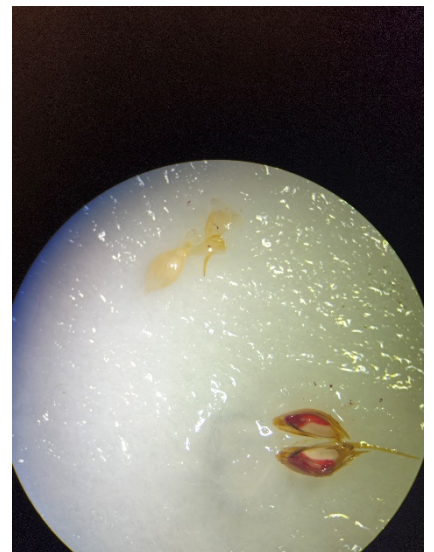
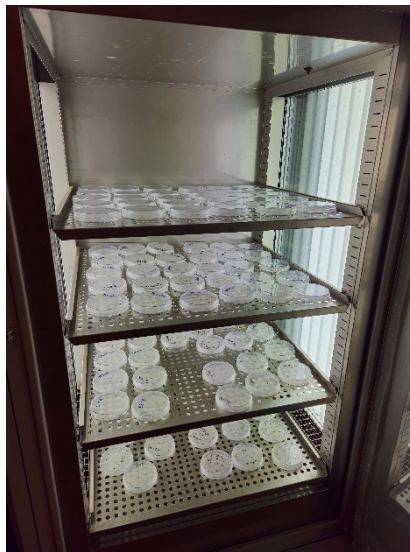




Överlevnad av ogräsfrön i röttnings- och vattenbadsförsök

Elin Strömberg



Examensarbete/Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Institutionen för växtproduktionsökologi
Agronomprogrammet - Mark/Växt
Uppsala 2024

Överlevnad av ogräsfrön i rötnings- och i vattenbadsförsök.

Survival of weed seeds in anaerobic digestion and waterbath experiments

Elin Strömberg

Handledare: Theo Verwijst, SLU, institutionen för växtproduktionsekologi
Bitr. handledare: Anneli Lundkvist, SLU, institutionen för växtproduktionsekologi
Bitr. handledare: Anna Schnürer, SLU, institutionen för molekylära vetenskaper
Examinator: Robert Glinwood, SLU, institutionen för växtproduktionsekologi

Omfattning: 30 hp
Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E
Kurstitel: Självständigt arbete
Kurskod: EX0898
Program/utbildning: Agronom Mark/Växt
Kursansvarig inst.: Institutionen för vatten och miljö
Utgivningsort: Uppsala
Utgivningsår: 2024
Omslagsbild: Flaskor fyllda med substrat placera i en ugn
Groningstest i odlingsskåp
Tetrazoliumtest av vitalitet hos frön
Foto: Elin Strömberg
Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.
Nyckelord: Alopecurus myosuroides, biogödsel, Echinochloa crus-galli, gödsel, groning, hönshirs italienskt rajgräs, Lolium multiflorum, mesofil, renkavle, retentionstid, rötslam, Rumex spp, skräppa, temperatur, termofil, vitalitet

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för naturresurser och jordbruksvetenskap
Institutionen för växtproduktionsekologi

Sammanfattning

År 2015 antog FN:s generalförsamling handlingsplanen Agenda 2030 som innehåller mål för ekonomisk, social och miljömässig hållbar utveckling. Produktion av biogas har ett nettonollutsläpp av växthusgaser. Biogasproduktionen är en del i Agenda 2030 och beräknas ha en produktionspotential på 15 TWh, vilket är en ökning med 12,7 TWh till och med 2030 jämfört med år 2022. Biogas, en förnybar energikälla, bildas genom att organiskt material bryts ner i syrefri miljö av särskilda mikroorganismer (AD). Det organiska materialet kan bestå av matrester, avloppsslam, gödsel eller växtrester. En av produkterna är den kväverika rötrest som kommer ut från reaktorn och som används som gödsel. Vegetation som slås av efter vägkanter är billigt organiskt material som potentiellt skulle kunna användas för biogasproduktion. Vid bortforsling av vegetationen följer näring och energi med som fanns i växtresterna. Detta skapar en mer näringsfattig miljö vilket gynnar mindre konkurrensstarka arter och bidrar till ökad biologisk mångfald. I vägkanter och diken kan dock många olika ogräsarter finnas. Om frön från dessa hamnar i biogasprocessen, finns det risk för att fröna överlever och via rötresten sedan sprids på åkern?

Målet med denna studie var att skatta groningen och överlevnad hos frön från fyra ogräsarter efter rötning vid mesofila och termofila förhållanden (37°C och 52°C) samt att testa om vattenbadsförsök kan användas för att simulera och utvärdera effekterna av rötning på ogräsfrön.

Ett antal studier genomfördes för att skatta grobarhet (genom groningenstest) och total överlevnad (genom groningen- och tetrazoliumtester) hos frön från ogräsarterna hönshirs (*Echinochloa crus-galli*), renkavle (*Alopecurus myosuroides*), skräppa (*Rumex* spp.) och italienskt rajgräs (*Lolium multiflorum*). Jämförelser gjordes mellan rötning och behandling i vattenbad i 52°C i 2-30 timmar, samt mellan 37°C och 52°C i vattenbad för samma tidsperiod. Vidare utvärderades effekterna av rötning vid 37°C under en tidsperiod på 2-30 dagar och konventionell hygienisering simulerades genom vattenbad vid 70°C under en timme. En binomial modelleringsmetod användes slutligen för de statistiska analyserna.

Innan försöken startades, hade skräppa och italiensk rajgräs en groningen och vitalitet på >90%. Motsvarande värden för hönshirs var 70% och 76% medan värdena för renkavle var relativt låga, 40% och 47%. Hygienisering i vattenbad vid 70°C i en timme och rötning vid 37°C under >48 timmar gav 100% dödlighet hos fröna från alla fyra arter. Vid 52°C var groningen och vitalitet högre i vattenbad jämfört med rötning. Skräppa hade högst groningen och vitalitet jämfört med övriga arter. Över tid sjönk groningen och vitalitet snabbt (<2% efter 30 timmar).

Groning och vitalitet av fröna efter behandling i vattenbad (37°C och 52°C) påverkades av temperatur, art, tid och av samspelet temperatur*art och temperatur*tid. Groning påverkades även av samspelet art*tid och temperatur*art*tid. Medelvärden för groningen och vitalitet var högre vid 37°C (84% och 85%) jämfört med 52°C (11% och 15%). Skräppa hade högre värden än övriga arter. Hastigheten som värdena minskade berodde av tiden och minskade snabbare i den första delen av den studerade tidsperioden (2-30 timmar).

Slutsatsen blir att de temperaturer och retentionstider som används i konventionell mesofil och termofil rötning är tillräckliga för att döda frön från de fyra studerade arterna. Skattningarna av groningen och vitalitet var högre i vattenbad jämfört med rötning vilket indikerar att skattningar och slutsatser från vattenbadsförsöken kan anses som konservativa jämfört med motsvarande resultat från rötningssförsöken. Detta gäller åtminstone för det specifika substrat som användes i rötningssförsöken. Följaktligen kan resultat från vattenbadsförsök bedömas vara säkra att använda för att skatta risken för överlevnad av ogräsfön i rötningssförsök under jämförbara temperaturförhållanden.

Nyckelord: Alopecurus myosuroides, biogödsel, Echinochloa crus-galli, gödsel, groningen, hönshirs italienskt rajgräs, Lolium multiflorum, mesofil, renkavle, retentionstid, rötslam, Rumex spp, skräppa, temperatur, termofil, vitalitet

Abstract

In 2015 the General Assembly of the United Nations adopted the action plan 'Agenda 2030' which contains goals for economic, social and environmentally sustainable development. Biogas is produced with net zero greenhouse gas emissions. Sweden targets a biogas production of 15TWh in 2030, implying an increase of 12,7 TWh compared to 2022. During anaerobic digestion (AD) micro-organisms break down biodegradable material in the absence of oxygen, producing biogas and digestate. Feedstock may consist of food waste, sewage sludge, dung or plant material. The nitrogen-rich digestate may be used as fertilizer. Vegetation along roadsides is an easily biodegradable biomass that can be harvested as raw material for anaerobic digestion. Such harvest not only provides a cheap feedstock but also renders nutrient poor roadsides and ditches, leading to an enhanced biodiversity. There is a risk, however, that plant seeds may survive the AD-process and that the remains, when used as fertilizer on agricultural land, may lead to weed infestations.

The aim of this study was to assess the germinability and survival of the seeds of four weed species after AD and water bath treatments under mesophilic and thermophilic conditions (37° and 52°C) and to test if water bath experiments can be used to simulate and assess the effects of AD on weed seeds.

A set of experiments was performed to assess germinability (by means of germination test) and total vitality (germination and tetrazolium tests) of the four weed species Barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*), Black grass (*Alopecurus myosuroides*), Dock (*Rumex crispus*) and Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). A water bath using a range of 2-30 hours in 52 °C was compared with the effects of AD in 52°C. The same time range was used to compare the effects of a water bath in 37°C with the water bath in 52°C. In addition, AD in 37 °C was tested over a time range of 2-30 days, and conventional hygienisation was simulated in a water bath during 1 hour at 70°C. Analyses were performed using a binomial modeling approach.

Before the onset of treatments, Dock and Italian ryegrass had a germinability and vitality >90%. The respective values for Barnyard grass were 70% and 76% while those for Black grass were relatively low, 40% and 47% respectively. Hygienisation in a water bath of 70°C for one hour as well as AD in 37°C during > 48 hours led to 100% mortality of all seeds of the four species. In 52°C, germinability and vitality were higher in a water bath compared to AD, higher for Dock compared to the other species, and decreased rapidly over time (< 2% within 30 hours). Germinability and vitality in water baths (37°C and 52°C) were affected by temperature, species and time, and by interactions between temperature*species and temperature*time. Germinability was also affected by interactions between species*time and temperature*species*time. Average values for germinability and vitality were higher for 37°C (85% and 84%) compared to 52°C (11% and 15%). Dock had higher values than the other species. The rates at which the values decreased was time dependent and faster in first part of the employed time range (2-30 hour).

We conclude that the temperature regimes and retention times used in conventional meso- and thermophilic AD are sufficient to kill the seeds of the four weed species studied. Vitality and germinability estimates from the water bath treatments were higher in comparison to AD, implying

that estimates and inferences from water bath experiments can be conceived as conservative in comparison with AD-treatments, at least for the specific substrate used in the AD-treatments. Consequently, inferences from water bath experiments may be used safely to assess the risk of survival of weed seeds in AD under otherwise similar conditions.

Keywords: Alopecurus myosuroides, Barnyard grass, biogas waste, Blackgrass, digestate, Docks, Echinochloa crus-galli, fertilize, germination, hydraulic retention time, Italian ryegrass, Lolium multiflorum,, mesophilic, Rumex spp., sludge, Temperature, termophilic, vitality

Innehållsförteckning

Förkortningar	12
Inledning	14
1.1 Bakgrund	14
1.1.1 Energiläget	15
1.2 Biogasprocessen	15
1.2.1 Inledning	15
1.2.2 Substratet	16
1.2.3 Biogas	17
1.2.4 Röttningsmetoder	17
1.2.5 Rötresten som gödselmedel	19
1.3 Ogräs	19
1.4 Fröet - morfologi, överlevnad i rötning och arter	20
1.4.1 Frö- morfologi	20
1.4.2 Ogräsfröns överlevnad	23
1.4.3 Skräppa	26
1.4.4 Renkavle	26
1.4.5 Italienskt rajgräs	27
1.4.6 Hönshirs	27
1.5 Syfte	28
1.6 Frågeställningar	28
1.7 Avgränsningar	28
Material och metod	30
2.1 Frömaterial	30
2.2 Groning och vitalitet (livskraft)	31
2.2.1 Sundhetstest – sterilisering av fröskal	31
2.2.2 Bestämning av groning och vitalitet (livskraft)	31
2.2.3 Groningstest	32
2.2.4 Tetrazoliumtest	33
2.3 Försök	35
2.3.1 Kontroll	35
2.3.2 Hygienisering	35
2.3.3 Rötning	35
2.3.4 Vattenbad	38

2.3.5	Totalt antal levande frön	39
2.4	Statistisk analys	39
	Resultat	40
3.1	Kontroll	40
3.2	Hygienisering	40
3.3	Rötning vid 37°C	40
3.4	Rötning och vattenbad vid- 52°C	41
3.5	Vattenbad vid- 37°C och 52°C.....	42
	Diskussion	45
4.1	Felkällor.....	48
4.2	Slutsats	49
	Referenser.....	51
	Populärvetenskaplig sammanfattning	55
	Tack	57

Tabellförteckning

Tabell 1 Plats för insamlingen av fröna hönshirs, skräppa, italienskt rajgräs, renkavle ...	31
Tabell 2 Grobarhet (%) och vitalitet (%) hos arterna i kontrolltestet angivna i medel med konfidensintervall.	40
Tabell 3 Skattade medelvärden samt övre och undre konfidensintervall (KI) för groningen och vitalitet. Försök med temperatur 52°C med faktorerna: behandling (rötning och vattenbad), art (hönshirs, italienskt rajgräs, renkavle och skräppa) och tid (2, 5, 10, 15 och 30 h). Olika bokstäver indikerar signifikanta skillnader ($P < 0.05$) mellan skattade medelvärden inom respektive faktor.	41
Tabell 4 Skattade medelvärden samt övre och undre konfidensintervall (KI) för groningen och vitalitet. Försök med vattenbad för faktorerna: temperatur (37°C och 52°C), art (hönshirs, italienskt rajgräs, renkavle och skräppa) och tidsintervall (2, 5, 10, 15 och 30 h). Olika bokstäver indikerar signifikanta skillnader ($P < 0.05$) mellan skattade medelvärden inom respektive faktor.	43

Figurförteckning

Figur 1 Tillverkning av biogas från start till slut. Organiskt material samlas in och transporteras till biogasanläggningen där materialet processeras innan det når rötningskammaren. Produkterna biogas samt rötrest som kan spridas som gödsel. Illustration; Uppsala Vatten AB	16
Figur 2 Illustration av en batch reaktor med satsvist in- och utflöde ur samma rör. Illustration: Elin Strömberg.....	18
Figur 3 Illustration av continuous stirred tank reactor med inflöde till vänster och utflöde till höger. Illustration: Elin Strömberg	18
Figur 4 Frö av en dikotyledon (tvåhjärtbladig) och en monokotyledon (enhjärtbladig). I båda fröna går det att urskilja rotanlag, fröskal, hjärtblad samt endosperm/frövida. Illustration: Elin Strömberg.....	20
Figur 5 Schematisk och förenklad beskrivning av utvecklingen från frö till grodd. Fröets utveckling är beroende av både miljö och gener. Fröet kan gå in i en primär groningsvila som sedan, vid vissa förhållanden kan bli till en sekundär groningsvila. Denna bryts sedan av särskilda förhållanden vilket kan leda till att fröet gror. Bild (Bewley et al. 2013)	21
Figur 6 Illustration av de fem olika typer av groningsvila. Fysisk, fysiologisk, morfologisk, morfofysiologisk eller en kombination. Först beskrivet av Nikolaeva (1969) och förbättrad av Baskin and Baskin (2004). Anledningen till groningsvila visas i gult. E: embryo, End/Cot: Endosperm/kotyledon, SC: fröskal. Bild: (Jaganathan 2020).....	22
Figur 7 Krusskräppa "Rumex crispus plant3" Foto: Harry Rose	26
Figur 8 Renkavle "Alopecurus myosuroides" Foto: Юрий Данилевский (Yuriy Danilevsky)	26
Figur 9 Italienskt rajgräs. "Lolium multiflorum plant4" Foto: Harry Rose	27
Figur 10 Hönshirs "Echinochloa crus-galli plant14" Foto: Harry Rose.....	27

Figur 11 Frön på fuktade filterpapper i petriskålar placerades i en odlingskammare vid 20°C under 16timmar/dygn och vid 4 °C 8 timmar/dygnet. Foto: Elin Strömberg	32
Figur 12 Frön som grott där primärrot och hjärtblad tydligt kunde skönjas efter att ha legat i odlingskammare vid 20°C under 16timmar/dygn och vid 4 °C 8 timmar/dygnet. Foto: Elin Strömberg	33
Figur 13 Reduktionsreaktionen som resulterar i att tetrazoliumsaltet färgar celler i levande frön. Anpassad efter Peters (2007n). Illustration: Thais Sofia Ribeiro Santos.	33
Figur 14 Frön som testas med tetrazolium (2,3,5- trifenyltetrazoliumklorid (TTC)) placerades mellan två filterpapper. Tre ml TTC pipetterades över filtrerpapperna. Foto: Elin Strömberg.....	34
Figur 15 Levande (respirerande) frö av hönshirs (Echinochloa crus-galli) där embryot rödfärgats av tetrazolium. Foto: Elin Strömberg.	34
Figur 16 Dött (icke respirerande) frö av italienskt rajgräs (Lolium multiflorum) där embryot ej färgats av tetrazolium. Foto: Elin Strömberg.	34
Figur 17 Påse fylld med 10 frön försluten med värmepress (i bakgrunden) Foto: Elin Strömberg	36
Figur 18 Fyra flaskor fyllda med ca 100 ml substrat och tre replikat av samma art, flushas genom att varva utpumpning av luft och inpumpning av kvävgas.....	36
Figur 19 Flaskor fyllda med substrat placerade i en ugn på en skak i 52°C. Foto: Elin Strömberg	37
Figur 20 Flaskorna med substrat tömdes ovanför en sil och påsarna med fröna sköljdes med ljummet vatten. Foto: Elin Strömberg	37
Figur 21 Tre upprepningar av samma art placerades i ett vattenbad. Vattenbadets temperatur uppnåddes med hjälp av en sous vide placerad i en hink med ca 8 liter vatten. Gallret var till för undvika att fröna skulle fastna eller sugas in i apparaten. Foto: Elin Strömberg.....	38
Figur 22 Vitalitet (%) för alla arterna i 52°C av behandlingen vattenbad och rötning efter tiden 2,5,10,15 och 30 timmar.	42
<i>Figur 23 Vitalitet hos frön av hönshirs, skräppa, italienskt rajgräs och renkavle efter vattenbad vid temperaturerna 37°C och 52°C (medel och konfidensintervall).</i>	44
Figur 24 Vitalitet som funktion av tid för temperaturerna 37°C och 52°C i vattenbad som medelvärde för alla arterna.....	44

Förkortningar

Anaerob	Syrefria förhållanden
Batch	Biogasreaktor som matas en gång och sedan töms efter en viss retentionstid
Biogödsel	Resterna av det substrat som rötas och som används som gödsel, dock ej avloppsslam
CSTR	Continuous flow stirred tank reactor. Reaktortyp som matas och töms med ett jämt flöde
Gårdsanläggning	Biogasproduktion på gårdsnivå med minst 50% gödsel. Färre än tre gårdar bidrar till substrat
Klimatklivet	Klimatklivet är ett investeringsstöd från staten som gör det möjligt att satsa på fossilfri framtidsteknik och grön omställning
Mesofil	Temperatur mellan 30-44 °C
Retentionstid	Tiden ett substrat är i biogasreaktorn
Revaq	Certifieringssystem för rötslam från avloppsreningsverk som drivs av Svenskt Vatten
Rötning	Biologisk process där organiskt material bryts ner
Rötrest	Resterna från rötningsprocessen såsom vatten, icke nedbrutet material, näringsämnen och mikroorganismer
Rötslam	Rötrest som bildas efter rötning av avloppsslam från avloppsreningsverk

Samrötningsanläggning	Biogasanläggning som rötter olika typer av organiskt material men inte avloppsslam
SPCR120	Certifiering av rötresten som reglerar substrat och hygienisering samt gränsvärden för innehåll av oönskade ämnen
Substrat	Det organiska materialet som agerar näring i biogasreaktorn
Termofil	Temperatur mellan 45-60 °C
TS	Det som återstår efter att vattnet torkats bort från ett material. Anges som procent av våtvikten.
VS	Organiskt material som vid upphettning i 550°C förångas.

Inledning

1.1 Bakgrund

Anaerob rötning är en process där organiskt material bryts ner av mikroorganismer i en syrefri kammare. Processen bildar två produkter, biogas (metan och koldioxid) men också rötresten. Rötresten kan återanvändas som gödselmedel vilket knyter ihop näringscykeln då näring återförs till den mark där energin till biogasprocessen en gång hämtades.

Att odla energigrödor för rötning, det vill säga använda som råvara (substrat) för biogasproduktion, kan vara kontraproduktivt då odlingen kan minska biodiversiteten och påverka konsumenter och lantbrukare negativt (Eggers et al. 2009; Meyer-Aurich et al. 2012). Ett alternativ att bidra med biomassa till biogasproduktionen är att använda den grönmassa som slås av efter välgkanterna/dikena för att förbättra sikten för vägtrafikanterna. Varje år slår Trafikverket cirka 200 000 km diken. Detta är ekvivalent till cirka 80 000 ton torrs substans om året. Bortforsling av den näring och energi som finns i växtresterna skapar näringsfattigare diken vilket gynnar tillväxten av mindre konkurrenskraftiga arter, vilket är positivt för den biologiska mångfalden (Emilsson et al. 2017).

I en litteratursammanställning av Strömberg (2023) visade det sig dock att ogräsfrön från några arter såsom lindmalva (*Abutilon theophrasti*), hönshirs (*Echinochloa crus-galli*) och svinmålla (*Chenopodium album*) var särskilt hårdiga. De skulle kunna överleva en röttningsprocess mellan 3-30 dagar. Det innebär en risk att frön, som är särskilt persistenta och utsätts för rötning kortare än 30 dagar, skulle kunna gro och etablera plantor på åkern efter att de spridits ut med rötresterna.

1.1.1 Energiläget

Produktion av biogas har ett nettonollutsläpp vilket betyder att mängden växthusgaser som släpps ut och tas upp är lika med noll. Processer som dessa prioriteras i klimatklivet, det stöd regeringen har lagt fram för att uppnå Agenda 2030 (Naturvårdsverket 2023b; a). Agenda 2030 är den handlingsplan som antogs av FN:s generalförsamling 2015 (Johansson & Strandhäll 2022). Det är denna handlingsplan regeringen utgår ifrån när de sätter upp mål för en ekonomisk, social och miljömässig hållbar utveckling.

Biogasproduktion spänner dessutom över flera av de 16 målen i Sveriges miljömålslista (Sverigesmiljömål 2020) såsom

1. Begränsad klimatpåverkan
2. Frisk luft
3. Bara naturlig försurning
4. Giftfri miljö
7. Ingen övergödning
8. Levande sjöar och vattendrag
13. Ett rikt odlingslandskap
15. God bebyggd miljö

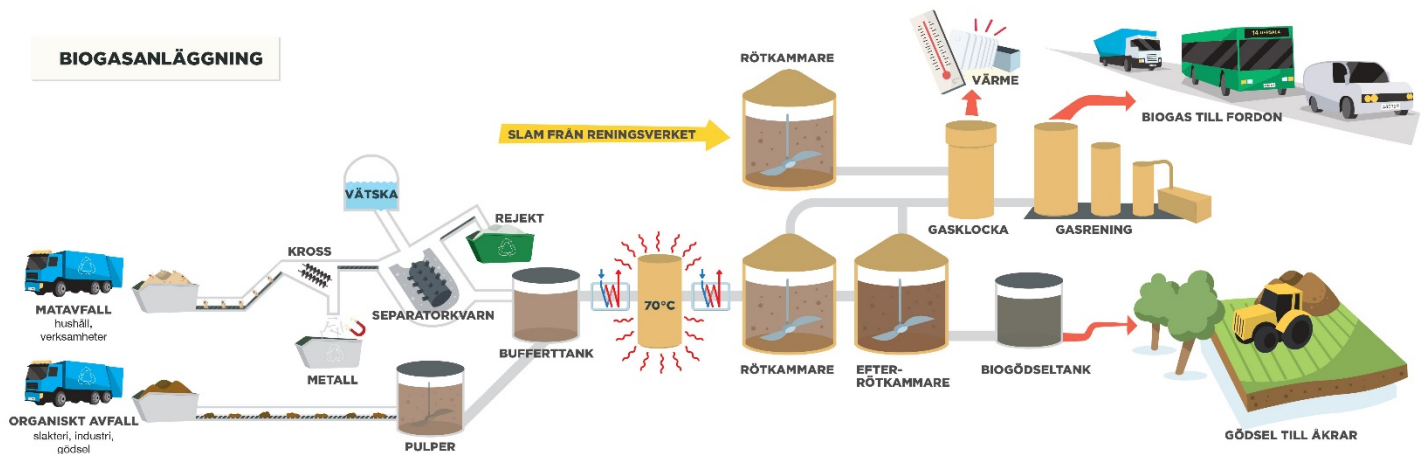
Det anses finnas en produktionspotential på 15 TWh energi producerat av biogas vilket ska bidra till att uppnå dessa mål. Detta innebär en ökning med 12,7 TWh jämfört med år 2022 (Energigas Sverige 2022). 15 TWh är endast 4% av den totala energiförbrukningen i Sverige (371,6 TWh år 2021). Den inhemska biogasproduktionen år 2022 var 2,28 TWh. En marginell ökning från 2021. Den totala biogasanvändningen minskade dock från 4,8 TWh till 4,4 TWh på grund av en minskad import. (Energigas Sverige 2022).

1.2 Biogasprocessen

1.2.1 Inledning

I en biogasreaktor rötas organiskt material i en syrefri (*anaerob*) miljö och ut kommer två produkter, biogas och rötrest. Vanligast i Sverige är en *mesofil* (37–42°C) våtrötning även om *termofil* (50–52°C) våt- och torrötning också förekommer. Den mesofila processen går till på följande sätt: Avfallet som kommer

till biogasreaktorn är restprodukter från samhället såsom matrester, slakteriavfall, avloppsslam, gödsel eller som denna rapport kommer fokusera på grönmassa från vägdiken. Det organiska materialet transporteras med lastbil och lastas av vid biogasanläggningen. På anläggningen rensas materialet från metall, plast och annat onedbrytbart och finfördelas i olika krossar och kvarnar. Därefter hygienseras substratet i 70°C i en timme innan det når rötchkammaren. Detta sker kontinuerligt. Efter ca 30 dagar har allt substrat bytts ut och två produkter, biogas och rötrest (gödsel) har åstadkommit (Figur 1).



Figur 1 Tillverkning av biogas från start till slut. Organiskt material samlas in och transporteras till biogasanläggningen där materialet processeras innan det når röttningskammaren. Produkterna biogas samt rötrest som kan spridas som gödsel. Illustration; Uppsala Vatten AB

En biogasanläggning som tar in olika sorters substrat kallas en samröttningsanläggning och är den typ av anläggning som producerar mest biogas i Sverige. Andra typer av anläggningar som producerar biogas är avloppsreningsverk, gårdsanläggningar, industrialanläggningar och deponier (Energigas Sverige 2022).

1.2.2 Substratet

För att producera biogas på en kommersiell nivå krävs att de mikroorganismer som bryter ner materialet har tillgång till ett substrat med bra sammansättning av högt energiinnehåll, fibrer, protein och fett men också vitaminer och mineraler. Om sammansättningen är enformig eller obalanserad så kan mikroorganismerna svälta eller bli hämmade. Då kan t ex toxiska produkter såsom syra eller för stora mängder ammoniak bildas eller så kan processen ta för lång tid för att vara lönsam (Schnürer & Jarvis 2017).

1.2.3 Biogas

Biogas är en blandning av olika gaser, främst metangas och koldioxid.

Biogas bildas när organiskt material bryts ner av en mängd olika mikroorganismer i en anaerob miljö. Man kan dela upp processen i fyra steg

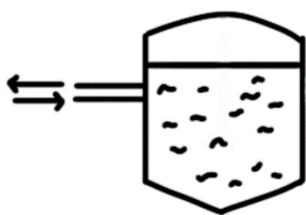
1. Hydrolys - *Större organiska föreningar bryts ner till mindre. Proteiner blir till aminosyror, socker till enkla sockerarter och fett till fettsyror.*
2. Fermentation – *Produkterna från hydrolysen bryts ner till organiska syror, vätgas, ammoniak, svavelväte, koldioxid och alkohol.*
3. Anaerob oxidation – *Produkterna från fermentationen oxideras och vätgas bildas.*
4. Metanbildning – *Metanbildarna (mikroorganismer) konsumerar vätgas, koldioxid och acetat vilket bildar metangas och koldioxid (biogas)*

Biogas kan uppgraderas efter processen genom att separera metangas från koldioxid. Metangas kan sedan användas som bränsle inom transportsektorn och industrier och för produktion av värme och el. (Schnürer & Jarvis 2017; Energigas Sverige 2022)

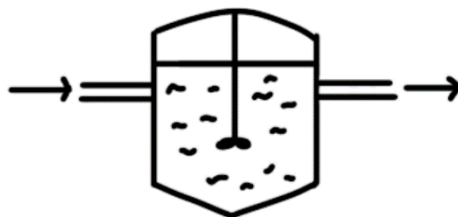
1.2.4 Rötningsmetoder

Satsvis och kontinuerlig rötning

Det finns både torrrotning och våtrötning. I en torrrotning är torrsubstanshalten (TS) i substratet över 20-25%. Oftast matas reaktorn då satsvis (batch), det vill säga att allt material tillförs på en och samma gång och sedan ligger kvar tills nästa sats med substrat ska in (Figur 2). Vid våtrötning har substratet en TS halt under 5% och reaktorn matas då kontinuerligt (continuous stirred tank reactor, CSTR) (Figur 3). Det finns även ett mellanting med en TS halt kring 15% där reaktorn matas mer eller mindre lika ofta som en CSTR (Schnürer & Jarvis 2017).



Figur 2 Illustration av en batch reaktor med satsvis in- och utflöde ur samma rör. Illustration: Elin Strömberg



Figur 3 Illustration av continuous stirred tank reactor med inflöde till vänster och utflöde till höger. Illustration: Elin Strömberg

Temperatur

Våtrötning är vanligare i Sverige medan torrötning är mer vanlig i exempelvis Tyskland (Schnürer & Jarvis 2017). Mesofil rötning är den vanligaste metoden i Sverige (Energigas Sverige 2022). Hygienisering är ett steg som appliceras på svenska samröttningsanläggningar som rötar animaliska produkter. Steget innebär att substratet utsätts för höga temperaturer under en viss tid för att minska risken för spridning av smittämnen. Den vanligaste metoden är en pastörisering av substratet under en timme vid 70°C. Detta är dock inte nödvändigt i de fall då substratet endast består utav vegetabilier (Avfall Sverige 2024). Även rötning vid 52°C i 10 timmar och en uppehållstid på sju dagar är tillåtet vilket gör att termofil rötning inte kräver samma pastörisering som en mesofil rötning (Schnürer & Jarvis 2017). På gårdsanläggningar där färre än tre gårdar samrötter material krävs inte heller hygienisering (Biogas 2020 (2018)).

Upphållstid

Upphållstid eller *hydraulic retentiontime (HRT)* är den tid som det tar att byta ut allt material mot nytt i anläggningen. Vid en våtrötning med en kontinuerligt matad reaktor är uppehållstiden mellan 15-40 dygn. Vad som avgör retentionstiden är bland annat substratets sammansättning och temperaturen. En hög andel av små kolhydrater, såsom socker och stärkelse, och en hög temperatur i reaktorn kan göra att processen går snabbt. De metanbildande mikroorganismerna har dock en fördubblingstid på 12 dagar och en process som går snabbare än så kan göra att dessa viktiga mikroorganismer sköljs ur systemet. För mer svårnedbrytbara substrat kan det vara andra steg, såsom hydrolysen, som tar tid (Schnürer & Jarvis 2017). Då kan också en längre retentionstid behövas för nedbrytningen.

1.2.5 Rötresten som gödselmedel

Rötresten är den slutprodukt som lämnar biogasreaktorn tillsammans med biogasen. Den substrattyp som används i rötningen avgör vad rötresterna kallas. Restprodukten från rötning av matavfall, växtrester eller stallgödsel kallas *biogödsel* medan restprodukten från rötning av slam från avloppsreningsverk kallas *rötslam* (Schnürer & Jarvis 2017). Eftersom kolmängden minskar under röttningsprocessen sjunker också kol/kväve-kvoten (C/N). Det betyder att mängden kväve i förhållande till kol ökar och kvävet övergår i en mer växttillgänglig form (Salomon & Wivstad 2013). En rötrest med god sammansättning kan innehålla större mängder av makronäringsämnen (fosfor, kalium, svavel och ammonium), mikronäringsämnen (kalcium, magnesium, zink, koppar med mera) men också organiskt kol som är viktigt för en god markhälsa (Avfall Sverige 2014). Varken gröda eller markorganismer ska påverkas negativt av rötresten och kadmiummängden per kilo fosfor får inte överstiga den i mineralgödsel (Svenskt Vatten AB 2023). För att garantera att spårelement och oönskade ämnen inte ökar mer än 0,2%/år kan rötresten certifieras enligt SPCR 120 (biogödsel) eller Revaq (rötslam). (Energigas Sverige 2022) För SPCR 120 får det gro max 2 fröer eller växtdelar per liter fastgödsel (Avfall Sverige 2024).

1.3 Ogräs

Ogräs är oönskade växter av olika arter som uppträder på en plats med särskild användning. Ur lantbrukets synpunkt kan ogräs orsaka oönskade effekter såsom minskad avkastning när ogräset sprider sjukdomar, tar näring och vatten eller skuggar grödan. (Fogelfors 2015). Enligt certifieringen SPCR 120 kontrolleras det så att max 2 fröer eller växtdelar per liter fastgödsel gro, medan det för Revaq inte finns några sådana krav (Avfall Sverige 2024; Svenskt vatten 2024). Med ett ökat problem av invasiva, herbicidresistenta ogräsarter finns det en oro av att sådana arter skulle kunna spridas med biogödseln. Arterna i denna studie valde därför med hänsyn till deras spridning och etablering i det svenska lantbruket och av en önskan från anställda inom branschen att minska deras potens och spridningsförmåga.

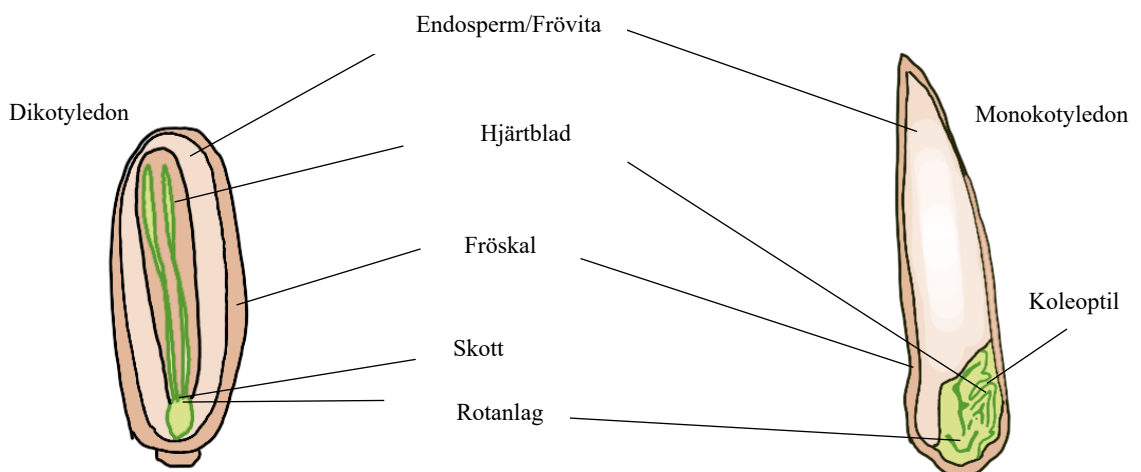
I följande avsnitt görs en litteraturgenomgång av: fröets morfologi (uppbyggnad, gröningsvila, fröskal, groning), ogräsfröns överlevnad i rötning och vattenbad samt fyra ogräsarter [hönshirs (*Echinochloa crus-galli*), renkavle (*Alopecurus myosuroides*), skräppa (*Rumex crispus*) och italienskt rajgräs (*Lolium multiflorum*)].

1.4 Fröet - morfologi, överlevnad i rötning och arter

1.4.1 Frö- morfologi

Fröets uppbyggnad

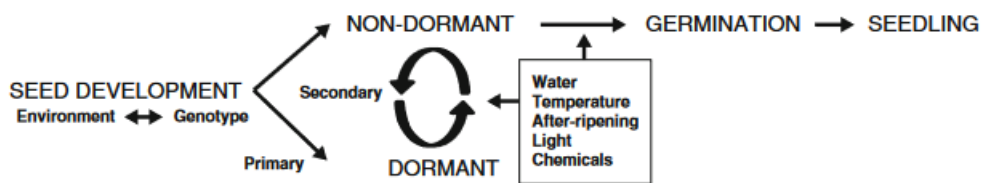
Frön är ett vilande organ som har mycket låg vattenhalt (5-15%) och består utav ett skal, näringsvävnad och ett embryo (Figur 4). Embryot är uppbyggt av flera komponenter, embryoaxeln med skott och rotanlag och en eller flera kotyledoner (hjärtblad). Det är dessa delar som sedan utgör själva plantan. Gräs är ett exempel på en monokotyledon, en växt med ett hjärtblad, medan till exempel betan (*Beta vulgaris*) är ett exempel på en dikotyledon, med två hjärtblad (Bewley et al. 2013; Fogelfors 2015). Endospermet, frövitån, är där näring såsom fett, protein och kolhydrater har ansamlats för att förse fröet med den näringen den behöver när embryot utvecklas inuti fröet eller när fröet ska gro (Fogelfors 2015). Men för vissa arter är det embryot som innehåller mest näringen medan det i betan är perisperm. Beroende på vilken typ av familj arten tillhör (mono- eller dikotyledon) kan endospermet förbrukas när embryot mognar. Oftast tar embryot upp den största volymen av fröet i en dikotyledon, medan endospermet är en majoritet av volymen i en monokotyledon. När en monokotyledon gro förbrukas inte endospermet i samma utsträckning utan finns kvar i det mogna fröet. Detta kan sedan förbrukas till dess att plantan är tillräckligt stor för att förse sig själv med hjälp av fotosyntes. För att fröet ska gro måste särskilda faktorer uppfyllas vilka kan vara olika för olika arter. Om dessa faktorer ej är uppfyllda går fröet i en *groningsvila* (Fogelfors 2015).



Figur 4 Frö av en dikotyledon (tvåhjärtbladig) och en monokotyledon (enhjärtbladig). I båda fröna går det att urskilja rotanlag, fröskal, hjärtblad samt endosperm/frövitån. Illustration: Elin Strömberg

Groningsvila

Fröns egenskaper såsom groningsvila är komplex och beror både på genetik och miljöfaktorer. Att ett frö är i primär groningsvila innebär att det inte kan gro under några omständigheter. Ett frö gro dock inte heller när den lämnat groningsvila om inte särskilda villkor är uppfyllda (Baskin & Baskin 2004). Dessa villkor är; korrekt mängd ljus, vatten och temperatur samt fröets ålder. Vad som är optimalt för groning skiljer sig mellan arter. (Bewley et al. 2013) Det finns dock förhållanden då ett frö inte groer trots att det ej är i groningsvila och trots optimala förhållanden. Då kan fröet ha gått in i en så kallad sekundär groningsvila. (Figur 5)

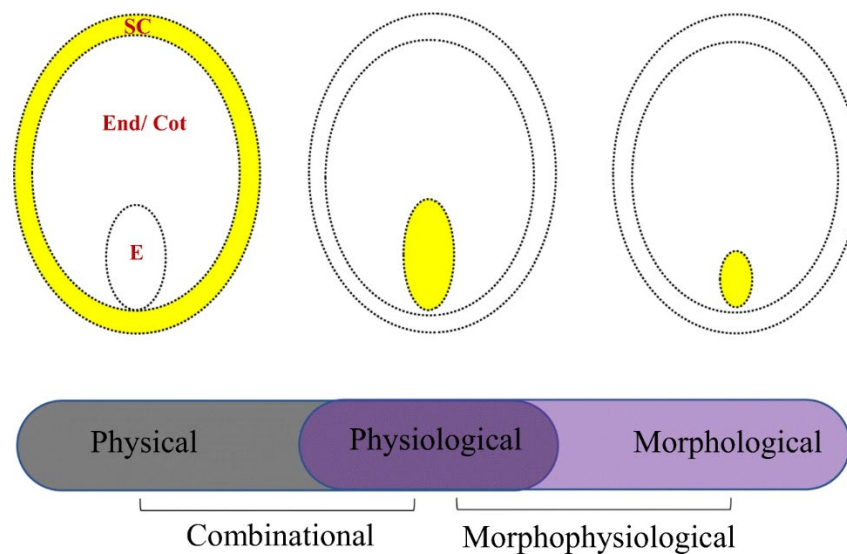


Figur 5 Schematisk och förenklad beskrivning av utvecklingen från frö till grodd. Fröets utveckling är beroende av både miljö och gener. Fröet kan gå in i en primär groningsvila som sedan, vid vissa förhållanden kan bli till en sekundär groningsvila. Denna bryts sedan av särskilda förhållanden vilket kan leda till att fröet groer. Bild (Bewley et al. 2013)

Groningsvilan kan i sin tur vara fysiologisk, morfologisk eller fysiomorfologisk, fysisk eller en kombination (Figur 6) (Baskin & Baskin 2014). Nedan följer en kort beskrivning av varje typ av groningsvila hämtad från Baskin & Baskin (2014).

- *Fysiologisk groningsvila* innebär att närvaron eller frånvaron av tillväxthormoner såsom gibberelin och abscisinsyra (abscisic acid) hindrar groning. Även tillgång på ljus, särskilda temperaturförhållanden, såsom vernalisering, det vill säga period av kyla, men också torka eller värme kan vara faktorer som inducerar eller bryter den fysiologiska groningsvilan.
- *Morfologisk groningsvila* innebär att det befruktade fröet inte har differentierat eller att embryot inte har utvecklats tillräckligt för att kunna gro.
- *Morfofysiologisk groningsvila* innebär att fröet först måste bryta den morfologiska groningsvilan och låta embryot utvecklas för att sedan bryta den fysiologiska groningsvilan eller tvärt om. Det kan vara samma typ av faktor som bryter både den morfologiska och den fysiologiska groningsvilan såsom värme, kyla, alternerande värme och kyla eller tillgång på vatten eller liknande.

- *Fysisk groningsvila* innebär att skalet har en skyddande barriär som hindrar vattenupptag. Fröet måste få en öppning i skalet för att ta in vatten. Denna öppning kan vara inbyggd i fröet, som en ”plugg”. Även skador på fröskalet kan orsaka vattenupptag vilket sedan spräcker fröskalet vilket gör att embryot kan gro.
- *En kombination av fysiologisk och fysisk groningsvila*. Där både skalet är hårt och vattenavstötande samtidigt som embryot också har en groningsvila. Exempel på detta är familjerna *Convolvulaceae*, och *Malvaceae*. Även här kan den ena groningsvilan brytas före den andra och tvärt om.



Figur 6 Illustration av de fem olika typer av groningsvila. Fysisk, fysiologisk, morfologisk, morfofysiologisk eller en kombination. Först beskrivet av Nikolaeva (1969) och förbättrad av Baskin and Baskin (2004). Anledningen till groningsvila visas i gult. E: embryo, End/Cot: Endosperm/kotyledon, SC: fröskalet. Bild: (Jaganathan 2020)

Det är viktigt att komma ihåg att frön från samma art eller till och med från samma planta kan erhålla olika färg, tjocklek på skal, grader av mognad och typer av groningsvila (Bewley et al. 2013, 248).

Fröskalet

I den fysiska groningsvilan går det att kategorisera frön som icke hårda (Non-hard seeded, NHS) eller hårda (Hard seeded, HS). De som är hårda kan stå emot vattenupptag i flera år trots att de är dränkta i vatten, medan icke hårda fröer kan suga upp vattnet genast. Skalet skyddar dessutom fröet från att brytas ned i matsmältningssystemet hos djur. Förutom hårdheten är även tjockleken en viktig aspekt. Till exempel så spelar tjockleken på fröskalet stor roll vid höga temperaturer, såsom vid en brand, eller för överlevnaden av djupt begravda fröer (Baskin & Baskin 2014) Även andra smarta funktioner såsom frön med vingar för

förflyttning med vinden, kardborreliknande borst som gör att de fastnar på djur eller smakliga oljor som attraherar myror för förflyttning är bara några exempel på hur skalet spelar en stor roll för fröets överlevnad (Bewley et al. 2013).

1.4.2 Ogräsfröns överlevnad

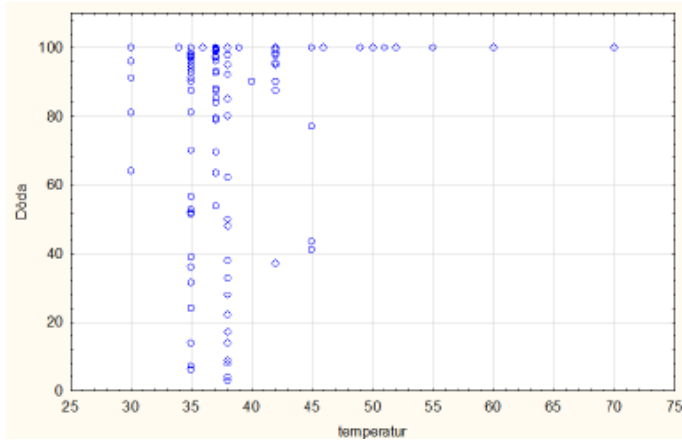
Rötning

Ogräsfröns överlevnad i mesofil och termofil rötning har studerats på flera håll i världen (Westerman et al. 2012b, a; Johansen et al. 2013; Westerman & Gerowitt 2013; Baute et al. 2016; Tanke et al. 2019; Zhou et al. (2020) med flera). I studierna har de testat olika arter av ogräs i olika temperaturer och tid. Svinmålla (*Chenopodium album*) och hönshirs (*Echinochloa crus-galli*) visade sig vara hårdig i flera experiment. Svinmålla kan beroende på källa överleva anaeroba förhållanden och mesofil temperatur från 128 till 720 timmar och hönshirs från 64 till 720 timmar. I termofila, anaeroba förhållanden dör de inom ett dygn (Leonhardt et al. 2010; Westerman et al. 2012a; Zhou et al. 2020). Frön från många andra arter, såsom åkerbinda (*Fallopia convolvulus*) och åkersenap (*Sinapis arvensis*) avdödas inom 42 timmar i en mesofil biogasreaktor (Westerman et al. 2012a; Johansen et al. 2013). Westerman et al. (2012b) hittade en korrelation mellan frön med hårt skal (fysisk groningsvila) och ökad överlevnad efter rötning i en biogaskammare. I denna kategori passar inte svinmålla eller hönshirs in enligt Westerman et al. (2012b) och Hahn et al. (2022), trots att de i några studier visade högst överlevnadsstatus (Katovich & Becker 2004; Leonhardt et al. 2010; Zhou et al. 2020; Schrade et al. 2003.) Det går emellertid att läsa sig till i Bewley et al. (2013) och Baskin & Baskin (2014) att arter i familjen *Chenopodiaceae*, dit svinmålla hör, och *Convolvulaceae*, uppvisar fysisk groningsvila vilket talar emot Westerman et al (2012b) och Hahn et al (2022). Westerman & Gerowitt (2013) såg också en positiv korrelation mellan ett arts överlevnad i jorden med ökad överlevnad i en biogasreaktor. Enligt författarna är det inte särskilt förvånande då fröna i båda systemen utsätts för nedbrytning från mikroorganismer. Generellt sätt påverkas fröernas överlevnad av en kombination av temperatur och tid som visats av Strömberg (2023), se nedan.

Rötning - ansats till metaanalys

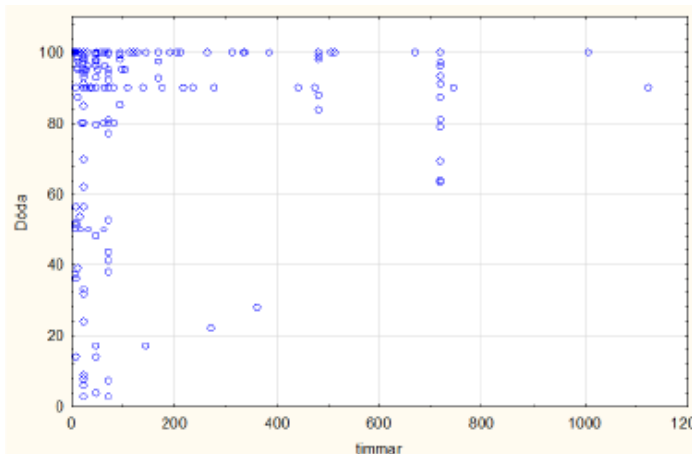
Strömberg (2023) använde data från 19 källor för att sammanställa resultat från 342 mätningar av frön från 66 arter utsatta för anaeroba förhållande i mesofila och termofila temperaturer mellan 30-70°C. Fyra olika typer av metoder kunde urskiljas (tre i en biogasreaktor och en i tempererat vattenbad, utan de hydrolytiska förhållandena som finns i en röttningsprocess). I litteraturen fanns det mellan 0–100% överlevande arter och tider mellan 0,17 timmar (10 minuter) till över 8760 timmar (365 dagar).

I figur X1 sammanfattar Strömberg (2023) information om 66 arter och deras dödlighet beroende på temperatur oberoende av tid och reaktortyp. Det fanns inga överlevande frön över 45 °C.



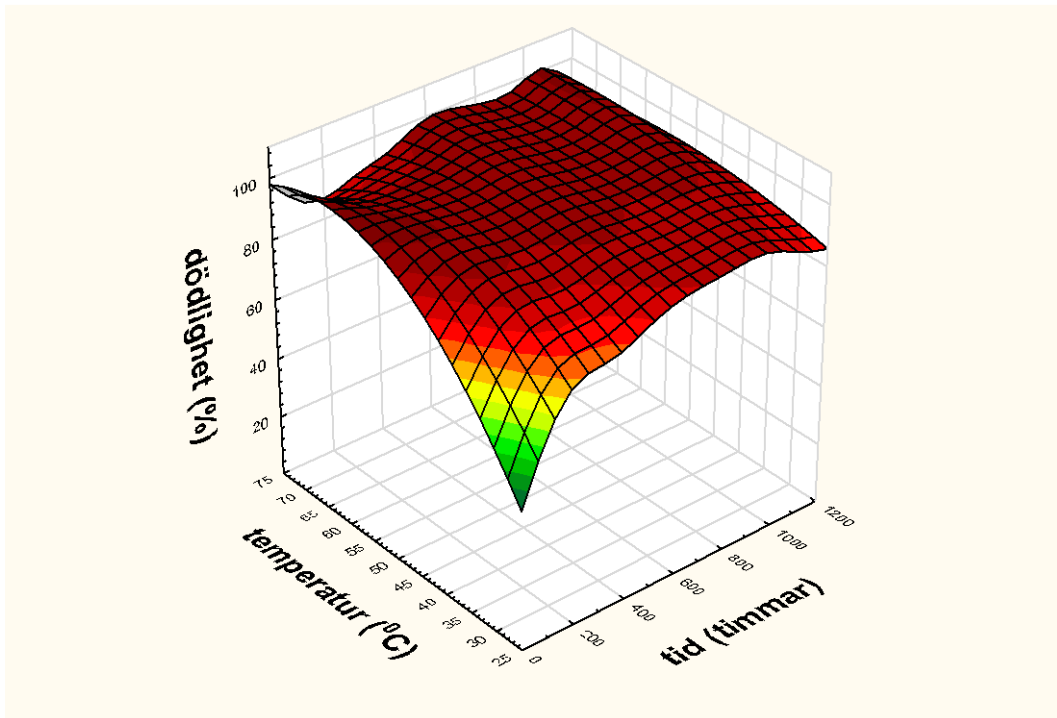
Figur X1 Sammanfattning av dödlighet (%) för alla ogräsfrön som funktion av temperatur (°C). Strömberg (2023)

I figur X2 visar Strömberg (2023) i stället dödligheten över tid, oberoende av temperatur eller reaktortyp. 42% av ogräsfröna dog (DC90) inom 100 timmar och 75% dog (DC90) inom 720 timmar.



Figur X2. Dödlighet (%) för alla ogräsfrön som funktion av tid (h). Strömberg (2023).

Figur X3 sammanfattar dödligheten hos ogräsfrön som funktion av temperatur och tid. Figuren är framtagen från ovan nämnda mätvärden. Dödligheten ökade med högre temperatur och/eller längre retentionstid (Strömberg 2023). Fynden ligger till grund till denna studies frågeställning och metod då samspelet mellan temperatur och tid påverkade frönas överlevnad. Det var oklart i studierna som sammanfattas av Strömberg (2023) huruvida vattenbad skulle kunna agera som indikator för rötning, vilket därför också valdes att studeras närmare i denna studie.



Figur X3. 3D plot som visar dödligheten hos frön i relation till temperatur (25-70°C) och retentionstid (0-1400 timmar) från flera olika växtarter. Strömberg (2023)

Vattenbad

I en studie av Baier (1997) testades frön både i en anaerob miljö av slam och i vattenbad vid temperaturerna 60°C, 65°C och 70°C. I studien visade sig fröna överleva en längre tid vid de lägre temperaturerna oberoende av om fröna låg i slam eller i vatten, men alla var döda inom 70 minuter vid 65°C och majoriteten vid 60°C. Enligt Westerman & Gerowitt (2013) kan vattenbad vara ett bra sätt att kontrollera en arts maximala överlevnadstid i en viss temperatur under en viss tid utan att kräva avancerade biogasreaktorer. Engeli et al. (1993) skriver att det huvudsakligen är hydrolysen i rötningen spelar roll för avdödandet av fröna utöver temperatur och tid.

Hygienisering

Endast en studie tycks ha studerat överlevnad i 70 °C (Dahlquist et al. 2007). I denne studie testades överlevnaden av frön i så kallad solarisering, vilket är nedgrävda frön i het jord. Vid 70°C dog alla arter som studerades inom 10-40 minuter.

1.4.3 Skräppa

Skräppan är en meterhög, flerårig ört med en djup pålrot (Figur 7) (Lindgren 2016). Till skillnad från de andra tre studerade arterna uppvisar skräppa inga herbicidresistenta egenskaper. Dess stora utbredning och konkurrensförmåga i vall och bete samt i grödor efter vall, främst i ekologisk odling, tillsammans med frönas långa livslängd i marken (upp till 80 år) gör den konkurrenskraftig och intressant att ta med i denna studie (Cavers & Harper 1964; Zaller 2004). Fröna kan variera i storlek men är oftast mellan 2-3 mm långa och 1-2 mm breda. Skräppa grov oftast tidig vår eller höst när det är en fluktuation av temperatur och ljus. Fröna grov bäst på en fuktig markyta och en temperatur mellan 20-30 °C (Zaller 2004). Ofta är grobarheten hög, över 80%, men det finns stora variationer mellan plantor och även inom samma planta (Cavers & Harper 1964; Weaver & Cavers 1979). Skräppan har visat sig ha en grobarhet på 14% i en mesofil biogasprocess efter tre dagar (Leonhardt et al. 2010). En annan studie påvisade att grobarheten för tomtskräppa (*Rumex obtusifolius*) ökade efter 15 minuter i 45°C. Den har även visat sig gå in i en sekundär groningsvila om temperaturen är 30°C och fröet befinner sig i mörker (Baskin & Baskin 2014).



Figur 7 Krusskräppa "*Rumex crispus plant3*" Foto: Harry Rose

1.4.4 Renkavle

Renkavle är ett vinterannuellt gräsogräs som i många decennier varit ett stort problem i stora delar av Västeuropa då den visar stark herbicidresistens. Sverige var fri från resistent renkavle till 2011 då den första herbicidresistenta renkavlen upptäcktes (Ahmad et al. 2021). Eftersom renkavle främst grov på hösten så uppförökas den i de odlingssystem där höstgroende grödor dominerar. Renkavle har en mycket kort primär groningsvila som varierar mellan några dagar till ett par veckor (Menegat 2023). Tillgången på ljus och fukt bryter groningsvilan (Ahmad et



Figur 8 Renkavle "*Alopecurus myosuroides*" Foto: Юрий Данилевский (Yuriy Danilevsky)

al. 2021). Endast 1-3% av fröna som nått den sekundära gröningsvilan överlever 3 år (Moss 2013). Den optimala temperaturen för groning varierar mellan 8 °C till 20 °C. Eftersom att renkavle är korspollinerande så kan grobarheten variera kraftigt (Moss 2013). Enligt Moss (2013) är den mellan 40-60% medan Andersson & Åkerblom Espeby (2009) påvisar en grobarhet upp mot 73%.

1.4.5 Italienskt rajgräs

Italienskt rajgräs är ett vanlig ettårigt och ibland flerårigt gräs som oftast odlas i vall som foder. Gräset är mycket konkurrenskraftigt och fyller ut luckor i beståndet (Nationalencyklopedin 2023). År 2021 upptäcktes de första fallen av resistens i italienskt rajgräs i Skåne. Ett problem som redan funnits i Danmark i 10 år (ATL 2021). I England har den varit ett problem i minst 20 år. (Väderstad 2021) Trots att den odlas som gröda kan den bli invasiv och oönskad. Fröna gror bäst på markytan och grobarheten minskar med djupet. Frön djupare än tio cm gror inte alls (Beckie & Jasieniuk 2021). Likt renkavle är den primära gröningsvilan mycket kort, endast några veckor och endast 15-30 % överlever till nästa säsong. Maximal gröningsvila tros vara runt fyra år (Beckie & Jasieniuk 2021). Grobarheten är hög, upp mot 90-95% (Rutledge et al. 1998).



Figur 9 Italienskt rajgräs. "Lolium multiflorum plant4"
Foto: Harry Rose

1.4.6 Hönshirs

Hönshirs är herbicidresistent annuellt och perenn gräsgräs med C4 egenskaper vilket gör att den trivs i varma klimat (Bajwa et al. 2015; Narayana Rao 2021). Enligt jordbruksverket (2022) sprider sig ogräset i delar av Sverige, främst i sockerbetor och majs eller andra grödor med svag konkurrenskraft. Grödan kan producera upp mot 20 000 frön per planta. Den primära gröningsvilan varierar kraftigt. Färska frön hade endast en grobarhet på 0,3-1,4% medan frön som hade förvarats i 4-8 månader hade en grobarhet på 19% och 44% respektive (Maun & Barrett 1986). Den optimala temperaturen för groning är variationen



Figur 10 Hönshirs "Echinochloa crus-galli plant14" Foto:
Harry Rose

mellan 5 °C och 30 °C. Huruvida hönshirs uppvisar stark eller svag fysisk groningsvila beror till stor del på mognadsgraden. Ett frö som är färskt uppvisar mindre benägenhet att gro genom att stoppa vattenupptag medan ett 150 dagar gammalt torrt frö lättare tar upp vatten och gro (Song et al. 2015). Som nämnt i avsnitt 1.4.2 så kan hönshirs enligt olika studier överleva en mesofil, anaerob rötningsprocess i 64 och 72 timmar (Leonhardt et al. 2010; Zhou et al. 2020) I termofila, anaeroba förhållanden dör de inom ett dygn. (Leonhardt et al. 2010; Westerman et al. 2012a; Zhou et al. 2020).

1.5 Syfte

Syftet med studien var att undersöka om frön från arterna renkavle, skräppa, hönshirs och italienskt rajgräs överlevde rötning och vattenbad vid mesofil (37°C) och termofil temperatur (52°C) för att utvärdera risken för spridning av dessa arter på åkermark via rötresten. Arterna valdes pga. att de utgör besvärliga ogräs och att tre av dessa (hönshirs, renkavle och italienskt rajgräs) uppvisar herbicidresistenta egenskaper vilket kan skapa stora problem vid bekämpning.

1.6 Frågeställningar

- Överlever frön från hönshirs, italienskt rajgräs, renkavle och skräppa och finns det skillnader i överlevnad mellan arterna vid behandling i:
 - Vattenbad vid 70°C i en timme?
 - Rötning vid 37°C under 2,5,10,15 eller 30 dagar?
 - Vattenbad vid 37°C under 2,5,1,0,15 eller 30 timmar
 - Rötning och vattenbad vid 52°C under 2,5,10,15 eller 30 timmar?
- Ökar dödligheten med ökad temperatur och/eller tidsintervall?
- Är dödligheten för arterna densamma i rötning och vattenbad vid samma temperatur och tidsintervall?
- Går det att använda vattenbad som ett enklare sätt att skatta ett frös maximala överlevnadstid i en rötningsprocess vid en viss temperatur och tidsintervall?

1.7 Avgränsningar

I denna studie studeras ogräsarterna renkavle, skräppa, hönshirs och italienskt rajgräs då fler arter hade gjort att arbetet hade tagit längre tid. Ogräsarterna rötades

i max 30 dagar då detta ansågs som en representativ retentionstid, som idag används i moderna biogasanläggningar. Endast två temperaturer testades i en biogasreaktor (37°C och 52°C) då dessa är de vanligaste rötningstemperaturerna för mesofil och termofil rötning i svenska biogasanläggningar. Fröna testas också i vattenbad vid samma temperaturer. Även en pastöriseringstemperatur (70°C) i en timme testades. Substratets egenskaper såsom TS och VS-halt eller pH och ammoniakhalt undersöktes inte på grund av arbetets omfattning. I stället låg fokus på tidsintervall och temperatur samt skillnaden mellan rötning och vattenbad. Samma tid, temperatur och antal fototimmar användes för alla arter i klimatskåpen vid groningen och tetrazoliumtest trots att optimum troligtvis är olika för de olika arterna. Detta för att minska mängden klimatskåp som användes och för att minska arbetsbördan.

Material och metod

Röttningsprocessen var upplagd som ett tvåfaktoriellt försök med tre upprepningar.

I försöket testades arterna i två temperaturer, 37°C (mesofil) och 52°C (termofil) i rötning samt i vattenbad i tre upprepningar. För rötning testades 5 olika tidsintervaller. 2, 5, 10, 20 och 30 dagar för mesofil rötning och 2, 5, 10, 15 och 30 timmar i termofil rötning. I vattenbad behandlades fröna i både mesofil och termofil temperatur i 2, 5, 10, 15 och 30 timmar. Fröna testades också i en hygieniseringstemperatur på 70 grader i ett vattenbad i en timme. Även här i tre upprepningar.

2.1 Frömaterial

Den 15 till 20 juli 2023 samlades frön från arterna hönshirs (*Echinochloa crus-galli*), renkavle (*Alopecurus myosuroides*), skräppa (*Rumex spp.*) och italienskt rajgräs (*Lolium multiflorum*) i Halland och Skåne i Sverige och Danmark (Tabell 1). Fröna samlades in genom att försiktigt skaka varje fröställning ner i en behållare. Totalt samlades frön från 100 plantor/art på samma dag och plats för att minska risken för stora variationer. Fröna skördades innan de drösade. Det ska dock påpekas att renkavlen drösade vid tiden för insamling. Italienskt rajgräs hade inte gått i ax vid tillfället för insamling. Därför beställdes det frön från Svenska Foder AB, som odlats i Danmark. Om dessa fröer kommer från samma plats eller är blandade från andra fält är okänt (Tabell 1)

Tabell 1 Plats för insamlingen av fröna hönshirs, skräppa, italienskt rajgräs, renkavle

Art	Plats
Hönshirs	Falkenberg, Halland SWEREF99 TM (nord, öst): 6314388, 345672 WGS84: 56°56'50.4"N 12°27'46.0"E
Skräppa	Falkenberg, Halland SWEREF99 TM (nord, öst): 6314599, 345338 WGS84: 56°56'56.8"N 12°27'25.8"E
Italienskt rajgräs	Danmark Företag: Svenska Foder AB. Sort Turgo Pajbjerg
Renkavle	Ängelholm, Skåne SWEREF99 TM (nord, öst): 6228012.390 346700.070 WGS84: 56°17'24.0"N 12°53'07.1"E

Fröna förvarades torrt och i öppna behållare den första månaden efter insamlingen. Därefter har insamlingen förvarats mörkt, torrt och svalt (4°C). Före de olika behandlingarna testades frönas vitalitet för att kunna jämföra hur behandlingen påverkade de olika arterna (kontrollgrupp).

2.2 Groning och vitalitet (livskraft)

2.2.1 Sundhetstest – sterilisering av fröskal

För att utvärdera frönas sundhet innan start av försöken genomfördes ett enkelt groningstest (se beskrivning av groningstest nedan). Hönshirs visade en hög risk för svampangrepp då över 90% av testade frön hade synligt mycel och sporangier efter 7 dagar. De andra arterna, vars frön inte hade grott inom 10 dagar, visade också tecken på svampangrepp. Därför steriliserades frönas skal innan groningstestet. Det yttersta skalet på skräppa skalades av innan varje art placerades i varsitt 15 ml Falconrör med skruvkork. Sju ml av en lösning med 1% natriumhypoklorit och 0,02% Triton X-100 pipetterades ner i Falconrören med fröna. Hönshirsfröna behandlades i 5 minuter medan fröna från övriga arter behandlades i 2 minuter. Rören skakades om med jämna mellanrum. Fröna sköljdes sedan i vatten i cirka en minut och genomgick därefter groningstestet.

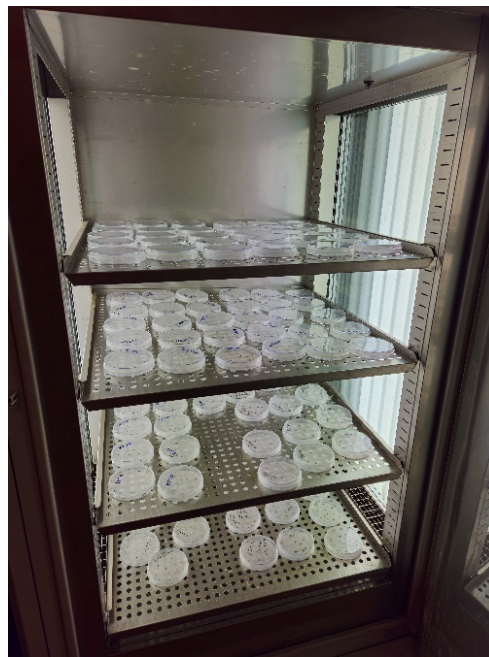
2.2.2 Bestämning av groning och vitalitet (livskraft)

Livskraft hos fröna testades i två steg. Först gjordes en groningstest, se beskrivning nedan. Livskraften hos de frön som inte hade grott, testades därefter genom ett tetrazoliumtest, se beskrivning nedan. Sedan summerades antal frön som hade grott

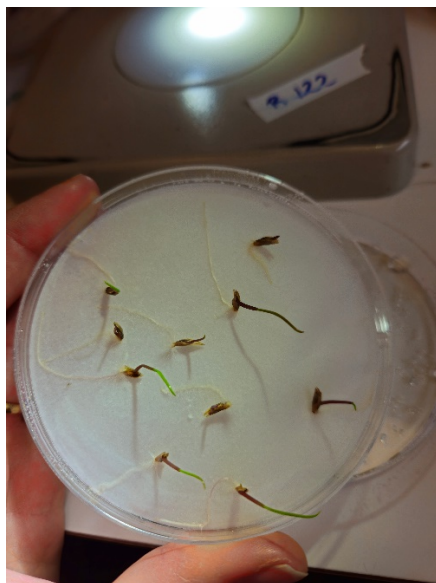
med de frön som visades vara levande i terazoliumtestet för att få en skattning av totala vitaliteten hos frömaterialet för respektive art.

2.2.3 Groningstest

Trettio steriliserade frön/art placerades i tre stycken, petriskålar (nio cm i diameter) med tio frön i varje petriskål. Fröna lades på ett Munktell filterpapper fuktat med cirka två ml vatten. Petriskålarna plastades in med parafilm för att förhindra uttorkning och markerades med art, replikat (1-3) och behandling. Petriskålarna placerades därefter i en odlingskammare med följande förhållanden: 20°C (dag) 4°C (natt) och 16 timmars fotoperiod (Figur 11). Frönas groning kontrollerades med ett intervall på cirka fyra dagar till och med 20 dagar eller fram till och med alla frön hade grott (Figur 12). Fröna fuktades vid behov med mer vatten. Vid varje tillfälle räknades mängden grodda frön och avlägsnades därefter. Ett frö ansågs ha grott när primära roten kommit ut 1-2 mm. Vitaliteten av frön som inte hade grott efter 20 dagar testades därefter med ett tetrazoliumtest, se nedan.



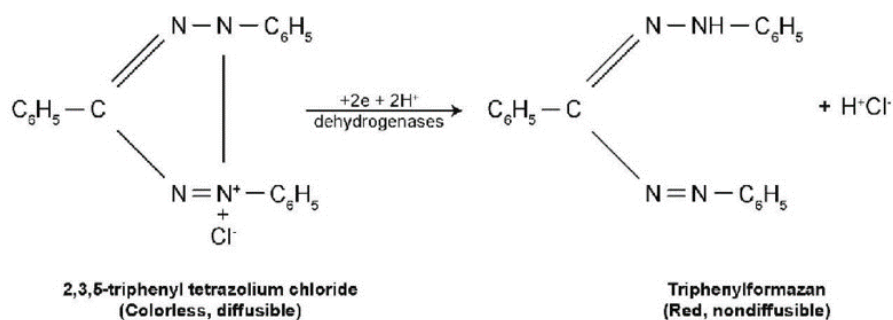
Figur 11 Frön på fuktade filterpapper i petriskålar placerades i en odlingskammare vid 20°C under 16 timmar/dygn och vid 4 °C 8 timmar/dygnet. Foto: Elin Strömberg



Figur 12 Frön som grott där primärrot och hjärtblad tydligt kunde skönjas efter att ha legat i odlingskammare vid 20°C under 16timmar/dygn och vid 4 °C 8 timmar/dygn. Foto: Elin Strömberg

2.2.4 Tetrazoliumtest

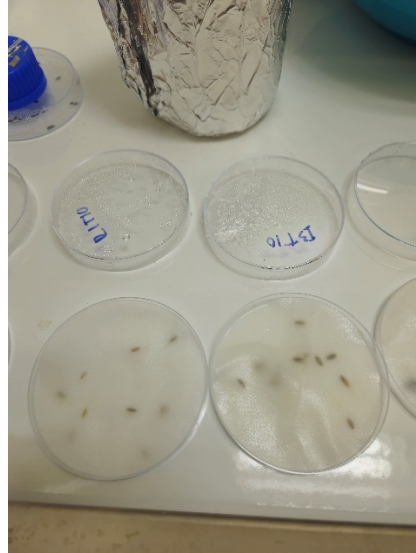
Alla levande frön innehåller enzymet dehydrogenas. Enzymet skapar fria vätejoner som reducerar det färglösa ämnet tetrazolium (TTC) (2,3,5-trifenyltetrazoliumklorid) till det röda ämnet formazan (Figur 13). Formazan färgar därför respirerande (levande) fröer röda (Figur 15) medan icke respirerande (döda) förblir färglösa eller färgas lätt rosa (Figur 16) (Sabry & Garay u.å.)



Figur 13 Reduktionsreaktionen som resulterar i att tetrazoliumsaltet färgar celler i levande frön. Anpassad efter Peters (2007n). Illustration: Thais Sofia Ribeiro Santos.

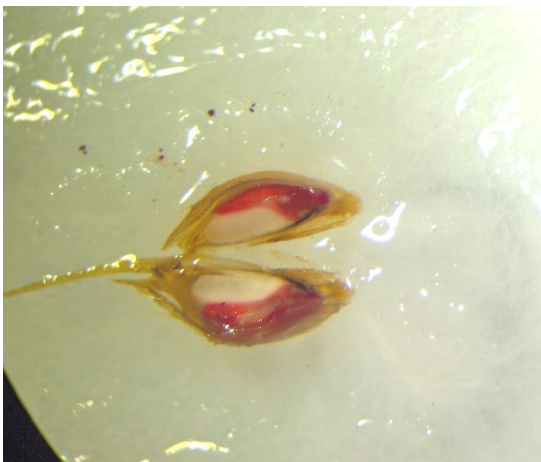
För att TTC ska tränga in i fröet måste fröna vara fuktade. Eftersom fröna redan genomgått ett groningenstest så är fröna tillräckligt fuktade för att genomföra testet direkt.

Fröna placerades mellan två filterpapper och blötlades med 3 ml 1% TTC. Petriskålarnas lock lades på och förslöts med parafilm och inkuberades i en odlingskammare i mörker i 35 grader under 20 timmar (Figur 14)



Figur 14 Frön som testas med tetrazolium (2,3,5- trifenyltetrazoliumklorid (TTC)) placerades mellan två filterpapper. Tre ml TTC pipetterades över filterpapperna. Foto: Elin Strömberg

Varje frö studerades sedan med hjälp av en stereolupp. Genom att dela fröet på längden med en skalpell kunde embryot blottas. Antal röda embryo (levande) Figur 15 och vita och/eller rosa embryon (döda) (Figur 16) räknades. Frön som var tomma eller ruttna räknades som döda.



Figur 15 Levande (respirerande) frö av hönshirs (*Echinochloa crus-galli*) där embryot rödfärgats av tetrazolium. Foto: Elin Strömberg.



Figur 16 Dött (icke respirerande) frö av italienskt rajgräs (*Lolium multiflorum*) där embryot ej färgats av tetrazolium. Foto: Elin Strömberg.

2.3 Försök

2.3.1 Kontroll

För att skatta livskraften hos frömaterialet innan start av försöken testades groningen och vitalitet hos 30 frön (10 frön x tre upprepningar) från varje art (hönshirs, italienskt rajgräs, renkavle och skräppa), se vidare avsnitt ”2.2.3 Groningstest” och ”2.2.4 Tetrazoliumtest”.

2.3.2 Hygienisering

Trettio frön (10 frön x tre upprepningar) från varje art (hönshirs, italienskt rajgräs, renkavle och skräppa) placerades i påsar och genomgick ett hygieniseringstest (vattenbad vid 70°C under 1 timme). Därefter skattades livskraften (groning och vitalitet) hos frömaterialet, se vidare avsnitt ”2.2.3 Groningstest”, ”2.2.4 Tetrazoliumtest” och ”2.3.4 Vattenbad”.

2.3.3 Rötning

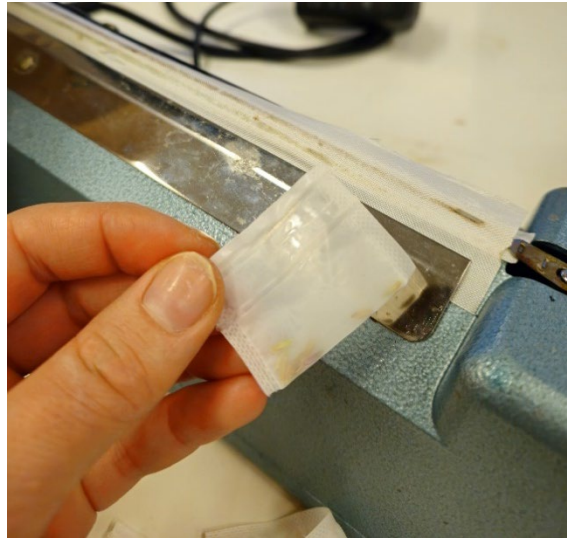
Försöksupplägg

Försöket var upplagt som ett randomiserat trefaktoriellt försök med tre upprepningar.

I försöket användes: (i) frön från fyra arter (hönshirs, italienskt rajgräs, renkavle och skräppa), (ii) två temperaturer, 37°C (mesofil) och 52°C (termofil) i rötning i tre upprepningar och (iii) fem olika tidsintervaller: 48, 72, 240, 360 och 720 h (motsvarar 2, 5, 10, 20 och 30 dagar) för mesofil rötning respektive 2, 5, 10, 15 och 30 timmar för termofil rötning.

Rötningprocessen

För varje art fylldes trettio småmaskiga påsar med tio frön/påse vilket gav 120 påsar totalt. Efter det att fröna placerats i påsarna förslöts de med hjälp av en värmepress (Figur 17). Påsarna var tillverkade i värmetålig finmaskig polyester som tillät substratet att flöda in och ut medan fröna förblev kvar i påsarna. Tre påsar av varje art, med tio frön i varje påse placerades i varsin 250 ml flaska. Cirka 150 ml material från en biogasprocess (rötrest), tillräckligt för att täcka påsarna med fröna, användes per flaska. Rötresten hämtades från Lövsta biogasanläggning i Uppsala.



Figur 17 Påse fylld med 10 frön försluten med värmepress (i bakgrunden) Foto: Elin Strömberg

När röttesten hölls ner över fröna startade behandlingstiden. Flaskorna förslöts med en gummipropp och aluminiumkork. Anaerob miljö skapades genom att flaskorna ”flushades” med kvävgas, dvs sedan genom att varva utpumpning av luft och inpumpning av kvävgas (Figur 18).



Figur 18 Fyra flaskor fyllda med ca 100 ml substrat och tre replikat av samma art, flushas genom att varva utpumpning av luft och inpumpning av kvävgas.

Flaskorna placerades sedan antingen i ett rum i 37°C eller i ett inkubationsskåp i 52°C. I båda fallen stod flaskorna på en skak vid 130 varv/minut (rpm), som rörde runt substratet i flaskorna (Figur 19).



Figur 19 Flaskor fyllda med substrat placerade i en ugn på en skak i 52°C. Foto: Elin Strömberg

Flaskor plockades ut efter 2, 5, 10, 15 och 30 dagar (mesofil rötning) respektive 2, 5, 10, 15 och 30 timmar (termofil rötning). Flaskorna öppnades och tömdes ovanför en sil och påsarna med fröna sköljdes med ljummet vatten (Figur 20). Fröna sköljdes rena med vatten och fick sedan genomgå groning- och tetrazoliumtest, se avsnitt 2.2.3 och 2.2.4.



Figur 20 Flaskorna med substrat tömdes ovanför en sil och påsarna med fröna sköljdes med ljummet vatten. Foto: Elin Strömberg

2.3.4 Vattenbad

Försöksupplägg

Försöket var upplagt som ett randomiserat trefaktoriellt försök med tre upprepningar.

I försöket testades arterna (hönshirs, italienskt rajgräs, renkavle och skräppa) vid två temperaturer, 37°C (mesofil) och 52°C (termofil) under 2, 5, 10, 15 och 30 timmar.

Vattenbadsprocess

För varje art fylldes trettio småmaskiga påsar med tio frön/påse vilket gav 120 påsar totalt. Efter det att fröna placerats i påsarna och förslutits sänktes de ned i ett vattenbad med en jämn temperatur av 37°C respektive 52°C. Detta åstadkoms genom att placera en doppvärmare med en rotor i en 5 liters hink. Efter utsatt tid togs fröpåsarna upp från vattenbadet och fröna sköljdes av. Fröna genomgick sedan groning- och tetrazoliumtest, se avsnitt 2.2.3 och 2.2.4.



Figur 21 Tre upprepningar av samma art placerades i ett vattenbad. Vattenbadets temperatur uppnåddes med hjälp av en sous vide placerad i en hink med ca 8 liter vatten. Gallret var till för undvika att fröna skulle fastna eller sugas in i apparaten. Foto: Elin Strömberg

2.3.5 Totalt antal levande frön

Totalt antal levande frön före och efter utförda behandlingar räknades ut genom att dela summan av den sammanlagda antalet grodda frön från grobarhetstestet och de frön som färgades rött (respirerande) från TTC, med det totala antalet frön som testades.

$$Vitalitet = \frac{\Sigma \text{Grodde frön} + \Sigma \text{Frön i gröningsvila}}{\Sigma \text{Antal frön testade}}$$

Formeln beskriver andelen levande frön i en uppsättning antingen före eller efter den anaeroba rötningen ägt rum. $\Sigma \text{Grodde frön}$ beskriver den andel av fröna som grodde efter 21 dagar i grönningstestet, $\Sigma \text{Frön i gröningsvila}$ beskriver de fröer där embryot färgades rött i tetrazoliumtestet och $\Sigma \text{Antal frön testade}$ är de totala antalet frön som testades.

2.4 Statistisk analys

Materialet utvärderades med hjälp av statistikprogrammet SAS version 9.4 med proceduren logistic (SAS institute 2015). Temperatur (2), art (4) och tid (5) analyserades som kategoriska variabler. En generaliserad linjär modell användes för att modellera andelen grodda och levande frön med en binomial fördelning och logit-länk. Modellen innehöll alla huvudeffekter och samspel samt parvisa jämförelser. Parvisa jämförelser analyserades med Tukeys metod. Om $p < 0,05$ anses det föreligga en statistiskt signifikant effekt. Firth penalized likelihood användes. Eventuell överspridning justerades med pearson goodness-of-fit.

Resultat

3.1 Kontroll

I kontrolltestet hade skräppa och italienskt rajgräs högst grobarhet och vitalitet (95% och 92%) (Tabell 2). Grobarhet och vitalitet hos hönshirs låg på 70% respektive 76% medan renkavle hade relativt låg grobarhet (40%) och vitalitet (46%).

Tabell 2 Grobarhet (%) och vitalitet (%) hos arterna i kontrolltestet angivna i medel med konfidensintervall.

Kontroll		Groning hos frön			Vitalitet hos frön		
		Medel	Nedre KI 95%	Övre KI 95%	Medel	Nedre KI 95%	Övre KI 95%
Art	Hönshirs	0,703 ^a	0,425	0,884	0,766 ^{ab}	0,554	0,896
	Ital. rajgräs	0,920 ^a	0,610	0,988	0,920 ^a	0,712	0,981
	Renkavle	0,403 ^a	0,183	0,671	0,468 ^b	0,276	0,670
	Skräppa	0,952 ^a	0,612	0,996	0,952 ^a	0,738	0,993

3.2 Hygienisering

Alla frön från de fyra arterna var döda efter behandling med vattenbad under 1 timme i 70°C (standardiserad hygieniseringstid).

3.3 Rötning vid 37°C

Vid rötning av ogräsfröna vid 37 °C fanns inga signifikanta skillnader mellan art, tid och art*tid för groningen och vitalitet. Groning och vitalitet låg i genomsnitt på ca

2-8% för de fyra arterna (hönshirs, italienskt rajgräs, renkavle och skräppa) och i genomsnitt på 2-14% över tid (48-720 h).

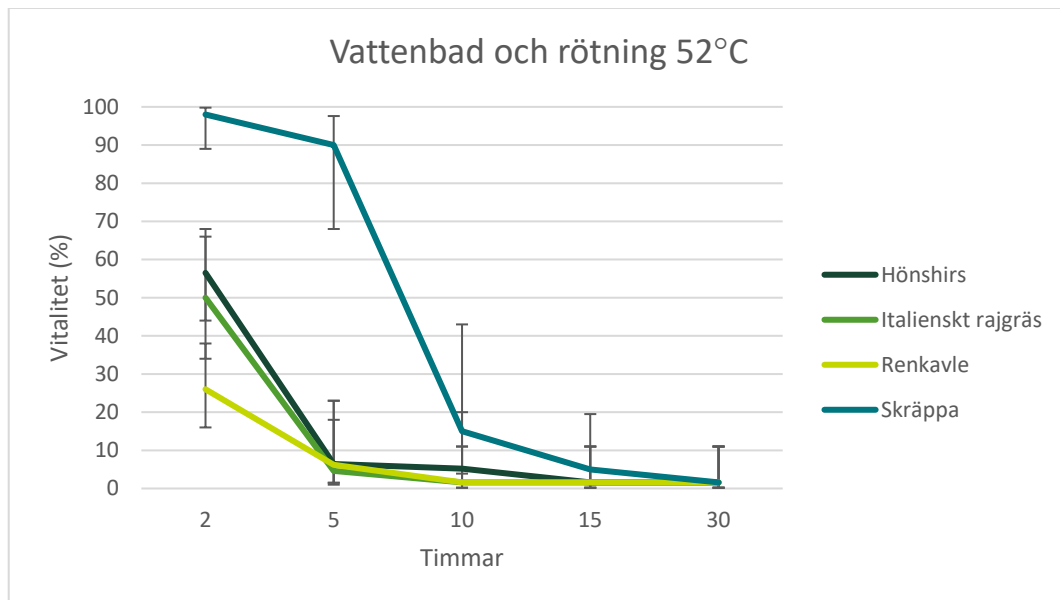
3.4 Rötning och vattenbad vid 52°C

Det fanns signifikanta skillnader för både groningen och vitalitet för faktorerna behandling, art, och tid. För vitalitet hittades även signifikans för samspelet art*tid. Groning och vitalitet var signifikant högre i vattenbad jämför med rötning. Skräppa hade signifikant högre groningen och vitalitet jämfört med de andra arterna vid 52°C över tid. Även tidsintervallen skilde sig signifikant åt med en högre grobarhet och vitalitet vid de första två mätpunkterna (2 och 5 timmar). Därefter minskade groningen och vitalitet med tiden. Efter 10 timmar var vitalitet och grobarhet mycket låg (<4%) (Tabell 3)

Tabell 3 Skattade medelvärden samt övre och undre konfidensintervall (KI) för groningen och vitalitet. Försök med temperatur 52°C med faktorerna: behandling (rötning och vattenbad), art (hönshirs, italienskt rajgräs, renkavle och skräppa) och tid (2, 5, 10, 15 och 30 h). Olika bokstäver indikerar signifikanta skillnader ($P < 0.05$) mellan skattade medelvärden inom respektive faktor.

Temperatur 52°C		Groning hos frön			Vitalitet hos frön		
		Medel	Nedre KI 95%	Övre KI 95%	Medel	Nedre KI 95%	Övre KI 95%
Metod	Rötning	0,044 ^a	0,025	0,076	0,049 ^a	0,028	0,084
	Vattenbad	0,133 ^b	0,085	0,200	0,145 ^b	0,094	0,217
Art	Hönshirs	0,058 ^a	0,029	0,083	0,062 ^a	0,032	0,120
	Ital. rajgräs	0,040 ^a	0,019	0,083	0,044 ^a	0,021	0,091
	Renkavle	0,034 ^a	0,016	0,071	0,038 ^a	0,018	0,079
	Skräppa	0,362 ^b	0,209	0,550	0,382 ^b	0,223	0,571
Tid	2	0,643 ^a	0,504	0,762	0,696 ^a	0,566	0,801
	5	0,153 ^b	0,078	0,277	0,176 ^b	0,092	0,310
	10	0,034 ^c	0,014	0,080	0,038 ^c	0,016	0,088
	15	0,022 ^c	0,008	0,054	0,022 ^c	0,008	0,054
	30	0,016 ^c	0,006	0,043	0,016 ^c	0,006	0,043

Italienskt rajgräs och renkavle visade inga tecken på vitalitet vid 10 timmars behandling. Hönshirs var helt avdöd vid 15 timmar. Skräppan var helt avdöd vid 30 timmar med en signifikant skillnad mellan 2-10 timmar, 2-15 timmar, 2-30 timmar, 5-10 timmar, 5-15 timmar, 5-30 timmar medan 10-15 timmar, 10-30 timmar och 15-30 timmar inte är signifikant skilda från varandra (Figur 22)



Figur 22 Vitalitet (%) för alla arterna i 52°C av behandlingen vattenbad och rötning efter tiden 2,5,10,15 och 30 timmar.

3.5 Vattenbad vid 37°C och 52°C

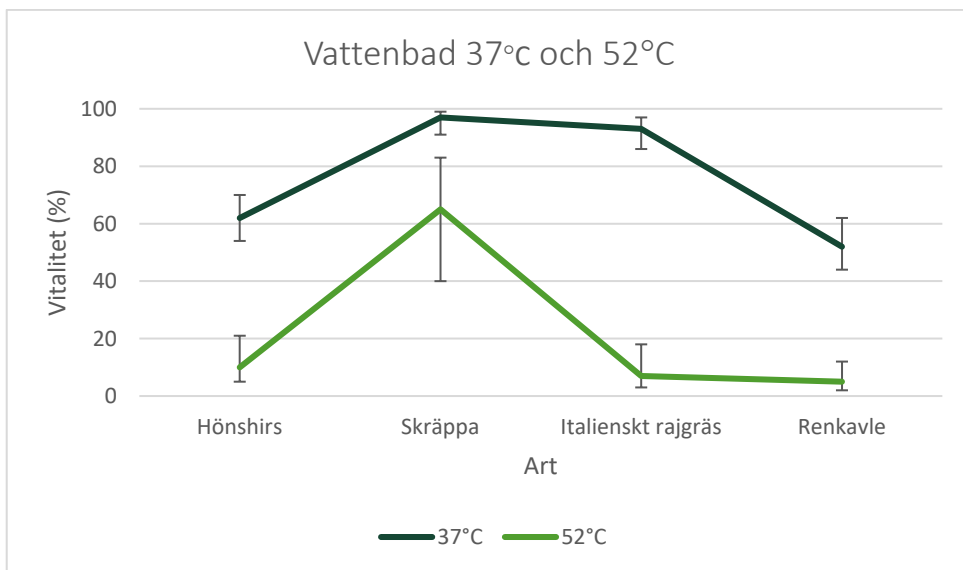
För groningen erhöles signifikanta skillnader för temperatur, art, tid och samspelen temperatur*art, temperatur*tid, art*tid samt temperatur*art*tid (Tabell 4). För vitalitet erhöles signifikanta skillnader för temperatur, art, tid, temperatur*art och temperatur*tid (Tabell 4). Medelvärdena för groningen och vitalitet är signifikant högre för 37°C än för 52°C. Skräppa skiljer sig signifikant från övriga arter med högst grobarhet och vitalitet. Tidsintervall gav signifikanta skillnader för groningen och vitalitet mellan de första 3 mättiderna (2, 5 och 10 timmar) men avtog sedan för alla arter och temperaturer.

Tabell 4 Skattade medelvärden samt övre och undre konfidensintervall (KI) för groningen och vitalitet. Försök med vattenbad för faktorerna: temperatur (37°C och 52°C), art (hönshirs, italienskt rajgräs, renkavle och skräppa) och tidsintervall (2, 5, 10, 15 och 30 h). Olika bokstäver indikerar signifikanta skillnader ($P < 0.05$) mellan skattade medelvärden inom respektive faktor.

Vattenbad		Groning hos frön			Vitalitet hos frön		
		Medel	Nedre KI 95%	Övre KI 95%	Medel	Nedre KI 95%	Övre KI 95%
Temp.	37°C	0,8510 ^a	0,806	0,887	0,838 ^a	0,785	0,880
	52°C	0,1060 ^b	0,068	0,160	0,145 ^b	0,094	0,217
Art	Hönshirs	0,238 ^a	0,168	0,325	0,302 ^{ab}	0,214	0,407
	Ital. rajgräs	0,470 ^b	0,326	0,619	0,505 ^b	0,348	0,660
	Renkavle	0,147 ^a	0,094	0,223	0,192 ^a	0,122	0,288
	Skräppa	0,906 ^c	0,826	0,951	0,881 ^c	0,781	0,939
Tid	2	0,846 ^a	0,761	0,904	0,835 ^a	0,783	0,901
	5	0,624 ^b	0,515	0,722	0,635 ^a	0,511	0,743
	10	0,298 ^c	0,198	0,422	0,365 ^b	0,243	0,507
	15	0,217 ^c	0,119	0,362	0,255 ^b	0,140	0,418
	30	0,261 ^c	0,129	0,455	0,294 ^b	0,147	0,501

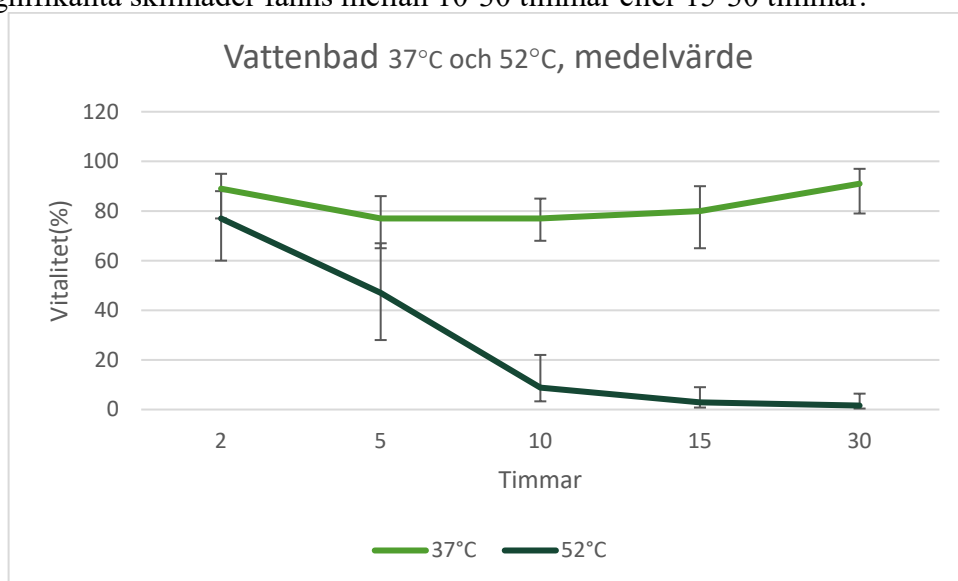
I

Figur 23 visas samspelet mellan art och temperatur, dvs. hur vitaliteten hos de olika arterna påverkades av temperaturerna 37°C och 52°C. Vitaliteten hos hönshirs, skräppa och renkavle ser ut att följa ungefär samma mönster där vitaliteten sjunker med cirka 40-50% när temperaturen höjs från 37°C till 52°C. Vitaliteten hos italienskt rajgräs sjunker däremot med cirka 90% vid en ökning av temperaturen, dvs. betydligt mer än för de andra arterna.



Figur 23 Vitalitet hos frön av hönshirs, skräppa, italienskt rajgräs och renkavle efter vattenbad vid temperaturerna 37°C och 52°C (medel och konfidensintervall).

I Figur 24 är medelvärdet för vitalitet för alla arter plottat som funktion av tid. Inga signifikanta skillnader erhöles för 37 °C. För 52 °C fanns det signifikanta skillnader mellan tiderna 2 till och med 30 timmar och mellan 5 till och med 30 timmar. Inga signifikanta skillnader fanns mellan 10-30 timmar eller 15-30 timmar.



Figur 24 Vitalitet som funktion av tid för temperaturerna 37°C och 52°C i vattenbad som medelvärde för alla arterna

Diskussion

Kontrollgruppen

Grobarheten för kontrollerna är till största del i linje med det litteraturen hävdar. Hönshirs avviker dock något. I Maun & Barrett (1986) beskrev de hur grobarheten för hönshirs varierar med mognadsgrad och att mogna, lagrade frön, med den högsta grobarheten når 44 % grobarhet. I denna studie var grobarheten högre, 72 %. Det som går att notera är att studien av Maun & Barrett (1986) är från 1986 samt från Kanada. En teori är att arten under snart 40 år kan ha selekterats fram till en högre grobarhet. Dessutom kanske de arter som finns Europa uppvisa andra egenskaper än de i Kanada. Skräppa har rapporterats ha en hög grobarhet, över 80 %. I denna studie var den 97 %. Italienskt rajgräs ska likt skräppan ha en hög grobarhet mellan 90-95 % vilket är nära studiens resultat på 93 %. Enligt Moss (2013) skulle renkavle hålla mellan 40-60 % i grobarhet, i denna studie var den 40 % för kontrollgruppen. Dock med en stor variation inom kontrollgruppens tre replikat, mellan 30-70 %. Detta kan eventuellt ha att göra med att skillnaden i mognadsgraden mellan fröna var stor, då gräset drösade under tiden för insamlandet. Frön som var omogna och som satt fast i axet blandades med mogna som lätt trilla av.

Rötning vid- 37°C

I denna studie kunde inga signifikanta skillnader erhållas för groningen eller vitalitet för någon huvudfaktor eller samspel. Detta på grund av att det var mycket liten överlevnadsgrad efter 2 dygn. För att signifikanta skillnader bör rötning och vattenbad vid kortare tidsspann testas, till exempel från 24 timmar fram till och med 48 timmar med 2 timmars intervall. För skräppa som hade 100% vitalitet efter 48 timmars rötning skulle ett längre tidsspann troligtvis behövas. Med kontinuerliga variabler hade en "dose response curve" kunnat skapas vilket skulle bidra till ett bättre och tydligare beslutsunderlag.

Hygieniseringsmetoderna är tillräcklig för avdödning av ogräsfrön.

Som beskrivs i bakgrunden är hygieniseringskravet på 1 timme i 70°C ett krav för kommersiella mesofila reaktorer. I denna studie överlevde inga fröer processen vilket i sin tur gör att överlevnaden i en mesofil reaktor blir irrelevant och risken

för att sprida dessa ogräs skulle vara obefintlig. Resultatet är i linje med studien från (Dahlquist et al. 2007) där de studerade arterna dog inom 40 minuter, även om den studien genomfördes med solarisering och inte i vattenbad.

För termofila processer är hygieniseringskravet 10 timmars uppehållstid alternativt 70°C i en timme. Endast skräppan skiljer sig signifikant från de andra arterna vid 52°C för rötning och vattenbad (Tabell 3). I

Figur 23 går det att urskilja hur skräppan har högre vitalitet vid 52°C över tid till skillnad från de andra tre arterna. Med tiden som faktor fanns det signifikanta skillnader och efter 5 timmar upphörde signifikansen att gälla vilket tyder på att arterna efter 5 timmar inte längre är vitala, med en medel vitalitet under 4% (Tabell 3). Det skall dock poängteras att skräppan vid 10 timmar inom konfidensintervallet kan ha upp mot 43% levande fröer (Figur 22). Detta är dock en kombination av vattenbad och rötning. I denna studie verkar rötning vara dödligare för fröna och endast rötningprocessen kan ge en lägre vitalitet. Mer om detta kommer i avsnittet ”vattenbad som indikator”.

Gårdsanläggningar

Eftersom gårdsanläggningar med max tre anslutna gårdar inte har ett hygieniseringskrav gör det att överlevnaden i en mesofil rötning särskilt intressant. Att fröerna som är med i denna rapport skulle hamna i en reaktor av denna typ är dessutom hög med tanke på att dessa reaktorer typiskt matas med ensilage och gödsel som har direkt koppling till gårdarnas åkermark. Skräppa som är ett vanligare ogräs på djurgårdar och som dessutom verkar ha en högre tolerans än de andra arterna i denna studie skulle ha en större risk att återvända på åkermarken som biogödsel. Men med tanke på att uppehållstiden är mellan 23 och 63 dagar (Ahlberg-Eliasson et al. 2017) och att alla fröer, inklusive skräppa, dog inom 5 dygn så går det att med större säkerhet avfärda risken. I denna studie är inte heller lagringen av rötresten som sker efter uppehållstiden i biogasreaktorn med i beaktning, inte heller efterrötning som appliceras på vissa gårdar. Under efterrötning och lagring fortsätter rötningprocessen, även om en mesofil temperatur inte längre upprätthålls. Därmed förlängs retentionstiden, vilket bör minska vitaliteten ytterligare. Detta kan dock endast bekräftas eller uteslutas med fler studier.

Vattenbad som indikator

Den signifikanta skillnaden mellan vattenbad och rötning för termofila temperaturen visar på en signifikant högre överlevnad i vattenbadet (Tabell 3). Vattenbad skulle därför kunna användas för att mäta ett frös maximala överlevnadstid i en biogasreaktor, alltså ett ”worst case scenario” vid en viss temperatur och tid. För att bekräfta denna regel bör fler studier med olika temperaturer inom samma tidsintervall för rötning och vattenbad göras.

Temperaturens effekt på överlevnad

Signifikanta skillnader fanns mellan 37°C och 52°C för vattenbad vilket tyder på att temperaturen påverkar vitaliteten. När det kommer till artskillnader så skiljer sig inte hönshirs och renkavle signifikant åt. De båda påverkas negativt vid 37 °C och sedan ännu mer vid 52°C. Skräppan skiljer sig från alla arter och hör en hög vitalitet vid både 37°C och 52°C. Italienskt rajgräs är relativt opåverkad vid 37 °C och sjunker sedan dramatiskt vid 52 °C. Detta tyder på att arterna i sig har olika egenskaper som påverkar deras tolerans mot värme (Tabell 4). Detta bevisas av den signifikans för groning som erhöles för temperatur*art, art*tid samt temperatur*art*tid. Sådana egenskaper kan vara fysisk groningsvila men också mognadsgrad och andra skyddande egenskaper hos ett frö. Mer studier för att bekräfta detta behövs dock. Generellt sett är fröna opåverkade vid 37 °C i vattenbad i tidsspannet 2-30 timmar och som nämns i diskussionsavsnittet ”rötning vid -37°C” skulle kontinuerliga mätningar efter 48 timmar istället bidra till att mer exakt hitta varje enskilds art avdödningshastighet. Även en signifikant skillnad fanns för tid*temperatur. Detta stämmer överens med den litteraturstudie som jag gjorde tidigare och där insamling av data från över 300 observationer lades samman och visade på en ökad dödlighet med ökad temperatur och tid (Strömberg 2023).

Övrigt

En intressant observation som gjordes var hur tydlig närvaron av mögelsporer var på hönshirs under groningstiden på kontrollerna trots sterilisering med klor, medan hönshirs som behandlats genom termofil rötning i 5 timmar inte visade dessa tecken på svampangrepp. Skulle ett svampangreppet obehandlat frö dö fortare i fält än ett rötat frö utan svampangrepp? I en studie av Schnürer & Schnürer (2006) avdödas mögel i en biogasprocess, särskilt vid termofil temperatur. Det vore därför intressant att undersöka om vitalitet hos fröer därmed skulle kunna öka på de fröer som uppvisar mögelangrepp före behandling i termofil biogasprocess.

Att skräppa sticker ut i jämförelsen mellan rötning och vattenbad vid 52°C samt vid jämförelsen vid 37°C och 52°C i vattenbad är inte så konstigt om vi återgår till vad (Westerman & Gerowitt 2013) påstod i sin studie. Där visade de på en positiv korrelation mellan ett frös överlevnad i jorden och överlevnad i en anaerob rötning process. Skräppa som har en överlevnad på upp till 80 år i marken är ett exempel på en art som bör vara tolerant i en rötning process, medan renkavle och italienskt rajgräs, som har en kort primär groningsvila, gror inom ett år och en liten andel frön i sekundär groningsvila kan leva upp till 3 år (för renkavle). Detta stämmer överens med resultaten i denna studie (Figur 22) men inga statistiska analyser har gjorts för att bekräfta en sådan korrelation.

4.1 Felkällor

Från det att fröna plockades i juli, till att de testades i januari/februari så har de genomgått processer som kan ha påverka frönas vitalitet och grobarhet. Valet av plantor och tidpunkt samt förvaringen och hanteringen i behandlingen är faktorer som kan ha påverkat grobarheten och vitaliteten. Som nämndes i metoden drösade renkavle under juli månad. I påsen som fröna kom i fanns flertalet frön som fortfarande satt kvar på axet. Detta skulle kunna innebära att vissa fröer inte ännu hade mognat, även om drösning skulle indikera att renkavlen var mogen, men att de fröna var svåra att tillgå då de lätt trillar av axet.

Hönshirsen uppvisade stor benägenhet att börja mögla vid groningstest. Om dessa mögelsporer fått fäste redan i fält eller om hanteringen efter insamlingen är orsaken till detta är svårt att bestämma. Trots dessa observationer hade renkavle och hönshirs dock en normal till mycket god grobarhet och huruvida grobarheten hade varit högre vid en annan hantering är svårt att förutspå.

När det kommer till behandlingen kan olika observationer bidra till att resultatet kan ha påverkats. Sådana observationer är hur filterpapper vid några tillfällen torkade ut på grund av felaktigt applicerat streckfilm vilket gjorde att fukt kunde ta sig ut ur petriskålen. En uttorkad miljö kan eventuellt påverka grobarheten och kanske vitaliteten av ett frö. Som nämnt i introduktionen är det flertalet faktorer som avgör om ett frö försätts i groningsvila (Avsnitt 1.4.1). Bland annat faktorer såsom fukt, ljus och temperatur.

Temperatur är en annan faktor som bör tas i beaktning. I denna studie användes samma temperatur och fototimmar för alla arterna, även om de troligtvis i verkligheten har varsina optimum, se avsnitt 1.3.3-1.3.6. Under optimala förhållande finns det en chans att fröna lättare skulle lämna sin groningsvila och därmed öka grobarheten. Detsamma gäller för behandlingen med tetrazolium. Det framgår i olika texter kring tetrazoliumtest att metoden är delikat och att särskilda tider för olika arter är bäst, även om någon sådan lista inte går att finna för alla arter (Sabry & Garay u.å.). I denna studie användes en och samma tid och temperatur för alla arter, även om det troligtvis finns ett optimum även här.

För tetrazolium finns även här en hel del olika metoder att tillämpa. Till exempel är koncentrationen av tetrazolium, huruvida man ska tillsätta lösningsmedel i lösningen eller ej samt om fröna bör punkteras eller skäras i för att tetrazolium ska nå embryot. I denna studie tillsattes inget lösningsmedel och ingen skada på fröet gjordes då jag ansåg fröna vara tillräckligt mottagliga då de under 20 dagar tagit in vatten och svällt vilket möjliggör upptaget av tetrazolium. Skräppa som visat sig

vara särskilt hård skulle eventuellt kunna skäras före behandlingen med tetrazolium, men mängden rödfärgade frön motbevisade detta enligt mig.

Även hur rödfärgning av embryon tolkas är en punkt som ofta tas upp i texterna kring hur tetrazolium används. Rosafärgade embryon samt delvis färgade embryon kan ligga till grund för tolkning och dagsformen kan eventuellt påverka bedömningen. I denna studie gjordes all bedömning av samma person vilket minskar risken för felmarginaler, även om det är värt att belysas.

Under en del av metoden packades fröna i små påsar (Figur 17). Dessa påsar förslöts med hjälp av en värmepress som med värmen smälte plasten och därmed förslöt den öppna änden. En felkälla skulle kunna vara att fröna av misstag nuddat eller kommit nära värmekällan och fått en värmechock som påverkat vitaliteten.

Vid behandling i vattenbadet flöt påsarna ibland upp till ytan. Med detta fanns det eventuellt en risk att temperaturen var lägre där. Dödligheten var också lägre i vattenbadet. Det ska dock poängteras att alla påsar inte flöt upp till ytan och dödligheten ändå var lägre i vattenbadet. Omrörningen av vattnet med hjälp utav doppvärmaren minskar dessutom risken för att vattnet nära ytan skulle vara lägre än i andra delar av hinken.

4.2 Slutsats

Sammanfattningsvis ser det ut som att risken för spridning av ogräsfrön till åkermarken är mycket låg. Även den tåligaste av arterna, skräppa, överlevde inte längre än 5 dygn i en mesofil rötning. Med tanke på att kommersiella biogasanläggningar som rötar animaliska produkter också har en hygienseringstid på 1 timme i 70°C minskar risken ytterligare då ingen av arterna överlevde denna process. Även om gårdsanläggningar med färre än tre gårdar inte alltid har en hygieniseringsprocess så är uppehållstiden ofta över 20 dagar, vilket är tillräckligt för avdödningen. När det kommer till termofila processer är även här risken för spridning liten då det fanns en signifikant skillnad mellan 5 och 10 timmar samt en vitalitet <4% vid 10 timmar. För skräppan enskilt kan dock risken vara större och fler studier för att säkerställa risken bör genomföras. Att använda vattenbad som ett första steg i processen för att undersöka en arts tolerans mot temperatur över tid kan vara en god idé då det fanns en signifikant skillnad mellan rötning och vattenbad för den termofila behandlingen där vattenbadet visade en högre vitalitet. Detta är dock endast ett försök och fler studier med andra temperaturer och tidsintervall för både rötning och vattenbad behövs för att bekräfta påståendet. Att använda sig av vattenbad som maximal riskbedömning är enkelt då avancerade biogasreaktorer, färskt substrat och annan specialutrustning inte är nödvändigt.

Tips på framtida studier / förbättringar av denna studie

- För bättre och mer pålitliga resultat bör fler replikat och fler fröer per replikat användas.
- Studera överlevnadsgraden för frön med olika mognadsgrad.
- Huruvida frön påverkas av ammoniak, en så kallad ammoniakinhibering.
- Testa andra arter av ogräs i rötning samt vattenbad.
- Andra substrat - spelar ympens sammansättning någon roll?
- Vad är det i rötningssubstratet som inhiberar groningen? Testa olika typer av rötningar med fokus på hydrolys, pH, ammoniak etc.
- Tätare mätdata i spannet för avdödning i den termofila rötningen och vattenbadet för att på så sätt kunna analysera datan kontinuerligt och då kunna identifiera en dose respons kurva.
- Testa vattenbad och rötning i samma temperatur och tidsintervaller för att bekräfta att vattenbad skulle kunna användas som indikator för fröer från en art och dess överlevnad.
- Längre tidsintervall för mesofilt vattenbad, ca 2 dygn och sedan tätare mätintervall i mesofilt vattenbad och rötning vid tiden för avdödning.
- Testa skillnaden för fröer med hårt eller tjockt skal

Referenser

- Ahlberg-Eliasson, K., Nadeau, E., Levén, L. & Schnürer, A. (2017). Production efficiency of Swedish farm-scale biogas plants. *Biomass and Bioenergy*, 97, 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.12.002>
- Ahmad, T., Jabran, K. & Moss, S.R. (2021). *Alopecurus myosuroides*. I: *Biology and Management of Problematic Crop Weed Species*. Elsevier. 1–19. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822917-0.00003-3>
- Andersson, L. & Åkerblom Espeby, L. (2009). Variation in seed dormancy and light sensitivity in *Alopecurus myosuroides* and *Apera spica-venti*. *Weed Research*, 49 (3), 261–270. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2009.00695.x>
- ATL (2021). *Varning för resistent italienskt rajgräs*. ATL. <https://www.atl.nu/resistent-rajgras-konstaterat-i-skane> [2023-11-15]
- Avfall Sverige (2014). Så här fungerar biogödsel
- Avfall Sverige (2018). Certifierad biogödsel SPCR 120. *Avfall sverige*, 2018. https://www.biogodsel.se/media/23hhwcx3/cert_folder2018_webb.pdf
- Avfall Sverige (2024). Certifieringsregler för biogödsel SPCR 120. https://www.avfallsverige.se/media/dvijyhkn/spcr120_2024_biogodsel.pdf
- Baier, U. (1997). Thermal inactivation of plant seeds in sewage sludge. *Water Sci Technol*, (36), 197–202
- Bajwa, A.A., Jabran, K., Shahid, M., Ali, H.H., Chauhan, B.S., & Ehsanullah (2015). Eco-biology and management of *Echinochloa crus-galli*. *Crop Protection*, 75, 151–162. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.06.001>
- Baskin, C.C. & Baskin, J.M. (2014). *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Elsevier Science & Technology. <http://ebookcentral.proquest.com/lib/slub-ebooks/detail.action?docID=1640956> [2023-11-20]
- Baskin, J.M. & Baskin, C.C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14 (1), 1–16. <https://doi.org/10.1079/SSR2003150>
- Baute, K.A., Robinson, D.E., Van Eerd, L.L., Edson, M., Sikkema, P.H. & Gilroyed, B.H. (2016). Survival of seeds from perennial biomass species during commercial-scale anaerobic digestion. *Weed Research*, 56 (3), 258–266. <https://doi.org/10.1111/wre.12202>
- Beckie, H.J. & Jasieniuk, M. (2021). *Lolium rigidum* and *Lolium multiflorum*. I: *Biology and Management of Problematic Crop Weed Species*. Elsevier. 261–283. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822917-0.00017-3>
- Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M. & Nonogaki, H. (2013). *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy, 3rd Edition*. Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4>
- Biogas 2020 (2018). Lathund lagar och regler för biogasanläggningar. *Faktablad process och teknikstöd*. (1)
- Cavers, P.B. & Harper, J.L. (1964). *Rumex Obtusifolius* L. and *R. Crispus* L. *Journal of Ecology*, 52 (3), 737–766. <https://doi.org/10.2307/2257859>

- Dahlquist, R.M., Prather, T.S. & Stapleton, J.J. (2007). Time and Temperature Requirements for Weed Seed Thermal Death. *Weed Science*, 55 (6), 619–625. <https://doi.org/10.1614/WS-04-178.1>
- Eggers, J., Tröltzsch, K., Falcucci, A., Maiorano, L., Verburg, P.H., Framstad, E., Louette, G., Maes, D., Nagy, S., Ozinga, W. & Delbaere, B. (2009). Is biofuel policy harming biodiversity in Europe? *GCB Bioenergy*, 1 (1), 18–34. <https://doi.org/10.1111/j.1757-1707.2009.01002.x>
- Emilsson, T., Emanuelsson, U., Hackl, R., Hansson, J., Larsolle, A., Nilsson, D., Prade, T. & Svensson, S.-E. (2017). *Artrik energiutvinning – energiutvinning och ökad biologisk mångfald inom vägoch järnvägsområden*. (098). Institutionen för energi och teknik.
- Energigas Sverige (2022). Produktion av biogas och rötrest och dess användning år 2022. Energigas Sverige.
- Engeli, H., Edelmann, W., Fuchs, J. & Rottermann, K. (1993). Survival of Plant Pathogens and Weed Seeds during Anaerobic Digestion. *Water Science and Technology*, 27 (2), 69–76. <https://doi.org/10.2166/wst.1993.0079>
- Fogelfors, H. (2015). *Vår mat : odling av åker- och trädgårdsgrödor : biologi, förutsättningar och historia*. Studentlitteratur.
- Hahn, J., Westerman, P.R., de Mol, F., Heiermann, M. & Gerowitt, B. (2022). Viability of Wildflower Seeds After Mesophilic Anaerobic Digestion in Lab-Scale Biogas Reactors. *Frontiers in Plant Science*, 13, 942346. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.942346>
- Jaganathan, G.K. (2020). Defining correct dormancy class matters: morphological and morphophysiological dormancy in Arecaceae. *Annals of Forest Science*, 77 (4), 100, s13595-020-01010–7. <https://doi.org/10.1007/s13595-020-01010-7>
- Johansen, A., Nielsen, H.B., Hansen, C.M., Andreasen, C., Carlsgart, J., Hauggard-Nielsen, H. & Roepstorff, A. (2013). Survival of weed seeds and animal parasites as affected by anaerobic digestion at meso- and thermophilic conditions. *Waste Management*, 33 (4), 807–812. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.11.001>
- Johansson, M. & Strandhäll, A. (2022). *Sveriges genomförande av Agenda 2030*.
- Jordbruksverket (2022). *Hönshirs - ogräs med stor fröproduktion*. [text]. <https://jordbruksverket.se/vaxter/odling/vaxtskydd/vaxtskyddsatgarder/honshirs> [2023-11-15]
- Katovich, E.J. & Becker, R.L. (2004). *Weed Seed Survival in Anaerobic Digesters*
- Leonhardt, C., Weinhappel, M., Gansberger, M., Brandstetter, A., Schally, H. & Pfundtner, E. (2010). *Untersuchungen zur Verbreitungsgefahr von samenübertragbaren Krankheiten, Unkräutern und austriebsfähigen Pflanzenteilen mit Fermentationsendprodukten aus Biogasanlagen*
- Lindgren, C. (2016). *Tre perenna skräppor och dess biologi, ekologi samt kontrollmetoder-Rumex crispus, R. obtusifolius och R. longifolius*
- Maun, M.A. & Barrett, S.C.H. (1986). THE BIOLOGY OF CANADIAN WEEDS.: 77. *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. *Canadian Journal of Plant Science*, 66 (3), 739–759. <https://doi.org/10.4141/cjps86-093>
- Menegat, A. (2023). Minimal soil disturbance combined with spring cropping can halt soil seedbank accumulation of *Alopecurus myosuroides*. *Weed Research*, 63 (2), 115–122. <https://doi.org/10.1111/wre.12574>
- Meyer-Aurich, A., Schattauer, A., Hellebrand, H.J., Klauss, H., Plöchl, M. & Berg, W. (2012). Impact of uncertainties on greenhouse gas mitigation potential of biogas production from agricultural resources. *Renewable Energy*, 37 (1), 277–284. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.06.030>
- Moss, D.S. (2013). Black-grass (*Alopecurus myosuroides*) Everything you really wanted to know about black-grass but didn't know who to ask. *Rothamsted technical publication*,. <https://repository.rothamsted.ac.uk/item/8qwx9>

- Narayana Rao, A. (2021). *Echinochloa colona* and *Echinochloa crus-galli*. I: *Biology and Management of Problematic Crop Weed Species*. Elsevier. 197–239. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822917-0.00013-6>
- Nationalencyklopedin (2023). *italienskt rajgräs - Uppslagsverk - NE.se*. <https://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/l%C3%A5ng/italienskt-rajgr%C3%A4s> [2023-11-15]
- Naturvårdsverket (2023a). *Klimatinvesteringar ökar försörjningstryggheten*. <https://www.naturvardsverket.se/om-oss/aktuellt/nyheter-och-pressmeddelanden/2023/januari/klimatinvesteringar-okar-forsorjningstryggheten/> [2023-04-22]
- Naturvårdsverket (2023b). *Mångsidig biogas – en viktig del i den gröna omställningen*. <https://www.naturvardsverket.se/amnesomraden/klimatomstallningen/klimatklivet/resultat-i-olika-branscher-2022/mangsidig-biogas--en-viktig-del-i-den-grona-omstallningen/> [2023-11-17]
- Rutledge, C.R., McLendon, T. & Science, C.S.U.D. of R.E. (1998). *An Assessment of Exotic Plant Species of Rocky Mountain National Park: An Evaluation of the Potential Impacts of Known Exotic Plants and Summary of Management Options for Species of Concern*. Department of Rangeland Ecosystem Science, Colorado State University. <https://books.google.se/books?id=5zxhPwAACAAJ>
- Sabry, E. & Garay, A. (u.å.). Tetrazolium test (TZ) a fast, reliable test to determine seed viability. Oregon state university.
- Salomon, E. & Wivstad, M. (2013). *Rötrest från biogasanläggningar [Elektronisk resurs]: återföring av växtnäring i ekologisk produktion*. Centrum för ekologisk produktion och konsumtion (EPOK), Sveriges lantbruksuniversitet (SLU). <http://www.slu.se/Documents/externwebben/centrumbildningar-projekt/epok/Publikationer/Rotrestsyntes-hemsida.pdf> [2023-04-15]
- Schnürer, A. & Jarvis, Å. (2017). *Biogasprocessens mikrobiologi*. Avfall Sverige.
- Schnürer, A. & Schnürer, J. (2006). Fungal survival during anaerobic digestion of organic household waste. *Waste Management*, 26 (11), 1205–1211. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2005.09.007>
- Schrade, S., Oechsner, H., Pekrun, C. & Claupein, W. (u.å.). Influence of the Biogas Process on the Germinability of Seeds. *Agricultural-engineering.Eu*, 2003 (2), 90–91. <https://doi.org/10.1515/lt.2003.1404>
- Song, B., Shi, J. & Song, S. (2015). Dormancy release and germination of *Echinochloa crus-galli* grains in relation to galactomannan-hydrolysing enzyme activity. *Journal of Integrative Agriculture*, 14 (8), 1627–1636. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60940-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60940-0)
- Strömberg, E. (2023). Ogräsfrönas överlevnad i biogasanläggningar.
- Svenskt vatten (2024). Regler för certifieringssystem 9.0. <https://www.svensktvatten.se/globalassets/avlopp-och-miljo/uppstromsarbete-och-kretslopp/revaq-certifiering/revaq-regler-2024-utgava-9.0-vit.pdf>
- Svensktvatten (2023). Regler för certifieringssystemet. *REVAQ*, 2023-01–01 (8.1). <https://www.svensktvatten.se/vattentjanster/avlopp-och-miljo/kretslopp-och-uppstromsarbete/revaq-certifiering/>
- Sverigesmiljömål (2020). *Så fungerar arbetet med Sveriges miljömål - Sveriges miljömål*. *Sverigesmiljomal*. <https://sverigesmiljomal.se/sa-fungerar-arbetet-med-sveriges-miljomal/> [2023-11-16]
- Tanke, Müller, & de Mol (2019). Seed Viability of *Heracleum mantegazzianum* (Apiaceae) Is Quickly Reduced at Temperatures Prevailing in Biogas Plants. *Agronomy*, 9 (6), 332. <https://doi.org/10.3390/agronomy9060332>
- Väderstad (2021). Inför höstbruket 2021

- Weaver, S.E. & Cavers, P.B. (1979). Dynamics of Seed Populations of *Rumex crispus* and *Rumex obtusifolius* (Polygonaceae) in Disturbed and Undisturbed Soil. *Journal of Applied Ecology*, 16 (3), 909–917. <https://doi.org/10.2307/2402864>
- Westerman, P.R. & Gerowitt, B. (2013). Weed Seed Survival during Anaerobic Digestion in Biogas Plants. *The Botanical Review*, 79 (3), 281–316. <https://doi.org/10.1007/s12229-013-9118-7>
- Westerman, P.R., Heiermann, M., Pottberg, U., Rodemann, B. & Gerowitt, B. (2012a). Weed seed survival during mesophilic anaerobic digestion in biogas plants: Seed survival in commercial biogas reactors. *Weed Research*, 52 (4), 307–316. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2012.00927.x>
- Westerman, P.R., Hildebrandt, F. & Gerowitt, B. (2012b). Weed seed survival following ensiling and mesophilic anaerobic digestion in batch reactors: Seed survival in biogas reactors. *Weed Research*, 52 (3), 286–295. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2012.00918.x>
- Zaller, J.G. (2004). *Ecology and non-chemical control of Rumex crispus and R. obtusifolius (Polygonaceae): a review*. Institute of Organic Agriculture, University of Bonn.
- Zhou, L., Hülsemann, B., Merkle, W., Guo, J., Dong, R., Piepho, H.-P., Gerhards, R., Müller, J. & Oechsner, H. (2020). Influence of Anaerobic Digestion Processes on the Germination of Weed Seeds. *Gesunde Pflanzen*, 72 (2), 181–194. <https://doi.org/10.1007/s10343-020-00500-y>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Biogödsel och biogas är två produkter från rötningen av organiskt material (rötsubstrat) i en biogasreaktor. Biogödseln kan spridas på de svenska åkrarna som ett miljövänligt alternativ till handelsgödsel. Biogasreaktorn matas med organiskt material från en mängd olika källor, men vad händer om du matar en biogasreaktor med biomassa insamlat från diken som kanske innehåller invasiva ogräsarter, som dessutom är resistenta mot bekämpningsmedel? Skulle biogödseln agera som en fröbomb på de svenska åkermarkerna och skapa en okontrollerbar situation? I denna studie besvaras frågor som är kopplade till frönas överlevnad i en biogasreaktor och vilka konsekvenser detta har i praktiken. De fyra ogräsarter som har studerats är sådana som verksamma inom jordbrukssektorn anser viktiga att minska. Dessa är renkavle, skräppa, hönshirs och italienskt rajgräs. Frön från arterna placerades i ett vattenbad och i rötningssubstrat i 37°C och 52°C i 2-30 timmar och i 2-30 dagar för 37°C i rötningssubstrat. När behandlingen var klar kontrollerades frönas överlevnad. Det visade sig att det fanns en skillnad mellan behandling i vattenbad och genom rötning, med en högre överlevnad för de frön som behandlats i vattenbad. Ett vattenbad kräver enklare utrustning och är därför en bra första metod att använda för att utvärdera ett särskilt ogräsfrös maximala överlevnad i en biogasreaktor. Vidare dog alla arter inom 5 dygn genom rötning i 37°C och inom en timme i 70°C i ett vattenbad (hygienisering). Detta innebär att lantbrukare som har en biogasreaktor inte bör vara oroliga att sprida levande ogräsfröer av dessa arter på sina åkrar när de rötar det organiska materialet i längre än 5 dygn och att biogasanläggningar men hygienisering vid 70°C i en timma inte behöver oroa sig för att sprida levande ogräsfröer. Frön som behandlats i 52°C i vattenbad och i termofil rötning dog inom 10 timmar, vilket även detta är ett hygieniseringskrav och därmed visar att risken för spridningen efter denna typ av behandling är liten. I studien gick det också att se vissa samspel såsom mellan art och temperatur och tid. Vissa arter såsom skräppan överlevde en längre tid och i högre temperaturer än de andra arterna. Italienskt rajgräs visade också högre överlevnad i 37°C men sämre i 52°C. Detta betyder att det finns artspecifika egenskaper som gör att de är mer eller mindre tåliga i vissa temperaturer och tidsintervall. Det fanns även ett samspel mellan temperatur och tid vilket innebär att tid och temperatur tillsammans påverkar vitaliteten, vilket bekräftar den

sammanställning författaren gjort i en tidigare litteraturstudie. I framtida studier bör liknande experiment utföras för att bekräfta regeln samt för att finna fler intressanta resultat inom spannet för avdödandet. Till exempel skulle andra arter kunna studeras och inom ett tätare tidsintervall.

Tack

Först och främst vill jag rikta ett stort tack till min handledare Theo Verwijst. Theo har genom min uppsats lärt mig tänka kritiskt och grundligt. Men förutom att hjälpa mig ta igenom detta slutliga arbete har han varit en god vän som delat med sig av livets alla bestyr, träning, friluftsliv, jakt och trädgårdstips. Vidare vill jag tacka min biträdande handledare Anneli Lundkvist som med otroligt skarp syn har hjälpt till att förfina denna rapport till den glans den just nå erhåller. Tack till Anna Schnürer som med kluriga frågor fått mig att tänka ett extra varv och för att hon bidragit med sin oändliga expertis. Tack till Helena Bötker på intendenturen som med tålamod och vänlighet hjälpt mig med alla mina förfrågningar, hittat material och för alla trevliga kafferaster. Tack till Alexander Lilliehöök som samlade in fröerna sommaren 2023. Jag vill även ägna ett stort tack till mina två kurskamrater Sabina Juhlin Muñoz och Sally Bondesson som funnits där både under de lätta och tunga tiderna. Till sist vill jag tacka min familj som uppmuntrat mig och till min hund Freja som tvingat ut mig på uppfriskande promenader.

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Du hittar en länk till SLU:s publiceringsavtal på den här sidan:

- <https://libanswers.slu.se/sv/faq/228316>.

JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.