

Slutrapport

Uppskattning av ogräsplantans tillväxtstatus som metod att förutsäga herbicideffekten – underlag för beslutsnyckel i IPM

Slutrapport för Projektnr H0960245, och fortsättningsansökan Projektnr V1160042

Lars Andersson, Liv Åkerblom Espeby och Martin Weih

Institutionen för växtproduktionsekologi, Sveriges lantbruksuniversitet (SLU)

Syfte

Projektens syfte var att utveckla en mätmetod för att bedöma om kravet på aktiv tillväxt hos ogräset är uppfyllt vid tiden för bekämpningstillfället, och därmed kunna avgöra om en planerad herbicidbehandling är meningsfull, och om dosanpassning är möjlig.

Bakgrund

Tidspress och allt färre preparat att välja på i en given situation gör att underlaget för att ta beslut om såväl spruttidpunkt som dos behöver förbättras och preciseras. För ett flertal viktiga herbicider gäller att ogräsen ska befinna sig i ett stadium av ”god tillväxt” för att effekten ska bli tillfredsställande. Möjligheten att mäta och/eller säkrare uppskatta ogräsets tillväxtstatus skulle vara direkt användbart i beslutsnycklar för herbicidval i linje med IPM. En sådant utökat beslutsunderlag kan tillämpas såväl för dosreduktion som för att undvika bekämpningsval som ger dålig effekt – på ogräset, på lönsamheten och i sin miljöpåverkan.

Projektet avsåg att utgöra det första steget i utvecklingen av en mätmetod för att bedöma om kravet på god tillväxt hos ogräset är uppfyllt vid tiden för bekämpningstillfället, och därmed kunna avgöra om en planerad herbicidbehandling är meningsfull, och om dosanpassning är möjlig. I det utförda Steg 1 försökte vi karakterisera den momentana tillväxten hos tre ogräsarter, dvs. identifiera enkla samband mellan växtkaraktärer, fysiologiska egenskaper och hela plantors tillväxt.

Om utfallet av Steg 1 var lovande, avsåg vi att senare ansöka om att få utföra även Steg 2 och 3 i den ursprungliga ansökan från hösten 2009. I dessa två efterföljande projektsteg skulle sambanden mellan plantans tillväxtstatus och herbicidens dos-responskurva studeras (Steg 2) och herbicideffekten relateras till omgivningsfaktorer och ogräsets tillväxtstatus i fält (Steg 3).

Tillväxt och tillväxtmätning

Tillväxt innebär irreversibel förändring i storlek och massa. Med ”aktiv tillväxt” avser vi här en klart mätbar förändring i storlek över en begränsad tidsperiod (t.ex. några dagar). Det enklaste sättet att mäta tillväxt är att upprepade gånger skörda hela växter eller växtdelar ur ett bestånd och väga torrsvikt, mäta skottlängd eller liknande mått. Nackdelen är att detta inte ger något momentant mått på tillväxttillståndet. Det är därför önskvärt att identifiera egenskaper hos växten som är lätta att mäta och som kan förknippas med en period av ”aktiv tillväxt”. En möjlighet är att utnyttja sambanden mellan viktiga fysiologiska egenskaper som styr tillväxtprocesserna och själva tillväxten, så att plantans tillväxtstatus kan uppskattas genom att enbart mäta dessa styrande fysiologiska egenskapers aktivitet.

Ett exempel på en sådan mätbar fysiologisk egenskap är växtens fotosynteskapacitet, som kan mätas som klorofyllfluorescens. Reducerad klorofyllfluorescens hos en planta kan betyda att växten är under stark stress, med minskad eller obefintlig tillväxtförmåga (Schreiber 2004). I en tidigare studie var t ex fotosynteskapaciteten hos unga plantor av *Salix*, mätt som klorofyllfluorescens under ett enstaka mättillfälle i juli, väl korrelerad med plantornas höjd- och biomassatillväxt under en hel växtsäsong (Weih, 2004).

Tillväxt och herbicideffekt

Aktiv tillväxt hos ogräset är en grundförutsättning för god effekt av många av de vanligast förekommande herbiciderna i svenskt lantbruk. Ingen mätmetod för att direkt bedöma ogräsets tillväxtstatus finns dock utprovad. Ofta saknas även dos-reponskurvor för inverkan av väderlek och andra omgivningsfaktorer som påverkar ogräsets mottaglighet (Kudsk, 2002). Idag används i stället omgivningsfaktorer som markfukt och temperatur som indikatorer på god tillväxt för besprutningsbeslut. Generella anvisningar om dosreduktion i dosnycklar, t ex i Jordbruksverkets årliga guide Kemisk ogräsbekämpning, baseras bl.a. på detta. Även bekämpningsmedlens produktfaktblad innehåller ofta anvisningar om lämplig väderlek och andra betingelser som ska vara uppfyllda för god effekt.

Var gränsen går för att ett visst preparat alls bör användas kan vara svårbedömt. Med det fåtal preparat som dag finns tillgängliga i många bekämpningssituationer, kan fel beslut tas och onödiga och olönsamma bekämpningar ske - i den meningen att den önskade effekten uteblir, ibland med reklamationer och ogrundade resistensmisstankar som tydlig följd, och alltid med negativa ekonomiska och miljömässiga konsekvenser.

Betydelsen av att korrekt bedöma tillväxtstatus växlar i detta sammanhang. För rotogräs kan utvecklingsstadium och assimilatallokering vara avgörande. För de annuella ogräsen växlar den relativa betydelsen av tillväxtstatus och utvecklingsstadium mellan olika kombinationer av arter, kontakt- och systemiskt verkande preparat, jordupptag och bladupptag (Kudsk, 2002; Reade & Cobb 2002). För de många systemiskt verkande preparatgrupper som är beroende av god transport i växten och har sin verkan framförallt i tillväxtpunkterna och i aktiva kloroplaster, kan tillväxtstatusen ha avgörande betydelse. Det gäller t ex de viktiga medlen för gräsbekämpning i gruppen ACCase-hämmare, med flera aktuella preparat mot flyghavre och renkavle, men också den stora gruppen sulfonyleureor, med många preparat mot både ört- och gräsogräs. Vad gäller ACCase-inhibitorerna, så har de viss effekt även direkt vid applikationsstället, genom att ge nekroser i apikala meristem. Men vid aktiv tillväxt och hög temperatur gynnas transport (passivt och aktivt) ut till övriga meristematiska vävnader i gräsplantan. (Cobb 1992).

ALS-hämmande herbicider som sulfonyleureor ger snabb tillväxthämning, medan synliga symptom och plantdöd kan dröja upp till ett par veckor (Reade & Cobb 2002). De bromsar mycket snabbt celledningen i tillväxtzonerna, och det är där symptomen först syns (Cobb, 1992). I svenska försök kopplades tillväxtgynnande förhållanden samman med ökad effekt av ALS-hämmaren tribenuronmetyl, den aktiva ingrediensen i Express (Lundkvist, 1996).

Frågeställning

Projektets mål var att utprova mätmetoder för tillväxtbedömning. I förlängningen skulle sådana mätmetoder vara användbara för att öka precisionen i bekämpningsinsatser med herbicider som kräver aktiv tillväxt hos ogräset för att ge god effekt. Det övergripande syftet var att ge förbättrade underlag för ogräsbekämpning, med användning inom integrerad bekämpning, IPM. Information om ogräsets tillväxtstatus är också värdefull vid utvärdering av resultat från fältprovning av herbicider.

Den beviljade och genomförda projektdelen, Steg 1, syftade till att:

- undersöka om perioder med aktiv tillväxt, respektive bristande tillväxt, kännetecknas av fysiologiska egenskaper hos växten som är lätta att mäta
- testa mätmetoder för tillväxt, t ex klorofyllfluorescens, men även annan metodik
- relatera direkta och indirekta mått på tillväxt till omgivningsfaktorer av betydelse (som markfukt och temperatur),

Vår hypotes för Steg 1 var:

- att tillväxtstatus kan mätas med enkla metoder direkt i fält, t ex med klorofyllfluorescens, klorofyllinnehåll och/eller andra mått relaterade till ogräsplantornas respiration och fotosyntes.

Material och metoder

I projektet undersökte vi ogräsplantors reaktion på olika stressituationer (främst vatten och temperatur) och testade mätmetoder för att fastställa tillväxtstatus.

Växtmaterial

Tre arter används i försöket, alla ettåriga arter som uppträder som åkerogräs i Sverige:

- Raps, *Brassica napus*, var. Joplin. Vårgroende, tvåhjärtbladig.
- Flyghavre, *Avena fatua*. Vårgroende, gräsogräs.
- Renkavle, *Alopecurus myosuroides*. Höstgroende, gräsogräs. Prov från Linehill 2002, ej herbicidresistent.

Utförda experiment

Experiment 1. Krukförsök i växthusförsök. Raps och renkavle.

Experiment 2. Krukförsök i fytotron – varm resp. sval klimatkammare. Flyghavre, raps, renkavle.

Experiment 3. Krukförsök i fytotron – varm resp. sval klimatkammare. Raps.

Experiment 4. Utomhusförsök/växthusförsök i djupa krukor. Raps, renkavle.

Experiment 1

I experiment 1 var syftet att utveckla en tillförlitlig metod för inducering av stress i plantor för efterkommande försök. Detta uppnåddes genom att testa odling av raps och renkavle i olika substrat och vattningsstrategier. Experimentet genomfördes som examensarbete, och finns beskrivet i detalj i den rapport som kommer att publiceras i Epsilon (<http://www.slu.se/sv/bibliotek/publicera/sok-epsilon/>).

Experiment 2 och 3

Ger svar på frågan om hur arternas tillväxt påverkas av stress och hur detta kan mätas. Experiment 2 och 3 genomfördes i två omgångar under kontrollerade förhållanden i klimatkammare, som multifaktoriellt blockförsök med två faktorer (tillgång till vatten, temperatur). Plantorna odlades i krukor i klimatkammare inom SLU Ultuna (fytotron). Faktorerna bevattning och temperatur användes för att simulera olika tillväxtbegränsande faktorer. Faktorn mineralnäring (NPK) hölls på en nivå som bedöms tillräcklig för att näringsbrist inte ska vara en begränsande faktor för tillväxt.

Vattenfaktorn varierades i tre steg utifrån resultaten i Exp. 1, och temperaturfaktorn i två (sval och varm). Vattenstatus reglerades genom att ofta väga krukorna och kompensera för avdunstning/transpiration.

En rad responsvariabler mättes icke-destruktivt, bl.a. antal blad, skott- och bladlängd, bladyta, bladkväve (icke-destruktivt med SPAD klorofyll meter, t.ex. Yadava 1986, Weih & Rönnerberg-Wästljung 2007), fotosynteskapacitet (klorofyllfluorescens; t.ex. Schreiber 2004, Weih & Rönnerberg-Wästljung 2007). De parametrar som studerades var:

- a) klorofyllfluorescens, mätt med PAM-teknik (Pulse-amplitude modulation),
- b) klorofyllinnehåll, mätt med handburen SPAD-mätare (Single-photon Avalanche Detector),
- c) netto-assimilation (fotosyntes minus respiration) med Infrared Gaz Analyser (IRGA).

Mätvariablerna studerades som lämpliga indikatorer för ”aktiv tillväxt” hos de tre arterna odlade under de olika tillväxtförhållandena. Mätningar utfördes under olika utvecklingsstadier från hjärtbladsstadium till stjälksträckning/stråskjutning. De instrument och mättekniker som vi använde i försöken (MiniPAM, SPAD och IRGA) är utvecklade för användning under fältförhållanden. Samtliga instrument är bärbara och tåliga till sin utformning (bild 1). Resultaten analyserades med lämpliga statistiska metoder (variansanalys, regressionsanalys).

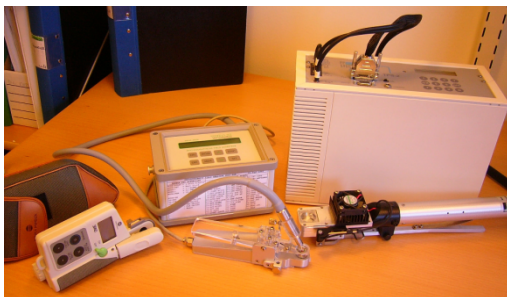


Bild 1. Exempel på mätinstrument för fältbruk. Från vänster till höger: SPAD-mätare för klorofyllinnehåll, MiniPAM för klorofyllfluorescens, IRGA för nettofotosyntes, klyvöppningskonduktans mm.

Experiment 4

Under 2011 utförde vi ytterligare en testomgång med renkavle och raps i större behållare (låd-försök) för att fortsätta undersökningen av samband mellan olika växtkaraktärer, fysiologiska

egenskaper och hela växterns tillväxt under olika stressituationer. Försöken gjordes parallellt utomhus i nätagård under tak (renkavle och raps), samt i växthus (raps). Mätningarna utfördes med fokus på tidigare stadier där herbicidbekämpning är aktuell.

Resultat

Experiment 2 och 3

I Exp. 2 testade vi sambandet mellan fluorescens, tillväxt och vattenstress i de tre arterna (renkavle, flyghavre och raps) vid två olika temperaturer och tre nivåer av vattentillgång. I alla tre arterna gav den valda stressmetoden signifikanta samband mellan vattenstress och tillväxt, det senare mätt som slutlig skörd av biomassa. I renkavle fanns även ett samband mellan fluorescens, torkstress och tillväxt i den svalare temperaturen (18°/12°C) (figur 3).

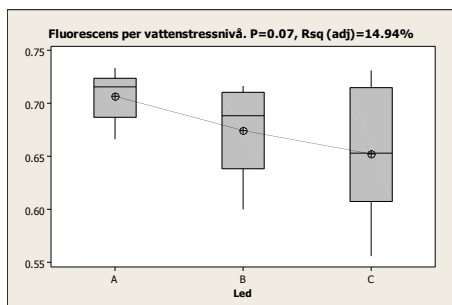


Fig. 2. Klorofyll-fluorescens mätt med PAM-teknik i renkavle under svala förhållanden (18°C/12°C). N=24. Led A motsvarar god vattentillgång (80 % av initial vatten-mättnad), led B 35 % och led C 15 %.

I en andra försöksomgång, Exp. 3, under hösten 2010, också då i fytotron men med enbart raps, testade vi även samband med tillväxt och vattenstress för netto-fotosyntes (med IRGA), fluorescens (PAM), och klorofyll-innehåll (SPAD-mätning). Både reducerad och avstannad tillväxt undersöktes. Den **reducerade tillväxten** uppnåddes (liksom i första omgången) genom torkstress i led B (35 %) och C (15 %), jämfört med led A (80 % av initial vattenvikt vid vattenmättnad, bestämd per kruka) (Fig. 3a). Mängden biomassa vid experimentets slut var signifikant skild mellan leden A, B och C, d v s stressmetoden hade (som avsett) kraftigt reducerat tillväxten (Fig. 3b).

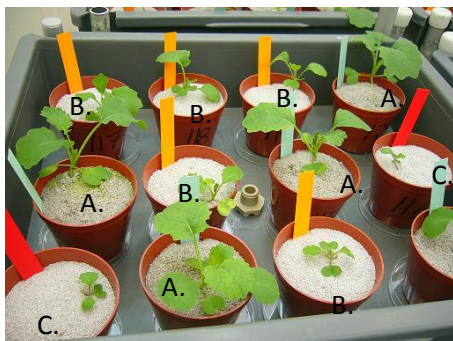


Fig. 3. a) Omgång 2, fytotron. Reducerad tillväxt p.g.a. torkstress. Raps med tre fuktnivåer: A (80 % av initial vattenvikt vid vattenmättnad, bestämd per kruka), led B (35 %) och C (15 %).

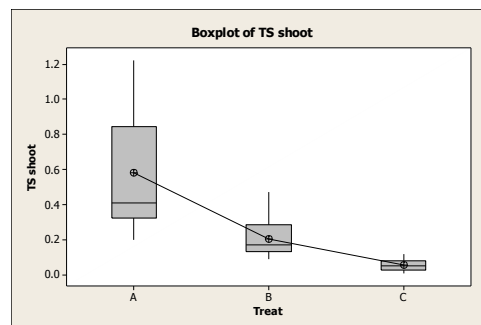


Fig. 3. b) gram torrsubstans i ovanjordisk del vid slutskörd. Alla led signifikant skilda, Tukey 95 % ($P=0.000$, $r^2_{adj} = 59\%$)

Under experimentets sista vecka var målet **helt avstannad tillväxt** p.g.a. akut torkstress, genom att helt utesluta vattentillsats. Plantorna inom leden A, B och C fördelades slumpmässigt till underleden w_A , w_B och w_C , respektive n_A , n_B och n_C . I w-leden fortsatte vi att göra en kontinuerlig, sparsam vattentillsats för att behålla den avsedda vattenhalten vid 80 % (w_A), 35 % (w_B) och 15 % (w_C). I underleden n_A , n_B och n_C upphörde däremot all bevattning under den sista veckan före skörd.

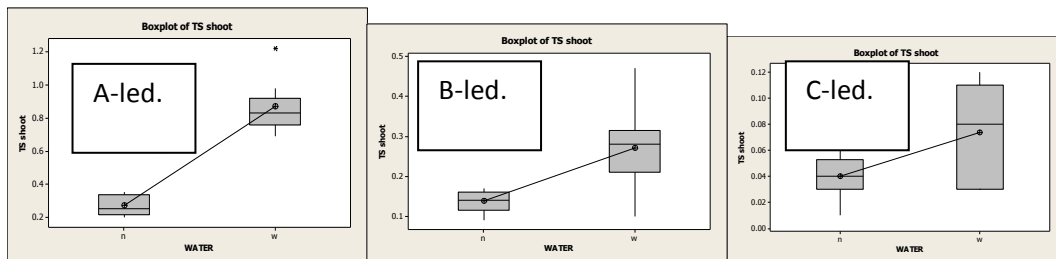


Fig. 4. Den avslutande akuta vattenstressen gav signifikant utslag (Tukey 95 %) i mängden biomassa även mellan w- och n-behandlingarna inom såväl A- ($P=0.000$, $r^2=83\%$), som B- ($P=0.000$, $r^2=55\%$) och C- ($P=0.004$, $r^2=25\%$) leden.

Resultaten (Fig. 4) visade att en ytterligare, **akut torkstress** gav utslag i tillväxten både för plantor där mängden vatten i jorden bedömdes vara relativt god (w_A jämfört med n_A), och för plantor där vattentillgången i de bevattnade leden var mycket låg (w_C jämfört med n_C).

Klorofyll-fluorescens (PAM) skilde sig signifikant mellan n- och w-behandlingarna för A-ledet (Fig. 5). Detta var särskilt intressant, eftersom PAM-värdet gav utslag för reducerad/avstannad tillväxt i plantor som visuellt sett inte bedömdes som stressade, och där jorden innehöll en relativt stor mängd fukt, vilket plantorna dock inte tycktes kunna tillgodogöra sig.

I de led där tillväxten redan var kraftigt reducerad av torkstress även i w-behandlingen (alltså i B och C-nivåerna), kunde däremot ingen skillnad upptäckas i PAM-värdena mellan n- och w-behandlingarna.

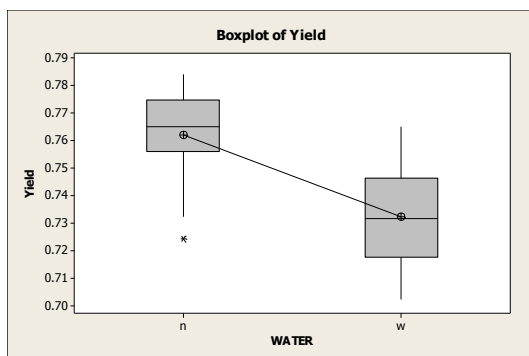


Fig. 5. I A-ledet var fluorescens mätt med PAM (= "Yield") signifikant högre från de plantor som ej bevattnades (n) jämfört med de som fick sparsam bevattning (w) (Tukey 95 %, $P=0.000$, $r^2_{adj}=40\%$).

Nettoassimilationen (IRGA) påverkades i så mån att variationen inom de olika fuktnivåerna A, B, C var väsentligt större i obevattnat (n-behandlingarna), jämfört med i de vattenjusterade w-leden. Någon skillnad i absolutvärden i nettoassimilation mellan de olika fuktnivåerna (A, B, C) var inte påvisbar i de begränsade försök vi hann utföra med IRGA.

Klorofyllinnehåll (SPAD): Figur 6 visar att i början av perioden av akut stress (5 okt) hade mängden torrsubstans väsentligt ökat i w_A jämfört med n_A , och även inom B-ledet fanns en liknande tendens. Två dagar senare (7 okt), hade även SPAD-värdena mellan n- och w-behandlingarna tydligt skilt sig inom respektive fuktnivå, A, B och C. SPAD tycks alltså kunna ge väsentlig information om stress och tillväxtförändring, men för de resultat vi hittills har behöver man då relatera absolutvärdena till fuktnivå, och helst även se förändring över några dagars tid.

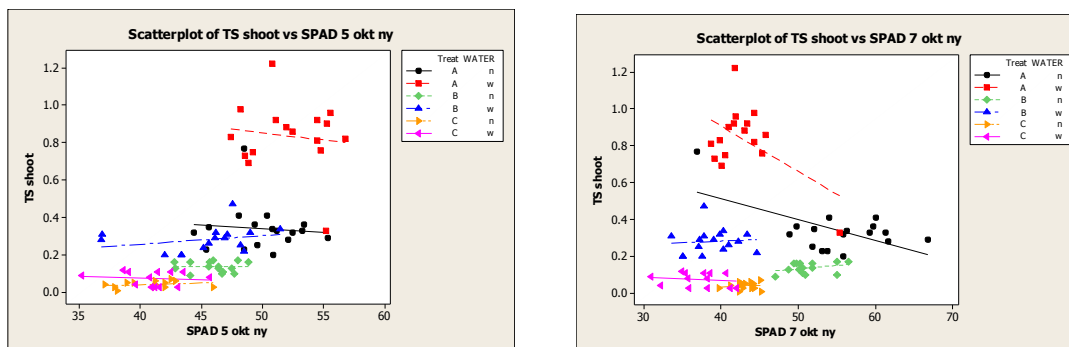


Fig. 6. Klorofyllinnehåll (SPAD) i förhållande till gram biomassa (TS skott) vid två datum under den akuta torkstressen. Bevattnade led (w) och ovattnade led (n) per fuktnivå (A, B, C).

Konklusion av resultat Experiment 1-3

Vi har tagit fram:

- dels en stressmetod för reducerad tillväxt p.g.a. gradvis påkommen stress,
- dels en stressmetod för avstannad tillväxt p g a akut påkommen stress.

Genom att använda dessa metoder har vi konstaterat att:

- Klorofyllinnehållet, mätt med SPAD-teknik, stiger vid stress
- Klorofyllfluorescens, mätt med PAM, sjunker vid gradvis påkommen stress
- Klorofyllfluorescens, mätt med PAM, ökar åtminstone initialt vid hastigt påkommen stress
- Nettoassimilationen (mätt med IRGA) blir mer variabel i stressituationer, men orsakssambanden blev inte klarlagda i dessa försök

Vi konstaterade i detta skede att försökens omfattning var begränsad, och att det fanns en osäkerhet över hur väl resultaten låter sig generaliseras. Vi ville därför validera dem i ytterligare försök för att undersöka om det var meningsfullt att introducera herbicider som ytterligare en komponent i försöken.

Experiment 4

Under 2011 utförde vi ytterligare en testomgång med renkavle och raps. Försöken gjordes parallellt utomhus i nätgård under tak (renkavle och raps), samt i växthus (raps).

Nätgårdsförsöken fick först startas om p.g.a. takläckage, men kunde ändå genomföras under rätt säsong för renkavle, d v s tidig höst.

Både i växthus och i utomhusmiljön visade det sig dock omöjligt att få tillväxten att helt avstanna, även i de mest vattenstressade leden och trots helt utebliven vattning under två veckors tid. Detta konstaterades genom upprepade mätningar av bladstorleken. Försöket avbröts när plantorna passerat de utvecklingsstadier som var intressanta i projektet, alltså de stadier där kemisk bekämpning hade varit relevant. Plantorna skilda sig då varken visuellt eller i bladstorlek mellan de olika fuktnivåerna. Försöken måste alltså betecknas som ett misslyckande. De mätningar av fluorescens (PAM), respiration (IRGA) och klorofyllinnehåll (SPAD) som ändå genomfördes kunde inte påvisa några skillnader i de aktuella mätparametrarna mellan behandlingsleden, alltså mellan de tre testade fuktnivåerna.

Diskussion

Vårt mål med detta projekt var att utveckla en metod för att uppskatta tillväxten hos ogräsplantor vid olika stressnivåer, och därmed i förlängningen kunna förutsäga effekten av en kemisk ogräsbekämpning i fält. En framgångsrik utveckling av metoden förutsatte 1) att vi kunde inducera olika stressnivåer i plantorna, 2) att stressen hade en tydlig effekt på tillväxten, och 3) var mätbar för någon av de parametrar vi registrerade (klorofyllfluorescens, nettoassimilation och klorofyllinnehåll).

Genom att i varierande omfattning begränsa vattentillgången för plantorna lyckades vi inducera tre nivåer av stress, vilket klart visades av signifikanta skillnader i biomassatillväxt hos samtliga arter vi studerade (raps, renkavle och flyghavre). I de första försöken lyckades vi alltså uppfylla de två första förutsättningarna. Dessutom fann vi i renkavle en tydlig tendens till gradvis reducerad fluorescens med ökad vattenstress, medan värdena i raps i stället ökade i försök med upphörd bevattning. Mätningarna med SPAD visade också lovande resultat med skillnader mellan upphörd och fortsatt bevattning.

Försöken visade på intressanta mönster, som bör vara intressanta för vidare forskning som i förlängningen kan leda till praktisk tillämpning. Ett generellt problem när det gällde korrelationen mellan vattenstress och registrerade parametrar i våra försök var dock den stora variationen i behandlingar med hög stressnivå, vilket tydligt framgår av t.ex. Fig. 2. Det är väl känt att plantstress är ett oklart definierat begrepp och resultat av komplexa processer och samspel. Stressnivån påverkas t.ex. av utvecklingsstadium, balans mellan olika resurser i växten samt samspelet mellan stressfaktorer som bristande tillgång till vatten, ljus och mineralnäring. I någon utsträckning är alla växter i ett fält utsatt för stress, och svårigheten i detta projekt var att inducera och definiera en stressnivå som dels var mätbar och dels var relevant. Vi använde oss av bristande tillgång på vatten som medel för att uppnå detta. Det är också den form av stress som är mest relevant för nyligen etablerade ogräsplantor. Vi kan nu konstatera att vi underskattade komplexiteten när det gällde att hitta en metod för kontrollerad stressinducering med liten variation i stressnivå. Detta var huvudanledningen till de kraftigt varierande värdena från fluorescensmätningen (t.ex. Fig. 3) och problemen att finna en nivå av minskad tillväxt i Exp. 4.

För att en mätmetod ska vara praktiskt användbar krävs att resultaten är entydiga och tillförlitliga, och resultaten visar tyvärr att vi bara delvis har lyckats uppfylla förutsättning nr 3 ovan, d.v.s. att mäta plantans stressnivå. Vi bedömer att den praktiska tillämpningen av resultaten

i dag är avlägsen. Till exempel klorofyllfluorescens har visat stor användbarhet när det gäller att bestämma effekten av en redan utförd kemisk bekämpning, men att prediktera effekten av en planerad bekämpning kräver en betydligt större förståelse för de komplexa processer som påverkar stressnivån.

Publikationer

Experiment 1 genomfördes som ett examensarbete och kommer inom kort att publiceras i Epsilon (<http://www.slu.se/sv/bibliotek/publicera/sok-epsilon/>):

Persson, M. Effect of drought stress on the growth of annual weeds. Examensarbete på agronomprogrammet.

Slutsatser

Försöken visade att det i några fall var möjligt att relatera stress och minskad tillväxt hos plantan till uppmätta förändringar i klorofyllfluorescens och/eller klorofyllinnehåll. Detta indikerar att det finns anledning att fortsätta forskningen inom detta område för att i förlängningen utveckla metoder för mätning av växters stress i fält. Ett huvudproblem i framtida studier kommer framförallt att vara att definiera relevanta stressnivåer och inducera dem experimentellt, snarare än att genomföra själva mätningarna. I detta projekt uppvisade resultaten för stor variation för att vi ska kunna dra några slutsatser om användbarheten.

Resultatförmedling till näringen

Negativa resultat kan i många fall också visa sig vara värdefulla, framförallt för framtida forskning. Problemet med att kunna uppskatta ogräsplantornas tillväxtstatus kvarstår, och våra resultat kommer att kunna bidra till att kraftigt underlätta planeringen av nya projekt. I det här fallet är det viktiga ur näringens synpunkt att erfarenheter från projektet presenteras och diskuteras. Vi kommer därför att presentera resultaten på kommande möte inom Ämneskommittén för ogräs, och initiera en diskussion om eventuella framtida studier.