

# Klassificering av växtmaterial för bedömning av kväveeffekt till efterkommande gröda

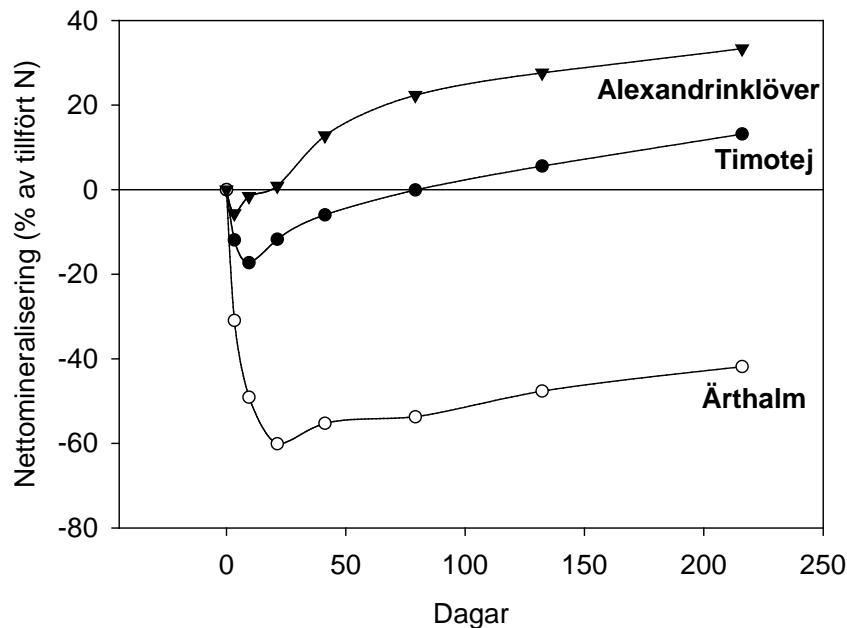
*Bo Stenberg, Institutionen för mark och miljö, SLU, Box 234, 532 23 Skara. E-post: bo.stenberg@slu.se*

## Inledning

Till jordbruksmark återförs årligen stora mängder växtmaterial i form av skörderester, fånggrödor och grüngödsling. Detta har ett avgörande inflytande på omsättningen av bl.a. kol och kväve i marken. Det är därför viktigt att känna till hur olika växtmaterial omsätts i marken för att kunna förutsäga hur olika åtgärder kommer att påverka mängden växttillgängligt kväve och risken för kväveförluster. Viktig för utnyttjandet av tillfört organiskt kväve och för att minimera risken för läckage till miljön är att kväve frigörs när den växande plantan behöver det. I ett ekologiskt odlingssystem där man helt är hänvisad till tillförsel av organiskt bundet kväve är detta helt avgörande för att kunna säkerställa produktion av högvärdiga livsmedel. I ett konventionellt odlingssystem är det minst lika viktigt för att ta till vara på det kväve som mineraliseras från kväverika växtmaterial, t ex från ett vallbrott eller en fånggröda, genom att anpassa kvävegivorna till efterkommande gröda. I syfte att kunna förutsäga mineraliseringsförloppet och därigenom bättre kunna synkronisera kvävetillförseln med växternas behov föreslås ofta mekanistiska simuleringsmodeller som en lösning. Dessa modeller har i och för sig en potential till noggranna prognoser för kvävetets frigörelse, men detta förutsätter omfattande indata om både markens och växtmaterialets beskaffenhet samt om vädret. I praktiken blir de därför relativt tungrodda och med många felkällor.

Ett alternativ som ger en grov indelning av växtmaterial av olika kvalitativ sammansättning som ger upphov till en av tre huvudtyper av mineraliseringsdynamik enligt figur 1 skulle vara tillräcklig för att ge en uppfattning om och när nettomineralisering kan förväntas, samt i viken omfattning man kan tillgodoräkna sig den i kvävebudgeten.

Med en sådan indelning kunde man identifiera växtmaterial avsedda att brukas in i marken som kan förväntas leverera kväve omgående, varvid risken för förluster blir stor, eller sådana som kommer att leverera kväve först efter en tids immobilisering, och slutligen sådan som inte kommer att leverera något kväve alls utan snarare har en negativ nettoeffekt för efterkommande gröda. Härigenom blir det också möjligt att anpassa nedbrukningstidpunkten om metodiken används som prognosverktyg. Dels genom att ett material som kan förväntas mineraliseras snabbt kan brukas ned närmare inpå nästa odlingssäsong, dels genom att ett material som får växa lite längre sannolikt kommer att förändras så att det får ett långsammare mineraliseringsförlopp.



Figur 1. Exempel på kväve mineraliseringsdynamik från inkubering i klimatskåp vid god fuktighet och 15°C. Klöver uppvisar en nästan omedelbar nettomineralisering, Timotejen en initial nettoimmobilisering följt av en nettomineralisering, samt ärthalmen en utsträckt nettoimmobilisering.

## Bakgrund

Det är känt att en stegvis kemisk omsättning av växtmaterial (SCD; Stepwise Chemical Digestion; Goering and Van Soest, 1970) ger värdefull information om kvalitén på växtmaterial, vilket kan användas för att initiera mekanistiska simuleringsmodeller som beskriver omsättningen och mineraliseringen av kol och kväve från växtmaterial i mark (Henriksen and Breland, 1999a; Trinsoutrot et al., 2000). Eftersom metoderna att bestämma SCD är mycket omständliga och dyra och inte lämpliga att använda rutinmässigt initierades 1999 ett nordiskt samarbetsprojekt (NKJ 110, *Characterisation of plant residue quality for prediction of decomposition and nitrogen release in agricultural soils*) som syftade till att ersätta de kemiska metoderna med nära infraröd reflektansspektroskopi (NIR). NIR är sekundsnabb och kräver minimal förberedelse av provet. Provet förblir dessutom intakt. NIR-spektrum påverkas av provets organiska sammansättning och kan därför relateras till olika kvalitetsaspekter i växtmaterial (Deaville and Flinn, 2000). Med NIR-spektroskopi mäts det reflekterade ljuset från provet med ett scannande instrument i våglängdsområdet 700-2500 nm.

I det nordiska projektet inkuberades också 76 växtmaterial av mycket skiftande karaktär under 217 dagar i en standardjord i klimatkammare i 15°C. Nettomineraliseringen av kol och kväve följdes under hela inkubationstiden. Resultaten visade tydligt att NIR-kalibreringar för mängden kväve i växtmaterial, i den lösliga fraktionen, kol i cellulosa

och i holocellulosa samt i hela fiberfraktionen fungerade mycket bra (Stenberg et al., 2004).

I simuleringsmodellerna fungerade kol och kvävefraktionerna utmärkt för att beskriva mineraliseringen i inkuberingarna. NIR-mätta kol- och kvävefraktioner fungerade lika bra som kemiska analyser för kol och nästan lika bra för kväve (Bruun et al., 2005; Henriksen et al., 2007).

I det nordiska projektet framkom också att det genom att dela in proverna i olika klasser beroende på hur mycket kol i holocellulosafraktionen de innehåller även grovt kan indelas i grupper med avseende på kolets mineraliserbarhet (Figur 2) (Jensen et al., 2005). På motsvarande sätt kunde en grov indelning av vilken typ kvävemineraliseringsförlopp växtmaterialen fick vid inkuberingen göras utifrån mängden lösligt, icke strukturbundet, kväve i proven. I den första gruppen ingår huvudsakligen sådana med en utsträckt kväveimmobilisering, i den andra gruppen huvudsakligen sådana med en initial immobiliseringsfas som senare övergår till nettomineralisering och i den tredje gruppen huvudsakligen sådana som omedelbart eller mycket snart uppvisar en nettomineralisering. Indelningen enligt den här metoden är som nämnts endast mycket grov och klasserna överlappar varandra i stor utsträckning. Avsikten i denna pilotstudie är att utvärdera om det med NIR-teknik och statistiska metoder går att skapa en modell som kan klassificera växtmaterial utifrån deras N-mineraliseringsdynamik enligt figur 1.

## Metod

Till projektets förfogande finns all data från de 76 växtmaterial som inkuberades i det nordiska samarbetsprojektet. På dessa prover har spektrum från det synliga våglängdsområdet (400-700 nm) och det nära infraröda (700-2500 nm) scannats med ett intervall på 2 nm. Dessutom har kol- och kvävemängden i SCD-fraktionerna vattenlösligt, lösligt i neutral lösning (NDS), cellulosa, hemicellulosa och lignin enligt Goering och Van Soest (1970) analyserats. Databasen uppvisar en mycket stor variation både vad gäller biologisk (Tabell 1) och kemisk sammansättning (Stenberg et al., 2004). T.ex. varierar N-halten mellan 2 och 60 g/kg, NDF mellan 150 och 828 g/kg och lignin mellan 1 och 200 g/kg. Detta gör det möjligt att kalibrera klassificeringsmodeller med mycket stor bredd.

Utgångspunkten var att klassificera i tre klasser (figur 1):

- |         |  |
|---------|--|
| Klass 0 | Initial immobilisering av N och ingen återmineralisering inom överskådlig tid. |
| Klass 1 | Omedelbar nettomineralisering av N.  |
| Klass 2 | Initial immobilisering som övergår i nettomineralisering inom 120 dagar.       |

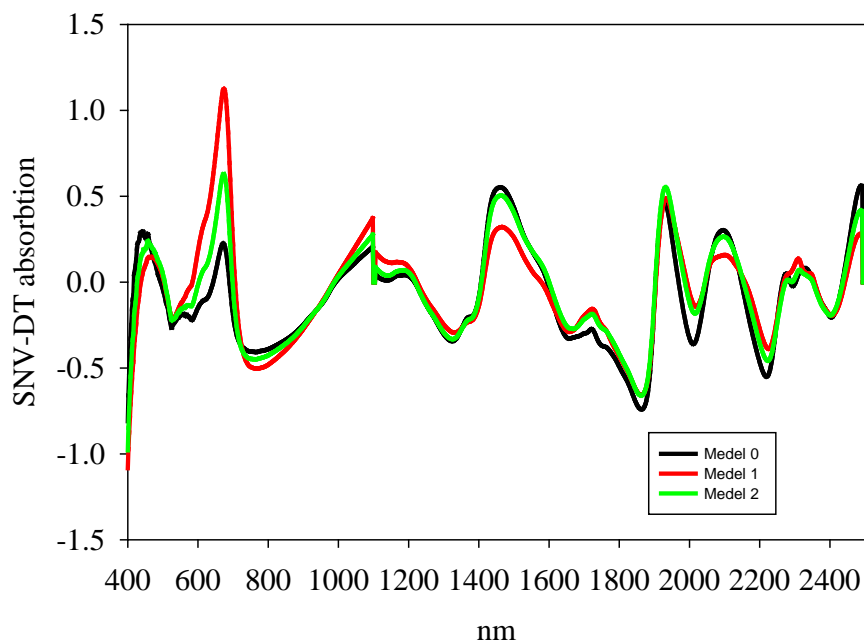


De 76 proverna delades slumpmässigt in i ett övningsdataset med 52 prover och i ett valideringsset med 24 prover. Fyra olika grundmetoder för *supervised* klassificering provades. Dvs metoder som går ut på att klasserna modelleras utifrån övningssetets kända klasser. Samtliga är utförda i programvaran Unscrambler 10.2:

- SIMCA (soft independent modelling of class analogy; Wold och Sjöström, 1977). Metoden beskriver först varje klass för sig med en principacomponentanalys (PCA) på övningssetet. Valideringssetet testas sedan mot respektive PCA-modell och de enskilda proverna hänvisas till en klass om det hamnar inom den PCA-modellens datarymd. Ett prov kan alltså klassificeras till en, flera eller ingen klass.
- DPLS (discriminant partial least squares regression; Barker och Rayens, 2003). PLS är egentligen en regressionsmetod som här används så att för varje klass görs en dummyvariable där -1 representerar prov som inte hör till klassen och 1 prover som hör till klassen. Övningsdatasetet används sedan för att kalibrera en prediktionsmodell för varje dummyvariabel. Valideringsproverna klassas sedan beroende på om de predikteras högre eller lägre än 0. Även här kan ett prov klassificeras till en, flera eller ingen klass.
- LDA (linear discriminant analysis; Naes m.fl., 2002). Metoden söker efter linjära kombinationer av de beskrivande variablerna, i det här fallet NIR-spektrum, som bäst separerar klasserna i övningssetet. Valideringssetet projiceras sedan på dessa kombinationer, eller modeller, och de enskilda proven klassificeras till den klass som ligger närmast. Alla prov hamnar alltså i en, men bara en, klass. Två submetoder har använts; Quadratic och Mahalanobis.
- SMV (support vector machines; Czekaj m.fl., 2005). Metoden räknas till kategorin mönsterigenkännande inlärningsmetoder (*pattern recognition learning*). Övningssetet används till att anpassa olika ickelinjära eller linjära funktioner så att de bildar gräns mellan olika klasser i den multidimensionella datarymd som utgörs av NIR-spektrum. SMV klarar betydligt mer komplexa klasstrukturer än de övriga metoderna. Tre varianter för gränsdragningen jämfördes: *Polynomial*, *radial basis* och *linear*.

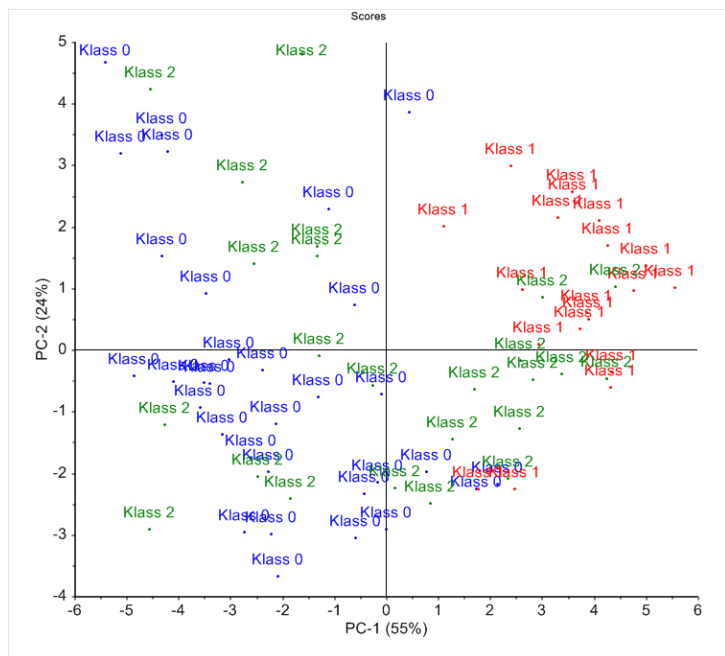
## Resultat

I figur 2 visas medelspektrum för de tre klasserna. I områdena kring 650, 1450, 1700 och 2100nm hittar vi de största skillnaderna mellan klasser. Vi ser också att klass 0 och 1, som utgör de två extremerna befinner sig längst från varandra i dessa områden. Toppen vid 650nm motsvarar absorberat rött ljus, dvs klorofyll. Att klass 1 som utgör de omedelbart nettomineraliserande proverna ligger högst här är alltså logiskt. Den lilla toppen vid 1700nm kan sannolikt och följdriktigt härledas till absorberande protein. Vid 1450 och 2100nm är det troligtvis kolföreningar av olika slag som står för absorbansen.



Figur 2. Medelspektrum för de tre klasserna. Absorptionsspektrum transformerat till D-trendad *Standard Normal Variate*.

Att skillnaden mellan klasser trots skillnaderna i medelspektrum inte är helt självklart visas i figur 3 där framför allt proverna från klass 2, som är ett mellanting av klass 0 och 3, överlappar framförallt klass 0.



Figur 3. Scoreplot av de två första komponenterna i en PCA analys av alla 76 prov med nettomineraliseringsklasserna indikerade.

Att det framförallt är klass 2 som utgör svårigheten framgår även av resultaten av klassificeringen i tabell 2. Många av proven i klass 2 är ofta felklassificerade och oftast till klass 1. Både SIMCA och DPLS består ursprungligen av tre resultatcolumner vardera och av dessa framgick att påfallande många prov klassificerades till flera klasser. I tabellen redovisas den klass vars modellcentrum provet låg närmast beträffande SIMCA och den klass där det predikterade värdet låg närmast 1 beträffande DPLS. Skillnaderna

Tabell 2. Observerade klasser och predikterade klasser i valideringssetet av de olika klassificeringsmodellerna kalibrerade på övningssetet. Grön och röd markering markerar rätt respektive fel klassificering.

Art	Beskrivning	Observerad klass	Klassificering av modell						DPLS
			SIMCA	LDA Quad.	LDA Mahal.	SVM Poly.	SVM Radial	SVM Linear	
Hundäxing	Stjälk	0	2	1	2	2	2	0	0
Oljelin	Hel/mogen	0	2	0	0	2	0	0	0
Ärt	Halm	0	0	0	0	0	0	0	0
Raps	Stjälk	0	0	0	2	0	0	0	0
Höstvete	Stjälk	0	2	0	2	0	0	0	0
Höstvete	Stjälk	0	0	0	0	0	0	0	0
Lin	Gulnande blad	0	0	0	0	0	0	0	0
Lin	Mogen stjälk	0	0	0	0	0	0	0	0
Åkerkål	Halm	0	0	0	0	0	0	0	0
Ängsgröe	Gulnande	0	2	2	2	0	0	2	0
Elefantgräs	Stjälk	0	0	0	0	0	0	0	0
Raps	Stjälk	0	2	0	0	0	0	0	0
Höstvete	Stjälk	0	0	0	0	0	0	0	0
Raps	Hel planta	1	1	1	1	1	1	1	1
Vitklöver	Hel planta	1	1	1	1	1	1	1	1
Sandlupin	Hel planta	1	2	2	2	2	2	2	1
Rättika	Gröna blad	1	1	1	1	1	1	1	1
Honungsört	Gröna blad	1	2	2	2	2	1	2	1
Lök	Omslutande blad	2	2	1	2	1	1	1	1
Socketbeta	Gröna blad	2	2	2	2	2	2	2	1
Perserklöver	Stjälk	2	2	1	2	2	2	2	0
Bondböna	Delvis nedbruten hel planta	2	1	0	2	0	0	0	0
Timotej	Hel planta	2	1	1	1	1	1	1	1
Korn	Agnar	2	1	2	2	2	0	2	2
<b>Antal rätt klassificerade</b>			<b>14</b>	<b>15</b>	<b>17</b>	<b>16</b>	<b>18</b>	<b>18</b>	<b>19</b>
<b>Procent rätt klassificerade</b>			<b>58</b>	<b>63</b>	<b>71</b>	<b>67</b>	<b>75</b>	<b>75</b>	<b>79</b>

här kunde vara mycket små och därmed slumpartade. Trots de osäkra resultaten för DPLS är det ändå denna metod som faller ut som den bästa, men skillnaden är liten till SVM. Även med dessa metoder är felklassificeringen så hög som 25% och det är nästan

uteslutande klass 2 som klassificeringen inte klarar av. Detta är inte så konstigt eftersom klass 2 utgör en mellanställning till klass 0 och 1. Vissa prov har en relativt liten och kortvarig immobiliseringsperiod och liknar därför klass 1, medan andra i och för sig når nettomineralisering, men endast i liten utsträckning och därför liknar klass 0.

## Slutsats

Det går bra att med hjälp av NIR-spektroskopi klassificera växtrester, gröngödslingsgrödor m.m. med avseende på det två ytterligheterna omedelbar nettomineralisering och utdragen immobilisering. Däremot är klassificeringen med avseende på initial immobilisering med efterföljande nettomineralisering mycket osäker. Eftersom det är en flytande övergång mellan klasserna var detta i viss mån väntat, men att så få klassificeras rätt är ett bakslag eftersom denna klass kanske är den mest intressanta med tanke på kvävehushållningsfrågor. Nyttan med att gå vidare förefaller tveksam.

Den metod som fungerade bäst av de här testade var med knapp marginal *discriminant PLS*, men i den statistiska utvärderingen var *support vector machines* stabilare.

## Referenser

- Barker, M., Raynes, W., 2003. Partial least squares for discrimination. *Journal of Chemometrics* 17, 166-173.
- Bruun, S., Stenberg, B., Breland, T.A., Gudmundsson, J., Henriksen, T.M., Jensen, L.S., Korsath, A., Luxhoi, J., Palmason, F., Pedersen, A., Salo, T., 2005. Empirical predictions of plant material C and N mineralization patterns from near infrared spectroscopy, stepwise chemical digestion and C/N ratios. *Soil Biology & Biochemistry* 37(12), 2283-2296.
- Czekaj, T., Wu, W., Walczak, B., 2005. About kernel latent variable approaches and SVM, *Journal of Chemometrics* 19, 341-354.
- Deville, E. R. & Flinn, P. C. 2000. Near-infrared (NIR) spectroscopy: an alternative approach for the estimation of forage quality and voluntary intake. In: Givens, D. I., Owen, E., Axford, R. F. E. & Omed, H. M. (eds.) *Forage evaluation in ruminant nutrition*. CABI Publishing, Wallingford; UK, pp. 301-320; 5 pp.
- Goering, H. K. & Van Soest, P. J. 1970. Forage fiber analyses (Apparatus, reagents, procedures, and some applications). *Agriculture Handbook*. 379 379, USDA-ARS, Washington DC, 20 pp.
- Henriksen, T. M. & Breland, T. A. 1999. Decomposition of crop residues in the field: evaluation of a simulation model developed from microcosm studies. *Soil Biology & Biochemistry* 31, 1423-1434.
- Henriksen, T.M., Korsath, A., Breland, T.A., Stenberg, B., Jensen, L.S., Bruun, S., Gudmundsson, J., Palmason, F., Pedersen, A., Salo, T.J., 2007. Stepwise chemical digestion, near-infrared spectroscopy or total N measurement to take account of decomposability of plant C and N in a mechanistic model. *Soil Biology & Biochemistry* 39(12), 3115-3126.
- Jensen, L.S., Salo, T., Palmason, F., Breland, T.A., Henriksen, T.M., Stenberg, B., Pedersen, A., Lundstrom, C., Esala, M., 2005. Influence of biochemical quality on C and N mineralisation from a broad variety of plant materials in soil. *Plant and Soil* 273(1-2), 307-326.



- Næs, T., Isaksson, T., Fearn, T., Davies, T., 2002. A User-friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification, NIR Publications, Chichester.
- Stenberg, B., Jensen, L.S., Nordkvist, E., Breland, T.A., Pedersen, A., Guomundsson, J., Bruun, S., Salo, T., Palmason, F., Henriksen, T.M., Korsæth, A., 2004. Near infrared reflectance spectroscopy for quantification of crop residue, green manure and catch crop C and N fractions governing decomposition dynamics in soil. *J. Near Infrared Spectrosc.* 12(5), 331-346.
- Trinsoutrot, I., Recous, s., Bentz, S., Linères, M., Chèneby, D. & Nicolardot, B. 2000. Biochemical quality of crop residues and carbon and nitrogen mineralization kinetics under nonlimiting nitrogen conditions. *Soil Sci Soc Amer J* 64, 918-926.
- Wold, S., Sjöström, M., 1977, SIMCA: A method for analyzing chemical data in terms of similarity and analogy, in Kowalski, B.R., ed., *Chemometrics Theory and Application*, American Chemical Society Symposium Series 52, Wash., D.C., American Chemical Society, p. 243-282.