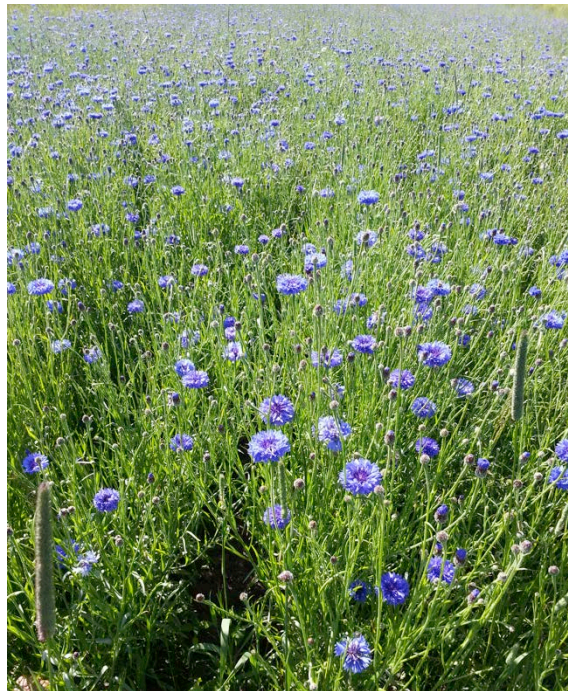


Känsligheten hos blåklint mot en ALS-inhibitor

Sensitivity of *Centaurea cyanus* L. against an ALS-inhibitor

Ida Gustafsson



Känsligheten hos blåklint mot en ALS-inhibitor

Sensitivity of *Centaurea cyanus* L. against an ALS-inhibitor

Ida Gustafsson

Handledare: Anneli Lundkvist, Sveriges Lantbruksuniversitet,
Institutionen för växtproduktionsekologi
Anders TS Nilsson, Sveriges Lantbruksuniversitet,
Institutionen för biosystem och teknologi

Examinator: Theo Verwijst, Sveriges Lantbruksuniversitet,
Institutionen för växtproduktionsekologi

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: A1E

Kurstitel: Självständigt arbete i biologi - magisterarbete

Kurskod: EX0732

Program/utbildning: Agronomprogrammet mark/växt

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2014

Omslagsbild: Anders Holmer

Serietitel: nr: Serietitel: nr

ISSN: xxxx-xxxx

ISBN: xxx-xx-xxx-xxxx-x

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: ALS-inhibitor, blåklint, *Centaurea cyanus* L., herbicidresistens

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för naturresurser och lantbruksvetenskap
Institutionen för växtproduktionsekologi

Populärvetenskaplig sammanfattning

Innan kemiska bekämpningsmedel fanns tillgängliga använde lantbrukarna växtföljder där odling av konkurrenskraftiga grödor alternerades med mindre konkurrenskraftiga grödor för att hålla tillbaka ogräsen. Vidare användes också handrensning, ogräsharvning och hackning för att bekämpa ogräs. Växtföljder och mekanisk bekämpning fick mindre betydelse för den sanerande effekten på ogräs när de kemiska bekämpningsmedlen introducerades på 1940-50-talen. Användningen av kemiska ogräsmedel (herbicer) ökade snabbt i omfattning och blev den vanligaste metoden för att kontrollera ogräs.

Under de senaste årtiondena har dock vissa ogräsmedel börjat ge sämre kontrolleffekter. Detta beror delvis på att herbicidresistens har uppstått hos ogräsarter på en del platser. Herbicidresistens betyder motståndskraft mot ogräsmedel, det är en förmåga hos en växt att överleva en kemisk bekämpning som normalt skulle ha dödat växten. Fram till sommaren 2010 hade herbicidresistens upptäckts i 194 arter i över 340 000 olika fält världen över och detta är ett problem som kommer att öka i världen. Herbicer kan verka på olika sätt i växten. De flesta fall av herbicidresistens beror på en förändring på platsen där herbiciden verkar i växten vilket kallas för verkningsplatsen. Herbicidresistens kan också bero på en ökad metabolism i plantan, det vill säga herbiciden bryts ner innan den hinner göra verkan. I Sverige har herbicidresistens hos blåklint hittats på två platser.

Under 2012-13 konstaterades sämre bekämpningseffekter mot blåklint på några fält i Östergötland, Blekinge och Skåne. För att studera om känsligheten mot herbicer hade minskat hos dessa blåklintspopulationer samlades fröer in för att testning i ett växthusexperiment. Syftet med studien var att undersöka känsligheten hos fem populationer av blåklint mot en ALS-inhibitor (herbiceren Express 50 SX). En ALS-inhibitor är en herbicer som verkar i växten genom att hämma enzymet acetolaktatsyntas, som förkortas ALS. Enzymet ALS behövs i växten för biosyntesen av aminosyror isoleucin, leucin och valin. När biosyntesen av dessa aminosyror hämmas stoppas celledelningen i växten och tillväxten avstannar. För att undersöka känsligheten mot herbiciden utfördes ett växthusexperiment där blåklintplantor från fem populationer behandlades med en ALS-inhiberande herbicer. Alla populationer visade sig vara känsliga mot herbiciden. Efter behandling avstannade tillväxten hos plantorna, toppskottet dog och efter en tid började flera plantor istället skjuta sidskott.

Slutsatsen var att det inte fanns några tecken på resistens hos de testade populationerna. Alla plantor i de olika populationerna påverkades av den kemiska bekämpningen och resultatet blev att tillväxten hos plantorna avstannade.

Nyckelord: ALS-inhibitor, blåklint, *Centaurea cyanus* L., herbicidresistens

Förord

Agronomprogrammet är en utbildning på 4,5 år som omfattar 270 hp. En del i utbildningen är ett självständigt arbete på 30 hp. Denna studie som jag har utfört är ett självständigt arbete på D-nivå inom huvudämnet biologi och det har gjorts i samarbete med institutionen för växtproduktionsekologi vid Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.

Ett varmt tack vill jag rikta till min huvudhandledare forskare Anneli Lundkvist, institutionen för växtproduktionsekologi, för all hjälp och för den otroliga tillgängligheten oavsett veckodag och tidpunkt. Jag vill också rikta ett stort tack till biträdande handledare forskningsledare Anders TS Nilsson, institutionen för biosystem och teknologi. Stort tack till er på Lovanggruppen för hjälp och stöd i samband med mitt arbete. Ett stort tack även till forskningsingenjör Ewa Magnuski och forskare Liv Åkerblom Espeby för hjälpen att genomföra försöket samt till min examinator professor Theo Verwijst, institutionen för växtproduktionsekologi.

Ett varmt tack riktas även till Partnerskap Alnarp och Kungliga Skogs- och Lantbruksakademien för finansiering av försöket och -resor i samband med det självständiga arbetet.

Ida Gustafsson

Uppsala, januari 2014

Agronom, mark & växt 2009.

Sammanfattning

Växtföljder fick mindre betydelse för den sanerande effekten på ogräs när de kemiska bekämpningsmedlen introducerades på 1940-50-talen. Fram till sommaren 2010 hade herbicidresistens upptäckts i 194 arter i över 340 000 olika fält världen över och det är ett problem som kommer att öka i världen. Herbicider kan verka på olika sätt i växten. De flesta fall av herbicidresistens beror på en förändring på verkningsplatsen för herbiciden, men kan också bero på en ökad metabolism i plantan, dvs. herbiciden bryts ner innan den hinner göra verkan. I Sverige har resistens hos blåklint hittats på två platser.

Under 2012-13 konstaterades sämre bekämpningseffekter mot blåklint på några fält i Östergötland, Blekinge och Skåne. För att studera om känsligheten mot herbicider hade minskat hos blåklintspopulationerna samlades fröer in för att testas i ett växthusexperiment.

Syftet med experimentet var att undersöka känsligheten hos fem populationer av blåklint mot en ALS-inhibitor. För att undersöka känsligheten mot herbiciden utfördes ett växthusexperiment där blåklintsplantor från fem populationer behandlades med en ALS-inhiberande herbicid (Express 50 SX). Alla populationer visade sig vara känsliga mot herbiciden. Efter behandling avstannade tillväxten hos plantorna, toppskottet dog, och efter en tid började flera plantor istället skjuta sidoskott. Slutsatsen var att det inte fanns några tecken på resistens hos de testade populationerna.

Nyckelord: ALS-inhibitor, blåklint, *Centaurea cyanus* L., herbicidresistens

Abstract

Crop rotations became of less importance to the sanitizing effect on weeds when chemical pesticides were introduced in the 1940s and -50s. Until the summer of 2010, herbicide resistance was detected in 194 species in over 340 000 different fields over the world, which is a problem that will increase all over the world. Herbicides may act in different ways in the plant. Most cases of herbicide resistance are due to a change in the site of action on the herbicide, but it may also be due to an increased metabolism in the plant. In Sweden resistance in cornflower has been found in two places.

In 2012-13, lower effects against herbicides were found in cornflower in a few fields in Östergötland, Blekinge, and Skåne. To study if the sensitivity to herbicides had decreased in these populations of cornflower, seeds were collected and tested in a greenhouse experiment.

The purpose of the experiment was to examine the sensitivity of five populations of cornflower against an ALS-inhibiting herbicide. To study the sensitivity against the herbicide a greenhouse experiment was performed where cornflower from five populations were treated with an ALS-inhibiting herbicide. All populations turned out to be sensitive to the herbicide. After the chemical control the growth of the plants stopped, the top shoot died, and after a while several plants began to develop side shoots. The conclusion was that no herbicide resistance was detected in either of the populations.

Keywords: ALS-inhibitor, *Centaurea cyanus* L., cornflower, herbicide resistance

Innehållsförteckning

1	Inledning	7
1.1	Kemisk bekämpning	7
1.2	Herbicidresistens	8
1.3	Resistensmekanismer	10
1.3.1	Target site resistens	10
1.3.2	Non-target site resistens	11
1.3.3	Korsresistens	11
1.4	Herbicer	12
1.4.1	ALS-inhibitorer	12
1.4.2	Express 50 SX	12
1.5	Blåklint	13
1.5.1	Biologi	13
1.5.2	Resistens	13
1.6	Syfte	13
1.7	Avgränsningar	14
2	Material och metoder	15
2.1	Frömaterial	15
2.2	Grobarhetstest	16
2.3	Växthusexperiment	16
2.3.1	Sådd	16
2.3.2	Omplantering	17
2.3.3	Försöksupplägg	17
2.3.4	Herbicide	18
2.3.5	Besprutning	18
2.3.6	Skörd	18
2.4	Statistisk analys	19
3	Resultat	20
3.1	Torrsvikt	20
3.1.1	Analys av hela datasetet	20
3.1.2	Analys utan kontroll	20
3.1.3	Analys utan population 2	20
3.2	Summa-höjd	22
3.2.1	Analys av hela datasetet	22
3.2.2	Analys utan kontroll	23
3.2.3	Analys utan population 2	23

3.2.4	Samspel mellan population och dos	24
3.3	Summa sidoskott	24
3.3.1	Analys av hela datasetet	24
3.3.2	Analys utan kontroll	25
3.3.3	Analys utan population 2	26
3.3.4	Samspel mellan population och dos	26
3.3.5	Jämförelse sidoskottsbildning mellan populationer	27
4	Diskussion och slutsatser	28
	Referenslista	31
	Bilaga 1.	35
	Beskrivning av sprutkabin och sprutningsmetodik	35
	Sprutkabin	35
	Kalibrering av sprutan inför besprutning	36
	Blandning av herbiciddoser	38
	Besprutning av experimentet	40

1 Inledning

1.1 Kemisk bekämpning

Produktionen av växtskyddsmedel startade efter andra världskriget då de första selektiva ogräsmedlen mot örtogräs kommersialiserades. De första herbiciderna, de systemiska fenoxiättiksyror 2,4-D (2,4-Diklorfenoxiättiksyra) och MCPA (2-metyl-4-klorfenoxiättiksyra), var billiga att framställa och effektiva redan vid låga doser. Försäljningsframgången med fenoxisyror gjorde att kemiföretag finansierade mer forskning inom området vilket ledde till att en stor mängd herbicider utvecklades och gjordes tillgängliga på marknaden (Cobb & Reade, 2010a). Kemiska bekämpningsmedel blev en revolution inom jordbruket vad gäller ogräsbekämpning. Tidigare krävdes mycket arbete och det var mycket slitsamt att bekämpa ogräsen. Med kemiska bekämpningsmedel minskade arbetsbördan. Det var effektivt och billigt och med tiden kom preparat som gjorde att de flesta ogräsen kunde bekämpas i nästan alla grödor. Därmed minskade betydelsen av att använda växtföljder där odling av ettåriga grödor växlades med flerårig vall och vårsådda grödor växlades med höstsådda grödor. Odlingen av ettåriga grödor (så kallade cash crops) ökade kraftigt på bekostnad av vall. Detta öppnade upp för det som idag kallas för industrijordbruk där billiga livsmedel kan produceras för att producera mat till den ständigt växande befolkningen.

De första preparaten togs fram under 1950-talet. Så småningom utvecklades mer koncentrerade medel med hjälp av bioteknik vilket gjorde att doserna kunde minskas med 40-50 %. Dessa bekämpningsmedel introducerades i slutet på 1980-talet som lågdosmedel och ansågs vara relativt låggiftiga och bättre ur arbetsmiljösynpunkt. Lågdosmedlen kunde användas i storleksordningen en hundradel av de doser som tidigare använts, ner mot 5-20 g/ha. När dessa introducerades sjönk den totala användningen av kemiska bekämpningsmedel, mätt i ton aktiv substans, kraftigt (Fogelfors, 2013).

För att uppnå bästa effekt vid bekämpning av de ogräsarter som dominerar på fältet bör preparatet anpassas efter ogräsflora. Lämplig dos att använda påverkas av grödans konkurrensförmåga, hur lättbekämpade de aktuella ogräsarterna är samt vilket utvecklingsstadium de befinner sig i. När plantor överlever kemisk bekämpning finns det risk för att herbicidresistens har uppstått. Detta medför ökade produktionskostnader då det begränsar (i) vilka ogräspreparat som kan användas, (ii) hur växtföljden ser ut samt (iii) vilka metoder för jordbearbetning som kan användas mot ogräsen (Anonym, 2013b).

1.2 Herbicidresistens

Herbicidresistens är en ärftlig förmåga hos en växt att överleva och reproduceras efter att ha utsatts för en, vanligen, dödlig dos av en herbicid (Prather et al., 2000). På grund av ett högt selektionstryck av herbicidanvändning på ogräsen under flera år kan resistens hos ogräsarter bli ett problem. Tidig forskning inom området visade att resistens sällan påträffades i ogräspopulationer som inte behandlats av herbicider. Det antogs bero på att de resistenta plantorna hade sämre förutsättningar att överleva och reproducera sig i ogräspopulationen. Detta har motbevisats i nyare forskning. Resistenta plantor klarar sig minst lika bra som andra plantor i en ogräspopulation (Prather et al., 2000). Upprepad användning av herbicider med samma verkningsmekanism, samma herbicidklasser, påverkar utvecklingen av resistens (Anonym, 2013c). Det gynnar resistenta plantor att reproduceras och dominera en population (Prather et al., 2000) vilket är ett tydligt exempel på en snabb evolution (Powels & Yu, 2010). Herbicidresistens upptäcktes senare jämfört med fall av resistens mot fungicider och insekticider (Moss, 2002). Växter har längre generationstid på grund av skillnader i livscykel och genetik, jämfört med insekter och svampar. Faktorer som selektionstryck från herbicider och ogräsens fröeserver i marken påverkar utvecklingens framfart (Prather et al., 2000).

I över 340 000 olika fält i världen har, fram till sommaren 2010, herbicidresistens upptäckts i 194 olika växtarter, 114 tvåhjärtbladiga arter och 80 enhjärtbladiga arter. Det är ett problem som kommer att öka. Herbicide Resistant Action Committee har delat in verkningsätt för herbicider i 22 olika grupper. I 17 av dessa grupper har herbicidresistens påträffats (Cobb & Reade, 2010b). De flesta fall av herbicidresistens har påträffats där samma herbicider, eller herbicider med samma verkningsätt, har använts under längre perioder. Med intensiva jordbrukssystem, ensidiga växtföljder och reducerad jordbearbetning krävs det stor mängd herbicider för att kunna kontrollera ogräsen. Herbicidresistens har

utvecklats inom flera olika grödor, men de grödor, i jordbruket, där det uppstått mest problem är majs, spannmål och ris. (Moss, 2002).

Tabell 1. Översikt över verkningsmekanismer hos olika grupper av herbicider (kemiska ogräsmedel). Modifierad enligt HRAC (Anonym, 2013h).

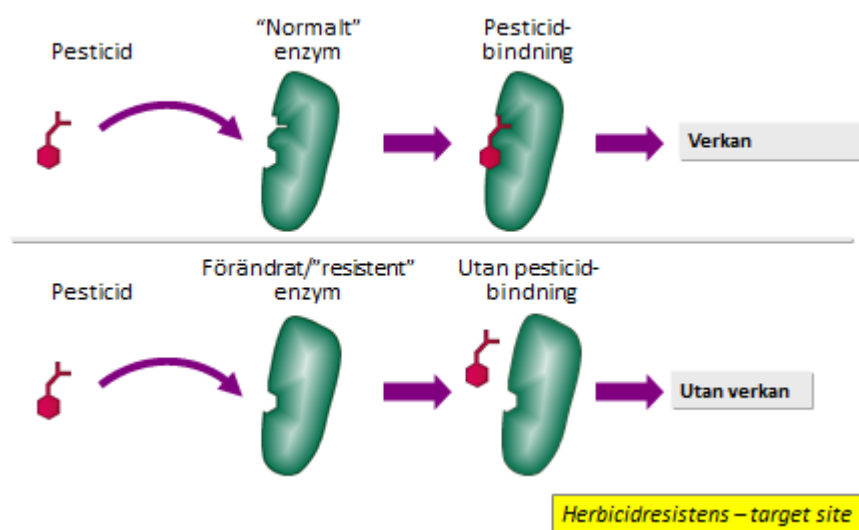
HRAC grupp	Verkningsmekanism
A	ACC; hämmar fettsyrsyntesen
B	ALS; hämmar aminosyrsyntesen
C	Fotosystem II; hämmar fotosyntesen vid fotosystem II
E	PPO; hämmar produktionen av klorofyll i växten
F1	PDS; hämmar biosyntesen av karotenoider
F2	HPPD; hämmar enzymet 4-hydroxyfenylpyruvat dioxygenas
F3	Karotenoid; hämmar biosyntesen av karotenoider
G	EPSP; i glyfosat, hämmar syntesen av aromatiska aminosyror
K1	Mitos; hämmar celledelningen
K3	Celldelning; hämmar celledelningen
N	Lipidsyntes; hämmar lipidsyntesen
O	Auxin; hämmar tillväxten

Det första omfattande herbicidresistensfallet globalt var target-site resistens mot triaziner (Powels & Yu, 2010), som inhiberar fotosyntesen (Jensen, 1982). Resistensfall mot triaziner påträffades både i Europa och i USA. Det var då resistens hos korsört (*Senecio vulgaris* L.) som upptäckts i flera plantskolor. Först då blev resistensfrågan uppmärksammas på riktigt (Fogelfors, 2013). Nästa omfattande fall av herbicidresistens var hos gräsgräs mot ACCase inhiberande herbicider (Powels & Yu, 2010), vilket påverkar syntesen av fettsyror (Reade & Cobb, 2002). Den idag snabba utvecklingen av herbicidresistens mot glyfosat kommer att bli nästa stora problem. Glyfosat är en av de viktigaste och vanligaste herbiciderna som bland annat hämmar syntesen av vissa aromatiska aminosyror (Powels & Yu, 2010). Resistenta ogräs har registrerats i hela 52 länder, där USA är det land med störst antal olika resistenta biotyper. Resistens var till en början främst begränsad till tempererade länder med intensiva odlingssystem, till exempel Europa, Nordamerika och Australien. I takt med ökad användning av herbicider och att även utvecklingsländer antar mer intensiva jordbrukssystem ökar problemet nu också i länder som Asien, Syd- och Centralamerika. Utbudet av herbicider är ofta begränsat i utvecklingsländer. Det finns få alternativ till de herbicider mot vilka ogräs utvecklats resistens, vilket gör att problemet antagligen kommer att fortsätta (Moss, 2002).

1.3 Resistensmekanismer

1.3.1 Target site resistens

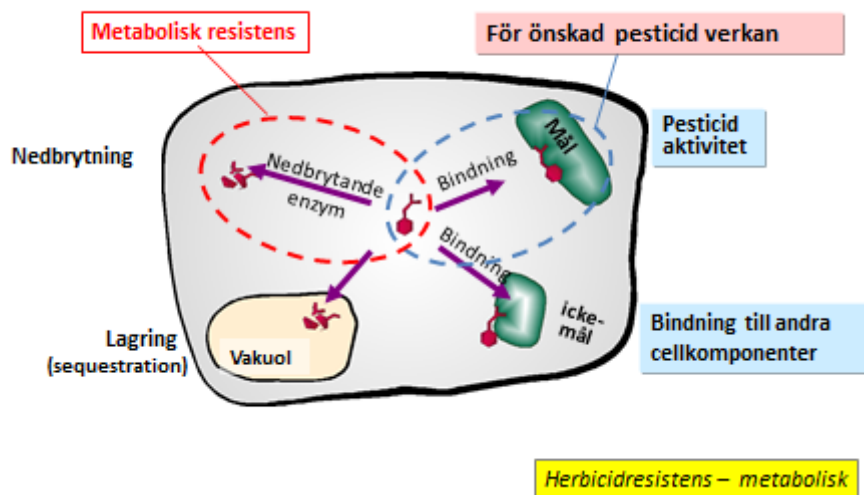
Herbicerider kan verka på en eller flera platser i en växt, såsom enzymer, proteiner eller andra platser dit herbicerider kan binda till växten och störa dess normala funktioner (Prather et al., 2000). De flesta fall av herbicidresistens beror på förändringar på verkningsplatsen för herbiciden vilket leder till att herbiciden inte kan göra nytta. Target site resistens är den vanligaste resistensmekanismen. De flesta fall av resistens mot triaziner, ALS-inhibitorer (till exempel Express 50 SX), ACCase hämmare och dinitroaniliner beror på förändringar på verkningsplatsen (Powels & Yu, 2010). Target-site resistens beror ofta på en enskild punktmutation hos den gen som kodar för platsen. Många av de hittills rapporterade fall av herbicidresistens till ALS-inhibitorer har orsakats av en target site mutation. Få fall beror på en ökad metabolism. (Cobb & Reade, 2010b). De flesta fall av herbicidresistens mot ALS inhibitorer beror på en platsmutation. Hos ogräs som utvecklat resistens beror det vanligtvis på en enskild gen eller allel (Valverde & Itoh 2001). Vid target site resistens är målenzymet förändrat och herbiciden kan inte binda till platsen (figur 1). Herbicidens verkan uteblir och följden blir vanligen en hög resistensfaktor (Nilsson, 2014, personligt meddelande).



Figur 1. Beskrivning av target site resistens. I normalfallet fäster pesticiden vid enzymet och bekämpningseffekt erhålls (övre delen av bilden). Vid target site resistens har enzymet förändrats. Pesticiden kan inte binda till enzymet och effekten uteblir (nedre delen av bilden). Källa: Anders TS Nilsson, efter material från Bayer.

1.3.2 Non-target site resistens

Skillnader i metabolism påverkar växtens selektivitet mot herbicider. Herbicider används för att kontrollera ogräs i flera olika grödor. Grödan klarar, till skillnad från ogräset, av att bryta ned herbiciden (Moss, 2002). När herbiciden bryts ner i ogräsplantan, innan det hinner göra verkan, kallas det för metabolisk resistens (non-target site resistens). Denna typ av resistens orsakas ofta av flera genförändringar hos ogräset (Anonym 2013e). Enzymer i växten bryter ner herbicider när de når en växtcell. Beroende på hur snabbt nedbrytningen sker avgör om växten överlever eller dör efter en herbicidbehandling. När en enskild ogräsplanta i en population har förmågan att öka metaboliseringen av herbicider har plantan en förbättrad metabolisk resistens (Cobb & Reade, 2010b). Vid metabolisk resistens har ogräsplantan en utökad förmåga att bryta ned herbiciden. Herbiciden kan fortfarande binda till den normala verkningsplatsen men koncentrationen av ämnet i ogräsets celler blir för låg för att de ska påverkas av herbiciden. Upptaget av herbiciden i ogräsens celler är lika stor i normalkänsliga ogräs som i resistenta ogräs, men nedbrytningen är betydligt större i de resistenta ogräsen (figur 2) (Nilsson, 2014, personligt meddelande).



Figur 2. Möjliga transportvägar för pesticiden i växtcellen. Vid non-target site resistens) (metabolisk resistens) sker en snabb och utökad nedbrytning av herbiciden. Källa: Anders TS Nilsson, efter material från Bayer.

1.3.3 Korsresistens

En växt med endast en resistensmekanism som är tolerant mot flera herbicider visar på korsresistens (Cobb & Reade, 2010b) Target site korsresistens kan förekomma hos herbicider som binder till samma enzym (Heap & LeBaron 1982). Target site korsresistens inträffar när det sker en biokemisk förändring på platsen i

växten och verkan av herbiciden också ger resistens mot herbicider från en annan klass som verkar på samma sätt (Powels & Preston, 2013). Det finns stor variation av herbicider jämfört med till exempel insekticider vilket betyder att det förväntas mindre korsresistens hos herbicider. Däremot har det i en grupp herbicider, triaziner, som används ofta, intensivt och i flera olika grödor, uppstått korsresistens (Gressel & Segel, 1982). När en population blir resistent mot mer än en herbicid med olika verkningsätt på grund av enbart en mekanism inträffar en annan typ av korsresistens, non-target korsresistens (Heap & Lebaron, 2001).

1.4 Herbicider

1.4.1 ALS-inhibitorer

Det finns 15 olika kemiska klasser som kan beskrivas som ALS inhibitorer. Av dessa är sulfonylurea, imidazolinon och triazolopyrimidin vanligt förekommande (Powels & Preston, 2013). ALS-inhibitorer är herbicider som verkar genom att hämma enzymet acetolaktatsyntas (ALS). Enzymet, ALS, är viktigt i biosyntesen av aminosyrorna isoleucin, leucin och valin. ALS finns i cellernas kloroplaster och katalyserar kondensationsreaktionen för att bilda 2-acetolaktat. På grund av den direkta effekten av att biosyntesen av aminosyror hämmas av ALS-inhibitorer stoppas celldelningen snabbt. Trots att tillväxten avstannar kan det gå några dagar innan plantan visar fysiska symptom av herbiciden. Först efter 10-14 dagar dör plantan helt. Detta beror på att metabolismen styrs av grupper av aminosyror och först när dessa grupper har sjunkit till en kritisk koncentration dör plantan. Spannmålsgrödor, till exempel, har en förmåga att metabolisera herbiciderna snabbt till icke toxiska metaboliter vilket gör att de inte tar skada vid en bekämpning (Reade & Cobb, 2002).

1.4.2 Express 50 SX

Express 50 SX är en ALS-inhiberande herbicid som är systemiskt verkande (Anonym, 2013h). Systemiskt verkande herbicider tränger in i växten och transporteras i växtens xylem till dess olika delar. Det räcker därför med att herbiciden bara träffar delar av plantan. Det är främst tillväxten hos växten som påverkas av herbiciden (Anonym, 2011). Express 50 SX har effekt mot de flesta örtogräs som förekommer i stråsäd, som direkt avstannar i tillväxt. Symptom som kloros och plantdöd kan uppmärksammas inom 1-3 veckor. Herbiciden är främst bladverkande men med viss jordverkan. God verkan av Express 50 SX erhålls även vid lägre temperaturer, ner till +5°C. Vid mycket torra betingelser kan resultatet av besprutningen försämrats. Besprutning när ogräsen har 2-4 örtblad ger snabbast och bredast effekt (Anonym, 2013h).

1.5 Blåklint

1.5.1 Biologi

Blåklint (*Centaurea cyanus* L.) tillhör familjen Asteraceae, korgblommiga växter. Asteraceae har över 1500 släkten och 23 000 arter och är därmed jordens artrikaste familj. Av dessa finns omkring 50 släkten och 150 arter i Sverige (Anderberg, 2011). Blåklint är en ört med smala blad, upprätt stjälk och blå blommor. Stjälken kan bli upp till en meter hög och grenar sig ofta. Blåklint är ett- till tvåårig och blommar under juni till augusti. Blåklint förekommer främst i södra och mellersta Sverige på odlad åkermark, men växer även utmed vägkanter och på avfallsplatser i hela landet (Anderberg, 2009). Blommorna, hos korgblommiga växter, sitter omgivna av fjäll i huvudlika samlingar som liknar korgar. Blommorna är ofta av två slag, strålblommor i kanten av korgarna och i mitten av korgarna sitter så kallade diskblommor (Anderberg, 2011). Hos blåklint är blomkorgarna tre till fyra centimeter breda. Kantblommorna är klarblå och diskblommorna är violetta (Anderberg, 2009). Fröskalet är blankt och vitt eller blekt. I ena änden sitter det gråbruna borstar. Fröna kan överleva i upp till 5 år i marken och de gror bäst på cirka 3 cm djup. Blåklint har god konkurrensförmåga mot spannmålsgrödor, både i höst- och vårsådda grödor, vilket kan påverka avkastningen och skörden hos den odlade grödan negativt. Fröstorleken hos blåklint liknar spannmål vilket gör ogräset svårrensat från den skördade grödan (Anonym, 2013f). Fröstorleken hos blåklint gynnar ogräset vid groning. Ljusets betydelse vid groning är mindre hos arter med stora frön, som blåklint, jämfört med hos arter mindre storlek på fröna (Milberg med flera, 2000).

1.5.2 Resistens

Tester på herbicidresistens hos blåklint har gett varierande resultat. Första fyndet av herbicidresistens hos blåklint i Sverige konstaterades år 2009 och var mot ALS-inhibitorer (Nilsson, 2013). Dåliga effekter av bekämpning rapporterades även år 2011 i en höstveteodling i Småland. Blåklint visade sig då vara resistent mot sulfonylureor (Anonym, 2012).

1.6 Syfte

Under 2012-2013 konstaterades sämre bekämpningseffekter mot blåklint på några fält i Östergötland, Blekinge och Skåne. För att undersöka om känsligheten mot

herbicer hade minskat hos dessa blåklintspopulationer samlades fröer in under sommaren 2012 och 2013.

Syftet med experimentet var att undersöka känsligheten hos fem olika populationer av blåklint (*Centaurea cyanus* L.) mot en ALS-inhibitor, herbiciden Express 50 SX.

1.7 Avgränsningar

I arbetet presenteras resultat från ett växthusförsök där känsligheten hos ogräsarten blåklint (*Centaurea cyanus* L.) mot en ALS-inhibitor har testats. Det innehåller också en litteraturstudie rörande herbicidresistens och örtogräset blåklint.

2 Material och metoder

2.1 Frömaterial

Under sommaren 2013 samlades frön från två blåklintspopulationer från två olika platser i Östergötlands län. Den ena populationen kom från ett fält i närheten av Skänninge (N 58° 23.56', E 15° 5.13'), medan den andra populationen kom från ett fält i närheten av Vikingstad (N 58° 22.99', E 15° 25.91'). Populationerna misstänktes vara mindre känsliga mot herbicider eftersom plantorna överlevde kemisk bekämpning. De insamlade fröna rensades från blommor och förvarades torrt. Fältet i Skänninge behandlades säsongen 2013 med 220 g Broadway mot örtogräs samt 0,5 l PG26/ha. På fältet odlades höstvetete år 2013 och potatis år 2012. Fältet i Vikingstad behandlades säsongen 2013 med 1,0 l Starane XL/ha + 10 g Harmony SX/ha, där Harmony är en ALS-inhibitor. Grödan som odlades på fältet 2013 var höstvetete (Sjöberg, 2013, personligt meddelande).

Frön från ytterligare två populationer ingick i experimentet. Den ena populationen kom från ett fält i Blindrå år 2013 i närheten av Listerby (N 56° 12.07', E 15° 23.45') i Blekinge län. Den andra populationen hämtades från ett fält i närheten av Tygelsjö (N 55° 31.02', E 13° 0.16') i Skåne län år 2012. Även dessa två populationer misstänktes vara mindre känsliga mot ALS-hämmare. Den 13 maj 2013 behandlades fältet i Blindrå med 165 g Broadway och 0,5 l PG26N/ha. Behandlingen gav god effekt till en början men därefter började blåklintsplantorna växa igen. Den 20 maj gjordes en ny bekämpning med 220 g Broadway + 1,0 l MCPA + 0,5 l PG26N/ha. Ogrästrycket var då högt och ogräsplantorna var stora (Hedlund, 2013, personligt meddelande). Den insamlade populationen från Tygelsjö växte säsongen 2012 i höstvetete. Fältet besprutades med rekommenderad dos av herbiciden Cougar som innehåller de verksamma beståndsdelarna isoprutoron 500 g/l och diflufenikan 100 g/l (Nilsson, 2014, personligt meddelande).

Även en referenspopulation som visat sig vara känslig mot ALS-hämmare användes i experimentet. Referenspopulationen kom ursprungligen från ett fält i närheten av Mjölby i Östergötlands län (N 58° 19.32', E 15° 7.97').

Tabell 2. Geografiskt ursprung för de fem blåklintspopulationerna som användes i växthusexperimentet.

Population	Geografiskt ursprung
Referens (0)	Mjölby, Östergötland
1	Skänninge, Östergötland
2	Vikingstad, Östergötland
3	Blindrå, Blekinge
4	Tygelsjö, Skåne

2.2 Grobarhetstest

Innan fröna planterades utfördes ett grobarhetstest på de två populationer som samlats in i Östergötland. Testet genomfördes i petriskålar som var 90 mm i diameter. Två filterpapper användes per skål. Filterpappren fuktades med vanligt kranvatten. Fröna placerades slumpmässigt på filterpapperet, totalt 40 frön/skål. Petriskålarna placerades inomhus i ett fönster med tillgång till solljus. Inomhustemperaturen låg på ungefär 20 grader och antal soltimmar låg runt 12 h.

Grobarhetstesten startades 11 september 2013. Efter 10 dagar hade 25 % av fröna från populationen hämtad från Vikingstad grott, och 15 % av fröna ur populationen från Skänninge hade grott. Testerna avslutades 21 september 2013. Övriga tre populationer hade i tidigare genomförda grobarhetstester visat på hög grobarhet och testades därför inte.

2.3 Växthusexperiment

2.3.1 Sådd

Blåklinsfröna såddes den 18 oktober 2013. De såddes i större lådor, 1-2 lådor per population beroende på tillgänglig frömängd. Totalt såddes fem populationer, varav en referenspopulation (population 0). Jord packades i lådorna, ca 3 cm upp från botten, och vattnades. Frön ströddes ut jämnt över jorden och



Figur 3. Sålådor som användes vid sådd av blåklint. Foto: Ida Gustafsson

ytterligare 1-1,5 cm jord placerades försiktigt ovanpå fröna. Jorden trycktes till för att omsluta alla fröna. Alla lådorna vattnades lätt efter sådd och placerades i växthus 1. Temperaturen var i snitt 18,4 °C och luftfuktighet cirka 70 %. Mellan kl. 04.00 till kl. 22.00 användes ljusarmaturer i växthuset. Värmen från lamporna gjorde att jorden i lådorna snabbt torkade ut och vattning behövde därför genomföras varje dag.

2.3.2 Omplantering

De första plantorna kom upp den 22 oktober, 4 dagar efter sådd. Population 3 och 4 växte snabbare och hade bättre och jämnare uppkomst än populationerna 0 (referenspopulation), 1 och 2. Population 3 och 4 omplanterades till krukor den 25 oktober, 7 dagar efter sådd, och placerades i växthus 2, med temperatur på i snitt 15,3 °C. Detta gjordes för att populationerna 0 (referenspopulation), 1 och 2 skulle växa ikapp i växthus 1 med varmare klimat. För att sänka temperaturen i växthus 2 släcktes varannan ljusarmatur och vattenspridare i atket användes. Plantorna omplanterades från lådor till krukor när de var i hjärtbladstadiet. Krukorna som användes var 11 cm × 11 cm × 12 cm. Jord packades i krukorna och vattnades. Fyra plantor planterades i varje kruka och vattnades därefter igen. Population 0 (referenspopulation), 1 och stod kvar i växthus 1 med varmare klimat till den 28 oktober. Därefter omplanterades de och placerades i växthus 2 tillsammans med population 3 och 4.



Figur 4. Plantorna efter omplantering. Foto: Ida Gustafsson

2.3.3 Försöksupplägg

Experimentet var fullständigt randomiserat med fem populationer, fem doser och fem upprepningar, dvs. 25 krukor per population användes i försöket. På grund av sämre grobarhet i population 2 från Vikingstad, Östergötland erhöles dock bara 17 krukor. Detta räckte till 3 upprepningar (3 × 5 krukor).

Tabell 3. Antal krukor/population och antal upprepningar per herbiciddos.

Population	Antal krukor/pop	Antal upprepningar/dos
Ref	25	5
1	25	5
2	15	3
3	25	5
4	25	5

2.3.4 Herbicid

I experimentet användes herbiciden Express 50 SX, som är en ALS-inhibitor. Rekommenderad dos är 8 gram aktiv ingrediens per ha.

2.3.5 Besprutning

När plantorna hade utvecklat 2-3 örtblad utfördes besprutning. Detta skedde den 6 november 2013. För besprutningen av växtmaterialet användes en sprutkabin vid institutionen för växtproduktions-ekologi, Sveriges lantbruksuniversitet i Uppsala (figur 5). Doser som användes var 0 (kontroll), 1/4, 1/2, hel (1/1) och dubbel (2/1) dos av rekommenderad dos. För mer information om sprutkammare och genomförande av bekämpning, se bilaga 1.



Figur 5. Sprutkabin, SLU, Uppsala.
Foto: Ida Gustafsson

Efter behandling placerades plantorna i växthus igen. Krukorna ställdes i vattentäta lådor och bevattnades underifrån. Jorden hölls fuktig fram till skörd.

2.3.6 Skörd

Då herbicidbehandlingen ansågs ha gett full effekt på plantorna (26 dagar efter besprutning) skördades experimentet. Detta skedde den 2 december 2013. En population skördades i taget, först referensen (population 0) och därefter populationerna 1, 2, 3 och 4. På varje enskild planta mättes höjden. Därefter klipptes en planta i taget och antal sidoskott på plantan, närmast bladbasen, räknades. All ovanjordisk biomassa från respektive kruka lades sedan i en aluminiumform. Växtmaterialet torkades i 105 °C i 24 timmar och vägdes dagen därpå.

2.4 Statistisk analys

För att stabilisera variationen i datamaterialet, transformerades observationerna för höjder och antal sidoskott till kvadratroter och observationerna för torrvikter till naturlig logaritm, innan variansanalyser genomfördes.

Effekterna av behandling (besprutning) på torrvikt, summa höjd och summa sidoskott utvärderades genom användning av en Mixed Model (Procedure Mixed) (SAS Institute Inc., 2002-2004) innehållande huvudfaktorerna behandling (dos), population, block och dos \times population. Least square means för torrvikt, summa höjd respektive summa sidoskott separerades genom optionen PDIFF, det vill säga alla möjliga sannolikhetsvärden för hypotesen $H_0: \text{LSM}(i)=\text{LSM}(j)$.

För varje responsvariabel (torrvikt, summa höjd och summa sidoskott) gjordes variansanalys på (i) hela datasetet, (ii) hela datasetet utom kontrollet (dos = 0), samt (iii) hela datasetet utom population 2. Kontrollet (dos = 0) utslöts ur analys (ii) för att utvärdera eventuella samband mellan besprutade led. Population 2 innehöll bara tre upprepningar vilket kan ha gett ett datamaterial med större variation. Därför utfördes även analys (iii) där population 2 utslöts.

3 Resultat

3.1 Torrvikt

Signifikanta skillnader i torrvikt hittades mellan doser och mellan populationer vid alla tre variansanalyserna. Alla populationer reagerade lika på alla doser och inga signifikanta samspel hittades mellan population och dos.

3.1.1 Analys av hela datasetet

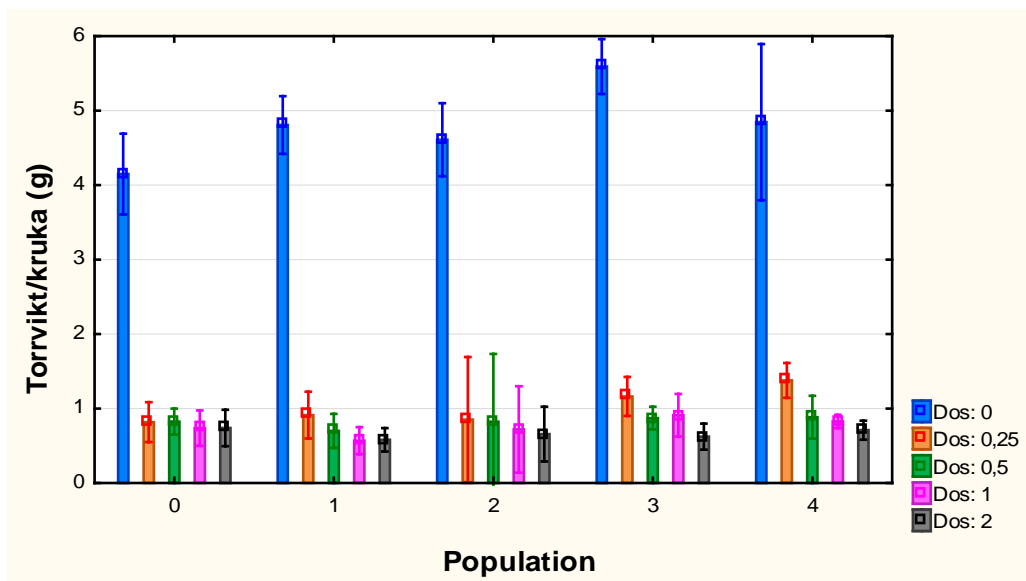
Vid analys av hela datasetet hade populationerna 0 (referenspopulation), 1 och 2 signifikant lägre torrvikter jämfört med populationerna 3 och 4. Kontrollen (dos = 0) hade signifikant högre vikt än de besprutade leden. Dos 0,25 hade i snitt signifikant högre torrvikt än doserna 0,5, 1 och 2 (figur 6).

3.1.2 Analys utan kontroll

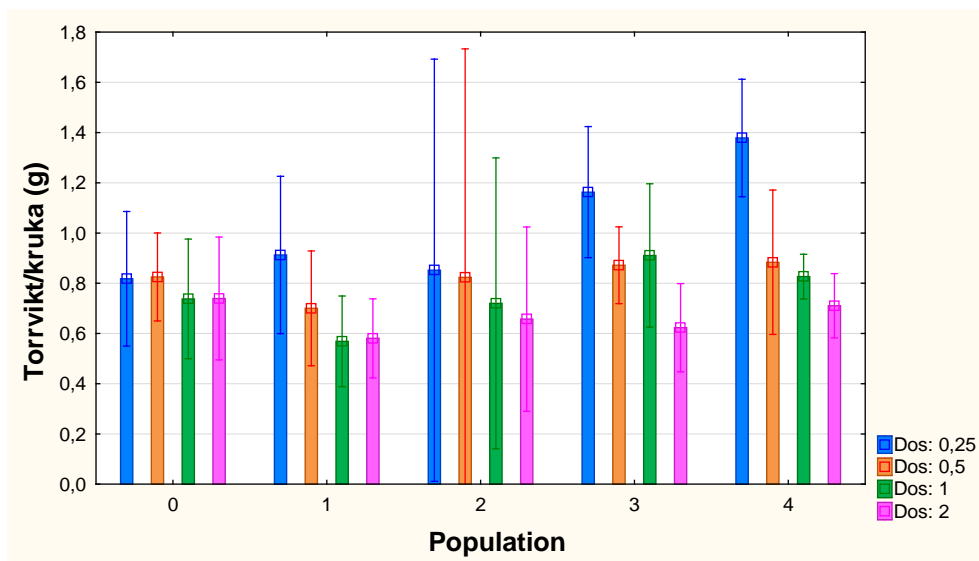
Vid analys utan kontroll (dos = 0) hade populationerna 0 (referenspopulation) och 2 signifikant lägre torrvikter än population 4. Population 1 hade signifikant lägre torrvikt än populationerna 3 och 4. Hos alla populationer var torrvikten signifikant högre vid dos = 0,5 jämfört med dos = 2 (figur 7).

3.1.3 Analys utan population 2

Vid analys utan population 2, hade populationerna 0 (referenspopulation) och 1 signifikant lägre vikter än populationerna 3 och 4. Kontrollen (dos = 0) hade signifikant högre vikt än de besprutade leden. Dos 0,25 hade i snitt signifikant högre torrvikt än doserna 0,5, 1 och 2. Dos 0,5 hade signifikant högre vikt än dos 2.



Figur 6. Mängd producerad torrsvikt/kruka (g) för respektive blåklintspopulation och dosnivå. Medelvärde \pm 95% konfidensintervall. Population 0 = referenspopulation, Mjölby, population 1 = Skänninge, population 2 = Vikingstad, population 3 = Blindrå och population 4 = Tygelsjö. Populationerna behandlades med fem doser av herbiciden Express 50 SX: 0 (0%), 0,25 (25%), 0,5 (50%), 1 (100%) och 2 (200%). Procenttalen anger mängd i förhållande till rekommenderad dos (8 g aktiv substans/ha).



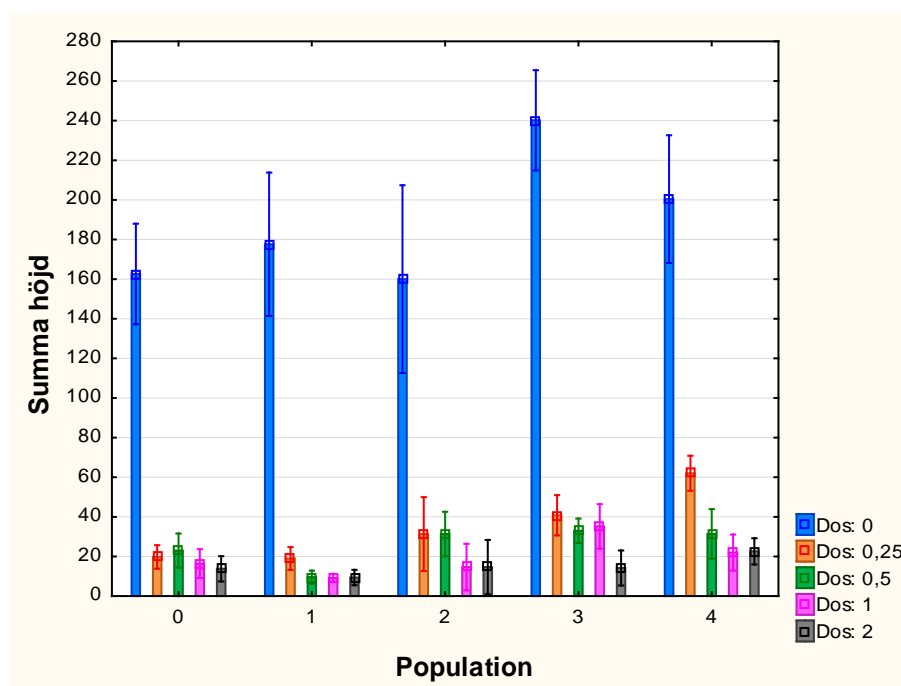
Figur 7. Mängd producerad torrsvikt/kruka (g) för respektive blåklintspopulation vid doserna 0,25 (25%), 0,5 (50%), 1 (100%) och 2 (200%). Medelvärde \pm 95% konfidensintervall. Procenttalen anger mängd i förhållande till rekommenderad dos av Express 50 SX (8 g aktiv substans/ha). Population 0 = referenspopulation, Mjölby, population 1 = Skänninge, population 2 = Vikingstad, population 3 = Blindrå och population 4 = Tygelsjö.

3.2 Summa-höjd

Vid de tre olika variansanalyserna hittades signifikanta skillnader mellan doser och mellan populationer. Signifikanta samspel fanns också mellan population och dos, dvs. populationerna reagerade olika på dosnivåer.

3.2.1 Analys av hela datasetet

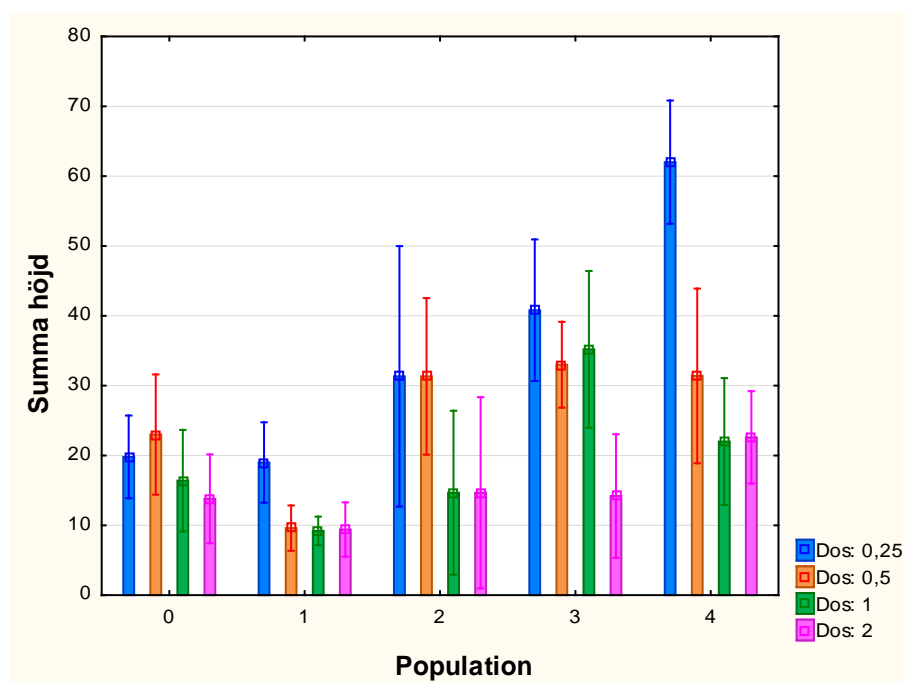
Vid analys av hela datasetet hade population 1 signifikant lägre summa-höjd än övriga populationer. Populationerna 0 (referenspopulation) och 2 hade signifikant lägre summa-höjd än populationerna 3 och 4. Vid dos = 0 hade alla populationer signifikant högre summa-höjd än vid övriga doser. Alla populationer hade vid dos = 0,25 signifikant högre summa-höjd än vid doserna 0,5, 1 och 2. Samma sak gällde för dos 0,5 där alla populationer hade signifikant högre summa-höjd än vid doserna 1 och 2. Slutligen hade alla populationer signifikant högre summa-höjd vid dos 1 jämfört med dos 2 (figur 8).



Figur 8. Summa planthöjd/kruka (cm) för respektive blåklintspopulation och dosnivå. Medelvärde \pm 95% konfidensintervall. Population 0 = referenspopulation, Mjölby, population 1 = Skänninge, population 2 = Vikingstad, population 3 = Blindrå och population 4 = Tygelsjö. Populationerna behandlades med fem doser av herbiciden Express 50 SX: 0 (0%), 0,25 (25%), 0,5 (50%), 1 (100%) och 2 (200%). Procentalen anger mängd i förhållande till rekommenderad dos (8 g aktiv substans/ha).

3.2.2 Analys utan kontroll

Vid analys utan noll-dos hade referenspopulationen signifikant lägre summa-höjd än population 3 och population 4. Population 1 hade signifikant lägre summa-höjd än övriga populationer. Population 2 hade signifikant lägre summa-höjd än referenspopulationen, population 3 och population 4. Dos 0,25 hade signifikant högre summa-höjd än dos, 0,5, 1 och 2. Dos 0,5 hade signifikant högre summa-höjd än dos 1 och 2. Dos 1 hade signifikant högre summa-höjd än dos 2 (figur 9).



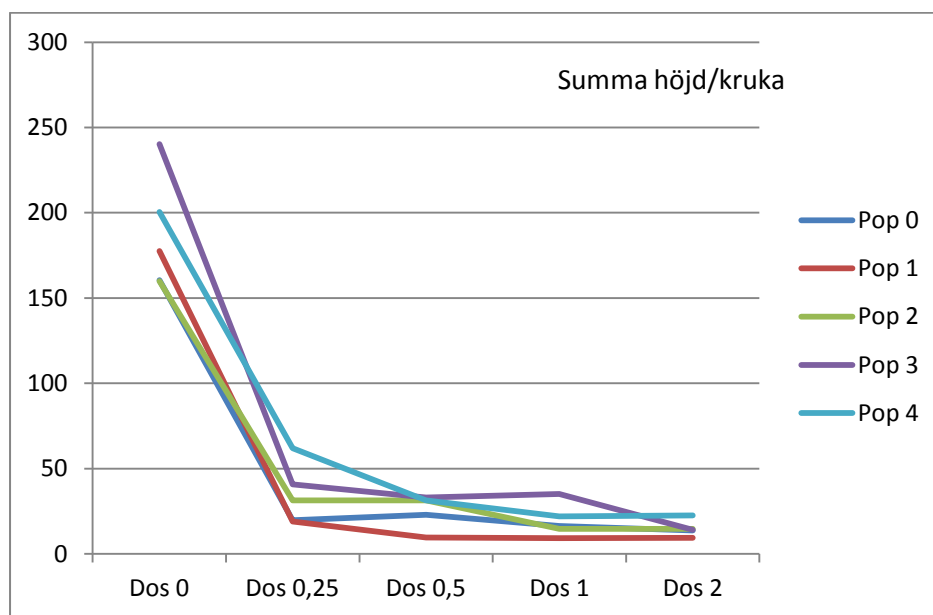
Figur 9. Summa planthöjd/kruka (cm) för respektive blåklintspopulation vid doserna 0,25 (25%), 0,5 (50%), 1 (100%) och 2 (200%). Medelvärde \pm 95% konfidensintervall. Procentalen anger mängd i förhållande till rekommenderad dos av Express 50 SX (8 g aktiv substans/ha). Population 0 = referenspopulation, Mjölby, population 1 = Skänninge, population 2 = Vikingstad, population 3 = Blindrå och population 4 = Tygelsjö.

3.2.3 Analys utan population 2

Population 1 hade signifikant lägre summa-höjd än populationerna 0 (referenspopulation), 3 och 4 medan population 0 (referenspopulationen) hade signifikant lägre summa-höjd än populationerna 3 och 4. Kontrolladet (dos = 0) hade signifikant högre summa-höjd än övriga doser. Dos 0,25 hade signifikant högre summa-höjd än dos 0,5, 1 och 2. Dos 0,5 hade signifikant högre summa-höjd än dos 2 och dos 1 hade signifikant högre summa-höjd än dos 2.

3.2.4 Samspel mellan population och dos

Populationerna reagerade olika vid olika doser vilket illustreras i figur 10. Vid dos = 0 hade exempelvis population 1 (röd linje) högre summa-höjd jämfört med population 2 (grön linje) medan summa-höjden vid dos = 0,25 var högre för population 2 än för population 1. Vidare minskade summa-höjden vid ökande dos för population 4 (turkos linje) medan summa-höjden för population 0 (referenspopulationen, blå linje) först minskade, sedan ökade något för att sedan minska igen.



Figur 10. Samspel mellan population och dos för summa-höjd/kruka (medelvärden, cm). Population 0 = referenspopulation, Mjölby, population 1 = Skänninge, population 2 = Vikingstad, population 3 = Blindrå och population 4 = Tygelsjö. Populationerna behandlades med fem dosnivåer av herbiciden Express 50 SX: dos 0 (0%), dos 0,25 (25%), dos 0,5 (50%), dos 1 (100%) och dos 2 (200%). Procenttalen anger mängd i förhållande till rekommenderad dos (8 g aktiv substans/ha).

3.3 Summa sidoskott

Signifikanta skillnader mellan doser och mellan populationer hittades vid alla tre analyserna.

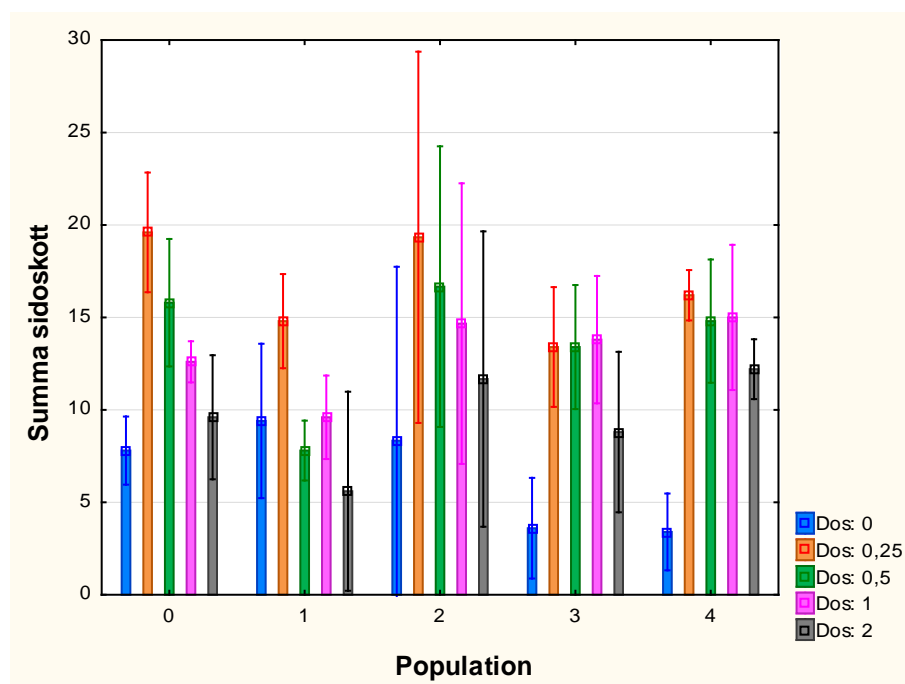
3.3.1 Analys av hela datasetet

Population 1 hade signifikant lägre summa-sidoskott än populationerna 0 (referenspopulationen), 2 och 4. Population 3 hade signifikant lägre summa-sidoskott än populationerna 0 (referenspopulationen) och 4. Population 2 hade signifikant högre summa-sidoskott än populationerna 3 och 4. Kontrollet (dos =

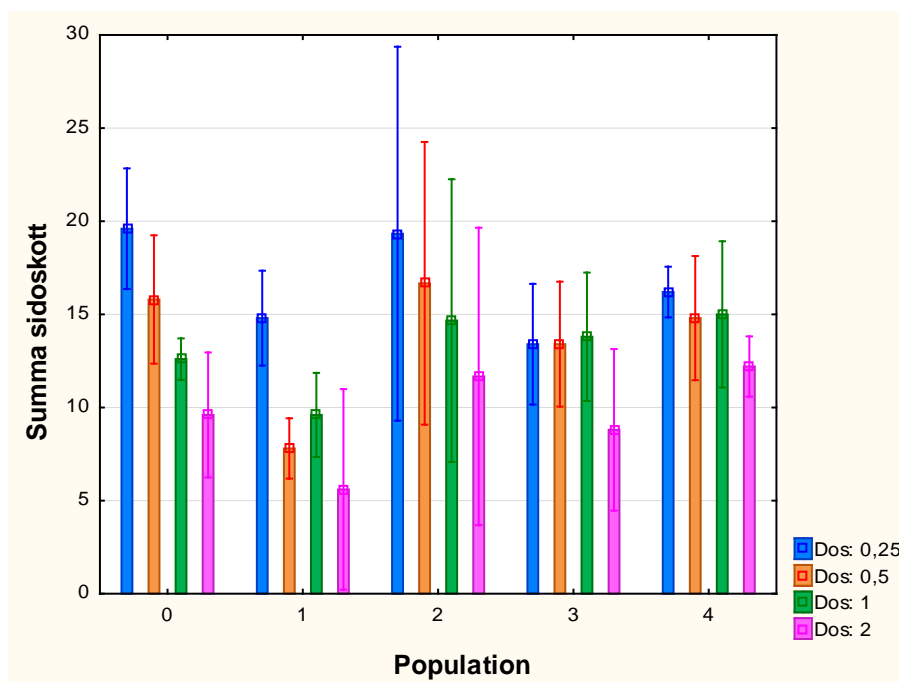
0) hade signifikant lägre summa-sidoskott än de besprutade leden. Summa-sidoskott var signifikant högre vid dos = 0,25 jämfört med doserna 0,5, 1 och 2. Vid dos = 0,5 respektive dos = 1 var summa-sidoskott signifikant högre än vid dos = 2 (figur 11). Vid analys av hela datasetet hittades även signifikanta samspel mellan population och dos.

3.3.2 Analys utan kontroll

Vid analys utan kontroll (0-dos) hittades inga signifikanta samspel mellan dos och population. Populationerna 1 respektive 3 hade signifikant lägre summa-sidoskott än populationerna 0 (referenspopulation), 2 och 4. Vid dos = 0,25 var summa-sidoskott signifikant högre än vid doserna 0,5, 1 och 2. Vid dos = 0,5 respektive dos = 1 var summa-sidoskott signifikant högre än vid dos = 2 (figur 12).



Figur 11. Summa sidoskott/kruka (antal) för respektive blåklintspopulation och dosnivå. Medelvärde \pm 95% konfidensintervall. Population 0 = referenspopulation, Mjölby, population 1 = Skänninge, population 2 = Vikingstad, population 3 = Blindrå och population 4 = Tygelsjö. Populationerna behandlades med fem doser av herbiciden Express 50 SX: 0 (0%), 0,25 (25%), 0,5 (50%), 1 (100%) och 2 (200%). Procentalen anger mängd i förhållande till rekommenderad dos (8 g aktiv substans/ha).



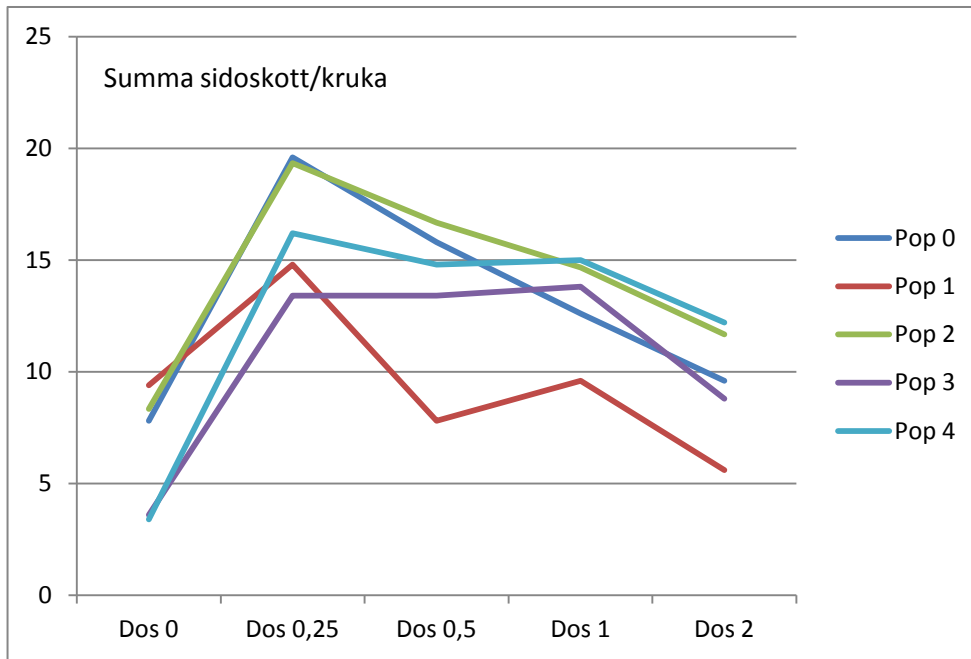
Figur 12. Summa sidaskott/kruka (antal) för respektive blåklintspopulation vid doserna 0,25 (25%), 0,5 (50%), 1 (100%) och 2 (200%). Medelvärde \pm 95% konfidensintervall. Procentalen anger mängd i förhållande till rekommenderad dos av Express 50 SX (8 g aktiv substans/ha). Population 0 = referenspopulation, Mjölby, population 1 = Skänninge, population 2 = Vikingstad, population 3 = Blindrå och population 4 = Tygelsjö.

3.3.3 Analys utan population 2

Vid analysen utan population 2 hittades signifikanta samspel mellan dos och population. Populationerna 1 respektive 3 hade signifikant lägre summa-sidaskott än populationerna 0 (referenspopulation) och 4. Kontrollet (dos = 0) hade signifikant lägre summa-sidaskott än de behandlade leden. Vid dos = 0,25 var summa-sidaskott signifikant högre än dos 0,5, 1 och 2. Vid dos = 0,5 respektive dos = 1 var summa-sidaskott signifikant högre än vid dos = 2.

3.3.4 Samspel mellan population och dos

Produktionen av sidaskott varierade mellan populationerna vid olika doser (figur 13). I kontrollet (dos = 0) hade exempelvis population 1 (röd linje) högre summa-sidaskott än population 4 (turkos linje) medan förhållandena blev det motsatta vid dos = 0,25. Vidare minskade summan sidaskott för population 1 (röd linje) mellan dos = 0,25 och dos = 0,5 för att sedan öka igen vid dos = 1. Detta mönster skiljer sig exempelvis från population 2 (grön linje) där summa sidaskott minskar från dos = 0,25 till dos = 1.



Figur 13. Samspel mellan population och dos för summa-sidokott/kruka (medelvärden, antal). Population 0 = referenspopulation, Mjölby, population 1 = Skänninge, population 2 = Vikingstad, population 3 = Blindrå och population 4 = Tygelsjö. Populationerna behandlades med fem dosnivåer av herbiciden Express 50 SX: dos 0 (0%), dos 0,25 (25%), dos 0,5 (50%), dos 1 (100%) och dos 2 (200%). Procentalen anger mängd i förhållande till rekommenderad dos (8 g aktiv substans/ha).

3.3.5 Jämförelse sidokottsbildning mellan populationer

I kontrollet (dos = 0) varierade sidokottsbildningen mellan populationerna. Populationerna 0 (referenspopulation) och 1 hade signifikant fler sidokott per kruka än populationerna 3 och 4 (figur 14).

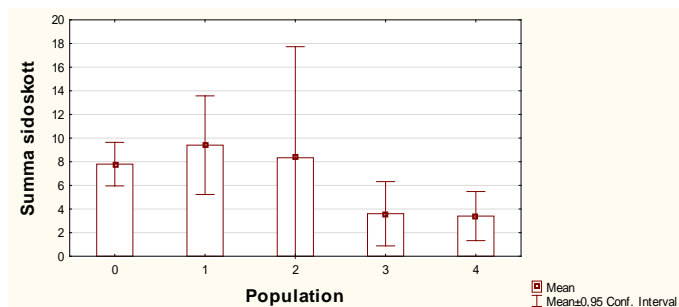


Figure 14. Summa sidokott/kruka för respektive population i kontrollet (0-dos). Medelvärde \pm 95% konfidensintervall. Population 0 = referenspopulation, Mjölby, population 1 = Skänninge, population 2 = Vikingstad, population 3 = Blindrå och population 4 = Tygelsjö.

4 Diskussion och slutsatser

Resultaten visade inte på några större skillnader mellan populationerna rörande effekten av kemisk bekämpning. Alla populationer reagerade på liknande sätt på bekämpning, dvs. torrsustansproduktionen minskade mycket kraftigt och höjdtutvecklingen avstannade i jämförelse med det obesprutade ledet. Slutsatsen blev därför att det inte fanns någon minskad herbicidkänslighet hos de studerade populationerna.

Populationerna visade dock på varierande förmåga att skjuta sidokott. I gräsarter stimuleras sidokottsbildning av avslagning, dvs. när huvudskottet slås av och den apikala dominansen bryts (Hay & Porter 2006). Cytokinin och auxin är två växthormoner som samverkar i regleringen av den apikala dominansen hos växterna, dvs. förmågan hos huvudskottet att hämma utvecklingen av sidokott. Huvudskottet är den primära källan för växthormonet auxin som hämmar bildningen av sidokott (Minorsky, 2008). Om huvudskottet tas bort försvinner källan för auxin samtidigt som cytokinin transporteras till rotsystemet. Detta hormon motverkar effekten av auxin då cytokinin signalerar till plantan att den ska sätta sidokott (Minorsky, 2008).

Vid besprutning av blåklintpopulationerna dog de flesta huvudskott men efter ett antal dagar började flertalet plantor att utveckla sidokott. Vid behandling med den lägsta herbiciddosen (0,25) satte plantorna relativt många sidokott. När herbiciddosen ökades minskade mängden producerade sidokott. I obehandlat led (dos = 0) satte plantorna betydligt färre sidokott jämfört med de behandlade leden (figur 11). Betydelsen av sidokottsbildning för plantornas förmåga att konkurrera med en gröda beror på förhållandena i fält. Växer blåklintsplantorna i en tät och konkurrenskraftig gröda kommer sidokottskjutning förmodligen inte att ha någon större betydelse för plantornas möjlighet att växa och sätta frön. Om plantorna däremot skulle växa i en gles och konkurrenssvag gröda kan de få större möjligheter att tillväxa och konkurrera med grödan om resurser.

I obehandlat led (dos = 0) satte populationerna 0 (referenspopulation) och 1 fler sidoskott än populationerna 3 och 4 (figur 14). Skillnaden i antal sidoskott mellan obehandlat led och den lägsta dosen (dos = 0,25) var därför inte lika stor för populationerna 0 och 1 jämfört med populationerna 3 och 4. Förmodligen finns det genetiska skillnader mellan populationerna som påverkar deras benägenhet att bilda sidoskott under normala förhållanden.

Å andra sidan verkade plantorna från populationerna 3 och 4 vara lite mindre "robusta" jämfört med övriga populationer. Dessa två populationer placerades i ett svalare växthus för att tillväxten skulle hämmas så att övriga populationer skulle växa ikapp. Temperaturen reglerades genom användning av svagare belysning i växthuset. Den lägre ljusnivån kan ha påverkat tillväxten hos plantorna på så sätt att de har sträckt sig efter ljuset och därmed fått ett gängligare växtsätt. Detta kan ha påverkat deras benägenhet att skjuta sidoskott samt höjdtutveckling och torrsustansproduktion och även ligga bakom små skillnader i respons mellan populationerna på besprutning.

I Danmark har screeningstudier genomförts för att undersöka förekomst av herbicidresistens hos blåklint, mjuknäva och skatnäva (Mathiassen & Kudsk, 2003). Resultaten visade att Express i blandning med herbiciderna Oxitril eller Starane gav 80-90% kontrolleffekt i fält vilket överensstämmer med resultaten från denna studie. I Polen däremot har dåliga effekter erhållits av ALS-inhibitorn klorosulfuron mot blåklint. Tester i växthus visade på att herbicidresistens utvecklats hos de studerade blåklintspopulationerna (Marczewska och Rola, 2005, 2006.). Eftersom blåklint är ett konkurrenskraftigt ogräs i höstveteodlingar kan detta bli ett ökande problem för de polska lantbrukarna (Tomczak, 2007).

Populationerna 1-4 var känsliga för herbicidbehandling i det utförda experimentet. I fält har de emellertid visat sig vara mindre känsliga, dvs. många plantor har överlevt bekämpning. Generellt är plantor uppdrivna i växthus ofta svagare och mer känsliga mot exempelvis bekämpning än plantor som vuxit i fält och detta kan ha påverkat resultaten. Ljustillgång är en viktig faktor för plantornas tillväxt. Experimentet utfördes under senhösten med korta dagar och få ljustimmar. Under experimentet användes tillgängliga växthuslampor men dessa tillsammans med dagsljus gav förmodligen inte samma mängd ljus som plantorna hade fått om experimentet utförts på våren. Även detta kan ha påverkat plantornas känslighet. Vidare utsattes de inte för konkurrens om utrymme, vatten eller näring vilket också kan ha påverkat deras känslighet.

Skillnader i utvecklingsstadier hos ogräs vid bekämpningstidpunkt har betydelse för hur de påverkas av herbiciden (Kudsk och Streibig, 2003). Information om vilket utvecklingsstadium de testade populationerna befann sig i när bekämpning utfördes i fält saknas tyvärr. Däremot brukar det vid en given tidpunkt finnas ogräsplantor i olika utvecklingsstadier samtidigt i fält vilket inte var fallet i det genomförda experimentet. Denna skillnad i variation kan också vara en förklaring till varför behandlingsresultaten i fält respektive växthus skiljde sig åt. En framtida studie om effekterna av olika utvecklingsstadier på plantornas återväxt efter besprutning hos blåklint skulle kunna belysa varför resultaten från sprutkammarförsöket avvek från observationerna i fält.

Även väderförhållanden vid besprutningstillfället påverkar herbicideffekten (Kudsk, 2008; Lundkvist, 1997). Trots att sprutkabin, som användes vid besprutningen av blåklintplantorna i växthusexperimentet, är konstruerad för att efterlikna en spruta i fält finns det faktorer som gör att förutsättningarna vid bekämpningen skiljer sig åt. Sprutkabinen är helt sluten och ingen vindavdrift sker vilket kan förekomma i fält. Vid bekämpning med bladherbicer har väderförhållandena vid tidpunkten för bekämpningen stor betydelse (Kudsk, 2008). Eftersom medlet tas upp via bladen skulle bekämpningseffekten minska om herbiciden inte stannar kvar på bladet. Vid regn i samband med sprutning finns risk för att herbiciden sköljs bort. Sker besprutning när växterna är stressade av torrt eller kallt väder så finns det också risk för att mindre andel tas upp av herbiciden (Lundkvist, 1997). Dessa faktorer påverkar hur mycket av herbiciden som växten hinner absorbera och därmed bekämpningseffekten. Genom fältexperiment där besprutning sker under olika väderförhållanden skulle effekterna av väderförhållanden vid besprutningstillfället på den senare återväxten av blåklint kunna kvantifieras.

Referenslista

- Anderberg, A., 2009. Blåklint. *Centaurea cyanus* L. Den virtuella floran.
<http://linnaeus.nrm.se/flora/di/astera/centa/centcya.html> [2013-09-24]
- Anderberg, A., 2011. Asteraceae. Korgblommiga växter. Den virtuella floran.
<http://linnaeus.nrm.se/flora/di/astera/welcome.html> [2013-10-08]
- Anonym, 2011. Kemisk ogräsbekämpning - jordbruk och trädgård. Säker bekämpning. Statens Jordbruksverk. Fjärde reviderade utgåvan, Författarna och Natur & Kultur, Stockholm, kap 16, s 139-148.
- Anonym, 2012. Blåklint, vallmo och åkervnen ytterligare några fall av herbicidresistens. Växtskyddscentralen Alnarp/Uppsala. Jordbruksverket.
<http://www.jordbruksverket.se/amnesomraden/odling/vaxtskydd/ogras/ograsbrev/2012nyhetsarki/v/nr8blaklintvallmoochakervnenytterligarenagrafallavherbicidresistens.5.2e937121386c0f243f800060.html> [2013-09-24]
- Anonym, 2013a. Kemisk ogräsbekämpning 2012/2013.
http://www2.jordbruksverket.se/webdav/files/SJV/trycksaker/Pdf_ovrigt/be20b.pdf [2013-09-19]
- Anonym, 2013b. Herbicidresistens, Jordbruksverket.
http://www2.jordbruksverket.se/webdav/files/SJV/trycksaker/Pdf_ovrigt/ovr225.pdf [2013-11-18]
- Anonym, 2013c. Herbicide Resistance Action Committee (2013-09-15). Resistance management strategies. <http://www.hracglobal.com/> [2013-09-17]
- Anonym, 2013d. Kofaktor. Nationalencyklopedin. <http://www.ne.se/kofaktor> [2013-10-18]
- Anonym, 2013e. Resistens, Herbicidresistens, Fungicidresistens, Insekticidresistens. Broschyr. Jordbruksverket. http://webbutik.jordbruksverket.se/cgi-bin/ibutik/AIR_ibutik.pl?funk=visa_artikel&artnr=OVR292 [2013-09-18]
- Anonym, 2013f. The encyclopedia of arable weeds. Flowering broad-leaved weeds, Cornflower.
<http://web.adas.co.uk/WeedManager/searchname.aspx?eppoCode=CENCY> [2013-10-15]

- Anonym, 2013g. DuPont. Växtskydd, Express 50 SX, Ogräsmedel. Produktbeskrivelse.
http://www2.dupont.com/Crop_Protection/sv_SE/assets/downloads/Produktbeskriv/ExpressSX2013.pdf [2013-11-21]
- Anonym, 2013h. Herbicidresistens – örtogräs. Ogräsbrev från Växtskyddscentralerna, Nr 7, 2013-04-29. <http://www.jordbruksverket.se/download/18.3813ecd813e547424678000518/> [2013-12-03]
- Cobb, A.H. & Reade, J.P.H., 2010a. Herbicide Discovery and Development. *Herbicides and Plant Physiology, Second Edition*, edited by Cobb, A. & Reade, J. Wiley-Blackwell Publishing, kapitel 2, ss 27-49.
- Cobb, A.H. & Reade, J.P.H., 2010b. Herbicide Resistance. *Herbicides and Plant Physiology, Second Edition*, edited by Cobb, A. & Reade, J. Wiley-Blackwell Publishing, kapitel 12, ss 216-237.
- Fogelfors, H., 2013. Ogräsbekämpning med kemiska medel förr och nu. Ogräsrådgivaren för lantbruk och trädgård, Sveriges Lantbruksuniversitet. <http://ograsradgivaren.slu.se> [2013-12-01]
- Gressel, J., & Segel, L.A., 1982. Interrelating Factors Controlling the Rate of Appearance of Resistance: The outlook for the future. *Herbicide Resistance in Plants*, edited by LeBaron, H.M. & Gressel, J., Wiley-Interscience Publishing, kapitel 17, ss. 325-347.
- Hay, R.K.M. & Porter, J.R., 2006. Interception of Solar Radiation. *The Physiology of Crop Yield, Second Edition*, kapitel 2, ss. 35-72
- Heap, I. & LeBaron, H. 2001. Introduction and Overview of Resistance. *Herbicide Resistance and World Grains*, edited by Powles, S.B. and Shaner, D.L. CRC Press Publishing, kapitel 1, ss 1-22.
- Jensen, K.I.N. 1982. The Roles of Uptake, Translocation and Metabolism in the Differential Intraspecific Responses to Herbicides. *Herbicide Resistant in Plants*, edited by LeBaron, H.M. & Gressel, J., Wiley-Interscience Publishing, kapitel 8, ss 133-162.
- Kristensen, J. 1992. *Experimental Pot Sprayer, User's Manual*.
- Kudsk, P. 2008. Optimising herbicide dose: a straightforward approach to reduce the risk of side effects of herbicides. *Environmentalist* 28:49–55.
- Kudsk, P. & Streibig J C. 2003. Herbicides – a two-edged sword. *Weed Research* 43, 90–102.
- Lundkvist, A. 1997. Influence of weather on the efficacy of dichlorprop-P/MCPA and tribenuron-methyl. *Weed Research* 37, 5, 361-371
- Marczewska, K. och Rola, H., 2005. Biotypes of *Apera spica-venti* and *Centaurea cyanus* resistant to chlorsulfuron in Poland. *Proceedings of the 13th EWRS Symposium, Bari, Italy, 19-23 June 2005(90-809789-1-4, 978-90-809789-1-1)*, (p.unpaginated). Netherlands: European Weed Research Society.

- Marczewska, K. och Rola, H. 2006. Identification of chlorsulfuron-resistant *Apera spica-venti* and *Centaurea cyanus* biotypes and chemical methods of their control in winter wheat Progress in Plant Protection 46 (1), 215-222.
- Mathiassen, S.K. & Kudsk, P., 2003. Forskellige herbiciders effekt overfor storkenæb, hejreæb og kornblomst. Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri. Danmarks JordbrugsForskning. Markbrug nr. 284a 2003. [2014-01-09]
- Milberg, P., Andersson, L. & Thompson, K., 2000. Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. Seed Science Research 10, 99-104.
- Minorsky, P.V. 2008. Plant Responses to Internal and External Signals. I: Campbell, N.A. & Reece, J.B., 2008. *Biology*. 8th edition. San Francisco, Pearson Education, 821-851.
- Moss, S.R., 2002, Herbicide-Resistant Weeds, Weed Management handbook, 9th edition, edited by Robert E.L. Naylor, Blackwell Publishing, kapitel 11, ss 225-252.
- Nilsson, A.T.S., 2013. Senaste nytt om herbicidresistens. Rapport från Växtodlings- och Växtskydds dagar i Växjö december 2013. Meddelande från Södra Jordbruksförsöksdistriktet 66, 24:1-24:13.
- Powels, S.B. & Preston, C., 2013. Herbicide Cross Resistance and Multiple Resistance in Plants. Education. Herbicide Resistant Action Committee. <http://www.hracglobal.com/Education/HerbicideCrossResistanceandMultipleResistance.aspx#Target%20site%20cross%20resistance> [2013-10-22]
- Powels, S.B. & Yu, Q., 2010. Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. Annual Review of Plant Biology, ss 317-347.
- Prather, T.S., Ditomaso, J.M. & Holt, J.S., 2000. Herbicide Resistance: Definition and Management Strategies. University of California. Publication 8012.
- Reade, J.P.H. & Cobb, A.H., 2002. Herbicides: Modes of Action and Metabolism. Weed Management Handbook, 9th edition, edited by Robert E.L. Naylor, Blackwell Publishing, kapitel 8, ss 134-170.
- Thill, D.C. & Lemerle, D., 2001. World Wheat and Herbicide Resistance. Herbicide Resistance and World Grains, edited by Powles, S.B. and Shaner, D.L. CRC Press publishing, kapitel 5, ss 165-194.
- Tomczak, B. 2007. Cornflower - biology, occurrence and control. Ochrona Roslin 52 (5), 27-29.
- Valverde, B.E. & Itoh, K., 2001. World Rice and Herbicide Resistance. Herbicide Resistance and World Grains, edited by Powles, S.B. and Shaner, D.L.. CRC Res Publishing, kapitel 6, s 195-252.

Muntliga källor:

Hedlund, K., 2013. Personligt meddelande. Växtodlingsrådgivare, Hushållningssällskapet Rådgivning Agri AB, Bräkne-Hoby. 2014-01-09.

Nilsson, A.T.S., 2014. Personligt meddelande. Forskningsledare, Biosystem och teknologi, Alnarp. 2014-01-12.

Sjöberg, A., 2013. Personligt meddelande. Växtodlingsrådgivare, Lovang Lantbrukskonsult AB. 2013-11-04.

Bilaga 1.

Beskrivning av sprutkabin och sprutningsmetodik

Sprutkabin

För besprutningen av blåklintsplantorna användes en sprutkabin vid institutionen för växtproduktionsekologi, SLU, Uppsala (figur B1). Sprutkabinen är konstruerad så att användningen av herbicider i experimentet ska kunna jämföras med användningen av herbicider i fält. Sprutningen sker med hjälp av en bom med två hydrauliska munstycken. Alla typer av munstycken från Hardi kan användas på sprutan (figur B2). Bommens hastighet kan justeras mellan 1,5 och 9,1 km/h. Vid reglering av hastigheten ska bommen vara i rörelse. Brytaren för bommen ställs då på manuell. Hastigheten justeras genom att vrida på handhjulet som sitter på höger sida längst upp på kabinen.



Figur B1. Sprutkabin. Foto: Ida Gustafsson

Avståndet mellan plantorna och munstyckena justeras genom att höja ovandelen på kabinen där munstyckena är monterade. Det görs genom att först lossa på handtagen på de båda stolparna som håller upp ovandelen på kabinen och sedan används veven som sitter på den högra sidan kabinen. För optimal bekämpningseffekt ska avståndet mellan



Figur B2. Sprutbommen och sprutmunstyckena inuti sprutkabinen. Foto: Ida Gustafsson

bom och plantor vara 50 cm. När höjden ställts in skruvas handtagen åt så att toppen på kabinen är fixerad. Krukorna placeras inuti sprutkabinen och med hjälp av tryckluft drivs herbiciden till munstyckena. Herbiciden laddas i bägare som är placerad i en tryckbehållare på högra sidan av sprutkabinen. Locket sätts på genom att vrida det medurs tills det låser sig. Den röda markeringen på locket ska matcha den röda markeringen på tryckbehållaren. Behållaren blir då trycksatt automatiskt. Locket kan öppnas genom att trycka in den lilla knappen som sitter ovanpå locket ett par sekunder. Trycket släpper då i behållaren.

Efter sprutning ska munstycken och kabin rengöras från kemikalierester. Locket till tryckbehållaren placeras då på "tvättröret" som sitter till höger om behållaren. Systemet med ledningar, rör och munstycken som transporterar herbiciden, töms först med tryckluft genom att vrida brytaren för "nozzle cleaning" till "air" (figur B3). Genom att vrida brytaren till "water" körs sedan vatten igenom systemet och rengör kabin, ledningar och munstycken. Till sist vrids brytaren tillbaka till "air" och med hjälp av trycklyften töms systemet på överflödigt vatten efter rengöringen (Kristensen 1992).

Kalibrering av sprutan inför besprutning

För att kontrollera funktionen hos sprutan innan experimentet behandlades så utfördes en kalibrering med avjonat vatten. Tre plastskålar, så kallade blåskålar, med känd vikt kördes igenom sprutan 15 gånger och vägdes sedan för att skatta mängden vätska som hamnade i blåskålarna (tabell B1). Med hjälp av arean hos blåskålarna beräknades mängden sprutvätska i l/ha. Vid kalibrering och besprutning ställdes kabinsprutan på följande värden: tryck 3,5 bar och bomhastighet 6,0 km/h. Sprutbommen placerades 50 cm ovanför det besprutade



Figur B3. Knappsats tillhörande sprutkabinen. Foto: Ida Gustafsson

målet, dvs. blåskålar vid kalibrering och plantor vid besprutning. Vid besprutning av plantor höjdes bommen 10 cm för att kompensera för krukornas höjd.

Tabell B1. Skattning av mängd avjonat vatten (aq) som sprutan avgav efter 15 sprutomgångar. Medelvikt (aq) användes sedan för att beräkna avgiven sprutmängd i l/ha.

	Vikt blåskål (g)	Vikt blåskål efter 15 sprutningar (g)	Summavikt aq (g)	Medelvikt aq/15 (g)
Blåskål I	82,73	88,64	5,91	0,394
Blåskål II	80,51	85,82	5,31	0,354
Blåskål III	81,37	87,18	5,81	0,387

Nedan följer en beskrivning av kalibreringsberäkningarna:

Mängd vätska/blåskål:

$$\bar{x} = (0,394 + 0,354 + 0,387)/3 = 0,378 \text{ g}$$

=> 0,378 g vätska/blåskål och besprutning.

1. Yta blåskål omräknad i ha

Diameter på blåskål: 18 cm

Radie blåskål: 9 cm

$$A = r * r * \pi$$

$$A = 9 * 9 * \pi \approx 254,5$$

Area blåskål: 254,5 cm²

$$254,5 \text{ cm}^2 / 10\,000 = 0,02545 \text{ m}^2$$

$$0,02545 \text{ m}^2 / 10\,000 = 0,00002545 \text{ ha}$$

2. Vätska i l/ha

$$0,378 \text{ g} = 0,378 \text{ ml}$$

$$0,378 \text{ ml} / 1000 = 0,000397 \text{ l}$$

$$0,000397 \text{ l} / 0,00002545 \text{ ha} = 148,53 \text{ l/ha}$$

Sprutan gav 148,53 l/ha vid trycket 3,5 bar och hastigheten 6,0 km/h.

Vid testkörning av kabinsprutan kunde det konstateras att för varje sprutning åtgick < 40 ml vätska. Ungefär 200 ml vätska gick åt till att fylla slangen, ytterligare 500 ml vatten fylldes i en bägare som placerades i den trycksatta

behållaren. Sprutning utfördes 10 gånger efter varandra vilket upprepades 4 gånger. Fyra olika värden på mängd vätska/10 sprutningar erhöles. Medelvärde för ungefär hur mycket vätska som gick åt till en besprutning beräknades enligt följande:

$$(375 \text{ ml} + 352 \text{ ml} + 345 \text{ ml} + 336 \text{ ml})/4 = 352 \text{ ml}$$

$$352 \text{ ml}/10 = 35,2 \text{ ml vätska/sprutning}$$

Vid varje besprutning kunde 5 krukor behandlas samtidigt. Detta innebar att 4 besprutningar behövde genomföras för varje dos, då kontrolleret inte skulle behandlas. Utifrån detta beräknades hur mycket herbicidblandning som behövdes för varje dos.

Blandning av herbiciddoser

Först blandades en stocklösning 1, (SL1), där 16 g preparat användes till 148,5 ml avjonat vatten (aq), mängden avjonat vatten, till alla blandningar, uppmättes genom vägning då 1 ml vatten = 1 g vatten. Styrkan hos SL1 var $1000 \times$ full dos. Från SL1 blandades stocklösning 2, (SL2). Den späddes till $100 \times$ styrkan av full dos på följande sätt: en del (14,85 ml) från SL1 blandades med 9 delar avjonat vatten (133,65 ml aq). Från SL2 blandades stocklösning 3, (SL3), som späddes till $10 \times$ full dos enligt följande: En del SL2 (14,85 ml) blandades med 9 delar avjonat vatten (133,65 ml aq). SL3 användes som utgångspunkt för att späda de doser som senare användes vid besprutningen av experimentet. För att SL3 skulle räcka till alla doser utökades mängden med faktor 10. Istället för 1 del av SL2, användes 10 delar, dvs. hela blandningen, av SL2 (148,5 ml) och 90 delar av aq (1 336,5 ml). Av stocklösning SL3 var 1 del = 14,85 ml (tabell B2).

Tabell B2. Spädningsschema för respektive stocklösning som användes i experimentet.

Stocklösning 1 (SL1)	16 g preparat till 148,5 ml avjonat aq	$1000 \times$ full dos
Stocklösning 2 (SL2)	Spädes; 1 del SL1, 9 delar aq 1 del = $148,5/10=14,85$ 14,85 ml SL1; 133,65 ml aq	$100 \times$ full dos
Stocklösning 3 (SL3)	Spädes; 1 del SL2, 9 delar aq	$10 \times$ full dos
Utökning av mängden $\times 10$	$14,85 \times 10 = 148,5$ ml SL2 $133,65 \times 10 = 1\ 336,5$ ml aq	Vät

En blandning aqVät (avjonat vatten + Väto vätmiddel) preparerades och användes för spädning av de använda doserna i experimentet. Under fältförhållanden ska 0,5 dl vätmiddel blandas med 100 l vatten. Detta motsvarar 0,5 ml till 1 l vatten. Med hjälp av en pipett hölls 1 ml av vätmidlet i en e-kolv som rymde 2 l. Därefter tillsattes 2 liter avjonat vatten. Totalt blandades 6 liter aqVät i totalt tre e-kolvar.

Mängden aqVät som behövdes till respektive dos mättes upp genom vägning. Därefter tillsattes SL3 sedan med hjälp av pipett. Mängd vätska som behövdes för varje dos beräknades enligt nedan. Se även tabell B3.

Full dos (1) = 8 g aktiv substans = 16 g preparat
1 del av stocklösningen: $148,5 \text{ ml}/10 = 14,85 \text{ ml}$

1/4 dos:

$0,25 \times 148,5 \text{ ml} = 37,125 \text{ ml}$
 $9,75 \times 148,5 \text{ ml} = 1447,875 \text{ ml}$

1/2 dos:

$0,5 \times 148,5 \text{ ml} = 74,25 \text{ ml}$
 $9,5 \times 148,5 \text{ ml} = 1410,75 \text{ ml}$

Full dos:

$1 \times 148,5 \text{ ml} = 148,5 \text{ ml}$
 $9 \times 148,5 \text{ ml} = 1336,5 \text{ ml}$

Dubbel dos:

$2 \times 148,5 \text{ ml} = 297 \text{ ml}$
 $8 \times 148,5 \text{ ml} = 1188 \text{ ml}$

Tabell B3. Fördelning av SL3 respektive aqVät respektive mängd vätska som användes av stocklösning 3 (SL3) och aqVät (avjonat vatten + Väto vätmiddel) till respektive dosblandning.

Dos	Del SL3	Del aqVät	Mängd SL3 (ml)	Mängd aqVät (ml)
0	0	10	0	0
1/4	0,25	9,75	37,125	1 447,875
1/2	0,5	9,5	74,25	1 410,75
1	1	9	148,25	1 336,5

Besprutning av experimentet

Alla populationer av blåklint besprutades den 6 november 2013. Vid besprutningen ställdes brytaren för sprutbommen och brytaren för ventilationen på "auto". Bekämpningsmedlet fylldes i en bägare som placerades i den trycksatta behållaren. För att kontrollera att mängden sprutvätska som sprutan gav inte hade förändrats utfördes en kalibrering innan varje sprutning med ny dos. Samma blåskålar användes, som vid kalibrering med avjonat vatten. Bekämpningsmedlet fylldes i bägaren till tryckbehållaren. Mängden dosvätska beräknades efter hur många sprutningar som utfördes (tabell B4).

Tabell B4. Kalibrering av sprutan mellan varje byte av herbiciddos. Mängd bekämpningsmedel som sprutan gav efter 10 sprutomgångar. Medelvikt (bekämpningsmedel) användes sedan för att beräkna sprutmängd i l/ha. * Medelvärde på vikt (g) vätska/sprutning och blåskål. # Mängd vätska i l/ha som erhöles vid en besprutning.

	Dos			
	1/4	1/2	1	2
*Medelvikt (g)	0,393	0,387	0,367	0,365
#Mängd l/ha	154,0	152,1	144,2	143,4

Krukorna placerades på brickor som ställdes på bandet till sprutkabinen. Genom att trycka på "load cabin" öppnades dörren till sprutkabinen, krukorna rullades in och dörren stängdes. Krukorna besprutades genom att trycka på knappen "spray". Efter sprutningen öppnades bakdörren och krukorna rullades ut ur sprutkabinen. Alla upprepningar av varje population för varje dos sprutades samtidigt för att undvika skillnader inom populationer. Plantorna som hade sprutats placerades sedan i växthus igen.