutkittua tietoa luomuviljelyyn sopivien kenttäkelpoisten torjuntamenetelmien kehittämiseksi.

## Kirjallisuus

- Bligaard, J. 1999. Damage thresholds for cabbage root fly [*Delia radicum* (L.)] in cauliflower assessed from pot experiments. *Acta Agriculture Scandinavica, Section B, Soil and Plant Science* 49: 57-64.
- Dicke, M., Gols, R., Ludeking, D. & Posthumus, M. A. 1999. Jasmonic acid and herbivory differentially induce carnivore-attracting plant volatiles in lima bean plants. *Journal of Chemical ecology* 25: 1907-1922.
- Freuler, J., Fischer, S., Gagnebin, F., Perko, J. Granges, A. & Mittaz, Ch. 1999. Résistance relative de quelques varieties d chou-fleur à la mouche du chou, *Delia radicum* L. *Revue Suisse de Viticulture arboriculture Horticulture* 32(2): 109-113.
- Ibrahim, M.A. Kainulainen, P., Aflatuni, A. Tiilikkala, K. & Holopainen, J.K. 2001. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: With special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. *Agricultural and Food Science of Finland* 10: 243-259.
- Käyhkö, P., Suoninen, T., Tiilikkala, K. & Holopainen, J.K. 2002. Susceptibility of two strawberry varieties to the leaf beetle *Galerucella sagittariae*. *Acta Horticulturae* 567:695-698.
- Laurema, S. 1989. Free amino acids in the psyllid *Trioza apicalis* Först. (Homoptera, Triozidae) and the carrot leaves. *Annales Agriculturae Fenniae* 28: 113-120.

- Markkula, M., Laurema, S. & Tiittanen, K. 1976. Systemic damage caused by *Trioza apicalis* on carrot. *Symposia Biologica Hungarica* 16: 153-155.
- Mitchell, E.R. 2000. Management of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) in cabbage using collard as a trap crop. *HortScience* 35(5): 875-879.
- Nissinen, A., Heponeva, K., Kallela, M., Ojanen, H., Tiilikkala, K. & Holopainen, J. 2001a. Houkutuskasviteknikka lähestyy käytännön sovellutusta kaalilla. *Puutarha & kauppa* 5(47): 10-11.
- Nissinen, A., Hirvonen, A., Kallela, M., Holopainen, J. & Tiilikkala, K. 2001b. Houkutuskasveista kaalikärpäsen torjunnassa lupaavia tuloksia. *Puutarha & kauppa* 5(1): 14-15.
- Nissinen, A., Heponeva, K., Tiilikkala, K. & Holopainen, J. 2002. Houkutuskaistan kustannusvaikutukset IP- ja luomukaalinviljelyssä. *Kasvinsuojelulehti* 35(1): 7-11.
- Scutareanu, P., Drukker, B., Bruin, J., Posthumus, M. A. & Sabelis, M.W. 1997. Volatiles from *Psylla*-infested pear trees and their possible involvement in attraction of anthocorid predators. *Journal of Chemical Ecology* 26(12): 2825-2841.
- Valterová, I., Nehlin, G. & Borg-Karlson, A-K. 1997. Host Plant chemistry and preferences in egg-laying *Trioza apicalis* (Homoptera, Psylloidea). *Biochemical Systematics and Ecology* 25(6): 477-491.

# Heräteaineet ja fenoliyhdisteet kasvitautien torjunnassa

Reijo Karjalainen<sup>1,2)</sup>, Anne Hukkanen<sup>2)</sup>, Mikko Anttonen<sup>2)</sup>, Kari Tiilikkala<sup>1)</sup>, Harri Kokko<sup>3)</sup> ja Sirpa Kärenlampi<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>MTT, Kasvintuotannon tutkimus, Kasvinsuojelu, 31600 Jokioinen, [reijo.karjalainen@mtt.fi](mailto:reijo.karjalainen@mtt.fi), [kari.tiilikkala@mtt.fi](mailto:kari.tiilikkala@mtt.fi)

<sup>2)</sup>Kuopion yliopisto, Ekologisen ympäristötieteen laitos, PL 1627, 70211 Kuopio, [anne.hukkanen@uku.fi](mailto:anne.hukkanen@uku.fi), [mikko.anttonen@uku.fi](mailto:mikko.anttonen@uku.fi)

<sup>3)</sup>Kuopion yliopisto, Biokemian laitos, PL 1627, 70211 Kuopio, [harri.kokko@uku.fi](mailto:harri.kokko@uku.fi), [sirpa.karenlampi@uku.fi](mailto:sirpa.karenlampi@uku.fi)

## Tiivistelmä

Kasvitauteja voidaan torjua perinteisesti biologisin ja kemiallisin menetelmin, mutta myös uusien keinoin. Kasvien luontainen taudinkestävyys paranee, kun niihin ruiskutetaan heräteaineita eli elisitoreja. Nämä aineet käynnistävät kasvin omat puolustuskeinot. Kun kasvin lehdille ruiskutetaan esimerkiksi aspiriinia, aktivoituu kasvissa monia biokemiallisia kasvin taudinkestävyys-teen vaikuttavia aineita. Ne estävät taudin etenemisen kasvissa. Tehokkaimmat elisitorit, kuten Benzothiadiazole-salisyylihappojohdannainen torjuivat härmätautia tehokkaasti mansikan kasvihuoneviljelyssä. Uudet elisitoreihin perustuvat torjuntakeinot ovat vaihtoehto muun muassa vaikeasti torjuttavien kurkun, ruusun ja tomaatin härmätautien kemialliselle torjunnalle. Lupaava käyttökohde on myös vihannesten varastokestävyys ja laadun parantaminen ”rokottamalla” vihannekset elisitoreilla ennen varastointia.

Heräteaineet saavat kasvien signaalivälityksen toimimaan ja muodostamaan suoja-aineita. Monet näistä suoja-aineista ovat kehittyneet vuosimiljoonien aikana suojaamaan kasveja taudeilta ja muilta stressitekijöiltä. Sattumalta osa näistä suoja-aineista on terveellisiä myös ihmiselle. Keskityimme tutkimuksemme marjojen flavonoideihin, jotka ovat fenolisia yhdisteitä. Niitä on tunnistettu kasveista yli 4000 erilaista. Myös niiden terveyttä edistäviä ominaisuuksia on tutkittu paljon. Havaitimme, että marjakasvilajikkeiden fenolisten yhdisteiden pitoisuudet vaihtelivat huomattavasti. Mustaherukoista eniten flavonoleja oli ulkomaisissa lajikkeissa, kuten Tritonissa ja Ben Tro-nissa. Vadelmista Balder-lajike sisälsi selvästi eniten kversetiiniä. Harmaa-hometta parhaiten kestävässä Honeoye-lajikkeessa oli kaksinkertainen määrä flavonoleja verrattuna taudinalttiiseen Senga sengana -lajikkeeseen. Niinpä kasvinjalostuksen keinoin voidaan kehittää esimerkiksi funktionaalisten elintarvikkeiden raaka-aineiksi hyvin soveltuvia lajikkeita, joissa on poikkeuksellisen runsaasti terveystoimintoja.

---

*Avainsanat: kasvinsuojelu, heräteaineet, taudinkestävyys, fenolit, mustaherukka, mansikat, vadelma*

---

## Johdanto

Kasveille on pitkän kehityshistorian aikana kehittynyt monia tehokkaita luontaisia, perinnöllisiä keinoja, joiden avulla ne kykenevät puolustautumaan taudinaiheuttajia vastaan. Näistä puolustuskeinoista osa on kasvilla pysyvästi, ja ne toimivat siten passiivisesti taudinaiheuttajia vastaan. Merkittävä osa kasvin puolustusmekanismeista aktivoituu vasta, kun patogeeni iskeytyy kasviin. Tällöin infektiokohta reagoi nopeasti solujen tiivistymisellä, johon liittyy usein mm. fenolisten yhdisteiden ja monien muiden antifungaalisten yhdisteiden (mm. fytoaleksiinit) kerääntymistä, mistä seurauksena on usein solukuolema (hypersensitiivinen reaktio) ja tunkeutuvan patogeenin kasvun tyrehtyminen (esim. Karjalainen ym. 1998). Infektion seurauksena kasvin puolustusreaktiot eivät rajoitu vain infektiokohdan välittömään läheisyyteen, vaan tiedetään, että eräät biokemialliset yhdisteet, kuten hydrolyyttiset entsyymit ja niitä edeltävät geenitoiminnat, aktivoituvat ensin koko lehden alueella ja sitten vähitellen koko kasvilla (esim. Karjalainen ym. 1998). Tästä resistenssin muodosta käytetään usein termiä SAR (systemic acquired resistance), joka tarkoittaa systeemisesti hankittua kestävyttä. Ilmiö ei ole mitenkään uusi, vaan jo lähes 100 vuotta sitten havaittiin ensimmäisen kerran, että aikaisemmin lievän infektion saanut kasvi voi olla seuraavan infektion sattuessa kestävämpi useampaa taudinaiheuttajaa vastaan. Kasvinsuojelun kannalta tehtiin merkittävä havainto, kun huomattiin, että ruiskutettaessa kasvin pinnalle tiettyjä ärsykeaineita eli elisitoreita (heräteaineita), pystyttiin indusoitu puolustus aktivoimaan kasvilla (Cartwright ym. 1977). Tämä havainto avasi tien uuden sukupolven kasvitautilien torjuntamenetelmien kehittämiseksi. Uudentyyppisestä torjuntakeinosta toivotaan erityisesti apua luomutuotannon kasvitautiluongelmien ratkaisemiseen, sillä perinteisin biologisin keinoin voidaan vain torjua pientä osaa merkittävistä taudeista.

Elisitorit ovat ärsykemolekyylejä, jotka aktivoivat kasvin puolustusreaktiot erilaisia stressejä vastaan. Tunnetuin näistä heräteaineista on salisyylilihappona ("aspiriini"), jonka on tiedetty jo yli 20 vuotta tehostavan kasvin taudinkestävyttä. Ulkoisesti annettu aspiriinikäsittely aktivoi kasvilla monia kasvin taudinkestävyteen liittyviä puolustusmolekyylejä, jotka johtavat monilla kasveilla taudinkestävyden parantumiseen sekä sieniä että viruksia vastaan (Chivasa ym. 1997, Mauch-Mani & Metraux 1998, Naylor ym. 1998). Salisyylilihapon rakenteen perusteella on tehty myös ensimmäinen kaupallinen, synteettinen elisitori (BTH, Bion), jota on käytetty härmän torjunnassa (Görlach ym. 1996, Lawton ym. 1996). Hyvin tehokkaita elisitoreja ovat mm. mikrobien soluseinistä eristetyt fraktiot, joissa usein on aktiivisena osana glukaani (Hahn 1996). Hiivan soluseinistä voidaan hyvin helposti eristää tehokkaita fraktioita, jotka kykenevät aktivoimaan mm. fenyylipropaanireitin entsyymejä ja geenejä (Kervinen ym. 1998). Hiivaelisitorien on havaittu aktivoivan mm. ohran ja mansikan puolustusreaktioita pelto-oloissa, mikä on

johtanut melko tehokkaaseen härmäntorjuntaan (Lindroos ym. 1996, Reglinski ym. 1994). Kasvien bakteeritaudin aiheuttajasta (*Erwinia amylovora*) on eristetty valkuainen (Harpin), jonka on havaittu aiheuttavan voimakkaan puolustusreaktion kasvilla. Tämän proteiinin hyödyntämiseen perustuu uusi kaupallinen elisitori, Messenger (Eden Bioscience, USA), jota parhaillaan testataan eri puolilla maailmaa. Erilaisista kasvien osista on mahdollista myös eristää puolustusta aktivoivia heräteaineita, mutta näitä ei toistaiseksi kaupallisesti ole juuri saatavilla. Luomutuotannossa käytetään kuitenkin lukuisia kasvipärisiä torjuntapreparaatteja, mutta näiden kemiallisesta koostumuksesta tiedetään usein hyvin vähän. Luomuviljelyn lisääntyessä koko Euroopan alueella, tarve kasvipäristen, hyvin karakterisoidujen uudentyyppisten torjunta-aineiden kehittämiseen on suuri. On erittäin tärkeää, että kasveihin ruiskutettavien ”luomuaineiden” bioaktiivisten aineiden koostumus tunnetaan, koska tämä mahdollistaa standarnoida paremmin tuotteiden tehokkuuden ja niiden turvallisuuden ihmisen ja ympäristön kannalta.

Monet puolustusreaktiot aktivoituvat elisitorikäsitellyissä kasvisoluissa erittäin nopeasti. Jo muutaman minuutin kuluttua elisitorikäsitellyissä soluissa tapahtuu ioni-muutoksia, joita seuraa oksidatiivinen purkaus, jossa vapautuu vetyperoksidia ja muita hapettavia aineita. Näillä aktiivisilla happituotteilla on tärkeä rooli taudinkestävyydessä, sillä ne voivat toimia välituotteina signaalivälitteisessä defense-molekyylien aktivaatiossa, ja joissain tapauksissa niiden on todettu suoraan inhihoivan patogeenin kasvua (Alvarez ym. 1998). Elisitorit aktivoivat monia kasvin taudinkestävyyteen liittyviä genejä. Esimerkiksi BTH (Bion) käsitellyissä kurkun juurissa on havaittu voimakasta fenolisten yhdisteiden kerääntymistä infektiokohdan läheisyyteen (Benhamou & Belanger 1998a), ja mansikan lehdissä on monen fenoliyhdisteen havaittu myös lisääntyvän BTH-käsittelyn jälkeen (Karjalainen ym. 2002a,b). Monilla fenoliyhdisteillä, kuten flavonoideilla, tiedetään olevan sieniä ja viruksia ehkäisevää aktiivisuutta (Malhotra ym. 1996, Fawe ym. 1998, Goets ym. 1999); monilla näistä on myös antioksidanttiaktiivisuutta (Vinson ym. 2001, Nijveldt ym. 2001).

On biologisesti mielenkiintoista, että monet kasvin taudinkestävyyteen liittyvät bioaktiiviset aineet vaikuttavat myös edullisesti ihmisen terveyteen (Jang ym. 1997, Adrian ym. 1998). Monia yhtäläisyyksiä on havaittu myös ihmisen infektiotautien ja kasvin tautiprosessin varhaisen molekyylitason mekanismeissa. Molemmissa infektiotapauksissa puolustusvasteet usein aktivoituu samantyyppisten tunnistus ja signaaliketjujen välityksellä, joista yksi tunnetuimpia on mm. nopean oksidatiivisten happiradikaalien muodostus sekä eläin että kasvisoluissa (Taylor ym. 1998). Fenoliyhdisteistä, ellagihapoilla, joita hyvin runsaasti esiintyy mm. viljellyistä marjoista mansikassa ja vadelmassa, arvellaan olevan antikarsinogeenisiä ja antimutageenisia ominaisuuksia (Maas ym. 1991). Niiden roolista, vaikka esiintyvät runsaina marjojen lisäksi kasvien lehdissä (ellagitanniineina), tiedetään hyvin vähän. Marjojen ja muiden kasvien lehdistä tehdyillä uutteilla on havaittu voimakasta antimik-



robiaalista vaikutusta (Puupponen-Pimiä ym. 2001), ja tämän vaikutuksen oletetaan liittyvän ellagitanniinien mahdolliseen antimikrobiaaliseen vaikutukseen. Näissä kokeissa ellagitanniineja sisältäneet kasviuutteet ovat tehonneet myös ihmisen infektio-tautien aiheuttajiin ja elintarvikkeiden pilaantumiseen liittyviin bakteereihin (Ho ym. 2001, Puupponen-Pimiä ym. 2001).

Flavonoidit ovat tunnettuja terveyskomponentteja, joiden roolia ihmisen sydän ja verisuonitautien ja eräiden syöpien yhteyksissä on paljon tutkittu. Kversetiini on flavonoideista voimakkaasti antioksidanttinen (Arai ym. 2000) ja sen on todettu mm. ehkäisevän syövän syntyyn liittyvien DNA-vaurioiden muodostumista ja LDL-partikkelien hapettumista, joka johtaa ateroskleroosin syntyyn (Liu ym. 2000, Choi ym. 2001, Nijveldt ym. 2001). Kversetiinin ja kemferolin tiedetään myös sisältävän antimikrobiaalisia ominaisuuksia eläinperäisiä taudinaiheuttajia vastaan (Nijveldt ym. 2001, Puupponen-Pimiä ym. 2001); näiden on myös todettu ehkäisevän sieni ja virustautien kehitystä kasveissa (Malhotra ym. 1996, Goets ym. 1999). Isoflavonoideja esiintyy erityisesti palkokasveilla, kuten soijassa ja apiloissa sekä lignaanina pellavassa ja rukiissa. Isoflavonoidit ovat kasviestrogeeneja, joiden roolista hormoniperäisten syöpien ehkäisyssä on saatu paljon tutkimustuloksia. Isoflavonoidit ovat yksi tunnetuin-pia kasvien fytoaleksiinien ryhmiä, joiden roolia taudinkestävyydessä on paljon tutkittu.

## Aineisto ja menetelmät

### Elisitorikokeet

Kasvihuonekokeissa koekasvina on käytetty Jonsok-lajiketta. Kokeet on suoritettu 4 kerranteena (randomized-block design). Taimet (30-50 kpl/kerranne) on ruiskutettu 2-3 lehtiasteella BTH elisitorilla (0,6-1,2 g/l, Ciba-Syngenta, Sveitsi, Karjalainen ym. 2002b) tai Messenger-valmisteella (Eden Bioscience, USA). Kontrollit on käsitelty vedellä.

Testattaessa Messengerin tehoa torjua mansikan härmää, mansikan taimien lehdet käsiteltiin 0,3 g/L liuoksella ennen inokulointia ja sen jälkeen 2 viikon välein vastaavasti pitoisuudella 1,0 g/L. Messenger-kokeessa härmän kehitystä seurattiin infektoituneen alan osuutena kokonaislehtialasta ja BTH – kokeessa härmän etenemistä seurattiin mittaamalla infektoitunutta alaa (mm<sup>2</sup>) (Karjalainen ym. 2001).

Elisitorien käyttöä käytännön mansikkaviljelmillä on testattu erityisesti Tuusulassa (Juhmon marjatilalla), ja flavonoidinäytteitä on otettu Tuusulasta (Juhmon marjatilalla), Inkoosta (Lill-breds), Karjalohjalta (Ali-Alhan luomutila), Vihdistä (Vainion luomutila). Kenttäkokeissa BTH annos on ollut 60 g/ha ja Messenger 300 g/ha. Kokeet on tehty neljänä kerranteena, 120 tain-

ta/kerranne. Koelajikkeita ovat olleet Senga sengana, Polka ja Korona. Kentäkoeissa on tutkittu elisitorien vaikutusta tauteihin, kasvuston kehitykseen ja sadonmuodostukseen sekä fenolisiin terveystoimikomponentteihin. Marjanäytteet HPLC analyysiä varten (500 g/näyte) on kerätty tasakypsinä elisitori- ja kontrollikäsitellyistä ruuduista. Näytteet on välittömästi jäädytetty hiilihappojäihin ja varastoitu  $-20^{\circ}\text{C}$  tai  $-80^{\circ}\text{C}$ .

## Fenoliyhdisteiden analyysit

### Lehtien fenolityhdisteet

Lehtien fenoliset yhdisteet analysoitiin Keinänen & Julkunen-Tiitto (1998) muokatulla menetelmällä. Lehdet kylmäkuivattiin ja hienonnettiin alle  $4\text{ mm}^2$  kokoisiksi paloiksi. Tästä punnittiin 0,4-0,5 g:n näyte, josta fenoliset yhdisteet uutettiin 2 kertaa 3 minuuttia Ultra-Turrax –homogenisaattorilla 25 millilitralla 100 %:sta metanolia. Suodatetut yhdistetyt uutokset haihdutettiin kuiviin pyöröhaihduttajalla vesihauteessa alle  $+40^{\circ}\text{C}$ . Haihdutusjäännös liuotettiin 50 prosenttiseen metanoliin.

HPLC –systeemi koostui Hewlet-Packardin 1050 sarjan kvaternäärisestä pumpusta ja automaattisesta näytteensyöttäjästä sekä 1040A sarja fotodiodirividetektorista. Analyysissä käytettiin  $3\text{ }\mu\text{m}$ :n HP ODS Hypersil (sisähal-kaisijat 60-4,6 mm) kolonnia. Ajoliuoksina käytettiin vesi – tetrahydrofuraani - o-fosforihappo –seosta, 97,35:2,40:0,25 (A) ja metanolia (B). Gradientti oli seuraavanlainen: 0-4 min, 2-12% B; 4-30 min, 12-35% B; 30-45 min, 35-60% B. Virtausnopeus oli  $2\text{ mL/min}$  ja injektioilavuus  $20\text{ }\mu\text{L}$ . Detektointi suoritettiin aallonpituuksilla 220, 280, 320 ja  $360\text{ nm}$ .

### Marjojen fenoliyhdisteet

Flavonolien analyysissä käytettiin marjakasvien flavonolianalyysiin opti-moitua menetelmää Mikkonen ym. (2001) mukaan. Analyysit tehtiin neljänä kerranteena.  $2\text{ x }100\text{ g}$  jäisiä marjoja sulatettiin mikroaaltouunissa, jonka jälkeen jäiset marjat hienonnettiin tehosekoittajalla. Kummastakin hienon-nuksesta punnittiin kaksi  $5\text{ g}$  gramman näytettä. lasikolveihin Uutto suoritettiin 50 % metanolilla, johon oli lisätty  $1\text{ g/L}$  tert-butyylhydroksikinonia (TBHQ) antioksidantiksi. Sisäiseksi standardiksi mitattiin moriiniliuosta näytteiden falvonolipitoisuuksia vastaava määrä. Uutto suoritettiin  $+35^{\circ}\text{C}$  vesihauteessa sekoittaen ( $150\text{ kierrosta/min}$ ) 2 h. Kiinteä marja-aines eroitettiin uutoksesta sentrifugoimalla ( $1000\text{ g}$ , 10 min).

$15\text{ mL}$  uutosta siirrettiin  $50\text{ mL}$ :n putkiin ja lisättiin  $3\text{ mL}$   $6\text{ M HCl}$  (loppu-tulos  $1\text{ M HCl}$ ) ja hydrolysoitiin sekoittaen ( $150\text{ kierrosta/min}$ ) vesihauteessa

+80° C 1 h. Hydrolyysi pysäytettiin jäädyttämällä kylmällä vedellä käden lämpöiseksi ja lisäämällä 3 mL 6 M NaOH.

Näytteiden säilyvyyden parantamiseksi flavonolit uutettiin hydrolysaatista etyyliasetaatiiin, josta näyte konsentroidiin HPLC –analyysia varten. NaOH:n lisäyksen jälkeen tilavuus täytettiin 50 mL:aan etyyliasetaatilla ja uutettiin sekoittaen 15 min. 25 mL etyyliasetaatifaasia siirrettiin lasikolviin ja haihdutettiin kuivaksi alipaineessa pyröhaihduttajalla +35° C vesihauteessa. Haihdutusjäännös liuotetaan 1 mL:aan 50 % metanolia ja suodatettiin 0,45 µm suodattimen läpi näytepulloihin.

HPLC –systeemi koostui Hewlet-Packardin 1050 sarjan kvaternääripumpusta, 1100 sarjan automaattisesta näytteesyöttäjästä ja 1040M sarjan II diodirividetektorista. Laitteisto oli kytketty HP:n ChemStation –hallinta- ja tulostenkäsittelyohjelmaan. Kolonni analyysissä oli 5 µm:n Merckin LiChro-CART Purospher RP-18e (sisähalkaisijat 125-3 mm), jota suojasi vastaava esikolonni (sisähalkaisijat 4-4 mm). Ajoliuksina HPLC –analyysissä käytettiin 1 % muurahaihappoa (A) ja asetoniiriä (B). Gradientti oli seuraavanlainen: 0-10 min, 5-40% B; 10-15 min, 40-55% B; 15-19 min, 55-90% B; 20-22 min, 90-5%. Detektointi suoritettiin aallonpituudella 360 nm. Virtausnopeus oli 0,6 mL/min ja injektio-tilavuus 10 µL.

## Tulokset ja tulosten tarkastelu

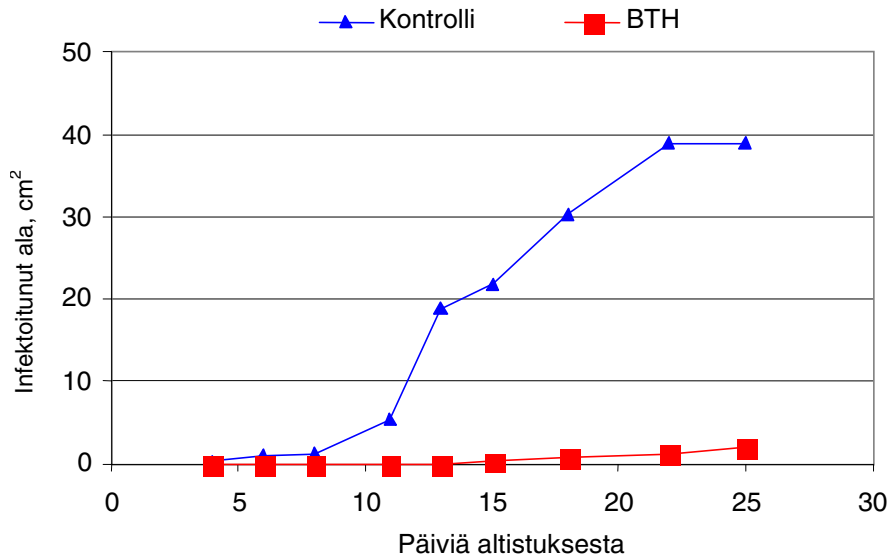
### Elisitorit mansikan härmäntorjunnassa

Euroopassa mansikan kasvihuoneviljely on nopeasti lisääntynyt, mm. Ranskassa jo suurin osa mansikasta tuotetaan kasvihuoneessa, Belgiassa ja Hollannissa liki puolet tuotetusta mansikkasadosta tulee kasvihuoneista. Mansikan kasvihuonetuotanto on kasvussa myös Suomessa. Harmaahome ei ole kasvihuoneessa ongelma kuten avomaan viljelyssä, mutta härmästä on tullut koko Euroopassa mansikan kasvihuonetuotannon uusin vitsaus. Viljelijät ovat haluttomia käyttämään kemiallista torjuntaa kasvihuonetuotannossa ja siksi kaivataan kipeästi uusia tehokkaita vaihtoehtoja. Elisitorit ovat yksi lupaavimmista keinoista härmän torjunnassa.

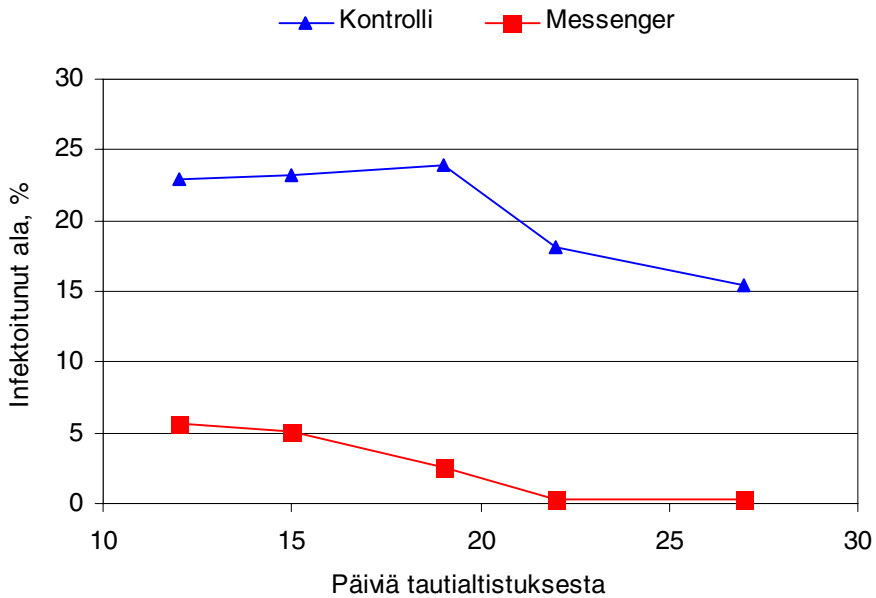
Olemme kokeissa tutkineet erityisesti seuraavien elisitorien käyttöä härmän torjunnassa: BTH (benzothiadiazole), joka on salisyylihappojohdannainen ja Messenger, joka on proteiiniinvalmiste (HARPIN). BTH kokeet on alun perin aloitettu Helsingin yliopistossa, ja niitä on jatkettu MTT:ssä ja Kuopion yliopistossa. Eurooppalaisena yhteistyönä on lisäksi tutkittu lupaavimpien aineiden käyttöä härmän torjunnassa.

Tutkimustulokset voidaan tiivistää kuvaan 1, jossa nähdään, että BTH elisitorin avulla voidaan hyvin tehokkaasti torjua härmää kasvihuoneessa (Karjalainen ym. 2001). Paras torjuntateho saavutetaan, kun elisitori annetaan jo 2-3 lehtiasteella mansikan kasvustoon, jolloin kasvissa ehtii kehittyä resistenssi ennen taudin puhkeamista. Torjuntamääränä olemme käyttäneet 60-120 g/ha BTH valmistetta, joka kerta-annoksena riittää suojaamaan kohtalaisen taudin määrän, mutta voimakkaan tautipaineen alla kahdesti annettu elisitorikäsittely on antanut erittäin vahvan tautisuojaajan.

Messenger-valmiste antaa heikomman suojan härmää vastaan (Kuva 2), ja valmisteen antama suoja ei näytä antavan tehokasta systeemistä suojaa, vaan proteiinielisitoria joudutaan antamaan useamman kerran kasvin kehitysvaiheissa torjuntatehon saavuttamiseksi. Messenger-valmisteella näyttää kuitenkin olevan kasvin kasvua stimuloiva vaikutus, mikä mansikkakokeissa on näkynyt sadonlisänä. Euroopassa tehdyt kokeet ovat antaneet samansuuntaiset tutkimustulokset, näissäkin kokeissa BTH on tehonnut parhaiten härmään; muut elisitorivalmisteet, kuten Messenger ja Elexa-4 (kitosaanivalmiste) ovat myös tehonneet härmään, mutta BTH:ta heikommin. BTH on aiemmissa kokeissa todettu tehoavan tomaatin ja kurkun juuristotautiin (Benhamou & Belanger 1998a,b), kukkakaalin harmaahomeeseen ja lehtihomeeseen (Goddard ym. 1999) sekä vehnän härmään (Stadnik & Buchenaeur 1999), joten tässä tutkimuksessa saadut mansikkakokeiden tulokset vahvistavat käsitystä, että BTH:ta ja vastaavia tehokkaita heräteaineita voidaan menestyksekkäästi käyttää kasvitautien torjunnassa. Uudet elisitoriaineet tulevat ensimmäisenä helpottamaan puutarhakasvien (mm. ruusu, kurkku, tomaatti ja mansikka) härmäntorjuntaa, joihin kipeästi kaivataan ei-kemiallisia vaihtoehtoja. Yksi lupaavimmista käyttökohteista on vihannesten ja hedelmien varastokestävyyden ja laadun parantaminen ”rokottamalla” vihannekset elisitoreilla ennen niiden varastointia.



Kuva 1. BTH -elisitorikäsittely suojaa mansikkaa härmäinfektiota vastaan (Karjalainen ym. 2001).

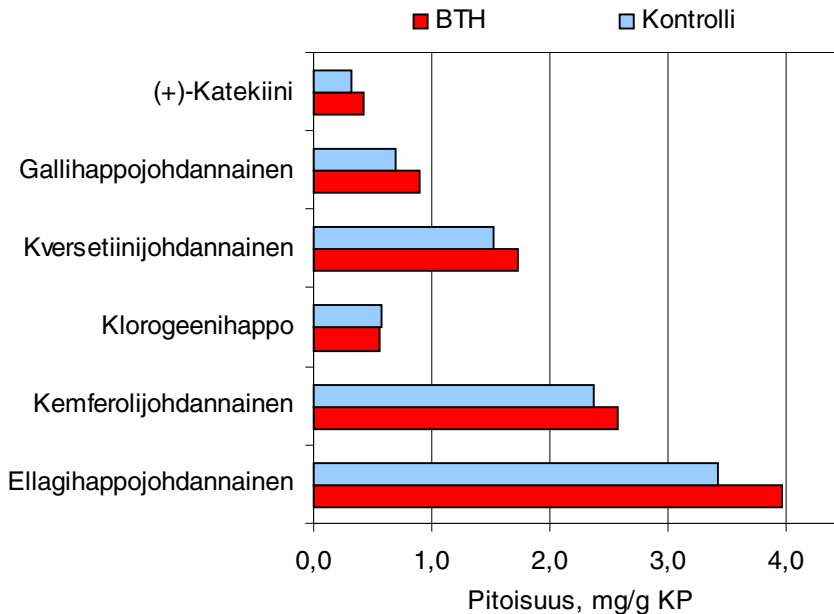


Kuva 2. Messenger-elisitorin antama suoja mansikan härmäinfektiota vastaan.

## Elisitorit ja mansikan lehtien fenoliyhdisteet

Kasvien lehtiin on evoluution kuluessa kerääntynyt monia fenoliyhdisteitä, joilla on antimikrobiaalisia vaikutuksia. Sienten kasvua inhiboivia fenolisia yhdisteitä on kasveista eristetty useita, joista tunnetuimpia ovat mm. klorogeenihappo, kversetiini, ellagitanniinit ja katekiinit. Hiljattain on myös marjojen uutteen havaittu ehkäisevän mikrobien kasvua *in vitro* kokeissa Puupponen-Pimiä ym. (2001); tutkituista marjoista mansikka ja vadelma olivat parhaimpia antimikrobiaalisilta ominaisuuksiltaan. Vadelman ja mansikan lehdistä on runsaasti ellagitanniineja, joiden tiedetään olevan erityisen voimakkaita antimikrobiaalisilta ominaisuuksiltaan (Ho ym. 2001, Puupponen-Pimiä ym. 2001).

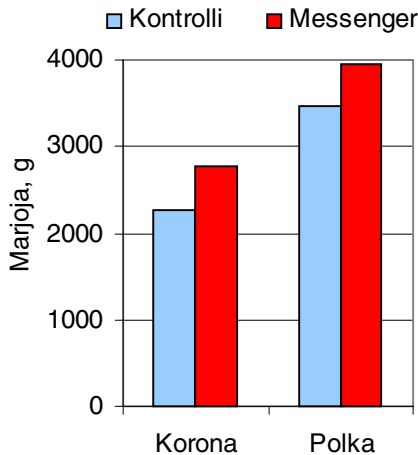
Tässä projektissa olemme tutkineet mitä fenolisia yhdisteitä esiintyy mansikan lehdistä, ja onko niiden joukossa tunnettuja antifungaalisia fenolisia yhdisteitä, jotka selittäisivät mahdollisesti mansikan taudinestominaisuuksia. BTH-elisitorin on havaittu lisäävän tomaatin juuressa fenoliyhdisteiden kerääntymistä solutasolla (sytologiset kokeet), ja siten niiden on oletettu mahdollisesti liittyvän BTH-elisitorin antamaan taudin suojaan tomaatin juuristotautia vastaan (Benhamou & Belanger 1998b). Olemme tutkineet myös tätä mahdollisuutta BTH:n antaman härmän kestävyys suhteen tutkimalla BTH:n vaikutusta mansikan fenolisiin yhdisteisiin. Kuvasta 3 nähdään, että mansikan lehdistä on monia fenolisia yhdisteitä, kuten ellagihappoa, kversetiinia, katekiineja ja klorogeenihappoa, joiden tiedetään olevan *in vitro* antimikrobiaalisia. BTH-käsittely näyttää hieman lisäävän fenoliyhdisteiden pitoisuuksia, mutta ei tiedetä onko tämäntasoisella pienellä lisäyksellä merkitystä härmänkestävyydessä. Toistaiseksi ei tiedetä miten paljon mansikan taudinkestävyyteen liittyviä mahdollisia fenoliyhdisteitä esiintyy vapaina (jotka näkyvät HPLC-analyysissä), ja kuinka paljon sitoutuneena kasvin soluseinään. Mansikassa näyttää *in vitro* kokeiden perusteella olevan monia antimikrobiaalisia yhdisteitä (Puupponen-Pimiä ym. 2001), joista monet ilmeisesti ovat fenolisia yhdisteitä, ja saattavat osaltaan liittyä mansikankin härmän kestävyys. Jatkotutkimusten tehtävänä on löytää mansikasta ne fenoliyhdisteet, joita voidaan käyttää mansikan ja mahdollisten muidenkin tautien torjunnassa.



Kuva 3. BTH -elisitorin vaikutukset mansikan lehtien fenolisiin yhdisteisiin. KP, kuivapaino (Karjalainen ym. 2002b)

## Messenger-elisitorin vaikutus mansikan sadonmuodostukseen

Kasvustoon ruiskutettavat heräteaineet (elisitorit) aktivoivat kasvilla monia biokemiallisia toimintoja, jotka johtavat taudinkestävyyden kehittymiseen kasvilla. Biokemiallisten puolustusyhdisteiden muodostuminen on energiaa vaativa prosessi, joka saattaa joillain kasveilla johtaa heikentyneeseen sadonmuodostukseen. Harpin proteiiniin perustuva Messenger-elisitori on tässä mielessä mielenkiintoinen, koska monilla kasveilla tämän elisitorin on havaittu stimuloivan kasvin kasvua. Olemme tutkineet Messenger-elisitorin mahdollista vaikutusta satoon Tuusulassa sijaitsevalla marjatilalla. Kahdella lajikkeella (Polka ja Korona) tehdyt kokeet on esitetty kuvassa 4. Molemmilla lajikkeilla Messenger-käsittely on lisännyt satoa 10-20 %. On ilmeistä, että Messenger-valmiste vaikuttaa taudinkestävyyteen liittyvien biokemiallisten toimintojen ohella kasvin kasvuun liittyviin fysiologisiin reitteihin (mm. kasvuun liittyvät hormoni-toiminnat), jotka mahdollisesti selittävät havaittuja kasvun lisäyksiä eri viljelykasveilla. Yhdysvalloissa Messenger tuotiin markkinoille kasvitautien torjuntaan tarkoitettuna elisitori-valmisteena, mutta Euroopassa tehdyt kokeet viittaavat paremminkin siihen, että valmiste voi olla lupaava kasvien kasvua lisäävä uudentyyppinen valmiste.

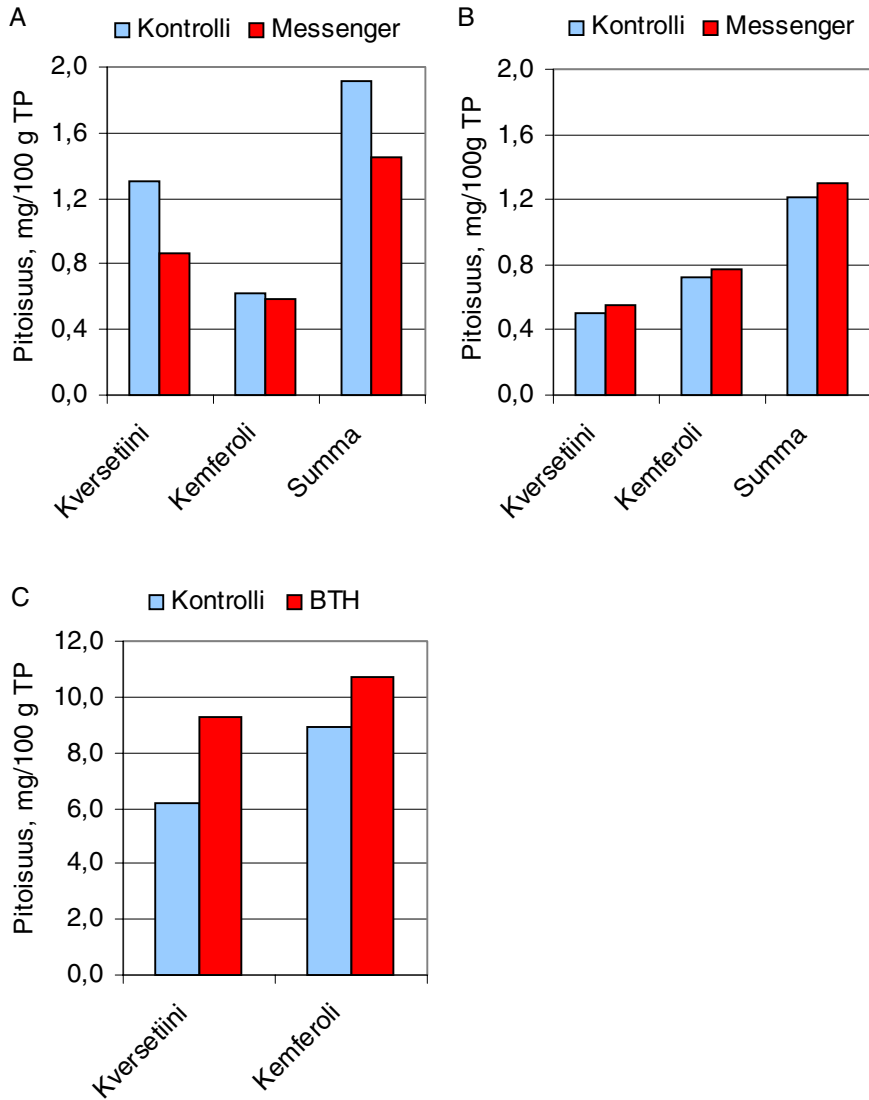


Kuva 4. Messenger -elisitorikäsittelyn vaikutus mansikan satoon.

## Elisitorien vaikutus marjojen flavonoideihin

Kasvien fenolihydriesteet ovat kehittyneet kasveihin vuosimiljoonien kuluessa suojaamaan niitä mm. sienitauteja vastaan. Kun tauti iskeytyy kasviin, seurauksena on yleensä suoja-aineiden pitoisuuden lisääntyminen kasvin niissä osissa, jotka ovat altteimpia patogeenin hyökkäyksille. Elisitoreilla voidaan jäljitellä patogeenin hyökkäystä, ja lisätä kasviin suoja-aineiden pitoisuuksia. Mansikassa on terveyttä edistäviä fenolihydriesteistä eniten ellagihappoa, mutta vain vähän flavonoleja, kuten kversetiinia ja kemferolia. Elisitorikäsittelyillä voidaan fenolihydriesteiden pitoisuuksia kasvin lehdissä lisätä, mutta onko mahdollista lisätä mansikan terveystien pitoisuuksia ruiskuttamalla kasvustoon heräte-aineita, jotka aktivoivat kasvin puolustusyhdisteitä? Olemme testanneet tätä ideaa kahdella kenttäkokeella käytännön marjatiljoilla (Karjalainen ym. 2002a). Mansikkakasvustoon, jossa oli Bounty-lajiketta on ruiskutettu BTH-elisitoria (60 g/ha), ja marjoista on määritetty kversetiini ja kemferolipitoisuudet (Kuva 5). Bounty-lajikkeella BTH käsittely lisää jonkin verran marjojen terveystien pitoisuutta. Messenger-käsittelyistä mansikoista nähdään selvästi, että käsittelyn vaikutus riippuu mansikkalajikkeesta, toisella lajikkeella (Senga sengana) Messenger-käsittely lisää hieman flavonolien pitoisuutta, kun taas toisella (Korona) lajikkeella vaikutus on päinvastainen. Tulokset viittaavat siihen, että heräteaineilla voidaan joillakin lajikkeilla lisätä terveystien pitoisuuksia, mutta positiivisia vaikutuksia ei saada kaikilla lajikkeilla.





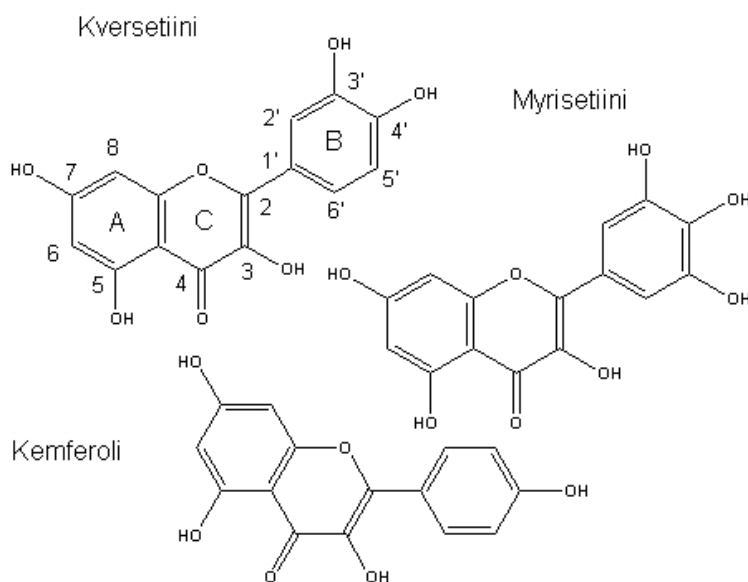
Kuva 5. Elisitorien vaikutus mansikan flavonolipitoisuuksiin. (A) Messengerin vaikutus Koronan flavonoleihin. (B) Messengerin vaikutus Senga Senganan flavonoleihin. (C) BTH:n vaikutus Bountyn flavonoleihin.

## Marjalajikkeiden fenolihdisteet

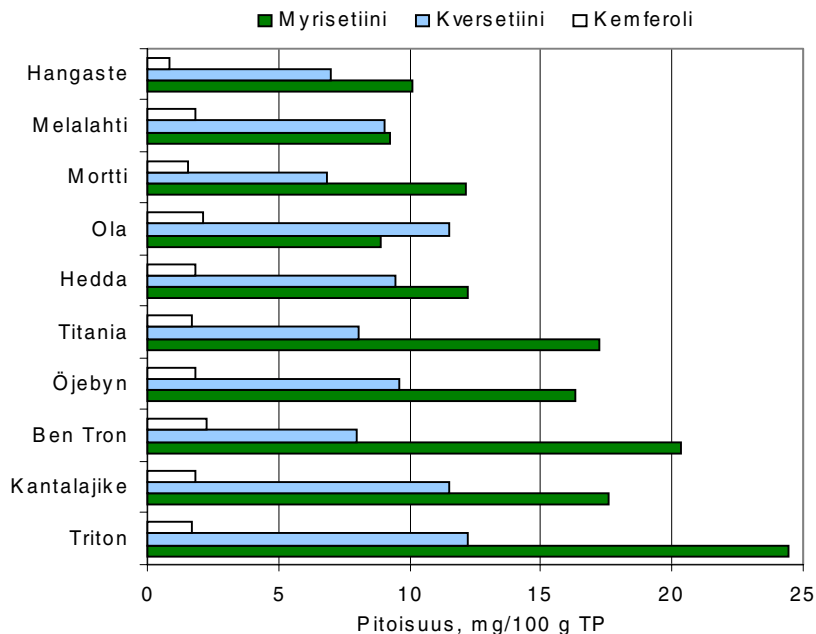
Viime vuosien aikana on tutkimustietoa kertynyt yhä enemmän, jotka osoittavat, että marjakasvien fenolihdisteissä on sekä kasvien terveyttä edistäviä antimikrobiaalisia ominaisuuksia (Ho ym. 2001, Puupponen-Pimiä ym. 2001) että ihmisen terveydelle edullisia ominaisuuksia (Liu ym. 2000, Vinson ym. 2001). Eri marjakasveilla on kuitenkin eri fenolihdisteitä ja niiden pitoisuu-

det vaihtelevat huomattavasti eri lajikkeilla, joten fenolihdisteiden sekä elintarvike – että agrobioteknisen hyödyntämisen kannalta tarvitaan lisätietoa eri marjakasvilajikkeiden fenolihdisteistä.

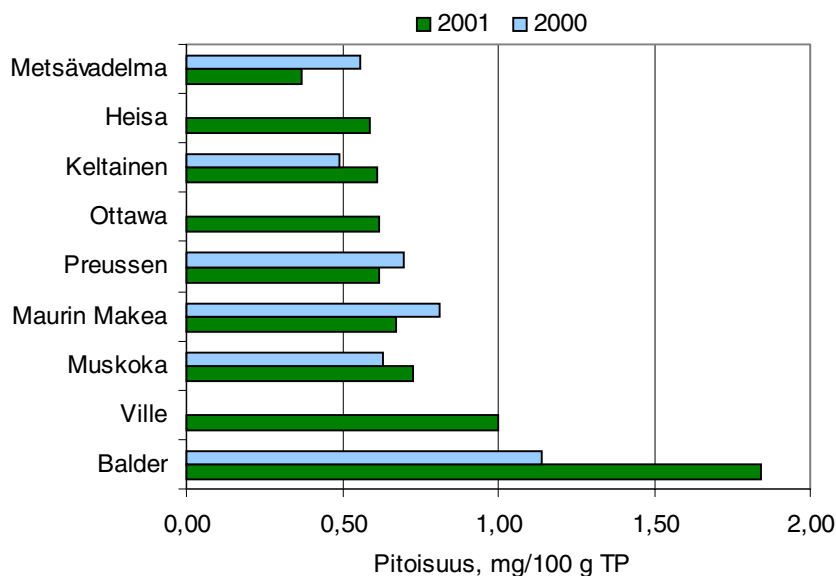
Olemme keränneet eri puolilta marjakasvilajikkeita mustaherukasta, mansikasta ja vadelmasta ja tutkineet niiden fenolisia terveyskomponentteja, erityisesti flavonolien pitoisuuksia (flavonolien rakenteet, Kuva 6). Mustaherukassa on viljellyistä marjoista eniten flavonoleja, lähes yhtä paljon kuin luonnossa kasvavilla metsämarjoilla. Kuvasta 7 nähdään, että mustaherukassa esiintyy hyvin runsaana myrisetiiniä ja kversetiiniä, mutta vähiten kemferolia. Lajikkeiden väliset erot ovat suuria, myrisetiiniä on runsaasti erityisesti Triton ja Ben Tron lajikkeilla, mutta selvästi vähemmän Mortti, Ola, Hangaste ja Öjebyn lajikkeilla (Mikkonen ym. 2001, Hukkanen ym. 2001). Olennaisia eroja ei löytynyt luomuna ja tavanomaisena viljellyissä mustaherukoista (Mikkonen ym. 2001). Mustaherukan fenolihdisteiden runsaus ja korkea C-vitamiinipitoisuus selittää keskeisesti mustaherukan voimakkaan antioksidanttivaikutuksen ja antaa tukevan pohjan mustaherukkaan perustuville terveysvaikutteisten tuotteiden kehittämiselle



Kuva 6. Kotimaisissa marjakasveissa esiintyviä flavonolien aglykonirakenteita. Kasveissa flavonolit esiintyvät glykosyloituneina, jolloin sokeryyksikkö on yleensä sitoutunut hiileen 3 ja harvemmin hiileen 7. Flavonolien antioksidanttikapasiteettiin vaikuttaa voimakkaasti niiden rakenne. Flavonoleilla antioksidanttikapasiteettiin liitettyjä rakenteita ovat: o-difenolinen ryhmä B-renkaassa, 2-3 kaksoissidosta konjugoitunutta 4 hiilen karbonyyliryhmään, hydroksyyli-ryhmät hiilissä 3 ja 5. Esimerkiksi kversetiini sisältää kaikki nämä rakenteet. Lisäksi antioksidanttikapasiteetti korreloi suoraan hydroksylaatioasteen kanssa ja vähenee glykosylaation myötä (Bravo 1998).



Kuva 7. Mustaherukkalajikkeiden flavonolipitoisuuksien vaihtelu. Lajikkeet ovat järjestyksessä suurimmasta pienimpään kokonaisflavonolipitoisuuden mukaan.



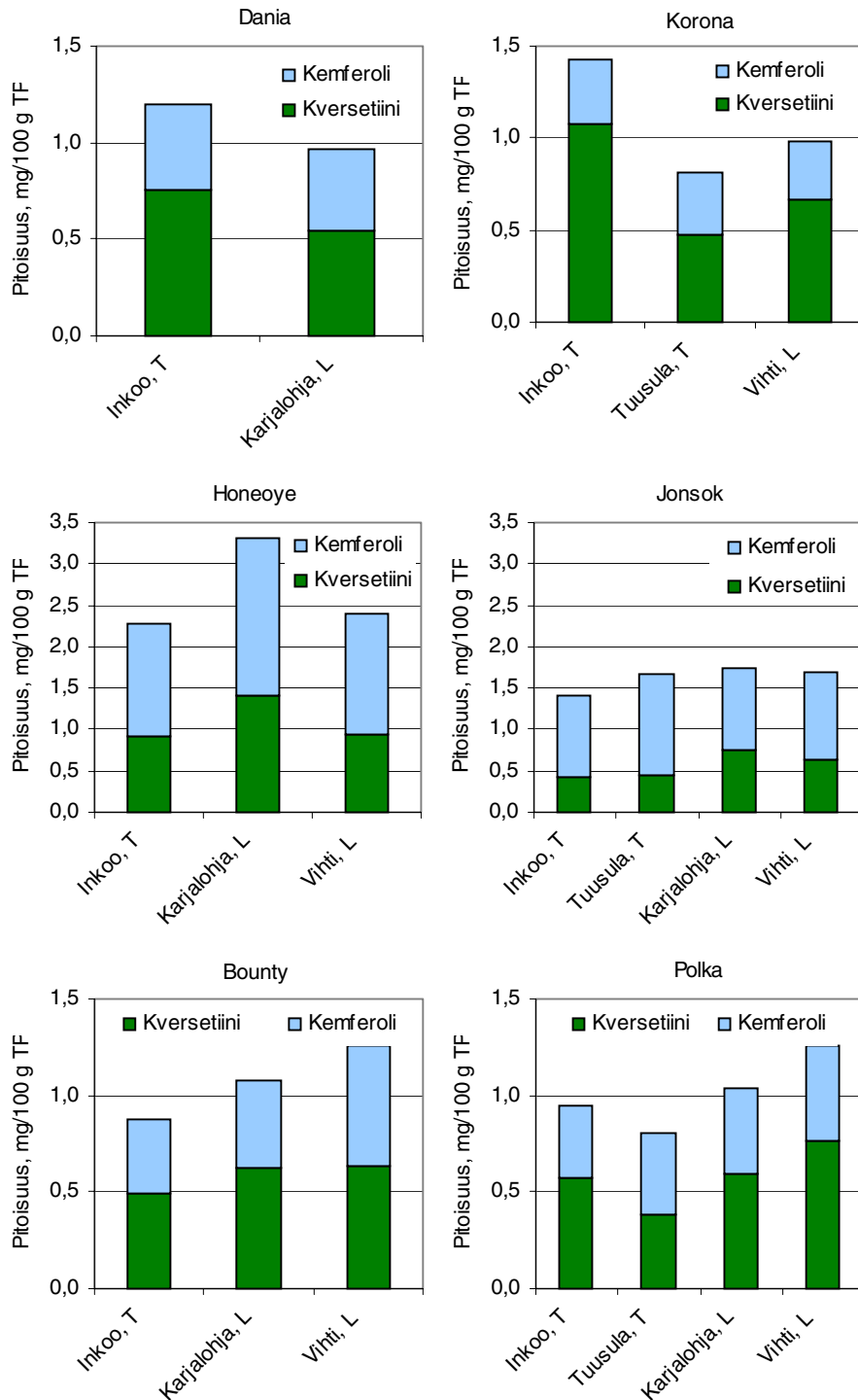
Kuva 8. Vadelmalajikkeiden kversetiinipitoisuuden vaihtelu lajikkeiden välillä sekä vuosittainen vaihtelu. Näytteet on kerätty Kuopion yliopiston tutkimuspuutarhan koekentältä kesinä 2000 ja 2001. TP, tuorepaino.

Vadelmassa on huomattavasti vähemmän flavonoleja kuin mustaherukassa (kuva 8), mutta vadelmassa on runsaasti ellagihappoa, jota pidetään antikaarsinogeenisena yhdisteenä. Kuvassa 8 nähdään Kuopion yliopiston puutarhan koekentän vadelmien kversetipitoisuuden vaihtelu, joka osoittaa, että vadelmalajikkeiden kversetiinipitoisuudessa on huomattavia eroja; yleisesti viljelyssä Ottavassa on selvästi vähemmän kversetiiniä kuin Balderissa. Yllättävän vähän kversetiiniä on luonnon vadelmassa. Sekä vadelman että mustaherukan tulokset osoittavat, että fenolisten terveystoimien pitoisuuksissa lajikkeiden väliset erot ovat hyvin suuret, ja funktionaalisten raaka-aineiden materiaaliksi voidaan valita korkeapitoisia lajikkeita. Lajikkeiden välinen suuri pitoisuuksien vaihtelu antaa myös hyvän pohjan määrätietoiselle jalostustyölle.

Mansikkalajikkeita olemme keränneet eri puolilta Suomea sekä tavanomaisesti että luomuna viljelyiltä tiloilta. Mansikasta olemme tutkineet ellagihapon, kversetiinin ja kemferolin pitoisuuksia. Suurimmat fenoliyhdisteiden pitoisuudet olemme löytäneet Honeoye -lajikkeesta, ja matalimpia edustaa Senga sengana lajike. Näistä edellinen on harmaahometta parhaiten kestävä, ja jälkimmäinen taudille kaikkein altteimpia (Mikkonen ym. 2002). Kuvaan 9 on koottu mansikan terveystoimien, kversetiinin ja kemferolin pitoisuuksia, joita on analysoitu eri koepaikoissa 6 lajikkeelta. Honeoye-lajikkeella on selkeästi korkeimmat pitoisuudet verrattuna muihin lajikkeisiin; korkein kversetiini ja kemferolipitoisuus löytyy Karjalohjan luomutilalta. Korona ja Dania lajikkeella terveystoimien pitoisuudet ovat suurimmat Inkoon tavanomaisesti viljellyltä tilalta saaduissa mansikoissa. Kuvasta 9 nähdään, että lajikkeella ja viljelyalueella on suuri merkitys terveystoimien pitoisuuksien määräytymisessä, ja tuotantotavalla (luomu vs tavanomainen) ei ole ratkaisevaa merkitystä. Tuotantotavan sisälläkin, kuten Korona-lajikkeella nähdään, tavanomaisesti viljellyillä mansikkatiloilla Inkoossa ja Tuusulassa voi olla alueesta johtuvia suuriakin eroja (Kuva 9). Vastaavia eroja löytyy luomuna viljelyiltä tiloilta mm. Honeoye-lajikkeella (Kuva 9).

Kallion ym. (2000) tutkimuksissa ei havaittu myöskään merkittäviä eroja tavanomaisesti ja luomuna viljeltyjen mansikkalajikkeiden sokeri - ja happopitoisuuksissa. Näyttää ilmeiseltä, että lajike ja tuotantoalue on biokemiallisiin laatuominaisuuksiin enemmän vaikuttava tekijä kuin tuotantotapa. Toistaiseksi tutkimuksia on voitu tehdä vain muutamien tilojen vertailuina, ja olisi tärkeätä laajentaa biokemiallisia laatu tutkimuksia useiden luomutilojen ja tavanomaisesti viljeltyjen marjatilojen vertailuun.

Marjakasvien lajikkeiden välillä havaittiin tässä työssä huomattavia eroja, mikä viittaa siihen, että kasvinjalostuksen keinoin voidaan kehittää erikoistarkoituksiin, mm. funktionaalisten elintarvikkeiden raaka-aineeksi, hyvin soveltuvia lajikkeita, joissa on poikkeuksellisen korkeat terveystoimien pitoisuudet.



Kuva 9. Mansikkalajikkeiden flavonolipitoisuuksien vaihtelu paikkakunnittain. T, tavanomainen viljely; L luomuviljely; TP, tuorepaino.

# Yhteenveto

## Elisitorikokeet

Tutkimuksissa olemme osoittaneet, että parhaiten tehoavalla BTH (salisylihapon derivaatti) elisitorilla voidaan erittäin tehokkaasti torjua härmätauti mansikan kasvihuoneviljelyssä. Härmätauti on kasvihuoneessa viljellyn mansikan vaikea ongelma Euroopassa, ja taudin torjuntaan tarvitaan nopeasti ekemiallisia vaihtoehtoja. Yhteistyössä Eurooppalaisten tutkijoiden kanssa olemme osoittaneet, että BTH tehoaa hyvin härmään myös Keski-Euroopan kasvihuoneviljelyksillä. Mansikan kasvihuonetuotanto on myös Suomessa lisääntymässä ja sen myötä tarvitaan uusia keinoja myös meillä härmän torjuntaan. Elisitoreilla on saatu myös hyviä torjuntatuloksia mm. ruusun ja kurkun härmän torjunassa, ja niistä toivotaan pikaista apua näiden vaikeasti torjuttavien tautien hallintaan. Jokaiselle kasville ja patogeenille on kuitenkin optimoitava heräteaineiden annokset ja optimiajoitukset erikseen parhaan tuloksen saavuttamiseksi. Tällä hetkellä parhaat elisitorit (heräteaineet) ovat synteettisesti tehtyjä, ja ne eivät siten sovellu nykyisen käsityksen mukaan luomutuotantoon. Tutkimustyömme keskeisenä tavoitteena onkin eristää ja karakterisoida biologisperäisiä (mm. kasveista) elisitoriyhdisteitä, joita voidaan käyttää luomuviljelyssä esiintyvien tautien torjuntaan. Tällä hetkellä ei ole yhtään kunnollista luomuun soveltuvaa elisitoria saatavilla, mutta tarve tämäntyyppisten torjuntakeinojen käyttöön on suuri luomupinta-alojen lisääntyessä koko Euroopassa. Marjoja laajimmat elisitorien käyttökohteet tulevat lähivuosina olemaan vihannesten varastokestävyyden ja laadun parantaminen “rokottamalla” vihannekset ja hedelmät heräteaineilla ennen niiden varastointia, jolloin voidaan pienentää varastokauden aikaisia laatutappioita.

## Kasvien fenolihdisteet

Marjakasveissa esiintyy monia biaktiivisia fenolisia yhdisteitä, joiden tehtävänä on mm. suojata kasvia patogeeneja ja muita stressejä vastaan. Marjojen, erityisesti mansikan ja vadelman uutteissa on mikrobeja ehkäiseviä yhdisteitä, joita on analysoitu myös heräteaineilla käsitellyistä lehdistä. On ilmeistä, että osa härmänkestävyydestä perustuu lehtien fenolihdisteisiin, mutta tois-taiseksi ei ole tarkempaa tietoa siitä, mitkä fenolihdisteet ovat mansikan lehdistä härmän kasvua voimakkaimmin inhiboivia. Marjoissa ja niiden leh-dissä on monia mikrobeja ehkäiseviä yhdisteitä, joiden tarkempi tutkiminen voi mahdollistaa niiden agrobioteknisen hyödyntämisen ja uusien kasvipe-räisten torjunta-aineiden kehittämisen.

Marjojen bioaktiivisista aineista monet ovat myös ihmisen terveyttä edistäviä fyto-kemikaaleja. Tutkimuksissa olemme havainneet, että marjakasvilajikkei-

den välillä on huomattavia eroja bioaktiivisten aineiden, erityisesti flavonoli-  
en pitoisuuksissa. Mustaherukassa on selvästi eniten flavonoleja, kun taas  
mansikassa ja vadelmassa niitä on vähän, mutta näissä on runsaasti ellagi-  
happoa, jolla tiedetään olevan antikarsinogeenisiä ominaisuuksia. Lajikkei-  
den väliset suuret erot viittaavat siihen, että kasvinjalostuksen keinoin voi-  
daan jalostaa erityistarkoituksiin lajikkeita, joilla on huomattavan korkeita  
bioaktiivisten aineiden pitoisuuksia.

## Kirjallisuus

- Alvarez, M.E., Pennel, R.I., Ishikawa, A., Dixon, R.A. & Lamb, C.J. 1998.  
Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the  
establishment of plant immunity. *Cell* 92: 773-784.
- Adrian, M., Jeandet, P., Veneau, J., Weston, L.A. & Bessis, R. 1997.  
Biological activity of resveratrol, a stilbenic compound from grapevines,  
against *Botrytis cinerea*, the causal agent for gray mold. *Journal of  
Chemical Ecology* 23: 1689-1702.
- Arai, Y., Watanabe, S., Kimira, M, Mochizuku, R. & Kinae, N. 2000. Dietary  
intakes of flavonols, flavones and isoflavones by Japanese women and  
inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol  
concentration. *Journal of Nutrition* 130: 2243-2250.
- Benhamou, N. & Belanger, R.R. 1998a. Induction of systemic resistance to  
Pythium damping-off in cucumber plants by benzothiadiazole:  
ultrastructure and cytochemistry of the host response. *Plant Journal* 14:  
13-21.
- Benhamou, N. & Belanger, R.R. 1998b. Benzothiadiazole-mediated induced  
resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp.*radicis-lycopersici* in tomato.  
*Phytopathology* 118: 1203-1212.
- Bravo L., 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and  
nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56: 317-333.
- Cartwright, D.W., Lancake, P., Pryce, R.J., Leworthy, D.P. & Ride, J.P. 1977.  
Chemical activation of host defence mechanisms as a basis for crop  
protection. *Nature* 267: 511-513.
- Chivasa, S., Murphy, A.M., Naylor, M. & Carr, J.P. 1997. Salicylic acid  
interferes with tobacco mosaic virus replication via a novel  
salicylhydroxamic acid-sensitive mechanism. *Plant Cell* 9: 547-557.
- Choi, J.A., Kim, J.Y., Lee, J.Y., Kang, C.M., Kwon, H.J., Yoo, Y.D., Kim,  
T.W., Lee, Y.S. & Lee S.J. 2001. Induction of cell cycle arrest and  
apoptosis in human breast cells by quercetin. *International Journal of  
Oncology* 19: 837-844.

- Fawe, A., Abou-Zaid, M., Menzies, J.G., & Belanger R.R. 1998. Silicon mediated accumulation of flavonoid phytoalexin in cucumber. *Phytopathology* 88: 396-401.
- Godard, J-F., Ziadi, S.M., Monot, C., Le Corre, D. & Silue, D. 1999. Benzothiadiazole (BTH) induces resistance in cauliflower (*Brassica oleracea* var *botrytis*) to downy mildew of crucifers caused by *Peronospora parasitica*. *Crop Protection* 18: 397-405.
- Goetz, G., Ekyerat, A., Metais, N., Kunz, M., Tabacchi, R., Pezet, R. & Pont, Y. 1999. Resistance factors to grey mould in grape berries: Identification of some phenolics inhibitors of *Botrytis cinerea* stilbene oxidase. *Phytochemistry* 52: 759-767.
- Görlach, J., Volrath, S., Knauff-Beiter, G., Hengy, G., Beckhove, U., Kogel, K.H., Ostendorp, M., Staub, T., Ward, E., Kessmann, H. & Ryals, J. 1996. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell* 8(4): 629-643.
- Hahn, M.G. 1996. Microbial elicitors and their receptors in plants. *Annual Review of Phytopathology* 34: 387-412.
- Ho, K.Y., Tsai, C.C., Huang, J.S., Chen, C.P., Lin, T.C. & Lin, C.C. 2001. Antimicrobial activity of tannin components from *Vaccinium vitis-idaea*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 53: 187-191.
- Hukkanen, A., Mikkonen, T., Kokko, H., Määttä, K., Törrönen, S., Kokko, H., Kärenlampi, S. & Karjalainen, R. 2001. Variation in flavonol content among blackcurrant cultivars. 8<sup>th</sup> International *Rubus* and *Ribes* Symposium. 9-11 July 2001, Dundee, Scotland.
- Jang, M., Cai, L., Udeani, G.O., Slowing, K.V., Thomas, C.F., Beecher, C.W., Fong, H.H., Farnsworth, N.R., Kinghorn, A.D., Mehta, R.G., Moon, R.C. & Pezzuto, J.M. 1997. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* 275: 218-220.
- Kallio, H., Hakala, M., Pelkkikangas, A.M. & Lapveteläinen, A. 2000. Sugars and acids of strawberry varieties. *European Food Research and Technology* 212: 81-85.
- Karjalainen, R., Ernst, D. & Woodward, S. 1998. Molecular biology of host defence. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R. & Hütterman, A. *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. Wallingford, Oxford, UK: CAB International. p. 195-211. ISBN 0-85199-275.
- Karjalainen, R., Hukkanen, A., Anttonen, M., Kokko, H., Kärenlampi, S. & Tiilikkala, K. 2001. Benzothiadiazole enhances phenolic compound production and resistance to powdery mildew in strawberry. IOBC



Proceedings: Induced resistance in plants against insects and diseases. 26-28 April 2001. Wageningen, Netherlands.

- Karjalainen, R., Hukkanen, A., Anttonen, M. & Tiilikkala, K. 2002a. Fenoliset terveystoiminnat marjantuotannossa. Suomen Maataloustieteellisen Seuran julkaisuja no 18. Toimittanut Anneli Hopponen. Saatavilla Internetissä: <http://www.agronet.fi/maataloustieteellinenseura/mtpjul02.htm>. ISBN 951-9041-46-X.
- Karjalainen, R., Lehtinen, A., Keinänen, M., Julkunen-Tiitto, R., Hietaniemi, V., Pihlava, J-M., Tiilikkala, K. & Jokinen, K. 2002b Benzothiadiazole and glycine betaine treatments enhance phenolic compound production in strawberry. *Acta Horticulturae* 567: 353-356.
- Keinänen, M. & Julkunen-Tiitto, R. 1998. High-performance chromatographic determination of flavonoids in *Betula pendula* and *Betula pubescens* leaves. *Journal of Chromatography A* 793: 370-377.
- Kervinen, T., Peltonen, S., Teeri, T. & Karjalainen, R. 1998. Differential expression of pal genes in barley in response to fungal infection, and elicitor treatment. *New Phytologist* 139: 293-300.
- Lawton, K.A., Friedrich, L., Hunt, M., Weymann, K., Delaney, T., Kessmann, H., Staub, T. & Ryals, J. 1996. Benzothiadiazole induces disease resistance in *Arabidopsis* by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. *Plant Journal* 10: 71-82.
- Lindroos, M., Peltonen, S. & Karjalainen, R. 1996. Mansikan härmää torjutaan kasvin puolustusta herkistävillä aineilla. *Koetoiminta ja käytäntö* 53: 20.
- Liu, S., Manson, J.E., Lee, I.M., Cole, S.R., Hennekens, C.H., Villet, W.C. & Buring, J.E. 2000. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease: the women's health study. *American Journal of Clinical Nutrition* 72: 922-928.
- Maas, J.L. & Galletta, G.J. G.D. 1991. Ellagic acid, an anticarcinogenic in fruits, especially in strawberries: A review. *HortScience* 26: 10-14.
- Malhotra, J.C., Onyiah, J. C., Bohm, B.A., Towers, G.H.N., Harborne, J.B. & French, C.J. 1996. Inhibition of tomato ringspot virus by flavonoids. *Phytochemistry* 43: 1271-1276.
- Mauch-Mani, B. & Metraux, J-P. 1998. Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogenic attack. *Annals of Botany* 82: 535-540.
- Mikkonen, T., Määttä, K., Hukkanen, A., Kokko, H., Törrönen, R., Kärenlampi, S. & Karjalainen, R. 2001. Flavonol content varies among black currant cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 3274-3277.

- Mikkonen, T., Hukkanen, A., Määttä, K., Kokko, H., Törrönen, R., Kärenlampi, S. & Karjalainen, R. 2002. Flavonoid content in strawberry cultivars. *Acta Horticulturae* 567: 815-818.
- Naylor, M., Murphy, A.M., Berry, J.O. & Carr, J.P. 1998. Salicylic acid can induce resistance to plant virus movement. *Molecular Plant-microbe Interactions* 11: 860-868.
- Nijveldt, R.J., van Nood, E., van Hoorn, D.E., Bolens, P.G., van Norren, K. & Leeuwen, P.A. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition* 74: 418-425
- Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Meier, C., Kähkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A. & Oksman-Caldentey, K.M. 2001. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology* 90: 494-507.
- Reglinski, T., Lyon, G.D. & Newton, A. 1994. Induction of resistance mechanisms in barley by yeast-derived elicitors. *Annals of Applied Biology* 124: 509-517.
- Stadnik, M.J. & Buchenauer, H. 1999. Control of wheat diseases by benzothiadiazole-derivate and modern fungicides. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 106: 466-475.
- Taylor, C.P. 1998. Defence responses in plants and animals-More of the same. *Plant Cell* 10: 873-876.
- Vinson, J., Su, X., Zubik, L. & Bose, P. 2001. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 5315-5321

# Kaalikasvien glukosinolaatit rikkakasvien torjunnassa

Sirkka Jaakkola

MTT, Kasvintuotannon tutkimus, Kasvinsuojelu, 31600 Jokioinen, [sirkka.jaakkola@mtt.fi](mailto:sirkka.jaakkola@mtt.fi)

## Abstract

### Weed control with Cruciferous plant material

Crucifer plant tissues are assumed to be a feasible alternative to synthetic compounds in plant protection. I compared the effect of volatiles and incorporated tissues of *Brassica juncea* and *Sinapis alba* against weeds in laboratory, glasshouse and under field conditions. Volatiles from crushed leaves of *B. juncea* strongly reduced the emergence and root elongation of *Tripleurospermum inodorum* in agar-plates, whereas volatiles from *S. alba* had only a little effect. However, incorporation of dried *S. alba* leaves or seed meal (1% w/w) into pot soil inhibited emergence and growth of *T. inodorum* and *Pisum sativum* much more than *B. juncea*. At 2-leaf stage of test plants also *S. alba* was only slightly phytotoxic. Under field conditions *S. alba* seed meal controlled annual weeds adequately but was strongly phytotoxic to peas when it was incorporated into soil after the emergence of pea. *B. juncea* seed meal didn't have any inhibiting effect on plants. I suppose that the most effective compounds from *S. alba* are in liquid phase in soil. Practicability of crucifer tissues for weed control is discussed.

---

*Key words: Weeds, Plant Protection, Volatiles, Brassica juncea, Sinapis alba*

---

## Johdanto

Ristikukkaiskasveissa näyttäisi olevan potentiaalia maassa elävien kasvintuhojien torjuntaan. Kaalin, rypsin, sinapin ja muiden ristikukkaiskasvien jätteiden maatuessa vapautuu runsaasti rikkiyhdisteitä, joilla on maata puhdistavia vaikutuksia (Chan & Close 1987, Ramirdez-Villapudua &

1988, Angus ym. 1994, Stapleton & Duncan 1998). Maahan murskatuista jätteistä vapautuvat yhdisteet ovat kokeissa haitanneet itävien kasvien taimettumista (Johansson & Ascard 1994, Laitinen ym. 1994) ja vähentäneet joitakin maalevintäisiä kasvitauteja (Lewis & Papavizas 1971, Muelchen ym. 1990) sekä ankeroisia (Mojtahedi ym. 1991). Yleisesti oletetaan, että ristikukkaiskasvien vaikutus perustuu pääosin glukosinolaattien herkästi kaa-

suuntuviin hajoamistuotteisiin, isotiosyanaatteihin ja nitrileihin (Kirkegaard ym. 1993, Brown & Morra 1995, Vaughn & Boydston 1997). Mikrobin hajottaessa ristikukkaiskasvien jätteitä kaasuuntuu lisäksi sulfideja, metaaniolia ym. rikkiyhdisteitä (Lewis & Papavizas 1971, Gamliel & Stapleton 1993, Bending & Lincoln 1999), joilla on myös maata puhdistavia vaikutuksia. Glukosinolaattipitoisten ristikukkaiskasvien käyttöä maan puhdistukseen pidetään esim. Australiassa niin lupaavana vaihtoehtona kemiallisille desinfiointiaineille, että tutkijat (Kirkegaard & Sarwar 1998) käyttävät termiä ”biofumigation brassicas” kuvaamaan ristikukkaiskasvien merkitystä maan desinfiointiaineena.

Glukosinolaatteja on kaikissa ristikukkaiskasveissa ja kasvien kaikissa osissa, mutta niiden määrä ja rakenne vaihtelevat. Erityisen runsaana glukosinolaatteja on siemenissä, jopa 10 % siementen kuivapainosta. Glukosinolaatit itsessään ovat myrkyttömiä, mutta kasvisolujen rikkoutuessa glukosinolaateista entsyymien avulla muodostuvat yhdisteet ovat suurina pitoisuuksina eläville organismeille haitallisia. Isotiosyanaatteja tuottavia glukosinolaatteja on eniten mustasinapissa (*Brassica nigra*), sareptasinapissa (*B. juncea*), keltasinapissa (*Sinapis alba*) ja eräissä ristikukkaisissa luonnonkasveissa (Kirkegaard & Sarwar 1998). Sareptan- ja mustasinapin pääisotiosyanaatti on herkästi kaasuuntuva 2-propenyyl- ja keltasinapin heikommin kaasuuntuva 4-hydroksibentsyyli-isotiosyanaatti. Sinappien juurissa on eniten 2-fenylylietyyliglukosinolaattia, josta hydrolyysissä muodostuu vastaavaa isotiosyanaattia (Kirkegaard & Sarwar 1998). Kukintavaiheessa murskatut sareptansinapin versot tuottivat Smolinskan & Horbowichin (1999) kokeissa 2-propenyyl- ja isotiosyanaattia 648  $\mu\text{g g}^{-1}$  kuivia versoja. Keltasinappi 'Borowska' puolestaan tuotti 4-hydroksibentsyyli-isotiosyanaattia 43,5  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Vaikka kaalien glukosinolaattituotanto on suuri ja kevätrapsin ja -rypsin kohtalainen, vain puolet näiden glukosinolaateista voi tuottaa isotiosyanaatteja (Kirkegaard & Sarwar 1998). Kaalin solujen hajotessa vapautuu kuitenkin hyvin runsaasti muita kaasumaisia rikkiyhdisteitä (Lewis & Papavizas 1971, Chin ym. 1996).

Glukosinolaattien hajoamistuotteita (Angelini ym. 1998, Jørgensen ym. 2001), puhtaita isotiosyanaatteja (Bialy ym. 1990, Petersen ym. 1999, Vaughn & Boydston 1997) ja rikottujen ristikukkaiskasvisolujen (Oleszek 1987, Brown & Morra 1995) vaikutuksia testikasveihin on tutkittu runsaasti laboratoriossa, mutta maahan sekoitetun ristikukkaiskasvijätteen tehosta rikkakasveihin pelto-oloissa on vähän tietoja. Puhtaat propenyyl- ja metyyli-isotiosyanaatit ovat kaasuina olleet tehokkaimmin itämistä estäviä yhdisteitä. Bentsyyli- ja 2-fenylylietyyli-isotiosyanaateilla on ollut edellisiä selvästi heikompi teho (Petersen ym. 1999, Vaughn & Boydston 1997). Oleszekin (1987) kokeissa sareptan- ja mustasinapin murskatuista lehdistä vapautuneet kaasumaiset yhdisteet estivät kokonaan salaatin itämisen ja lievästi kananhirssin (*Echinochloa crus-galli*) itämistä, mutta eivät vehnän itämistä. Rapsin, (*B. napus* cv. Gorczanski) ja lehtikaalin (*B. oleracea* var. *acephala*) murska-

tuista lehtisoluista vapautuvat yhdisteet puolestaan ehkäisivät kananhirssin juuren ja verson kasvua, mutta lisäsivät lievästi salaatin juuren ja versona kasvua.

Bialyn ym. (1990) kokeissa 2-fenylylietyyli-isotiosyanaatti oli liuoksessa tehokkain vehnän itämisen estäjä, propenyli- ja bentsyyli-isotiosyanaatit olivat vain lievästi myrkyllisiä. Vaughnin & Boydstonin (1997) kokeissa hiekkaan sekoitetut ristikukkaiskasvimurskeet heikensivät testikasvin taimettumista, mutta mikään murske ei vaikuttanut taimettuneiden kasvien kasvuun. Vihanneskrassin (*Lepidium sativum*) ja keltasinapin kasvisolut olivat tehokkaimmat taimettumisen estäjät. Molemmista vapautui pääasiassa bentsyyli-isotiosyanaattia. Myös kontrollina ollut vehnän lehtimurske heikensi taimettumista, sillä kasviaineksen lisäys maahan vaikuttaa aina myös maan fysikaalisiin ominaisuuksiin (Teasdale & Mohler 1993).

Maahan sekoitettu keltasinapin siemenpuriste on vähentänyt voimakkaasti kasvien taimettumista ja kasvua (Johansson & Ascard 1994, Laitinen ym. 1994). Laitinen ym. (1994) totesivat, että sareptansinapin siemenpuriste ei vaikuttanut ollenkaan rikkakasvien taimettumiseen. Jaakkolan (1999) peltokokeissa siemenpuristeella oli hyvä teho etenkin jauhosavikkaan ja pihatähitimöön, mutta ennen kylvöä levitettynä se alensi vehnän ja ohran orastumista yli 50 %, kun siemenpuristeen määrä oli 625 kg ha<sup>-1</sup>.

Brown & Morra (1995) todistivat, että rapsin (*Brassica napus*) siemenpuristeen haihtuvista yhdisteistä ainoastaan glukosinolaattien hydrolyysiyhdisteet estivät testikasvina olleen salaatin itämistä. Siemenpuristeen glukosinolaattien hajotessa entsyymaattisesti muodostui kaasumaisia isotiosyanaatteja ja nitrilejä, joita ei syntynyt entsyymien tuhoamisen jälkeen. Myös siemenpuristeen liukoiset yhdisteet, joissa entsyymi oli aktiivinen, estivät testikasvin itämistä. Puristeen vaikutus oli kuitenkin suurempi kuin siitä tehdyn uutteen, joten näyttää siltä, että sekä kaasumaiset että liukoiset yhdisteet vaikuttivat siemenpuristeen tehoon.

Ristikukkaiskasvien käyttö nähdään vaihtoehdoksi torjunta-aineille tilanteissa, joissa torjunta-aineita ei voida käyttää tai niitä pyritään korvaamaan vaihtoehtoisilla kasvinsuojelumenetelmillä. Ristikukkaiskasveja voidaan käyttää puhdistavina välikasveina viljelykierrossa, viherkesantona tai muualta tuotua kasvijätettä voidaan sekoittaa maahan.

Tässä MTT:n tutkimuksessa keskityttiin ristikukkaiskasvien käyttöön apuna rikkakasvien torjunnassa. Tavoitteena oli etsiä tehokkaimmat rikkakasvien itämistä estävät ristikukkaiskasvit ja kasvinosat sekä selvittää niiden teho rikkakasveihin käytännössä sekä kasvimassan vahingollisuus viljelykasveille. Halusimme selvittää erityisesti lyhytikäisen ristikukkaisviherkesannon, kaalien satojätteen ja sinappien siemenpuristeen tehoa rikkakasvien taimettumiseen.

Tutkimuksissa haettiin biotestein ja peltokokein vastauksia seuraaviin kysymyksiin:

- 1) Mitä ovat ne kasvijauheet, jotka tuottavat testikasvin itämistä ja juurten kasvua eniten haittaavia kaasuja.
- 2) Vastaavatko kaasukokeissa saadut tulokset ruukkukokeiden tuloksia.
- 3) Mikä on glukosinolaattien kaasuuntuvien hydrolyysiyhdisteiden poiston vaikutus testikasvin itämiseen ja juurten pituuteen sekä kasvijauheen maahan sekoituksen vaikutus kaasujen tehoon
- 4) Mikä on annoksen vaikutus testikasvin itämiseen ja kasvuun
- 5) Mikä on allelopaattisten aineiden teho rikkakasveihin avomaalla sekä maahan sekoitetun ristikukkaiskasviaineksen voittavuus viljelykasville

Testasimme erityisesti keltasinapin lehtijauheen ja siemenpuristeen vaikutuksia sekä kaasuina että maahan sekoitettuna. Asetimme hypoteesiksi väittämän, jonka mukaan keltasinapin lehtijauheen ja siemenpuristeen taimettumista ja kasvua estävät yhdisteet ovat pääasiassa glukosinolaattien liukoisia yhdisteitä. Tutkimusten tuloksena syntyi menetelmiä, joilla kasvijätteen vaikutuksia voidaan luotettavasti tutkia.

## Aineisto ja menetelmät

Murskatuista ristikukkaiskasveista vapautuvien kaasujen vaikutusta testikasvin itämiseen ja juuren ja verson pituuteen testattiin yhteensä 14 maljakokeessa. Maahan sekoitetun ristikukkaiskasviaineksen vaikutusta testikasvien taimettumiseen ja kasvuun testattiin 4 ruukkukokeessa. Maahan sekoitettujen sinappipuristeannosten ja levitysajankohdan vaikutusta herneen ja saunakukan taimettumiseen ja kasvuun tutkittiin kolmessa ruukkukokeessa. Peltokokeessa tutkittiin sinappipuristeannosten vaikutusta hernepellon rikkakasveihin ja herneen satoon. Ristikukkaiskasvien glukosinolaatit ja niiden hajoamistuotteet tutkittiin MTT kemian laboratoriossa.

## Kasvimateriaali

Sareptansinappi (*Brassica juncea* L. cv. Jyty), keltasinappi (*Sinapis alba* L. cv. Gisilba ja Jo03), syysrypsi (*B. rapa* var. *oleifera* L. cv. Salut), piparjuuri (*Armoracia rusticana* L.) ja vehnä (*Triticum aestivum* L.) kasvatettiin kasvihuoneessa turve-hiekka-alustalla. Kasvihuoneen lämpötila oli 20/18 °C ja lisävaloa annettiin suurtehonatriumlampuilla 16 h/vrk tarvittaessa. Sinapit ja rypsi leikattiin maan rajasta kukintavaiheessa, paitsi kokeessa 2/2000 sareptansinappi leikattiin taimiasteella. Vehnä korjattiin oraiden ollessa 15-20 cm

pitkiä ja piparjuuren lehdet täysikasvuina. Kukkakaalin (*B. oleracea* var. *botrytis* L. cv. White Magic F<sub>1</sub>) lehdet kerättiin korjuun jälkeen syksyllä 2000 ja keräkaali (*B. oleracea* var. *capitata* L.) ostettiin kaupasta tammikuussa 2001. Kasvit kuivattiin lämpökaapissa 50 °C lämpötilassa ja jauhettiin myllyssä 2 mm:n seulalla. Jauheet säilytettiin kannellisissa muovipurkeissa huoneen lämmössä. Sinappien siemenet saatiin Boreal kasvinjalostus OY:stä. Öljy puristettiin kylmäpuristimella Väinö Laiho Ky:ssä Pöytyällä. 'Gisilba'-keltasinapin siemenpuriste saatiin Väinö Laiholta. Puristeet säilytettiin muovipinnoitetuissa säkeissä ja jauhettiin ennen käyttöä.

## Testikasvit

Testikasveina olivat saunakukka (*Tripleurospermum inodorum* Schultz Bip), silpodynderne (*Pisum sativum* var. *sativum* cv. Avola ja Pasha) ja kevätvehnä. Saunakukan siemenet olivat syksyn 2000 satoa. Siemenet liotettiin 8% natriumhypokloriitissa, huuhdeltiin ja kuivattiin ennen käyttöä. Siementen itävyys oli yli 90 %.

## Maa

Biotesteissä käytettiin MTT Nummelan koetilan hietamaata Jokioisilla. Maan pH oli 6,6, org. hiili 2,19, Hhk 39,8 %, Hht 29,7 %, KHt 8,3 %, Sa 9,8 %. Maa kerättiin 20 cm:n muokkauskerroksesta, seulottiin, kuivattiin ja säilytettiin kasvihuoneessa. Maan kosteuspitoisuus säädettiin 18 % w/w ennen kokeen alkua. Kokeessa 6,7,8 ja 14/2001 maahan sekoitettiin 600 kg ha<sup>-1</sup> vastaava määrä YP1-lannoitetta (10-5-15). Kokeissa 22/2001 ja 1/2002 maata ei peruslannoitettu, vaan kasteltiin tarvittaessa 0,1 % täysravinneliuksella.

## Biotestit murskatuista kasvinosista vapautuvilla kaasulla

Eri kasvien murskatuista kasvinosista vapautuvia kaasuja testattiin biotesteissä, joissa mittareina käytettiin testikasvien itämistä sekä sirkkajuuren ja verson pituutta. Kaasumaisten yhdisteiden biotesti perustui pienin muutoksin Oleszekin (1987) kehittämään menetelmään. Tavoitteena oli löytää itämistä ja juuren ja verson kasvua parhaiten estävät kasvit (Kokeet 2 ja 3/2000. 10/2001). Tehokkaimpien kasvimurskeiden määrän vaikutusta testikasvin itämiseen ja kasvuun tutkittiin kokeissa 13,15 ja 17/2001. Kokeessa 11/2001 testattiin sareptansinapista vapautuvien kaasujen vaikutusten pysyvyyttä. Kokeissa 20/2001, 2,4,5,6 ja 7/2002 tutkittiin vaikuttaako glukosinolaattien hydrolyysiyhdisteiden poistaminen tai mikrobitoiminta sinapeista vapautuvien kaasujen tehoon.

Siemenet kylvetettiin Ø 6 cm:n petrimaljoille vesi-agaralustalle. Jauhettu kasviaines (0,25-10,0 g) mitattiin 1,2 dl:n muovipurkkeihin ja päälle pipetoitiin ionivaihdettua vettä. Petrimalja laitettiin purkin päälle 45 ° kulmaan niin, että kaasut pääsivät virtaamaan purkista ja purkki asetettiin steriloituun 1,5 l:n lasitölkkiin ja kansi suljettiin tiiviisti. Tölkit laitettiin kasvatuskappaan täysin arvotun koemenetelmän mukaan kokeissa 2/2000 ja 3/2000 ja muissa kokeissa lohkoittain satunnaistettuun järjestykseen. Itämis-% laskettiin ja juuren ja pituus mitattiin 2-3 vrk:n kuluttua aloituksesta. Kaapin lämpötila säädettiin 20 °C:een, ja siemenet idätettiin pimeässä. Ensimmäiset kokeet, joissa mitattiin myös saunakukan verson pituutta, tehtiin kasvihuoneen pöydillä. Myöhemmissä kokeissa mitattiin vain juuren pituus, koska se reagoi herkemmin kuin varsi. Lämpötila kasvihuoneessa oli 20 °C valoisana aikana ja 18 °C pimeänä. Valotusta annettiin 16 h vuorokaudessa. Osa kokeista tehtiin 1 vrk esi-idätetyllä siemenellä. Kontrollina oli ionivaihdettu vesi.

## **Itämistesti sareptansinapista vapautuvien kaasujen vaikutuksen pysyvyydestä**

Vehnän jyvät turvotettiin 1 vrk:n ajan imupaperilla petrimaljalla. Sen jälkeen malja laitettiin purkin suulle, johon oli annosteltu sareptansinapin lehtijauhetta 5 tai 10 g ja ionivaihdettua vettä. Purkki asetettiin 1,5 l:n lasitölkkiin ja pidettiin pimeässä 20 °C:n lämpötilassa 1 vrk. Petrimaljat nostettiin kasvihuoneen pöydälle ja 2 vrk:n kuluttua laskettiin itäneet.

## **Glukosinolaattien kaasuuntuvien hydrolyysiyhdisteiden poisto ennen koetta**

Kokeissa 20/2001,2, 4, 5, 6 ja 7/2002 annettiin glukosinolaattien kaasuuntuvien hydrolyysiyhdisteiden poistua ennen kokeen alkua. 2 g:aan sareptan- ja keltasinapin lehti- ja puristejauhetta lisättiin 2 ml ionivaihdettua vettä ja inkuboitiin huoneen lämmössä 6 h-1 vrk ennen koetta.

## **Kasviaineksen ja maan sekoitus**

Mikrobien vaikutusta kaasujen tuotantoon haluttiin selvittää kokeissa 4 ja 7/2002. 2 g kelta- ja sareptansinappien lehti- ja puristejauhetta lisättiin 2 ml ionivaihdettua vettä ja sekoitettiin 50 g:aan maata. Petrimalja laitettiin purkin suulle kuten edellä ja purkki edelleen lasitölkkiin. Kontrollina oli pelkkä maa.

Kokeissa 5 ja 7/2002 maa steriloitiin 100 °C:ssa ennen koetta. Tällä haluttiin testata, vaikuttaako maa sinänsä kaasujen vapautumiseen ilmaan siten, että se heijastuisi saunakukan itämiseen tai juuren pituuteen. Kontrollina oli steriloitu maa.



## **Biotestit maahan sekoitetulla kasvimurskeella**

Kokeissa 1 ja 22/2001 sekä 3/2002 tutkittiin kelta- ja sareptansinappipuristeannosten vaikutusta testikasvien taimettumiseen ja kasvuun. Kahdessa ensimmäisessä kokeessa muuttujina olivat sinappilaji ja annos, kahdessa jälkimmäisessä myös levitysjankohta; juuri ennen kylvöä tai saunakukan ollessa 2-lehtiasteella ja herneen noin 5 cm:n mittaista. Puristeannokset olivat 0, 50, 100, 150 ja 200 g m<sup>-2</sup>. Maa tasoitettiin 20 x 30 cm:n laatikoihin, joihin kylvettiin 20 herneen siementä. Jauhettu sinappipuriste sekoitettiin 0,6 dl maata ja levitettiin siementen päälle. Kokeissa 22 ja 3 taimet kasvatettiin 1 l:n muoviruukuissa. Annokset sekoitettiin ruokalusikalliseen maata ja levitettiin ruukun pintaan. Ruukkuun kylvettiin kolme herneen siementä tai viisi saunakukan siementä. Kasvihuoneen lämpötila oli 20/15 °C. Valotusta annettiin 16 h vrk. Taimettuminen laskettiin viikon kuluttua ja saunakukan taimista jätettiin kolme tasalaatuisinta kasvamaan. Noin kuukauden kuluttua taimet leikattiin maan pinnan tasalta ja punnittiin. Koemenetelmänä oli lohkoittain satunnaistetut ruudut.

Kokeissa 3, 4, 5, 6. ja 22/2001 verrattiin useiden maahan sekoitettujen kasvimurskeiden vaikutusta saunakukan taimettumiseen ja kasvuun. Neljässä ensimmäisessä kokeessa testit tehtiin 1 dl:n muoviruukuissa, jotka pidettiin laatikoissa altakastelumaton päällä. Kokeissa 22 taimet kasvatettiin 1 l:n ruukuissa. hienoksi jauhettua kasvia sekoitettiin maahan 1 % tai 5 % maan painosta.

Testatut kasvimateriaalit olivat keltasinapin lehdet, puriste ja juuri, sareptansinapin lehdet ja puriste, piparjuuren lehdet ja juuri, rypsin lehdet, keräkaalin ja kukkakaalin lehdet, vehnän oraat, tattarin kuoret ja kuminan siemenpuriste. Purkkeihin kylvettiin 5 kpl saunakukan siemeniä. Purkit laitettiin kasvihuoneen pöydälle lohkoittain satunnaistettujen ruutujen mukaiseen järjestykseen. Taimettuminen laskettiin ja taimet punnittiin noin kuukauden kuluttua.

Kaikissa kasvihuonekokeissa ruukkujen paikkaa vaihdettiin päivittäin lohkon sisällä.

## **Tuoreherneen rikkakasvien torjuntakoe**

Kokeessa selvitettiin sinappipuristeiden tehoa säilykeherneen rikkakasveihin. Koe perustettiin Eurajoelle herneen sopimusviljelmälle. Maalajina oli runsasmultainen hieta. Herne kylvettiin toukokuun lopussa. Käsittelyhetkellä kasvusto oli noin 10 cm pituista. Rikkakasveja oli vähän viileän ja kuivan alkukesän vuoksi.

Käsittelyt olivat:

Kontrolli rivivälien muokkaus käsiharalla

Käsittelemätön

Sareptansinappipuriste 50 g m<sup>-2</sup>

Sareptansinappipuriste 100 g m<sup>-2</sup>

Sareptansinappipuriste 150 g m<sup>-2</sup>

Sareptansinappipuriste 200 g m<sup>-2</sup>

Keltasinappipuriste 50 g m<sup>-2</sup>

Keltasinappipuriste 100 g m<sup>-2</sup>

Keltasinappipuriste 150 g m<sup>-2</sup>

Keltasinappipuriste 200 g m<sup>-2</sup>

Koemenetelmänä oli lohkottain satunnaistetut ruudut. Ruudun koko oli 6 m<sup>2</sup> ja kerranteita neljä. Puriste levitettiin ruuduille 8.6. ja muokattiin heti kevyesti maahan kasveja varoen.

Vioitukset arvioitiin kahden viikon kuluttua asteikolla 0-100, jossa 0=terve ja 100 kuollut.

Rikkakasvit laskettiin kesäkuun lopussa 2 x 0,25 m<sup>2</sup> alalta jokaisesta ruudusta ja rikkakasvien painot punnittiin 2 x 0,25 m<sup>2</sup>:n alalta heinäkuun alkupuolella. Sato korjattiin kerralla heinäkuun lopussa 0,5 m<sup>2</sup> alalta ruutua kohti.

## **Isotiosyanaattien tuotanto maassa**

Isotiosyanaatit analysoitiin maasta Gardinerin ym. (1999) kuvaamalla tavalla. 8 g maata ja 3 ml deionisoitua vettä ja 6 g sareptansinapin tai keltasinapin lehtiä sekoitettiin 2 ml 0.2M CaCl<sub>2</sub> ja 10 ml:lla diklorometaania. Seosta inkuboitiin 30 min ajan. Dikloorimetaanikerros erotettiin ja siihen lisättiin 0,4 g NaSO<sub>4</sub> ja liuotinta haihdutettiin vähintään 1 h. 1,5-2,0 ml dikloorimetaanifraktiota johdettiin suodattimen kautta kaasukromatografiin.

## **Glukosinolaattien ja niiden hajoamistuotteiden määrittäminen**

Nestetyyppeen jäädytetyistä ja pakkaskuivatuista näytteistä eristettiin ja analysoitiin glukosinolaatit British Standard 4325 (1996) -ohjeiston mukaan. Desulfonoidut glukosinolaatit analysoitiin Perking Elmer's HPLC 200 -laitteella ja LiChrospher RP-18 ( 3.9 x 150 mm, 5 µm ) kolonnilla. Ajoliuoksena oli vesi ja asetonitriliin liuos.

Glukosinolaattien hajoamistuotteet määritettiin pienillä muutoksilla Daxenbichlerin & VanEttenin (1977) julkaisemalla menetelmällä. Hajoamistuotteet uutettiin dikloorimetaaniin ja analysoitiin GC-MS käyttämällä painepulssi-injektointia.

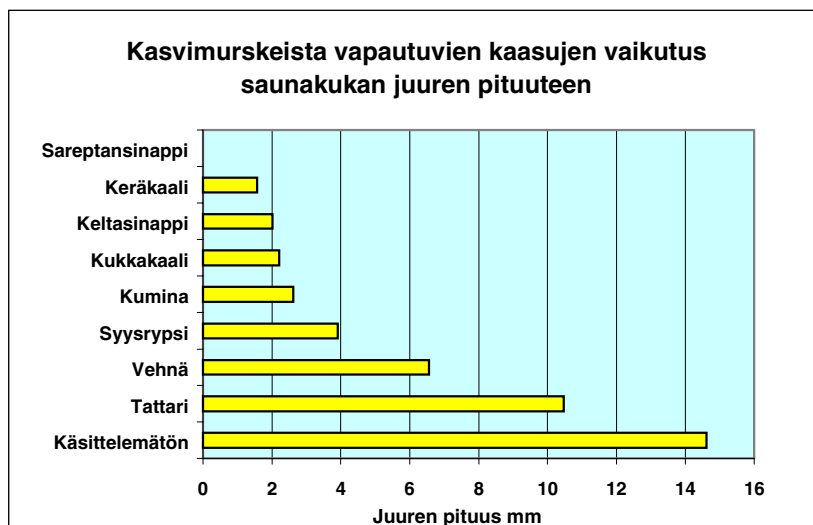
## **Tilastolliset menetelmät**

Kasvimurskeen, annoksen ja levitysjankohdan ja näiden yhdysvaikutusten vaikutusta testattiin varianssianalysillä. Jos käsittelyjen välillä oli eroja, käsittelykeskiarvoja verrattiin Tukeyn testillä. Kasvien mitat muutettiin log (x+1)- muunnoksella jakaumien normalisoimiseksi. Tilastokäsittelyt suoritettiin Mixed proseduurilla (Sas System for Mixed Models 1996).

# Tulokset

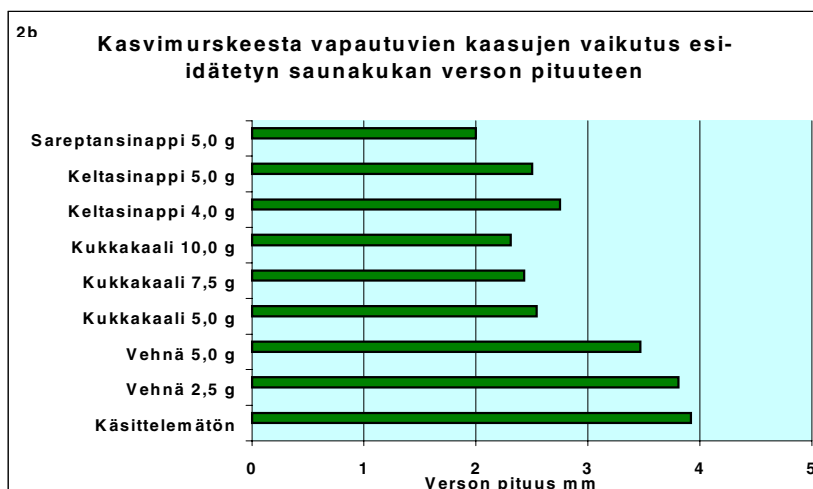
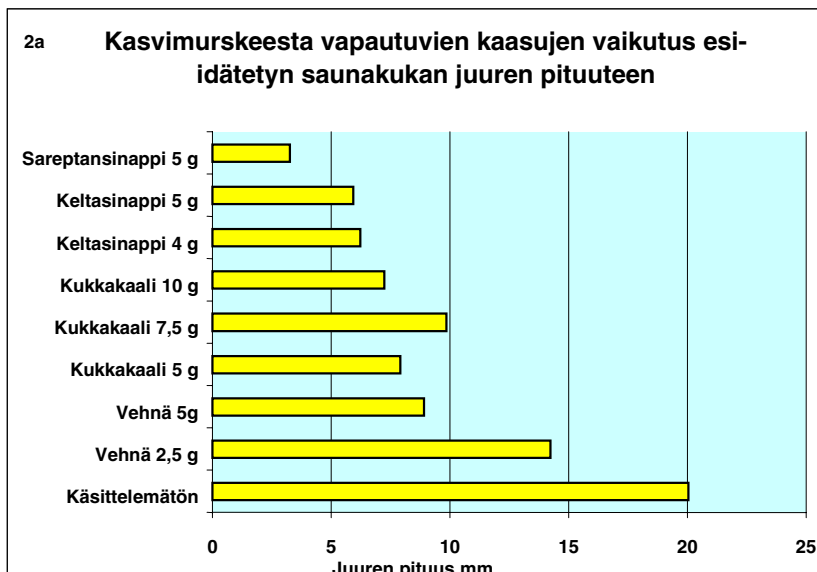
## Biotestit murskatuista kasvinosista vapautuvilla kaasuilla

Kaikista tutkituista kasvimurskeista vapautuneet kaasut hidastivat saunakukan juuren pituuskasvua suhteessa kontrolliin. Ristikukkaiskasvien murskatut kasvinosat olivat tehokkaimpia juuren pituuskasvun estäjiä (Kuva 1). Ero kontrollikäsitellyn ja ristikukkaiskasvimurskeiden ja kuminan välillä juuren pituuskasvussa oli tilastollisesti merkitsevä ( $P < 0,0001$ ). Sareptansinapin kasvimurskan kaasumaiset yhdisteet estivät tehokkaimmin saunakukan siementen itämistä ja esi-idätettyjen siementen sirkkajuuren kasvua. Vaikutus näkyi siementen itämättömyytenä ja esi-idätettyjen siementen sirkkajuuren pään tummumisena ja kasvun pysähtymisenä sekä sirkkalehtien kellastumisena. Sareptansinapin kaasujen vaikutuksesta vehnän jyvien valkuaisaineet purkautuivat siemenistä, kun turvotettuja siemeniä pidettiin 1 vrk:n ajan pet-rimaljoilla 1,5 l:n lasipurkeissa, joiden pohjalla oli 5 g sareptansinapin kostutettua lehtijauhetta.



Kuva 1. Kasvimurskeista vapautuvien kaasujen vaikutus saunakukan juuren pituuteen.

Kasvimurskeiden vaikutus näkyi herkemmin sirkkajuuren pituuskasvussa kuin verson pituuskasvussa (Kuva 2).

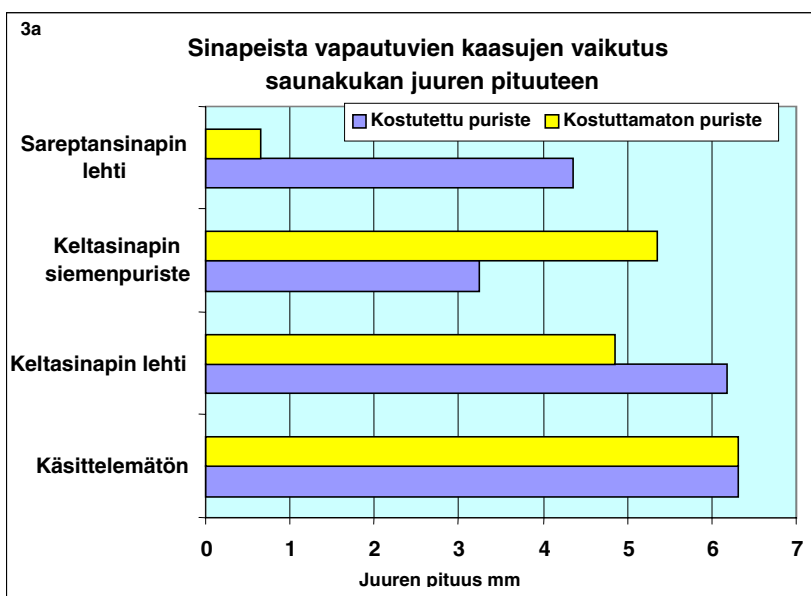


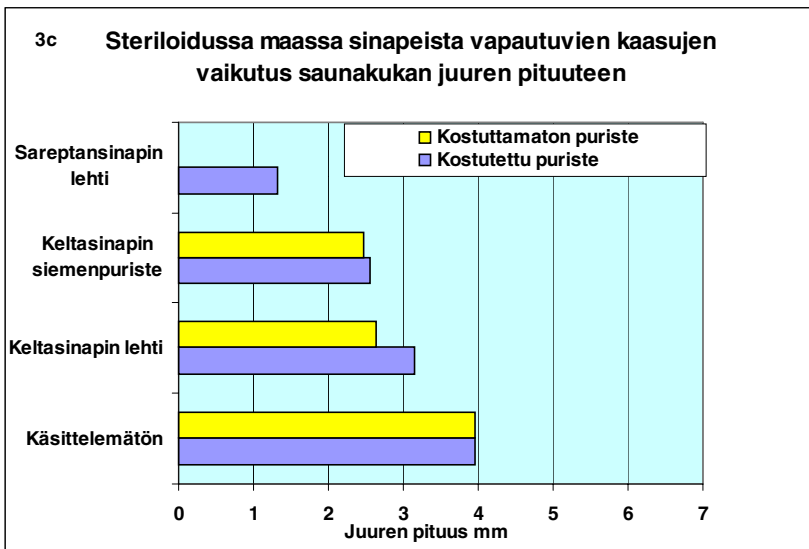
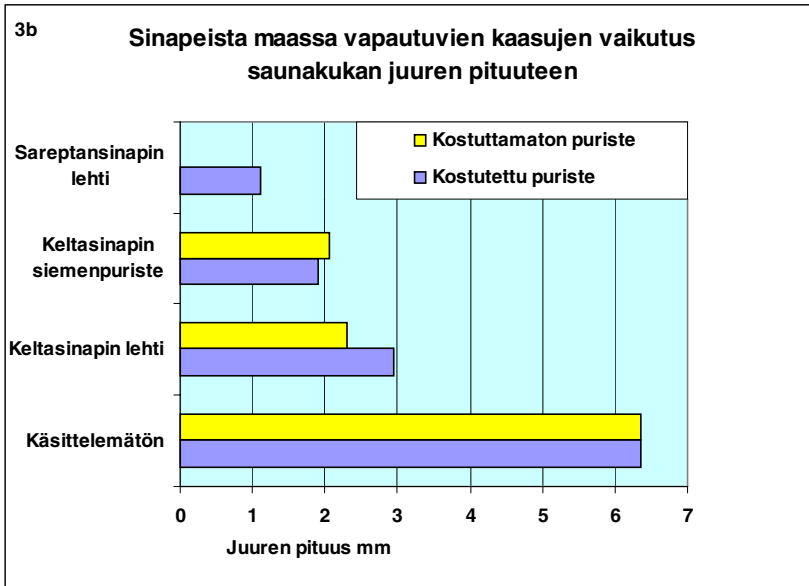
Kuva 2. Kasvimurskeesta vapautuvien kaasujen vaikutus esi-idätetyn saunakukan juuren (a) ja verson pituuteen (b).

Veden lisääminen kuivatuista ristikkukaiskasveista tehtyyn jauheeseen aloittaa hydrolyysin, jossa glukosinolaatit hajoavat ja kaasuuntuvat hajoamistuotteet haihtuvat ilmaan. Glukosinolaattien kaasuuntuvien hajoamistuotteiden poisto ei vaikuttanut keltasinapin lehtien ja siemenpuristeen keltasinapin kaasujen tehoon tilastollisesti merkitsevästi. Ero kontrollin ja kaasuuntuvia glukosinolaattien hajoamistuotteita tuottavan keltasinappikäsitteilyn välillä oli keskimäärin vain 0,94 mm, kun se sareptansinapin suhteen oli 5,64 mm

( $P < 0,0001$ ). Siementen itäminen ja sirkkajuuren kasvu estyi lähes täysin sareptansinapin kaasulla, jossa glukosinolaattien kaasuuntuvat hajoamistuotteet olivat mukana. Sareptansinapin teho laski keltasinapin tasolle, kun glukosinolaattien hajoamistuotteet haihdutettiin ennen koetta pois.

Sinapeista tehtyjen siemen- ja lehtijauheiden sekoittaminen maahan lisäsi yleensä niiden vaikutusta juuren pituuskasvuun. Kun maa steriloidtiin ennen lisäämistä kostuttamattoman keltasinapin kanssa, vaikutus oli sama kuin pelkän maan (Kuva 3a, 3b ja 3c). Sareptansinapin lehtijauhe esti myös steriloidussa maassa juuren pituuskasvua (Kuva 3c).



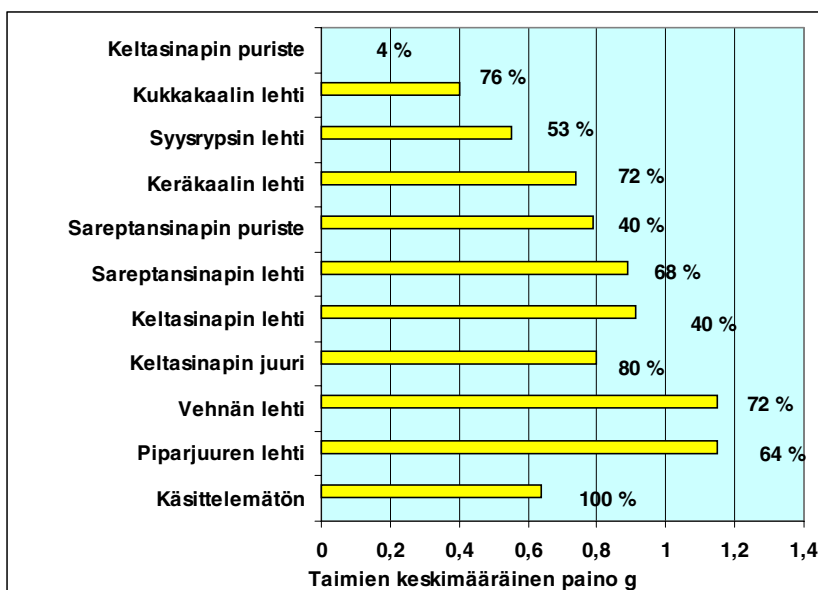


Kuva 3. Sinapeista vapautuvien kaasujen vaikutus saunakukan juuren pituuteen. (a) Käsitteilynä pelkkä kasvimurska (yksi toisto), (b) maahan sekoitettu kasvimurska (kolme toistoa) ja (c) steriloituun maahan sekoitettu kasvimurska (kaksi toistoa).

## Biotestit maahan sekoitetulla kasvimurskalla

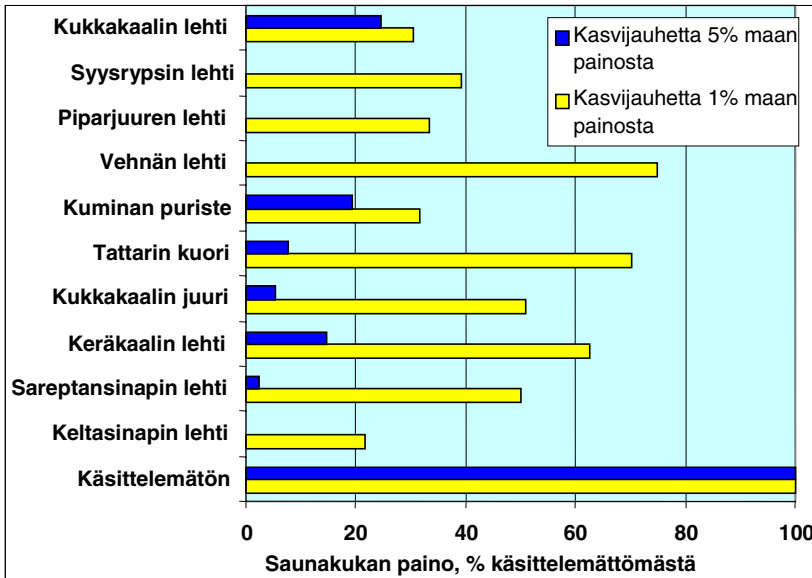
Ruukkukokeissa testattiin 10 eri kasvimurskan maahan sekoituksen vaikutusta saunakukan taimettumiseen ja kasvuun. Kuivattua kasvijauhetta sekoitettiin maahan joko 1 tai 5 % maan kuivapainosta. 1 % vastaa likimain määrää, jollaisia voidaan sekoittaa maahan viherkesannossa. Kaikki testeissä olleet kasvijauheet, myös vehnän oraista tehty, vähensivät saunakukan taimettumista verrattuna käsittelemättömään. Tehokkaimmat taimettumisen ja kasvun estäjät olivat keltasinapin siemenpuriste ja lehti, sareptansinapin siemenpuriste ja syysrypsin lehti (Kuvat 4 ja 5).

Taimettumisen heikentyminen vähensi taimien keskinäistä kilpailua, mikä tuli selvästi esiin kontrollikäsittelyssä kokeessa 2002. Taimet painoivat vähemmän kuin useimmissa muissa käsittelyissä, joissa taimien määrä oli pienempi (Kuva 4).

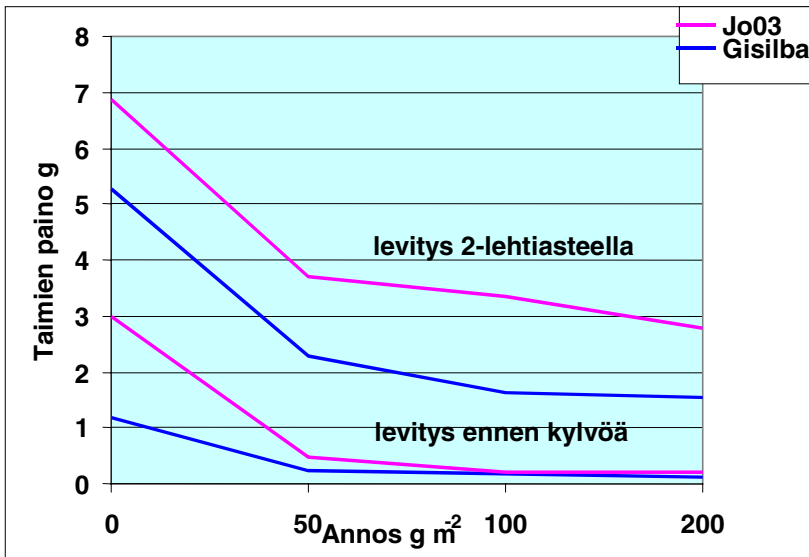


Kuva 4. Maahan sekoitetun kasvimurskan vaikutus saunakukan taimettumisprosenttiin ja taimien painoon.





Kuva 5. Maahan sekoitetun kasvimurskan määrän (1 % (keltainen) ja 5% (sininen) maan kuivapainosta) vaikutus saunakukan verson painoon.



Kuva 6. Keltasinappipuristelajikkeen, -annoksen ja levitysajankohdan vaikutus saunakukan painoon.

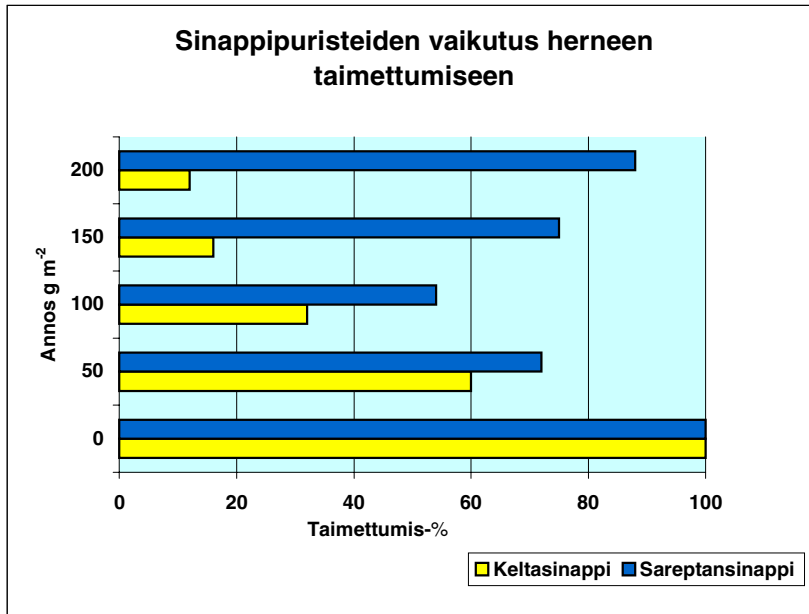
Kaasukokeiden tulokset eivät olleet täysin samansuuntaisia ruukkukokeiden kanssa. Molemmissa kokeissa ristikukkaiskasvit olivat muita kasveja tehokkaampia taimettumisen estäjiä, mutta niiden järjestys riippui kokeen luonteesta. Kaasukokeissa sareptansinappi oli tehokkain itämisen ja juuren kasvun estäjä, mutta ruukkukokeissa sen teho ei ollut samaa luokkaa. Ruukkukokeissa keltasinappi oli tehokkain taimettumisen estäjä, kun se kaasukokeissa oli vasta neljänneksi tehokkain.

## **Lajikkeen, levitysajankohdan ja annoksen vaikutus keltasinappipuristeen tehoon**

Keltasinappipuristeiden levitysajankohdan ja annoksen vaikutus saunakukaan oli tilastollisesti erittäin merkitsevä. Levitys ennen kylvöä annoksen ollessa 50, 100 tai 200 g m<sup>-2</sup> vähensi saunakukan taimettumista ja verson kasvua, mutta saunakukan 2-lehtiasteella levitettäessä puriste ei vaikuttanut saunakukan verson painoon, vaikka lehdissä selvästi näkyi vioituksia. Gisilba ja JO03: olivat teholtaan sananarvoisia (Kuva 6)

Kun puristetta levitettiin kasvualustan pintaan saunakukkien ollessa 2-lehtiasteella tai herneen noin 5 cm pituista, vaikutus alkoi näkyä 1-2 viikon kuluessa. Lehtiin ilmestyi kloroosia ja herneen lehdet kuivuivat. Vioitukset eivät vaikuttaneet kuitenkaan saunakukan kasvuun. Herneellä vioituksen näkyivät myös heikkona satona.

Kaikki keltasinappiannokset alensivat herneen taimettumista, kun puriste sekoitettiin maahan ennen kylvöä. Suurimmalla annoksella (200g m<sup>2</sup>) taimettuminen väheni yli 80 % . Sareptansinappipuriste ei vaikuttanut taimettumiseen (Kuva 7).



Kuva 7. Sinappipuristeannosten vaikutus herneen taimettumiseen.

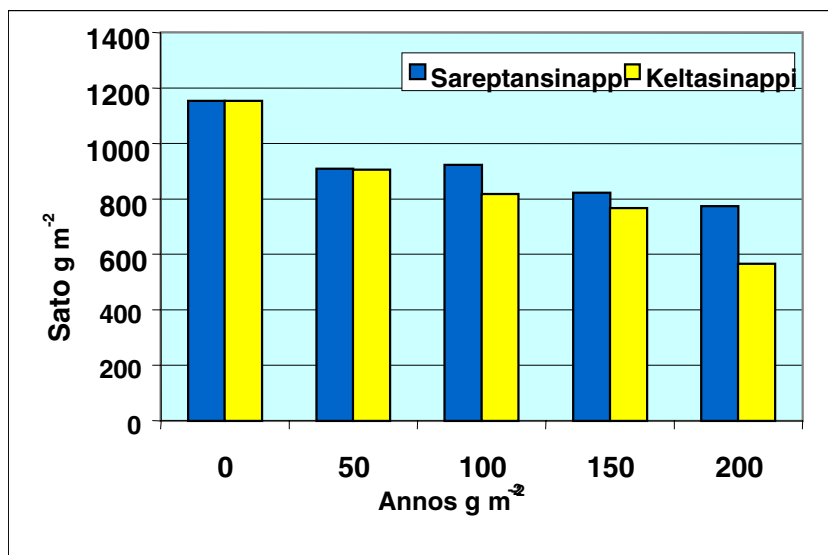
## Herneen rikkakasvien torjuntakoe

Pellon yleisimmät rikkakasvit olivat jauhosavikka, pihatähtimö, juolavehna, valvatti ja orvokki. Rikkakasvien määrä pellolla oli pieni kuivan kevään vuoksi. Suurimmilla keltasinappipuristeannoksilla oli hyvä teho pellon yleisimpiin rikkakasveihin, jauhosavikkaan ja pihatähtimöön (Taulukko 1). Orvokkiin ja juolavehnaan sillä ei näyttänyt olevan vaikutusta.

Keltasinappipuriste voitti hernettä voimakkaasti. Vioitukset alkoivat näkyä noin viikko levityksen jälkeen ja pysyivät noin kolmen viikon ajan. Vioitusoireet ilmestyivät myös levityksen jälkeen puhjenneisiin lehtiin. Vioitusoireet heijastuivat myös hernesatoon (Kuva 8). Heikoin sato saatiin käsittelystä, johon oli levitetty suurin keltasinappiannos ja paras sato kontrollista.

Taulukko 1. Sinappipuristeannosten vaikutus rikkakasvien kuivapainoihin g m<sup>-2</sup> ja kappalemääriin hernepellolla.

Käsittely	Annos g	Pihatäh- timö	Jauho- savikka	Muut 2-sirkkaiset	Yht.	KPL
Kontrolli, harattu	0	1,8	0,6	0,3	2,7	39
Käsittelemätön	0	2,2	1,8	0,6	4,7	64
Sareptansinappi	50	1,2	0,5	0,2	1,9	39
Sareptansinappi	100	1,4	0,4	0,4	2,2	54
Sareptansinappi	150	1,6	1,1	0,2	2,9	44
Sareptansinappi	200	1,5	0,0	0,6	2,1	29
Keltasinappi	50	0,4	0,4	0,0	0,8	17
Keltasinappi	100	0,5	0,0	0,0	0,6	24
Keltasinappi	150	0,3	0,0	0,0	0,3	14
Keltasinappi	200	0,0	0,1	0,0	0,1	6



Kuva 8. Sinappipuristeannosten vaikutus herneen satoon.

## Maahan sekoitetun sinappimurskan hajoamistuotteet kahdessa eri lämpötilassa

Kun sareptansinapin lehtiä sekoitettiin maahan ja inkuboitiin joko 20 tai 4 °C:ssa, maasta analysoitiin allyyli-isotiosyanaattia. Keltasinapin lehtien sekoituksen jälkeen maasta löytyi p-hydroksibentsyyli-isotiosyanaattia ja bentsyyli-isotiosyanaattia. Maan lämpötila vaikutti isotiosyanaattien pitoisuuksiin. Sareptansinapista vapautui 2-propenyli-isotiosyanaattia 20 °C:ssa 222 µg/g kuivattua lehteä. Maasta mitattiin 2-propenyli-isotiosyanaattia 20 °C:ssa vastaavasti 195 µg/g kuivattua lehteä ja 4 °C:ssa 61 µg/g. Keltasinapin p-hydroksibentsyyli-isotiosyanaattien suhteelliset osuudet muuttuivat seuraavasti 198,5/26/144 ja bentsyyli-isotiosyanaatin 7,8/0,5/3,0. Absoluuttisia määriä ei standardien puuttuessa saatu. P-hydroksibentsyyli- ja bentsyyli-isotiosyanaatteja löytyi maasta matalassa lämpötilassa suhteessa enemmän kuin korkeassa lämpötilassa. 2-propenyli-isotiosyanaatin kohdalla tilanne oli päinvastainen.

## Yhteenveto

Kaikki murskatut kasvit, myös vehnänoraista tehty murske ja kuminan kuorirouhe, alensivat saunakukan taimettumista. Ristikukkaiskasvien murskattu kasvinosat olivat kuitenkin tehokkaimpia itämisen ja taimettumisen estäjiä. Ristikukkaiskasvimurskeet olivat nimenomaan itämisen ja taimettumisen estäjiä, vähemmän kasvun estäjiä. Muiden kasviainesten vaikutus perustuu maan muuttuneisiin fysikaalisiin olosuhteisiin. Ne voivat muuttaa olosuhteita epäedullisemmaksi esimerkiksi kovettamalla maan pintaa, jolloin pienten siementen on vaikeampi työntyä pinnalle. On myös mahdollista, että ristikukkaiskasvien lisäksi muistakin kasveista vapautuu kasvua haittaavia yhdisteitä. Kaasukokeiden tulokset eivät vastanneet ruukku- ja peltokokeiden tuloksia. Tämä johtunee eroista vapautuvien yhdisteiden kaasuuntuvuudessa ja liukoisuudessa.

Tutkimuksen ruukku- ja peltokokeiden perusteella keltasinappipuriste näytti tehoavan rikkakasveihin hyvin. Erittäin arkoja keltasinapille olivat jauhosavikka ja pihatähtimö. Orvokkeja taimettui puristeesta huolimatta. Orvokki saattaa joko kestää puristetta tai kestävyys perustuu muita myöhempiin taimettumiseen. Saatuja tuloksia keltasinappipuristeen tehosta ja valikoivuudesta tukevat myös aiemmat tutkimustulokset (Jaakkola 1999).

Keltasinappipuriste on fytotoksinen myös viljelykasveille. Tässä kokeessa herne osoittautui erittäin araksi. Aiemmissa kokeissa olemme todenneet ohran ja vehnän herkiksi orastumisvaiheessa (Jaakkola 1999). Vioitusten välttämiseksi aroilla kasveilla puristetta tulisi levittää vain riviväleihin. Puristeelle kestäviä viljelykasveja ja levitysmenetelmiä tulisi edelleen testata, jotta

vioitusriskiä voitaisiin vähentää. Fytotoksisuuden lisäksi ongelmana on pu-  
risteen heikko saatavuus. Sinapin viljely on Suomesta lähes loppunut, jonka  
vuoksi myöskään puristetta ei ole helposti saatavilla.

Myös maahan sekoitettu kukkakaalijäte ja keltasinappijäte alensivat testikas-  
vien taimettumista ruukkukokeissa. Kokeissa levitimme kasvimursketta 1 ja  
5% maan painosta, josta alin vastaa sitä määrää, mikä parhaimmillaan voi-  
daan kasvijätteissä sekoittaa maahan. Etenkin lyhyen sinappiviherkesannon  
tehoa, taloudellisuutta ja fytotoksisuutta olisi selvitettävä edelleen.

Sareptansinapista vapautuu erittäin tehokkaasti itämistä estäviä kaasuja. Nä-  
mä kaasut saattaisivat olla tehokkaita myös perunan ja sipulin itämisen estä-  
jinä.

## Kirjallisuus

- Angelini, L., Lazzeri, L., Galletti, S., Cozzani, A., Macchia, M. & Palmieri, S.  
1998. Antigerminative activity of three glucosinolate-derived products  
generated by myrosinase hydrolysis. *Seed Science & Technology* 26:  
771-780.
- Angus, J.F., Gardner, P.A., Kirkegaard, J.A. & Desmarchelier, J.M. 1994.  
Biofumigation: Isothiocyanates released from *Brassica* roots inhibit growth  
of the take-all fungus. *Plant and Soil* 162: 107-112.
- Bending, G.D. & Lincoln, S. 1999. Characterisation of volatile sulphur-  
containing compounds produced during decomposition of *Brassica juncea*  
tissues in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 695-703.
- Bialy, Z., Oleszek, W., Lewis, J. & Fenwick, G. R. 1990. Allelopathic potential  
of glucosinolates (mustard oil glycosides) and their degradation products  
against wheat. *Plant and Soil* 129: 277-281.
- British Standard 4325. 1995. Methods for analysis of oilseed residues. Part  
12, Determination of glucosinolates content by high-performance liquid  
chromatography. United Kingdom, British Standards Institution. ISO  
10633-1: 1995 (E). 9 s.
- Brown, P. D. & Morra, M. J. 1995. Glucosinolate-containing plant tissues as  
bioherbicides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 3070-3074.
- Chan, M.K.Y. & Close, R.C. 1987. *Aphanomyces* root rot of peas. 3. Control  
by the use of cruciferous amendments. *New Zealand Journal of Agricul-  
tural Research* 30: 225-233.

- Chin, H.-W., Zeng, Q. & Lindsay, R. C. 1996. Occurrence and flavor properties of sinigrin hydrolysis products in fresh cabbage. *Journal of food science* 61: 101-104.
- Daxenbichler, M.E. & VanEtten, C.H. 1977. Glucosinolates and derived products in cruciferous vegetables: gas-liquid chromatographic determination of the aglucon derivatives from cabbage. *Journal of the Association of Official Analytical chemists* 60: 950-953.
- Gamliel, A. & Stapelton, J. 1993. Characterization of antifungal volatile compounds evolved from solarized soil amended with cabbage residues. *Phytopathology* 83: 899-905.
- Gardiner, J., Morra, M.J., Eberlein, C.V., Brown, P.D. & Borek, V. 1999. Allelochemicals released in soil following incorporation of rapeseed (*Brassica napus*) green manures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 3837-3842.
- Jaakkola, S. 1999. Sinappirouhetta rikkakasveille. *Agro-Food -99 näyttelyn posterisitelmä*. Tampere 1 s.
- Johansson, H. & Ascard, J. 1994. Ogräsbekämpning med senapsexpeller bland träd och buskar. *Trädgård* 379. Alnarp. Sveriges lantbruksuniversitet. 46 s.
- Jørgensen, L.N., Kudsk, P. & Hansen, L.M. 2001. Naturstoffens effect på skadegørere. Teoksessa: 18. Danske Planteværnskonference IV. Helmi-kuu 2001. DJF rapport 42. Danmarks JordbrugsForskning. Forskningscenter Folum, Tjele. s. 39-41.
- Kirkegaard, J.A., Gardiner, P.A., Desmarchelier, J.M. & Angus, J.F. 1993. Biofumigation- Using *Brassica* species to control pests and diseases in horticulture and agriculture. Teoksessa: Wratten, N. & Mailer, R. (toim.). Proceedings of the 9<sup>th</sup> Australian Research Assembly on Brassicas, Agricultural Research Institute. Wagga Wagga. NSW. s. 77-82.
- Kirkegaard, J.A. & Sarwar, M. 1998. Biofumigation potential of brassicas. I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant and Soil* 201: 71-89.
- Laitinen, P. , Jaakkola, S. & Tiilikkala, K. 1994. Effects of mustard meals on root cyst nematodes of potato and on germination and early growth of annual weeds in glasshouse. Teoksessa: Narwal, S. & Tauro (toim.). Abstracts international symposium allelopathy in sustainable agriculture, forestry and environment . New Delhi, India, 6-8.9.1994. s. 105.
- Lewis, J.A. & Papavizas, G.C. 1971. Effect of sulfur-containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces eutheiches*. *Phytopathology* 61: 208-214.

- Mojtahedi, H., Santo, G., Hang, A. & Wilson, J. 1991. Suppression of root-knot nematode populations with selected rapeseed cultivars as green manure. *Journal of Nematology* 23: 170-174.
- Muehlchen, A.M., Rand, R.E. & Parke, J.L. 1990. Evaluation of crucifer green manures for controlling *Aphanomyces* root rot of peas. *Plant Disease* 74: 651-654.
- Oleszek, W. 1987. Allelopathic effects of volatiles from some *Cruciferae* species on lettuce, barnyard grass and wheat growth. *Plant and Soil* 102: 271-273.
- Petersen, J., Belz, R., Walker, F. & Hurle, K. 1999. Weed suppression by release of isothiocyanates from turnip rape mulch. Teoksessa: Program & Abstracts, Second world congress on allelopathy, Lakehead university, Canada, 8-13.8.1999. Lakehead University, Thunder Bay, Ontario, Canada. s. 148.
- Ramirdez-Villapudua, J. & Munnecke, D.E. 1988. Effect of soil heating and soil amendments of cruciferous residues on *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* and other organisms. *Phytopathology* 78: 289-295.
- Smolinska, U. & Horbowicz, M. 1999. Fungicidal activity of volatiles from selected cruciferous plants against resting propagules of soil-borne fungal pathogens. *Journal of Phytopathology* 147: 119-124.
- Stapleton, J.J. & Duncan, R.A. 1998. Soil disinfection with cruciferous amendments and sublethal heating: effects on *Meloidogyne incognita*, *Sclerotium rolfsii* and *Pythium ultimum*. *Plant Pathology* 47: 737-742.
- Teasdale, J.R. & Mohler, C.L. 1993. Light transmittance, soil temperature and soil moisture under residue of hairy vetch and rye. *Agronomy Journal* 85: 673-680.
- Vaughn, S.F. & Boydston, R.A. 1997. Volatile allelochemicals released by crucifer green manures. *Journal of Chemical Ecology* 23: 2107-2116.



# Bitorjunnan tutkimus jatkuu – uusia keinoja tulossa

Irene Vänninen

MTT, Kasvintuotannon tutkimus, Kasvinsuojelu, 31600 Jokioinen, [irene.vanninen@mtt.fi](mailto:irene.vanninen@mtt.fi)

## Johdanto

Bitorjuntaprojektissa saadut tulokset voidaan nähdä esimerkkinä siitä, miten ns. seuralaiskasviperiaatteen epämääräisestä hyödyntämisestä on siirrytty eliöiden välisiä vuorovaikutussuhteita ja niiden mekanismeja koskevan kvantifioitun, tutkimukseen pohjautuvan tiedon soveltamiseen ja tietoperäiseen kasvintuhoojien käyttäytymisen hallintaan. Lähtökohtana nykyaikaisen kasvinsuojelun kehittämisessä on lähes poikkeuksetta biologinen ja ekologinen tutkimus. Teknologinen ja taloustutkimus on tietysti otettava mukaan viimeistään siinä vaiheessa, kun menetelmät halutaan kehittää käytännössä toimiviksi. Kestävä kasvinsuojelu pohjautuu ekologiaan eli tieteeseen, jonka tehtävänä on selittää ja ennustaa eliölajien suhde ympäristöönsä, ts. mitkä tekijät vaikuttavat eliöiden runsauteen ja esiintymiseen niiden elinympäristöissä. Elinympäristöllä on ymmärrettävä sekä viljely-ympäristö että luonnonympäristö, jossa kasvintuhoojat alunperin kehittyivät, sillä jälkimmäisestä saatava tieto on yleensä oleellista, jotta ymmärretään, miten kasvintuhoojat elävät ja käyttäytyvät viljelyksillä.

## Integroitu kasvinsuojelu – mitä se on?

IPM eli integroitu kasvinsuojelu pohjaa ekologiaan. Avainsana on kasvintuhoojien hallinta eli niiden runsauden ja esiintymisen rajoittaminen pohjautuen tietoon viljely-ympäristön ekologisista prosesseista. Houkutuskasvit, elisitorit ja allelopatian hyödyntäminen ovat kasvintuhoojien hallinnasta erinomaisia esimerkkejä.

Integroitu kasvinsuojelu ei ole pelkkää eri kasvinsuojelutuotteiden ja -tekniikoiden mielivaltaista yhteensovittamista, vaikka tällaisen määritelmän näkee usein. Torjuntatekniikoiden ohella integroitu kasvinsuojelu sisältää ja ottaa huomioon ekologian ohella myös viljelijän taloudelliset ja eri kasvinsuojelustrategioihin liittyvät yhteiskunnalliset (sosiaaliset ja inhimilliset) näkökohdat.

Integroidussa torjunnassa kasvinsuojelutoimenpiteistä päätetään torjunnan taloudellisiin kynnyksiarvoihin perustuen. Määritelmän mukainen IPM (ks.

tekstin loppu) ei itse asiassa anna suosituimmuusasemaa millekään erityisille kasvinsuojelumenetelmille. IPM ei siis tarkasti tulkittuna tarkoita pyrkimystä vain ekologiaan pohjautuvien kasvinsuojelumenetelmien maksimaaliseen hyödyntämiseen! Muunlaisilla menetelmillä ei kuitenkaan pitemmän ajan kuluessa päästä tyydyttävään torjuntatulokseen tai niiden käyttö on kallista ja kestämatöntä. Ekologisten prosessien tuntemukseen pohjautuvat kasvinsuojelumenetelmät perustelevat siis loppujen lopuksi itse itsensä sekä taloudellisin ja ympäristöllisin argumentein.

IPM on IP-viljelyn (integroitu viljely) olennainen ja välttämätön osa. Euroopassa IOBC eli Kansainvälinen biologisen torjunnan järjestö on luonut virallisia ohjeistoja IP-viljelyn kasvinsuojelulle eri menetelmien hierarkkiseen suosituimmuusperiaatteeseen pohjautuen (IOBC on siis ottanut kantaa siihen, mitkä ovat suositeltavimmat menetelmät). IPM perustuu ennaltaehkäisevään torjuntaan. Ennaltaehkäiseviä keinoja ovat viljelykierto ja suoja-alueverkoston ja peltomosaiikin luominen peltoympäristön muuttamiseksi monimuotoisemmaksi, jolloin muodostuu esim. suoja-alueita kasvintuhoojien luontaisille vihollisille. Ennaltaehkäisyyn kuuluu vielä tarpeenmukainen lannoitus ja oikea lajikevalinta kasvustojen tauti- ja tuhoeläinlääkityksen vähentämiseksi. Myös houkutuskasvit voidaan lukea ennaltaehkäiseviin keinoihin, sillä kasvustot joudutaan yleensä perustamaan heti varsinaisen viljelykasvin viljelyn alussa. Elisitorien ja niiden aktivoiman indusoidun resistenssin käyttö on myös ennaltaehkäisevää torjuntaa.

Jos ennaltaehkäisevistä toimenpiteistä huolimatta joudutaan käyttämään kemiallista tai biologista torjuntaa, sille on aina osoitettava perustelut ja ennen torjuntapäätöstä viljelijän on tunnistettava kohde-eliö, määriteltävä sen haitallisuus (torjunnan kynnysarvot/ennustepalvelun tiedot/kokemus) ja valittava sopivin torjunta-aine.

## **Mitä IPM voisi parhaimmillaan olla?**

Voisiko elisitorien, houkutuskasvien ja allelopation kaltaisten kasvinsuojelumenetelmien käyttöönnä ja yhdistäminen onnistua joskus niin laajasti, että joidenkin viljelykasvien kasvinsuojelu perustuisi kokonaan tai ainakin lähes pelkästään ei-kemialliseen kasvintuhoojien hallintaan? Millä nimellä kutsua tällaista kasvinsuojelua – luomua se ei ole, sillä kemiallinen kasvinsuojelu sisällytetään siihen. Riittääkö kuitenkin enää pelkkä IPM, sillä sen tulkintarajat ovat itse asiassa varsin väljät – saatetaanhan jo pelkästään kasvintuhoojien tarkkailun liittäminen osaksi kemiallista kasvinsuojelua tulkita jo IPM:ksi. Tällainen todella vahvasti biologisiin menetelmiin pohjaava kasvinsuojelu saattaisi kaivata omaa nimeä.

Yhdysvalloissa lanseerattiin sikäläisten kuluttajajärjestöjen toimesta v. 1996 käsite biointensiivinen kasvinsuojelu (biointensive IPM, ks. Benbrook ym.

1996). Tässä yhteydessä IPM käsitetään jatkumoksi, jossa voidaan erottaa kolme tasoa biointensiivisen kasvinsuojelun muodostaessa korkeimman tason. Alimmalla tasolla IPM:n katsotaan sisältävän sellaisia menetelmiä kuin kasvintuhoojien tarkkailu, kasvinsuojeluaineiden oikea-aikainen käyttö perustuen taloudellisen torjunnan kynnysarvoihin, kasvintuhoojien kemikaaliresistenssin hallinta ja joidenkin ennaltaehkäisevien torjuntamenetelmien käyttö. Tämä taso vastaa läheisesti IOBC:n jo v. 1977 määrittelemää tarkennettua torjuntaa, jota IOBC ei kuitenkaan vielä lue integroidun kasvinsuojelun piiriin, koska kasvinsuojelun perustana on kemiallinen torjunta.

Keskitason IPM on jo sisällöltään monipuolisempi ja kehittyneempi. Se sisältää mm. kasvintuhoojien lisääntymisympäristöjen hävityksen, viljelyympäristön monimuotoisuuden ja erityisesti hyötyeliöiden toiminnan ja esiintymisen vahvistamisen, resistenttien lajikkeiden käytön, pitkäaikaisen kasvinvuorottelun, maanparannusaineiden käytön ja kasvitautien esiintymisen ennustamismenetelmät.

Korkeimman tason IPM on biointensiivistä. Siinä hyödynnetään kasvintuhoojien hallitsemiseksi kaikkia relevantteja keinoja, jotka perustuvat tiettyä viljelysystemiä koskevaan ekologiseen ja biologiseen tietämykseen. Valikoivia kemiallisia kasvinsuojeluaineita ja biopestisidejä käytetään vain viimeisenä vaihtoehtona ja silloinkin niiden käyttöön liittyvät riskit minimoitua.

## **Onko IPM-jatkumosta hyötyä?**

Onko IPM-jatkumon jakamisesta eri tasoihin mitään käytännön hyötyä, ts. voisiko se tuoda lisäarvoa viljelijälle?

Jaottelu voisi toimia asteikkona, jota käytetään kasvinsuojelullisten tavoitteiden määrittelyssä tila- tai tuotantomuotokohtaisesti osana IP-viljelyä. Kaikki viljelijät eivät välttämättä halua tehdä yhtä suurta harppausta kasvinsuojelukäytäntöjensä muuttamiseksi, jos heillä on mahdollisuus esim. IP-viljelyn sääntöjen puitteissa valita, mille tasolle he pyrkivät. Viljelijäthän eroavat toisistaan esimerkiksi riskinottohalukkuudessaan. Biointensiivinen kasvinsuojelu vaatii paljon tietotaitoa ja on ainakin alkuvaiheessa vahvasti riippuvainen osaavasta neuvonnallisesta tuesta. Viljelijän oman tietotaidon määräästä ja neuvonnallisen tuen saatavuudesta ja riittävydestä riippuen biointensiiviseen kasvinsuojeluun siirtyminen sisältää enemmän tai vähemmän kasvinsuojelullisia riskejä, joiden suuruus voi vaihdella vielä maantieteellisen alueen (kasvintuhoojien yleisyys ja esiintymisen keskimääräinen ankaruus) ja viljelykasvin mukaan. Alkuunpääsemiseksi voi olla helpointa asettaa tavoitteet ensin matalammalle, samalla kun viljelijöitä kuitenkin informoidaan siitä, että matalammalta tasolta on kokemuksen ja tiedon karttuessa mahdollista edetä yhä biointensiivisempään suuntaan kasvinsuojelussa.

Biointensiivisen kasvinsuojelun tuoma lisäarvo voisi ehkä toteutua esim. lastenruokatuotannossa, jonka tuotantomenetelmät ovat tiukasti määriteltyjä, mutta jota ei kuitenkaan harjoiteta LUOMUn periaatteiden mukaisesti.

IPM-jatkumon periaatetta on käytetty hyväksi Hollannissa, jossa kasvihuonetuotannon ympäristöhaittojen vähentämiseksi on luotu pisteytysjärjestelmä ympäristöystävällisen kasvihuonetuotannon järjestelmään liittyville kasvihuoneyrityksille. Yritykset saavat pisteitä sen mukaan, millaisin keinoin ne sitoutuvat ja voivat osoittaa pystyvänsä vähentämään ravinne-, vesi-, energia- ja kemikaalipanoksia tuotannossaan. Biointensiivistä kasvinsuojelua ei mainita järjestelmässä käsitteenä, mutta parhaaseen pisteluokkaan yltävissä yrityksissä kasvinsuojelu perustuu biologisiin menetelmiin ja kemikaalikäsittelyjä on ratkaisevasti vähennetty.

IPM-jatkumoa voi ajatella sovelluskelpoiseksi periaatteeksi etenkin kukkaviljelyn kasvinsuojelua kehitettäessä: ongelmien ratkaisu ei ole kaikissa tapauksissa helppoa biointensiivisin menetelmin, joten viljelijä voi valita uutta kasvinsuojelustrategiaa kokeillessaan, minkä tason hän haluaa ensimmäisessä vaiheessa saavuttaa ja mihin viime kädessä kokemuksen karttuessa pyrkii. Ylipäätään biointensiivisestä kasvinsuojelusta IP-viljelyn pisimmälle tähtäävänä kasvinsuojelullisena tavoitteena kannattaa puhua vasta siinä vaiheessa, kun on olemassa realistiset keinot toteuttaa kasvinsuojelu niin laajasti ekologisiin menetelmin, ettei tavoite jää pelkäksi unelmaksi, josta luovutaan tuotannollisten riskien takia lähes heti, kun kasvintuhoojat ilmaantuvat viljelykselle.

## Tutkimuksen tulevaisuudensuuntia

*Biotorjunta osana ekologista kasvinsuojelua* -tutkimuksen seuraava vaihe on torjuntateknologioiden kehittäminen toimiviksi, jotta hyviksi havaitut periaatteet saadaan vietyä osaksi käytännön kasvinsuojelua suomalaisilla tiloilla, olivatpa ne LUOMUa tai IP-viljelyä – osa projektin käsittelemistä menetelmistä nimittäin soveltuu molempiin tuotantomuotoihin.

**Porkkanakempin houkutus- ja karkotusmenetelmän** kehittäminen näyttää olevan vaikeampaa kuin kaalikärpäsellä. Syynä ovat näiden kasvintuhoojalajien käyttäytymiserot, karkottavien ja houkuttelevien aineiden luonne ja esiintyminen kasveissa. Menetelmän soveltamista porkkanakempin hallintaan voi edesauttaa kemppejä karkottavien aineiden annostelutekniikan kehittäminen esim. kapseloimalla.

**Kaalikärpästen houkutuskasvimenetelmää** tarkennetaan ja sovelletaan laajemmin. Tätä varten on karakterisoitava biokemiallisesti kaalikärpäsiä houkuttelevat aineet. Tämän tiedon selvittyä on mahdollista ajatella jopa

nykyistä tehokkaampien houkutuskasvien jalostamista joko perinteisen jalostuksen keinoin tai geeninsiirtomenetelmin, jos sille tielle halutaan lähteä.

Houkutuskasvitekniikkaa kannattaa tutkia myös etanoiden torjunnassa. Lygus-luteiden (pelto- ja niittyluteet) hallintaa houkutuskasvien avulla kannattaa myös tutkia Suomen olosuhteissa niin avomaalla kuin kasvihuoneissakin. Kasvihuoneissa peltoluteesta on jo tullut paikoitellen ympärivuotinen ongelma valoviljelyn jatkuessa katkeamattomana vuosikautia ilman talvella pidettäviä taukoja, jotka muuten hävittäisivät luteet kasvihuoneesta.

**Vaihtoehtoisen ravinnon tarjonta hyötyeliöille** on aina mainittu osana kestävästä kasvinsuojelusta. Todellista läpimurtoa ei ole kuitenkaan saavutettu vielä missään siinä mielessä, että pelkästään luontaisten vihollisten toimintaa vaihtoehtoisella ravinnolla tehostamalla olisi saatu alennetuksi viljelykasville aiheutuvaa vieroitusta merkittävästi. Tämä voi johtua siitä, että meiltä ei sittenkään ole vielä tarpeeksi tietoa moniruokaisten torjuntaeliöiden käyttäytymisestä laajoissa kasvustoissa. Tällä menetelmällä on kuitenkin sovellusmahdollisuuksia sekä avomaalla että kasvihuonetuotannossa. Ylipäätään viljely-ympäristön ja siihen liittyvien luonnonympäristöjen monimuotoisuuden ymmärtäminen kasvinsuojelulliselta kannalta yksi tulevaisuuden haasteita.

**Elisitoreilla** tulee olemaan tärkeä osa LUOMU-kasvihuonetuotannon tautitorjunnassa. Tällöin joudutaan tutkimaan nimenomaan eliöperäisiä elisitoreja, jotta ne voidaan hyväksyä luomutuotannossa käytettäviksi. Elisitorien muita sovellusmahdollisuuksia on kasvitautien torjunta vihannesten ja hedelmien varastoinnin aikana sekä siementen elisitoripeittaus. Elisitorien käytön tehostamista voidaan edistää paitsi tutkimalla niiden vaikutusmekanismeja ja tehokkuutta sinällään, myös kehittämällä elisitorien antotekniikoita, jotta niiden käyttö saadaan mahdollisimman yksinkertaisesti ja kätevästi sovitettua osaksi viljelyä.

Elisitoreja tuhoeläinten hallintakeinona on toistaiseksi sovellettu käytäntöön vähemmän kuin tautitorjunnassa. Elisitorit ja niiden kasveissa indusoima tuhoeläinresistenssi yhdistettynä kasvintuhoojien houkutus- ja karkoteaineiden ja torjuntaeliöiden hallittuun käyttöön on menetelmä, jonka tehokkuutta ja sovellusmahdollisuuksia kannattaa tutkia kukkaviljelyssä kasvihuoneissa, jotta myös kukkaviljelyn kasvinsuojelu voitaisiin rakentaa biointensiviselle periaatteelle.

**Rikkakasvien hallinnassa kehitetään** kaalikasvien glukosinolaattien hyödyntämisen teknologiaa, erityisesti sinappipuristeen levitysteknologiaa viljelykasville aiheutuvien haittojen minimoimiseksi. Ongelmaksi voivat tulla materiaalin saantiongelmat, sillä sinapin viljely Suomessa on lähes loppunut. Tällaisessa tilanteessa voisi ajatella jopa sitä, että yhdistettäisiin ristikukkaisiin perustuvan bioenergiatuotannon ja biologisen rikkakasvihallinnan edut ja edistettäisiin samalla bioenergiatuotantoa. Laajentamalla ristikukkaiskasvi-

en sisältämien öljyjen tuotantoa biopolttoaineen saamiseksi saataisiin samalla sivutuotteena materiaalia rikkakasvien torjuntaan. Allelopaatiaan perustuvan rikkakasvien hallintamenetelmän voi siten ainakin teoriassa olla hyvin laajat taloudelliset ja yhteiskunnalliset seurannaisvaikutukset. Samalla tällainen visio luo uusia haasteita kasvinsuojelulle: miten hallita kasvinsuojelullisiin tarkoituksiin tuotetun kasvin kasvintuhoojat!

Biofumigaatio eli glukosinolaattikaasujen käyttö maan puhdistajana rikkakasveista ja taudinaiheuttajista ennen viljelyä ristikukkaisista koostuvan, syksyllä kylvettävän viherkesannon avulla on aihe, johon esim. Australiassa on paneuduttu jo varsin erusteellisesti. Jos samaa menetelmää pystytään soveltamaan Suomessa, täällä tulee tarve talvehtimaan pystyvistä ristikukkaislajikkeista, jotka hyödyntävät tehokkaasti kevättauringon antaman energian ja jotka voidaan helposti murskata maahan ennen viljelyskasvin kylvämistä. Tähän menetelmään liittyvät jäämäongelmat tulevat myös vaatimaan tutkimusta, jotta viljelyskasvi ei vahingoitu glukosinolaattiyhdisteistä.

Tutkimuskenttä on sekä rajaton että haastava. Soveltavaa perustutkimuksen osoittamat periaatteet on voitava nivoa käytäntöön osaksi toimivaa kasvinsuojelua niin teknologisesti kuin taloudellisestikin. Nyt erinomaisesti alkuun saatettu toimiva yhteistyö tutkijoiden, viljelijöiden ja elintarviketeollisuuden kesken tulee olemaan myös jatkossa ekologisen kasvinsuojelun kehittämises- sä avainasemassa.

Lopuksi on vielä huomattava, että uudet, toimiviksi osoittautuvat kasvintuhoojien hallintamenetelmät saattavat joskus edellyttää muutoksia myös vi- ranomaiskäytännöissä ja lainsäädännössä. Tällainen tarve tuli esille kaalikär- pästen houkutuskasvimenetelmän taloudellisuutta laskettaessa. Etenkin IP- viljelyssä menetelmän taloudellisuus riippuu pitkälti siitä, saadaanko houku- tuskasvikaistat laskea mukaan ympäristötuen alaiseen peltoalaan vai ei. Lain- säädännön olisi siis pystyttävä reagoimaan tutkimuksen tuottamaan tietoon ja kasvinsuojelullisesti tarkoituksenmukaisiksi osoitettuihin muutostarpeisiin.

IPM:n määritelmä (Kogan 1998): Kasvinsuojelullista päätöksentekoa tukeva järjestelmä toistensa kanssa yhteensopivien torjuntamenetelmien valitsemi- seksi ja niiden nivomiseksi yhteen harmoniseksi kasvintuhoojien hallinta- strategiaksi. Se perustuu viljelyekosysteemin ekologian ja biologian tunte- mukseen, torjunnan kustannus-hyötyanalyysiin ja se ottaa huomioon sekä tuottajan, yhteiskunnan että elinympäristön näkökohdat.

## **Kirjallisuus**

Benbrook, C.M., Coroth, E., Hallovan, J.M., Hansen, M.K. & Mauquardt, S. 1996. Pest management at the crossroads. Consumers Union, Yonkers, USA. ISBN 0-89043-900-1. 272 s.

Kogan, M. 1998. Integrated pest management: Historical perspectives and contemporary developments. Annual Review of Entomology 43: 243-270.

