

Imidatsolinonit- vaihtoehto rypsin ja rapsin rikkakasvien torjuntaan

Anna-Leena Haukkapää, Mervi Seppänen ja Unto Tulisalo
*Soveltavan biologian laitos, Latokartanonkaari 5, PL27, 00014 Helsingin yliopisto,
anna-leena.haukkapaa@helsinki.fi*

Tiivistelmä

Rypsin ja rapsin viljelyyn ei ole toistaiseksi löytynyt tehokasta rikkakasvien torjuntamenetelmää. Trifluraliinin käyttöä öljykasvien rikkatorjunnassa rajoittaa sen maalaji- ja sääriippuvuus sekä käyttötapa kylvömuokkauksen yhteydessä. Trifluraliinia ei myöskään voi käyttää suorakylvön yhteydessä. Uuden vaihtoehdon tarjoavat imidatsolinoni-herbisidinkestävät lajikkeet. Rypsi ja rapsi eivät ole luonnostaan kestäviä imidatsolinoneille, mutta niihin voidaan siirtää luonnon mutaatioista löydetty kaksikästävyysgeeniä perinteisellä takaisinristeytysmenetelmällä. IMI-resistentit rapsilajikkeet ovat nykypäivää esimerkiksi Pohjois-Amerikassa.

Imidatsolinonit (IMI:t) ovat herbisidejä, jotka sulfonyyliureoiden tavoin ehkäisevät asetolaktaattisyntetaasi-entsyymien (ALS) toimintaa. Ne tehoavat hyvin useisiin leveälehtisiin rikkakasveihin ja yksisirkkaisiin heiniin. Suomessa tehdyissä herbisidikokeissa niiden teho öljykasvipeltojen pahimpiin rikkakasveihin, jauhosavikkaan, peltomataraan ja pihatahtimöön, oli erittäin hyvä tai hyvä. IMI-herbisidien käyttöä puoltaa myös se, että käsittely voidaan tehdä vasta taimivaiheessa, jolloin todellinen torjuntatarve on jo tiedossa. Tärkeänä etuna IMI-herbisidien käytössä on myös niiden alhainen myrkyllisyys ihmisille.

IMI-resistenssiä aiheuttaa rapsilla kaksi semidominoivaa geeniä, pm1 ja pm2. Rapsilla molempien geenien läsnäolo on edellytyksenä kunnolliselle torjunta-ainekestävyydelle, mutta näyttäisi siltä, että rypsilä riittää vain pm2-geenin läsnäolo. Lisätutkimusta asiasta kuitenkin tarvitaan. Olemme tutkimuksemme onnistuneet siirtämään IMI-kestävyyteen tarvittavat molemmat geenit Suomessa menestyviin aikaisiin rapsilinjoihin. Rypsilä takaisinristeytystyö jatkuu, mutta alustavien DNA-tutkimusten perusteella ainakin pm2-geeni on onnistuttu siirtämään eräisiin suomalaisiin rypsilinjoihin.

IMI-resistentit rypsi- ja rapsilajikkeet tarjoavat käyttökelpoisen vaihtoehdon rikkakasvien torjuntaan tulevina vuosina, koska glyfosaatti- ja glufosinaattikestävät lajikkeet eivät todennäköisesti GMO-vastustuksen vuoksi Suomeen lähiaikoina rantaudu. Toimiva rypsi- ja rapsipeltojen rikkakasvien torjunta olisi yksi tärkeimmistä öljykasvien viljelyä edistävistä ja ylläpitävistä toimenpiteistä nykyisessä viljelykasvien keskinäisessä markkinakilpailussa.

Asiasanat

Imidatsolinonit, IMI-resistenssi, rypsi, rapsi

Johdanto

Rypsi (*Brassica rapa*) ja rapsi (*Brassica napus*) ovat merkittäviä kasveja suomalaisessa kasvinviljelyssä. Niiden pääasiallinen käyttökohde on elintarviketeollisuus, mutta myös nonfood-käyttö lisääntyvän biopolttoaineiden kiinnostuksen myötä on kasvamassa. Rypsillä ja rapsilla on erinomainen esikasviarvo, mikä korostuu etenkin viljanviljelytiloilla. Rypsin ja rapsin viljelyala on ollut Suomessa viime vuosina keskimäärin 60 000 hehtaaria (Maa- ja metsätalousministeriö 2003).

Öljypuristamoteollisuudella on vastaanotetulle siemenelle tietyt laatuksiteerit, jotta saataisiin tuotettua laadukasta öljyä ja rehua. Yhtenä kriteerinä on alhainen rikkapitoisuus, sillä rikkasiemenet sekä alentavat öljyn laatua että vaikeuttavat sen prosessointia. Alhaisen rikkapitoisuuden saavuttaminen on nykyisin entistä vaikeampaa tehokkaiden torjunta-aineiden puuttuessa. Öljykasvien rikkakasviongelma edellyttääkin joko kokonaan uusien torjunta-aineiden kehittämistä tai rypsin ja rapsin kestävyden parantamista sellaisiin torjunta-aineisiin, jotka tehoavat hyvin öljykasvipellon rikkakasveihin.

Rikkakasvien torjunta rypsillä ja rapsilla nojaa tällä hetkellä trifluraliinin käyttöön, joka kuitenkin todennäköisesti on jäämässä pois markkinoilta. Jo muutamien vuosien ajan Kanadassa on käytetty kevätöljykasvien rikkakasvien torjuntaan imidatsolinoneja (IMI), jotka sulfonyyliureoiden tavoin ehkäisevät asetolaktaattisyntetaasi-entsyymien (ALS) toimintaa (Shaner ym. 1984). Ne tehoavat hyvin useisiin leveälehtisiin rikkakasveihin ja yksisirkkaisiin heiniin. IMI-käsittely voidaan tehdä vasta taimivaiheessa, jolloin todellinen torjuntatarve on jo tiedossa. Tärkeänä etuna IMI-herbisidien käytössä on myös niiden alhainen myrkyllisyys ihmiselle sekä alhaiset käyttömäärät (Mazur ym. 1987, Bernasconi ym. 1995).

Rypsi ja rapsi eivät ole luonnostaan kestäviä IMI-herbisideille. Kevätrapsiin on kuitenkin jalostettu kestävyys IMI-herbisidejä vastaan luontaisia kestävyysmutaatioita käyttäen (Swanson ym. 1989). Kyseessä ei tällöin ole geneettisesti muunneltu lajike. IMI-resistentit rypsi- ja rapsilajikkeet voivat tarjota käyttökelpoisen vaihtoehdon rikkakasvien torjuntaan tulevana vuosina myös Suomessa.

Pääasiassa Maa- ja metsätalousministeriön rahoittaman hankkeen tavoitteena oli ensinnäkin tutkia IMI-herbisidin (imazamox) vaikutusta Suomen öljykasvipelloilla esiintyviin rikkakasveihin sekä määrittää vaadittava tehoainepitoisuus. Toisena tavoitteena oli siirtää IMI-kestävyys suomalaisiin, aikaisiin rypsi- ja rapsilinjoihin. Alkuperäisenä tavoitteena oli lisäksi tarkoitus tutkia mahdollisen rikkakasviresistenssin kehittymistä, mutta vaikean toteutettavuutensa vuoksi tämä kuitenkin jätettiin pois.

Aineisto ja menetelmät

Herbisidikokeet

IMI-herbisidin vaikutusta eri rikkakasveihin sekä vaadittavaa tehoainepitoisuutta tutkittiin herbisidikokeiden avulla. Samalla havainnoitiin rapsin IMI-kestävyyttä. Kokeet järjestettiin vuonna 2002 Tuusulassa ja Jokioisissa sekä vuonna 2003 Helsingissä ja Jokioisissa. Kokeissa käytettiin kanadalaisia IMI-resistenttejä rapsilajikkeita. Koemallina oli satunnaistetut lohkot ja kerranteita kokeissa oli joko kolme tai neljä. Koejäsenenä olivat käsittelemättömän kontrollin lisäksi neljä imazamox-käsittelyä: IMI 30 g ai ha⁻¹ + Super Biokiinnite 0,25% (v/v), IMI 30 g ai ha⁻¹, IMI 40 g ai ha⁻¹ + Super Biokiinnite 0,25% (v/v) ja IMI 60 g ai ha⁻¹ + Super Biokiinnite 0,25% (v/v). Imazamox-herbisidin vaikutus eri rikkakasveihin määritettiin rikkakasvilaskentojen, kuiva-ainemääritysten, puhtausmääritysten sekä visuaalisten havaintojen avulla. IMI-rapsin kestävyys imazamoxia vastaan arvioitiin visuaalisten havaintojen ja satotulosten perusteella. Lisäksi satosiemenestä määritettiin rasvahappo- ja öljypitoisuudet sekä tuhannen siemenen paino (tsp). Kaikkien havaintojen ja määritysten perusteella arvioitiin sopiva tehoaineen käyttömäärä.

Sadosta, rikkakasvien kokonaismäärästä, rikkakasvien kokonaiskuivapainosta sekä jauhosavikan, linnunkaalin ja pelto-orvokin määristä ja kuivapainoista tehtiin tilastolliset analyysit käyttämällä SAS/STAT- ohjelman MIXED- menetelmää (Littell ym. 1996). P-arvoltaan < 0,05 tulokset arvioitiin tilastollisesti merkitseviksi. Kasvuaiakahavainnoista (Tuusula 2002 ja Helsinki 2003) tehtiin varianssianalyysit käyttämällä AgrobasesTM- ohjelmaa (Mulitze 1991).

IMI-kestävyyden risteyttäminen rypsi- ja rapsilinjoihin

IMI-kestävyyden siirto suomalaisiin rypsi- ja rapsilinjoihin tapahtui perinteisellä takaisinristeytysmenetelmällä Helsingin yliopiston Viikin kasvihuoneissa vuosina 2002-2005. IMI-kestävyyteen vaikuttaa kaksi semidominoivaa geeniä, pm1 ja pm2. Riittävän IMI-kestävyyden saavuttamiseksi molempien geenien tulisi olla läsnä ainakin rapsilla. Rapsilla takaisinristeytysten määräksi riitti neljä, kun taas rypsilinjalla risteytyksiä vaadittiin kuusi. Jokainen takaisinristeytyskuvio käsiteltiin imazamoxilla 3-4-lehtivaiheessa (BBCH 13-14) (Hack ym. 1992), minkä jälkeen jatkoon valittiin vain parhaiten säilyneet ja elinvoimaimmat yksilöt, eli siis ne, jotka todennäköisimmin sisälsivät molemmat IMI-kestävyyteen vaikuttavat geenit. Lopullinen varmistus geenien läsnäolosta tehtiin takaisinristeytysten jälkeen, jolloin DNA-näytteistä määritettiin pm1- ja pm2-geenien läsnäolo. Määrytykset tehtiin kanadalaisessa laboratoriossa.

Tulokset ja tulosten tarkastelu**Herbisidikokeet**

Kokeissa käytetty IMI-resistentti rapsilajike kesti hyvin korkeimmankin imazamox- määrän, 60 g ai ha⁻¹. Käsittelyn jälkeisinä päivinä esiintyi hieman kloroottisuutta, mutta se tasoittui muutamassa päivässä. IMI-käsittelyillä ei niin ikään ollut negatiivista vaikutusta satoon (Taulukko 1.) eikä myöskään öljyn laatu muuttunut (Haukkapää ym. 2005).

Taulukko1. Herbisidikokeiden satotulokset (kg/ha) ja niiden tilastolliset merkitsevyydet *** (P<0,001), ** (P<0,01), * (P<0,05) ja o (P<0,10) (Haukkapää ym. 2005).

Käsittely	Sato ^a kg/ha
Tuusula 2002	
Käsitlemätön	3193
Imazamox 60 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	3130
Imazamox 40 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	3172
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	3210
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹	3246
Jokioinen 2002	
Käsitlemätön	399
Imazamox 60 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	1210***
Imazamox 40 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	1081***
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	983***
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹	971***
Helsinki 2003	
Käsitlemätön	2712
Imazamox 60 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	2574
Imazamox 40 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	2372*
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	2650
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹	2577
Jokioinen 2003	
Käsitlemätön	2092
Imazamox 60 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	2366*
Imazamox 40 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	2346*
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	2284o
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹	2433**

^a: 9%:n kosteudessa

Imazamox tehosi hyvin useisiin leveälehtisiin rikkakasveihin (Taulukko 2.). Parhaiten se tehosi öljykasvipeltojen pahimpiin rikkakasveihin, jauhosavikkaan, peltomataraan ja pihatähtimöön, kun taas pelto-orvokkiin, linnunkaaliin ja kiertotattareen imazamox ei tehonnut riittävästi (Haukkapää ym. 2005). Imazamoxin on aikaisemmissa tutkimuksissa todettu tehoavan hyvin myös useisiin yksisirkkaisiin heiniin, kuten esimerkiksi hukkakauraan (Harker ym. 2000, Monaco ym. 2002). Näissä kokeissa sen vaikutusta heiniin ei kuitenkaan määritetty.

Taulukko 2. Rikkakasvien kokonaislukumäärä (kpl/m²) ja kokonaiskuivapaino (g/m²) sekä niiden tilastolliset merkitsevyydet *** (P<0,001), ** (P<0,01), * (P<0,05) ja o (P<0,10) (Haukkapää ym. 2005).

Käsittely	Rikkakasvien kokonaislukumäärä kpl/m ²	Rikkakasvien kokonaiskuivapaino g/m ²
Tuusula 2002		
Käsitlemätön	340	36,3
Imazamox 60 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	310	14,4**
Imazamox 40 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	260	10,2***
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	294	11,7***
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹	214	10,7***
Jokioinen 2002		
Käsitlemätön	1139	326,3
Imazamox 60 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	187***	9,6***
Imazamox 40 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	391***	21,8***
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	591***	39,8***
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹	887*	70,6***
Helsinki 2003		
Käsitlemätön	27	22,64
Imazamox 60 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	5**	0,12*
Imazamox 40 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	7**	1,09*
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	8**	3,96*
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹	10**	5,70*
Jokioinen 2003		
Käsitlemätön	134	39,0
Imazamox 60 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	34***	1,6***
Imazamox 40 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	51***	3,4***
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹ + kiinnite	67***	3,9***
Imazamox 30 g ai ha ⁻¹	77**	4,9***

Kaikkein optimaalisimmaksi imazamoxin käyttömääräksi arvioitiin 40 g ai ha⁻¹. Se antoi riittävän tehon useisiin ölykasvipeltojen ongelmallisiin kaksisirkkaisiin rikkakasveihin, mutta ei kuitenkaan voittanut rapsikasvustoa.

Herbisidikokeiden tarkemmat tulokset on esitetty seuraavassa julkaistavaksi hyväksytyssä artikkelissa: Haukkapää ym. 2005. Effect of imazamox in imidazolinone-resistant spring oilseed rape in Finland, Agricultural and Food Science vol. 14, no. 4, 2005 (ilmestyy helmikuussa 2006).

IMI-kestävyyden risteyttäminen rypsi- ja rapsilinjoihin

Molemmat IMI-kestävyyteen vaikuttavat geenit, pm1 ja pm2, onnistuttiin risteyttämään viiteen aikaiseen, suomalaisen rapsilinjaan. Näistä valittiin jatkoon viljelyominaisuuksiltaan kaksi parhaita linjaa, jotka ovat nyt valmiina lisäyksiä ja lajikekokeita varten.

Molempien IMI-kestävyysgeenien saaminen samaan rypsilinjaan osoittautuikin vaikeaksi toteuttaa. Pm2-geeni saatiin siirrettyä kahteen eri rypsilinjaan, kun taas pm1-geeni onnistuttiin risteyttämään vain yhteen. Alustavien tutkimusten perusteella näyttäisi kuitenkin siltä, että pelkän pm2-geenin läsnäolo ryp-sissä riittäisi antamaan tarvittavan kestävyuden IMI-herbisidiä vastaan. Lisätutkimuksia asiasta kuitenkin tarvitaan. Toisena vaihtoehtona on risteyttää eri kestävyysgeenit omaavat rypsilinjat keskenään. Molempien geenien saaminen samaan rypsilinjaan olisi tällöin todennäköisesti helpompaa, sillä molemmat geenit ovat jo valmiina ryp-sissä.

Johtopäätökset

Herbisidikokeiden tulosten perusteella voidaan sanoa, että IMI-kestävät rypsi- ja rapsilajikkeet sekä imazamox ovat hyvä vaihtoehto Suomen öljykasvipeltojen rikkakasvien torjuntaan. Tästä syystä IMI-resistenssin siirto Suomessa menestyviin rypsi- ja rapsilinjoihin on ollut perusteltua. Jatkotutkimukset tulisi suunnata pelkän pm2-geenin riittävyyteen rypsilinjoilla sekä pm1- ja pm2-geenien saamiseen samaan rypsilinjaan.

Kirjallisuus

Bernasconi, P., Woodworth, A.R., Rosen, B.A., Subramanian, M.V. & Siehl, D.L. 1995. A naturally occurring point mutation confers broad range tolerance to herbicides that target acetolactate synthase. *The Journal of Biological Chemistry* 270: 17381-17385.

Hack, H., Bleiholder, H., Buhr, L., Meier, U., Schnock-Fricke, U., Weber, E. & Witzemberger, A. 1992. A uniform code for phenological growth stages of mono- and dicotyledonous plants. Extended BBCH scale, general. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 44: 265-270.

Harker, K.N., Blackshaw, R.E., Kirkland, K.J., Derksen, D.A. & Wall, D. 2000. Herbicide-tolerant canola: weed control and yield comparisons in Western Canada. *Canadian Journal of Plant Science* 80: 647-654.

Haukkapää, A-L., Junnila, S., Eriksson, C., Tulisalo, U. & Seppänen, M. 2005. Efficacy of imazamox in imidazolinone-resistant spring oilseed rape in Finland. *Agricultural and Food Science* vol. 14, no. 4, (ilmestyy helmikuussa 2006).

Little, R.C., Milliken, G.A., Stroup, W.W. & Wolfinger, R.D. 1996. SAS System for Mixed Models. Cary, NC: SAS institute Inc. 633 s.

Maa- ja metsätalousministeriö 2003. Öljykasvistrategia. Työryhmämuistio MMM 2003: 8, 53 s.

Mazur, B.J., Chui, C.F. & Smith, J.K. 1987. Isolation and characterization of plant genes coding for acetolactate synthase, the target enzyme for two classes of herbicides. *Plant Physiology* 85: 1110-1117.

Monaco, T.J., Weller, S.C. & Ashton, F.M. 2002. Weed science- principles and practices. 4. painos. John Wiley & Sons Inc., New York, 671 s.

Mulitze, D.K. 1991. Agrobase/4™, version 1.1, Reference Manual, Agronomix Software Inc., Manitoba, Canada. 257 s.

Shaner, D.L., Anderson, P.C. & Stidham, M.A. 1984. Imidazolinones- potent inhibitors of acetohydroxyacid synthase. *Plant Physiology* 76: 545-546.

Swanson, E.B., Herrgesell, M.J., Arnoldo, M., Sippell, D.W. & Wong, R.S.C. 1989. Microspore mutagenesis and selection: Canola plants with field tolerance to the imidazolinones. *Theoretical and Applied Genetics* 78: 525-530.