



Miljøministeriet  
Miljøstyrelsen

# Efterafgrøder af vinterraps og vinterrug – allelokemiske stoffer og ukrudtseffekt

Bekæmpelsesmiddelforskning fra  
Miljøstyrelsen nr. 142, 2013

**Titel:**

Efterafgrøder af vinterraps og vinterrug –  
allelokemiske stoffer og ukrudtseffekt

**Forfattere:**

Per Kudsk<sup>1</sup>, Inge S. Fomsgaard<sup>1</sup>, Niels Holst<sup>1</sup>, Solvejg K. Mathiassen<sup>1</sup>,  
Jens Christian Sørensen<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Institut for Agroøkologi, Aarhus Universitet

<sup>2</sup>Institut for Grundvidenskab og Miljø, Københavns Universitet

**Udgiver:**

Miljøstyrelsen  
Strandgade 29  
1401 København K  
www.mst.dk

**År:**

2013

**ISBN nr.**

978-87-92903-49-5

**Ansvarsfraskrivelse:**

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling. Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter. Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Må citeres med kildeangivelse.

# Indhold

<b>Forord</b> .....	<b>5</b>
<b>Sammenfatning</b> .....	<b>7</b>
<b>Summary</b> .....	<b>9</b>
<b>1. Introduktion</b> .....	<b>11</b>
<b>2. Baggrund</b> .....	<b>13</b>
2.1 Tidligere undersøgelser .....	13
2.1.1 Korsblomstrede planter .....	13
2.1.2 Vinterrug .....	15
2.2 Allokemiske stoffers virkemåde .....	16
2.2.1 Glucosinolater .....	16
2.2.2 Benzoxazinoider .....	16
<b>3. Materialer og metoder</b> .....	<b>17</b>
3.1 Sortsforsøg .....	17
3.1.1 Udtagning af planteprovér .....	17
3.2 Markforsøg og bioassay med nedmuldning af vinterraps og vinterrug.....	17
3.2.1 Valg af sorter til markforsøg .....	17
3.2.2 Forsøgsdesign.....	18
3.2.3 Udtagning af jordprøver .....	19
3.2.4 Bioassay med jordprøver .....	19
3.3 Kemiske analyser .....	20
3.3.1 Glucosinolater – vinterraps.....	20
3.3.2 Benzoxazinoider – Vinterrug.....	22
3.3.3 Phenoliske syrer .....	24
3.4 Statistiske analyser .....	26
3.4.1 Bioassays .....	26
3.4.2 Kemiske analyser .....	26
3.5 Simulering af effekter af nedmuldning af vinterraps og vinterrug i relation til behov for kemisk bekæmpelse .....	26
<b>4. Resultater</b> .....	<b>29</b>
4.1 Sortsforsøg .....	29
4.1.1 Vinterrapsorter .....	29
4.1.2 Vinterrugsorter.....	31
4.2 Markforsøg med nedmuldning af vinterraps og vinterrug .....	32
4.2.1 32 .....	32
4.2.2 Kemiske analyser af jord efter nedmuldning af vinterraps .....	32
4.2.3 Kemiske analyser af vinterrug .....	33
4.2.4 Bioassay .....	36
4.2.5 Antal spirende frø .....	39
4.3 Simulering af effekter af nedmuldning af vinterraps og vinterrug i relation til behov for kemisk bekæmpelse .....	43
<b>5. Diskussion</b> .....	<b>45</b>

5.1	Sortsforsøg .....	45
5.1.1	Vinterrapssorter .....	45
5.1.2	Vinterrugsorter .....	45
5.2	Markforsøg .....	45
5.2.1	Allelopatiske stoffer i nedmuldede plantemateriale .....	45
5.2.2	Effekter på planter .....	47
5.3	Simuleringer .....	49
<b>6.</b>	<b>Konklusioner .....</b>	<b>51</b>
<b>7.</b>	<b>Perspektiveringer .....</b>	<b>53</b>
	<b>Referencer .....</b>	<b>55</b>

# Forord

Projektet "Reduktion af pesticidanvendelsen ved udnyttelse af grønafgrøders biosanerende egenskaber" er finansieret af Miljøstyrelsens Pesticidforsknings-program. Projektet er udført ved Institut for Agroøkologi, Science and Technology, Aarhus Universitet og Institut for Grundvidenskab og Miljø, Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet.

Projektet var først en del af projektporteføljen under indsatsområdet "Natur og Pesticider" og senere under indsatsområdet "Jordbrug og Pesticider". Vi vil gerne takke følgegruppens medlemmer for deres engagement og mange konstruktive input igennem projektperioden, og specielt vil vi takke Ivar Lund, Syddansk Universitet, Niels Lindemark, Dansk Planteværn, Ghita Cordsen Nielsen, Videncentret for Landbrug og Henrik Brødsgaard, Miljøstyrelsen for skriftlige kommentarer til en tidligere udgave af nærværende rapport.

I forbindelse med projektet er der udtaget planteprøver i de officielle sortsforsøg. Vi takker afdelingsforstander Gerhard Deneken, Afdeling for Sortsafprøvning og planteavlskonsulent Henrik Aagaard, Gefion Planteavl for deres hjælp i denne forbindelse.

*Per Kudsk, Jens Christian Sørensen, Inge S. Fomsgaard, Niels Holst og Solvejg Mathiassen.*



# Sammenfatning

Som led i Grøn Vækst vil der i de kommende år skulle etableres grønafrøder på et større areal end hidtil. Grønafrøder er afgrøder, som dyrkes i perioden fra høst til etablering af den næste afgrøde. Formålet med at øge arealet med grønafrøder er at mindske udvaskningen af kvælstof. I den sammenhæng er specielt grønafrøder forud for etablering af vårafrøder interessant.

En række undersøgelser i udlandet har vist, at nedmuldning af grønafrøder foruden en kvælstofopsamlende effekt bl.a. også kan have en hæmmende virkning på spiring og vækst af ukrudt og dermed mindske behovet for ukrudtsbekæmpelse i den efterfølgende afgrøde. Dette fænomen kaldes allelopati, og effekten tilskrives, at nogle plantearter indeholder kemiske forbindelser (allelokemiske stoffer), som kan hæmme spiring og vækst af andre planter. Allelopatiske stoffer frigives ved indarbejdning af plantematerialet i jorden og kan påvirke væksten af spirende ukrudtsplanter. Udnyttelse af allelopati vurderes at kunne blive et element i fremtidige integrerede ukrudtsbekæmpelsesstrategier. Allelokemiske stoffer kan også yde planterne beskyttelse imod angreb af skadedyr og svampe.

Formålet med nærværende projekt var at undersøge den ukrudtshæmmende effekt af 2 sorter af henholdsvis vinterraps og vinterrug sået i efteråret og indarbejdet i jorden i foråret forud for såning af en vårafrøde. Foruden at undersøge den biologiske effekt på en række ukrudtsarter og afgrøder blev forekomsten af de allelopatiske stoffer og deres nedbrydningsprodukter i jorden monitoreret med henblik på at kunne korrelere eventuelle biologiske effekter med forekomsten af allelopatiske stoffer.

I projektets første år blev der udtaget planteprovér i de officielle sortsforsøg på 3 lokaliteter med henblik på at udvælge sorter til hovedforsøget. Sorterne ES Astrid og Excalibur (vinterraps) samt Matador og Rorik (vinterrug) blev valgt som sorter med henholdsvis et højt og lavt indhold af allelopatiske stoffer. I det andet forsøgsår blev Matador udskiftet med Carotop, da Matador ikke længere kunne fremskaffes.

Vinterraps og vinterrug blev udsået i efteråret 2007 og 2008 og indarbejdet i jorden i det efterfølgende forår med en fræser. Forekomsten af allelopatiske stoffer og effekt på ukrudt og afgrøder blev undersøgt ved at udtage intakte jordprøver i marken i en periode på op til 6 uger efter indarbejdning af plantematerialet. Nogle jordprøver blev analyseret for indhold af allelopatiske stoffer og deres nedbrydningsprodukter. I andre jordprøver blev der sået frø af forskellige ukrudtsarter og afgrøder, hvorefter fremspiringen blev fulgt. Forsøget blev afsluttet ved at klippe planterne og veje frisk- og tørvægt.

Der blev observeret forskelle i størrelsesordenen op til en faktor 2-2,5 i koncentrationen af allelopatiske stoffer imellem sorter og år. I nogle tilfælde var der tale om modsatrettede tendenser i henholdsvis de overjordiske og underjordiske plantedele. Da også biomassen varierede imellem sorter og år, var forskellene sorterne imellem maksimum en faktor 2, vurderet på det samlede indhold af allelopatiske stoffer. Forekomsten af allelopatiske stoffer i jorden aftog med tiden for vinterrugs vedkommende samt i det ene forsøgsår for vinterraps' vedkommende, hvorimod det steg i det andet forsøgsår. En dag efter indarbejdning af vinterrug var de dominerende allelopatiske stoffer i jorden de samme som dem, der blev målt i planterne før indarbejdning, men efter nogle uger var det primært nedbrydningsprodukter, der blev fundet.

Generelt blev der fundet få og sporadiske effekter på spiring og vækst af både ukrudt og afgrøder, og som følge heraf var det ikke muligt at påvise nogen klare sammenhænge imellem forekomst af allelopatiske stoffer og biologisk effekt. En beregning af de maksimalt opnåelige koncentrationer af allelopatiske stoffer i jorden viste, at disse var markant lavere end de koncentrationer, der i tidligere laboratorieundersøgelser var nødvendige for at opnå en væksthæmmende effekt, hvilket sandsynligvis forklarer de manglende biologiske effekter. At sammenligne laboratorie- og markforsøg er behæftet med stor usikkerhed, da man i laboratorieforsøg eksponerer planterne af en gang, mens der i marken formodes at ske en løbende frigørelse af allelopatiske stoffer.

Som følge af de manglende biologiske effekter var det ikke muligt at besvare et af de spørgsmål, som projektet ønskede belyst, nemlig hvor meget herbicidforbruget vil kunne reduceres ved anvendelse af grønafgrøder. Simuleringer baseret på udenlandske data viste, at hvis ukrudtets fremspiring kan forsinkes blot en uge i en konkurrencestærk afgrøde som vårbyg, vil bekæmpelsesbehovet reduceres markant.

På trods af, at der i dette projekt kun er observeret få signifikante effekter, er det projektgruppens vurdering, at man bør fortsætte undersøgelserne af grønafgrøders effekter på ukrudtsfloraen i efterfølgende afgrøder. Anvendelse af arter/sorter med et højere indhold af allelopatiske stoffer samt undladelse af indarbejdning af grønafgrøden forud for såning er parametre, som bør inddrages i fremtidige undersøgelser.



# Summary

As part of the Green Growth plan farmers are obliged to include catch crops in their rotations. Catch crops are grown in the period from harvest of a crop until establishment of the succeeding crop. The purpose of catch crops is to diminish the loss of nitrogen to surface and ground water. In particular catch crops preceding spring sown crops are of interest.

Several studies have shown that catch crops, besides reducing the loss of nitrogen, may also reduce germination and growth of weeds and hence reduce the need for weed control in the succeeding crop. This effect has been attributed to the content of allelopathic compounds (allelochemicals) that constitute the plants' own chemical defence against pests, diseases and competition from weeds. Allelopathic compounds will be released from the plants when incorporated into the soil and can inhibit the growth of germinating plants. Allelopathy is by many researches seen as an important element in the integrated weed management strategies of tomorrow.

The objective of the present project was to examine the herbicidal effect of two varieties of winter oilseed rape and winter rye, respectively, established in the autumn and incorporated in the spring prior to sowing a spring crop. Besides examining the biological effect on selected weed and crop species, we also monitored the concentration of the allelopathic compounds and their metabolites in the soil with the aim of being able to correlate any biological effects to the presence of allelopathic compounds.

In the first year samples were taken in the official variety trials at 3 locations to select varieties for the main experiment. The varieties ES Astrid and Excalibur (winter oilseed rape) and Matador and Rorik (winter rye) were chosen as varieties with a high and low content of allelopathic compounds, respectively. In the second year of the experiment seeds of Matador could not be obtained and this variety was therefore replaced by Carotop.

Winter oilseed rape and winter rye were sown in the autumn of 2007 and 2008 and incorporated in the following spring. The presence of allelopathic compounds and the effect on weeds and crops were assessed by sampling intact soil probes in the field over a period of up to 42 days after incorporation. Some soil probes were used for chemical analyses of allelochemicals and their metabolites while others were used for bioassays with selected weed and crop species. Germination and fresh- and dry weight were assessed in the bioassays.

Differences in the concentrations of allelochemicals of up to 2 to 2.5 were observed between varieties and years. In some cases trends in aboveground and belowground plant parts were opposite. As also the biomass varied between varieties and years the differences in the total amount of allelopathic compounds applied were maximum a factor 2. The amount of allelochemicals in the soil decreased with time for winter rye in both years and for winter oilseed rape in 2007 but not in 2008. One day after incorporation of winter rye the allelochemicals found in the soil were the same as the ones observed in the plants prior to incorporation whereas primarily metabolites were detected one to two weeks after incorporation.

In general only few statistically significant effects on germination and growth were observed. Thus, it was not possible to prove any correlation between the presence of allelopathic compounds and biological effects. An estimation of the maximum obtainable concentrations of the allelochemicals revealed that these were markedly lower than the ED<sub>50</sub> concentrations reported in laboratory studies, and this may explain the observed lack of effects. Such a comparison should, however, be interpreted with caution because in laboratory experiments the full dose of the allelochemicals are applied when initiating the experiment whereas in the field plants are assumed to be continuously exposed due to the gradual release of the allelochemicals.

As a result of the lack of biological effects it was not possible to answer one of the questions the project intended to answer viz. how much herbicide use can be reduced when planting catch crops. Simulations based on data originating

from North America suggested that delay of the emergence of weeds in competitive crops like spring barley by just one week will reduce the need for weed control significantly.

Despite the fact that in the present project only few significant effects on weed germination and growth were observed, we believe that the studies on the effect of catch crops on weeds should be continued. Using species/varieties with a higher content of allelochemicals and omitting incorporation of the catch crop are parameters that should be addressed in future studies.

# 1. Introduktion

I de senere år har der været en stigende interesse for at anvende grønafrøder som led i ukrudtsbekæmpelsen. Grønafrøderne etableres efter høst og kan enten indarbejdes i jorden forud for såning af den efterfølgende afgrøde eller efterlades på jordoverfladen efter f.eks. at være blevet nedvisnet med et herbicid eller ødelagt ved trømling, nedklipping o.l. I dette projekt fokuseres udelukkende på førstnævnte anvendelse af grønafrøder, som et element i en alternativ ukrudtsbekæmpelsesstrategi forud for etablering af forårssåede afgrøder.

Indtil nu er det primært inden for det økologiske jordbrug, at man har interesseret sig for at anvende grønafrøder til ukrudtsbekæmpelse, men med stadig færre herbicider på markedet, flere restriktioner i anvendelsen af de tilgængelige herbiciderne samt fremkomsten af herbicidresistens er der også i det konventionelle jordbrug en spirende interesse for denne teknologi. Denne interesse er yderligere forstærket af vedtagelsen af Grøn Vækst, som stiller krav om flere efterafgrøder på mange landbrug.

Vinterraps og vinterrug er eksempler på afgrøder, med hvilke der er påvist en ukrudtseffekt i forårssåede afgrøder. Effekten af vinterraps tilskrives dens indhold af glucosinolater, mens det for vinterrugs vedkommende er indholdet af benzoxazinoider og fenoliske syrer, der menes at være årsagen til de observerede effekter (Boydston & Al-Khatib, 2006; Masiunas, 2006). Planteindholdsstoffer med effekt på andre plantearters spiring og vækst benævnes allelopatiske stoffer i henhold til International Allelopathy Society's definition (IAS, 1996). Allelokemiske stoffer er synonymt med allelopatiske stoffer

Hovedparten af de hidtidige undersøgelser har været karakteriseret ved, at man udelukkende har forsøgt at dokumentere effekten af grønafrøder, mens der er få eksempler på, at man har forsøgt at kortlægge sammenhængen imellem grønafrødens indhold af allelopatiske stoffer (kvalitativt og kvantitativt) og de observerede effekter på ukrudtsfloraen. Et af formålene med nærværende projekt er at etablere denne viden, det vil sige at koble kemien til biologien. Med denne viden vil det blive muligt med udgangspunkt i et kendskab til indholdet af kendte allelokemiske stoffer i blade og rødder af potentielle grønafrøder at vælge de grønafrøder, der hæmmer ukrudtet mest.

De mange undersøgelser med grønafrøder har entydigt vist, at ukrudts-effekten af grønafrøder ikke kan sidestilles med effekten af herbicider. Grønafrøder kan således ikke forventes fuldstændigt at løse problemerne med ukrudt. Et mere sandsynligt scenario er, at anvendelse af grønafrøder vil kunne reducere behovet for kemisk ukrudtsbekæmpelse ved at favorisere afgrødens vækst i forhold til ukrudtet. Grønafrøder kan påvirke ukrudtets vækst ved 1) at reducere eller forsinke fremspiringen af ukrudtsplanter og/eller 2) at hæmme væksten af de fremspirede ukrudtsplanter. Hvad enten effekten på ukrudtet kan tilskrives den ene, den anden eller begge effekter vil resultatet være, at afgrødens konkurrenceevne øges, og ukrudtets potentielle effekt på udbyttet mindskes, såfremt afgrøden påvirkes mindre end ukrudtsarterne. Det betyder, at behovet for kemisk ukrudtsbekæmpelse mindskes. I marker med små ukrudtbestande kan kemisk bekæmpelse eventuelt helt udelades eller erstattes med alternative og ofte mindre effektive ukrudtsbekæmpelsesmetoder såsom ukrudtsharvning. I marker med en stor ukrudtsbestand eller forekomst af konkurrencesterke ukrudtsarter vil der sandsynligvis stadig være behov for en opfølgende bekæmpelse. Som følge af den hæmmende effekt af grønafrøder på ukrudtets spiring og vækst er et muligt scenario, at der vil kunne anvendes lavere herbiciddoser.

Hvis afgrødens vækst hæmmes markant, vil de potentielle fordele ved grønafrøder være mindre, og det er derfor væsentlig at belyse selektiviteten imellem afgrøde og ukrudt ved anvendelse af grønafrøder. Et forhold, som må formodes at have betydning for selektiviteten mellem afgrøde og ukrudt, er tidsintervallet imellem indarbejdning af grønafrøden og såning. Hvis effekten af en grønafrøde kan tilskrives allelokemiske stoffer, som nedbrydes hurtigt, kan der forventes en forholdsvis kortvarig effekt, og en udsættelse af såningen med nogle dage kan være tilstrækkeligt til at undgå uønskede effekter på afgrøder. Tilsvarende vil ukrudtsarter, der spirer efter afgrødens etablering, kunne undslippe

effekten af en grønafgrøde. Kan effekterne på ukrudtet derimod tilskrives mere stabile kemiske forbindelser, er en udsættelse af såningen måske ikke tilstrækkeligt til at undgå effekter på afgrøden. Sammenhængen imellem tidsintervallet imellem indarbejdning og såning og effekter på ukrudt og afgrøde er derfor væsentligt at få undersøgt for at kunne anvise de mest optimale anvendelser af grønafgrøder.

Formålet med nærværende projekt er at undersøge mulighederne for at reducere herbicidanvendelsen i forårssæede afgrøder ved nedmuldning af en grønafgrøde af vinterraps eller vinterrug umiddelbart før såning. Projektet vil belyse følgende problemstillinger:

1. variationen i indholdet af allelokemiske stoffer i udvalgte sorter af vinterraps og vinterrug dyrket i Danmark
2. forekomsten af allelokemiske stoffer i jorden på forskellige tidspunkter efter indarbejdning af grønafgrøden i jorden
3. effekter på ukrudt og afgrøde ved nedmuldning af vinterraps og vinterrug forud for etablering af vårafgrøder
4. sammenhængen mellem effekter på ukrudt og afgrøde og forekomsten af allelokemiske stoffer og deres nedbrydningsprodukter
5. effekten af at anvende grønafgrøder af vinterraps eller vinterrug på behovet for kemisk bekæmpelse i den efterfølgende afgrøde
6. økonomien i anvendelsen af grønafgrøder ved at sammenholde fordelene i form af herbicidbesparelser og andre positive effekter såsom en mindsket udvaskning af næringsstoffer med de omkostninger, der er forbundet med at etablere grønafgrøden.

## 2. Baggrund

Formålene med at etablere efterafgrøder kan være mangfoldige såsom at minimere jorderosion, forbedre jordstrukturen og reducere udvaskningen af næringsstoffer. Især sidstnævnte effekt er årsagen til interessen for grønafgrøder på konventionelle bedrifter, og også årsagen til at efterafgrøder er medtaget som et af virkemidlerne i Grøn Vækst til at reducere kvælstofudvaskningen. På økologiske bedrifter dyrkes der ofte bælgplanter som grønafgrøder, men her er formålet at fiksere kvælstof fra luften snarere end at hindre udvaskning af kvælstof. Grønafgrøders effekter på jordbårne svampe, skadedyr og ukrudt i de efterfølgende afgrøder er derimod sjældent årsagen til interessen for grønafgrøder.

Når en grønafgrøde efterlades på jordoverfladen kan en eventuel ukrudtseffekt tilskrives flere faktorer, såsom mindre lysgennemtrængning til jordoverfladen, ændrede temperatur-, fugtigheds- og iltforhold i jorden, effekter på mikrofloraen samt direkte effekter af allelokemiske stoffer, som frigives i forbindelse med grønafgrødens omsætning (Masiunas, 2006).

Hvor grønafgrøden indarbejdes i det øverste jordlag er de indirekte effekter mindre, selv om indarbejdning af større mængder organisk stof i jorden kan påvirke jordstrukturen og mikrofloraen. Alligevel kan det antages, at eventuelle effekter på ukrudtet i denne situation primært kan tilskrives tilstedeværelsen af allelokemiske stoffer. De allelokemiske stoffer kan enten være udskilt af planterne gennem rødder og blade under væksten, eller der kan ske en frigivelse af bioaktive stoffer i forbindelse med findelingen og nedbrydningen af plantematerialet i jorden.

Med baggrund i de hidtidige erfaringer med grønafgrøder er der valgt at fokusere på vinterraps, som repræsentant for de korsblomstrede afgrøder, samt vinterrug. Disse to afgrøder kan under danske dyrkningsforhold producere store mængder biomasse i løbet af efteråret og det tidlige forår, inden etablering af forårssåede afgrøder.

Dyrkning af vinterraps som grønafgrøde i sædskifter med vinterraps eller andre korsblomstrede afgrøder vil være problematisk, da der derved etableres et falsk sædskifte, som vil kunne fremme overlevelsen af jordbårne sygdomme. I disse sædskifter vil vinterrug være et alternativ.

### 2.1 Tidligere undersøgelser

#### 2.1.1 Korsblomstrede planter

Vinterraps indeholder glucosinolater. Glucosinolater er kemiske forbindelser, som udelukkende forekommer i planter blandt andet indenfor familien af korsblomstrede. Der kendes over 140 forskellige glucosinolater (Sørensen, 1990).

Der er store forskelle på vinterrapssorters indhold af glucosinolater både kvantitativt og kvalitativt. Eberlein *et al.* (1994) undersøgte indholdet af glucosinolater i 5 sorter af vinterraps og fandt forskelle på op til en faktor 5 i det samlede indhold af glucosinolater samt store kvalitative forskelle i sammensætningen. Kirkegaard & Sarwar (1998) undersøgte 76 korsblomstrede arter og sorter og fandt ligeledes meget store forskelle i indhold og sammensætning af glucosinolater. I begge undersøgelser blev der fundet store forskelle i indholdet af glucosinolater i underjordiske og overjordiske plantedele samt frø. Derimod var sammensætningen forholdsvist konstant i forskellige år, under forskellige dyrkningsforhold og på forskellige udviklings-trin, mens koncentrationen varierede. Clossais-Besnard og Lahrer (1991) fandt en højere koncentration af glucosinolater i det vegetative stadium samt ved frømodning end ved spiring, på tidlige vækststadier og under blomstring. Dette indikerer, at glucosinolaterne er involveret i reguleringen af planternes vækst måske som signalstoffer. I nærværende projekt vil vinterrapsplanterne typisk være i overgangen fra vegetativ til reproduktiv vækst ved nedmuldning afhængigt af vinteren og vækstbetingelserne i det tidlige forår.

Glucosinolater er vandopløselige forbindelser, som med få undtagelser ikke har nogen biologisk aktivitet over for planter (Boydston & Al-Khatib, 2006).

Ved enzymatisk og kemisk nedbrydning af glucosinolater i forbindelse med indarbejdning i jorden dannes imidlertid en række nedbrydningsprodukter bl.a. isothiocyanoater og nitriler. Det er veldokumenteret i *in vitro* forsøg, at en række af disse metabolitter er biologisk aktive og bl.a. kan hæmme spiringen og væksten af planter (f.eks. Brown & Morra, 1995; Jørgensen *et al.*, 2001; Petersen *et al.*, 2001; Wolf *et al.*, 1984).

Tidligere blev det antaget, at det primært var de flygtige isothiocyanoater, der var de aktive nedbrydningsprodukter. Det er årsagen til at anvendelsen af korsblomstrede afgrøder som grønafgrøder ofte betegnes biofumigering (Kirkegaard *et al.*, 1983). Nogle undersøgelser har imidlertid vist, at vand-opløselige og ikke-flygtige nedbrydningsprodukter også hæmmer spiringen af ukrudtsfrø, og at disse metabolitters betydning for effekten bør derfor ofres større opmærksomhed (Brown & Morra, 1995).

En række forsøg har samstemmende vist, at koncentrationen af isothiocyanoater toppe kort tid efter inkorporering (0-2 timer) og derefter aftager hurtigt, og at koncentrationen er meget lav 1 til 4 dage efter inkorporering (Borek *et al.*, 1994; Morra & Kirkegaard, 2002; Gimsing *et al.*, 2006). Såfremt isothiocyanoater er den primære årsag til de observerede effekter på ukrudt, vil man forvente en forholdsvis kortvarig effekt. Hvis mindre flygtige metabolitter også bidrager til effekterne på ukrudtet, kan man derimod forvente en mere langvarig effekt.

Pedersen *et al.* (2001) fandt en positiv korrelation imellem effekt af glucosinolater og frøstørrelse i laboratorieforsøg i Petriskåle. Da frøene af de fleste afgrøder er noget større end frøene af ukrudtsarterne, indikerer disse resultater, at det ved nedmuldning af grønafgrøder vil kunne opnås en selektiv effekt.

Det er veldokumenteret i markforsøg, at nedmuldning af vinterraps eller andre korsblomstrede plantearter kan hæmme fremspiringen og væksten af ukrudt i den efterfølgende afgrøde. Grodzinsky (1992) fandt, at vinterraps indarbejdet i jorden forud for etablering af forårsetablerede afgrøder reducerede antallet af ukrudtsplanter med 40 %, mens ukrudtstætheden blev reduceret med 15-30 % i ærter efter indarbejdning af raps eller gul sennep (Al-Khatib *et al.*, 1995). Boydston & Hang (1995) undersøgte effekten af at indarbejde vinterraps sået i efteråret forud for etablering af en kartoffelafgrøde og fandt en reduktion i antal ukrudtsplanter og ukrudtsbiomasse på henholdsvis 85 og 96 % i 1992 og 73 og 50 % i 1993. I forsøg i væksthuse, hvor plantemateriale af henholdsvis raps og gul sennep blev inkorporeret i jord og fyldt i pletter, hvorefter der blev sået frø af ukrudtsplanter, blev der fundet mellem 70 og 90 % reduktion i biomassen ved høst 3 uger efter såning. I et markforsøg med varierende mængder af plantemateriale fandt Al-Khatib & Boydston (1999) en stigende effekt med stigende mængder plantemateriale. Nyere undersøgelser har ligeledes dokumenteret effekten af vinterraps på fremspiring og vækst af ukrudtsplanter (Kruidhof, 2008).

I et tidligere projekt under Miljøstyrelsens program for Bekæmpelses-middelforskning med titlen "Bæredygtig produktion af småplanter i forstplanteskoler" var et af de mest iøjnefaldende resultater en meget markant effekt på enårig rapgræs ved indarbejdning af en efterårsetableret grønafgrøde af majroer forud for såning af forstskoleplanter (Larsen *et al.*, 2004). I et af forsøgene visnede majroerne af ukendte årsager i løbet af efteråret. I en sådan situation kan det forventes, at der vil være sket en nedbrydning af de biologisk aktive stoffer fra de øverste cm jord i løbet af vinteren. Alligevel blev der i foråret observeret ca. 60 % effekt på enårig rapgræs, som var den dominerende ukrudtsart i forsøget. I et andet forsøg, hvor majroerne overvintrede og blev indarbejdet i jorden om foråret, var effekten på enårig rapgræs omkring 90 %.

Hvilke nedbrydningsprodukter, der dannes, afhænger af, hvilke glucosinolater planterne indeholder samt ydre faktorer såsom pH. Et fællestræk for samtlige de ovenfor nævnte markforsøg er, at man ikke relaterede de observerede biologiske effekter til forekomsten af glucosinolater og deres nedbrydningsprodukter. Der er derfor behov for analytisk dokumentation af hvilke stoffer, der bidrager til eventuelle biologiske effekter, såfremt resultaterne skal kunne bruges fremadrettet.

### 2.1.2 Vinterrug

Rug, hvede og majs er eksempler på kornarter, som producerer benzoxazinoider, hvorimod disse stoffer ikke produceres i byg og havre (Niemeyer, 2009). Benzoxazinoiderne findes i planterne primært som glycosider, det vil sige der er bundet et glucosemolekyle til stoffet. Når de frigives eller udskilles fra plantecellerne fraspaltes glucosemolekylet. De to hyppigst forekommende benzoxazinoider i rug er DIBOA (2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one) og DIMBOA (2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one). Foruden benzoxazinoider producerer rug og andre kornarter også en række fenoliske syrer, som også formodes at være en del af plantens forsvarssystem (Blum *et al.*, 1999).

Der er udført forholdsvist få undersøgelser over indholdet af benzoxazinoider og fenoliske syrer i rug, hvorimod der foreligger mange undersøgelser med hvede. Hura *et al.* (2006) medtog en enkelt rugsort i deres undersøgelser af indholdet af fenoliske syrer i forskellige afgrøder, mens Rice *et al.* (2005) undersøgte indholdet af benzoxazinoider i en rugsort på forskellige vækststadier. Reberg-Horton *et al.* (2005) undersøgte indholdet af et benzoxazinoid (DIBOA) i 10 rugsorter på forskellige vækststadier, mens Burgos *et al.* (1999) undersøgte indholdet af DIBOA og BOA i 8 rugsorter. Zasada *et al.* (2007) analyserede indholdet af 7 benzoxazinoider i 10 dage gamle planter af 6 rugsorter, og senest har Carlsen *et al.* (2009) undersøgt indholdet af 13 benzoxazinoider og 4 phenoliske syrer i 5 danske rugsorter, dyrket på tre forskellige lokaliteter og indsamlet på vækststadiet BBCH 32-37. I samtlige forsøg med mere end en sort er der observeret forskelle i sorterens indhold af benzoxazinoider og fenoliske syrer. Koncentrationen af benzoxazinoider i rug falder med vækststadiet, og dette fald opvejes kun delvist af den større biomasse på senere udviklingsstrin (Reberg-Horton *et al.*, 2005; Rice *et al.*, 2005).

Fenoliske syres og benzoxazinoiders effekt på spiring og vækst af planter er veldokumenteret i en række *in vitro* undersøgelser (f.eks. Einhellig & Rasmussen, 1978; Reigosa *et al.*, 1999; Chunhong *et al.*, 2006). Den biologiske aktivitet af benzoxazinoider var større end af fenolerne i spiringsforsøg i petriskåle (Chunhong *et al.*, 2006), og generelt tillægges benzoxazinoiderne større betydning for rugs allelopatiske egenskaber end de fenoliske syrer.

Nedbrydningsforsøg har vist, at både DIBOA og DIMBOA nedbrydes meget hurtigt i jorden til henholdsvis BOA (benzoxazolin-2-one) og MBOA (6-methoxybenzoxazolin-2-one), men også disse forbindelser er ustabile og omdannes til stoffer tilhørende en række forskellige kemiske grupper såsom aminophenoxazinoner og acetamider (Fomsgaard *et al.*, 2004; Macias *et al.*, 2004; Gents *et al.*, 2005; Understrup *et al.*, 2005; Etzerodt *et al.*, 2006). Nogle af disse metabolitter er imidlertid også biologisk aktive og enkelte såsom APO (2-amino-3H-phenoxazin-3-one), som er et nedbrydningsprodukt af DIBOA, er betydeligt mere aktivt end både DIBOA og BOA (Macias *et al.*, 2005; Mathiassen *et al.*, 2006). I et laboratorieforsøg, hvor nedbrydningen af spirer af vinterrug i jorden blev undersøgt under kontrollerede forhold, blev der foruden DIBOA og BOA fundet 4 nedbrydningsprodukter heriblandt APO (Krogh *et al.*, 2006). En forståelse af de allelopatiske effekter ved nedmuldning af vinterrug forudsætter, som for vinterraps, at resultater af biologiske effektundersøgelser sammenholdes med kemiske analyser af indholdet af allelokemiske stoffer i jorden.

Effekterne på ukrudtet af en grønafgrøde af rug er meget afhængig af, hvorvidt plantematerialet indarbejdes i jorden, eller det døde plantemateriale efterlades på jordoverfladen. Erfaringerne er størst med den sidstnævnte metode, hvor Barnes & Putnam (1983) som nogle af de første fandt en næsten total undertrykkelse af en række ukrudtsarter. Tilsvarende resultater er fundet af Creamer *et al.* (1996) og Bottenberg *et al.* (1997).

Indarbejdning af rug i jorden forud for såning har i en række forsøg kun haft en mindre effekt på ukrudtet (Putnam, 1986; Creamer *et al.*, 1996; Masunias, 1999). Årsagen antages at være, at der ingen indirekte effekter er af plantematerialet såsom en reduktion af lysintensiteten ved jordoverfladen, og at de allelokemiske stoffer nedbrydes hurtigere efter indarbejdning i jorden. Der er dog også forsøg, som har vist god effekt af vinterrug indarbejdet i jorden. Således fandt Boydston & Vaughn (2002) en lige så god effekt af vinterrug indarbejdet i mellem rækkerne i kartofler som efter en kemisk bekæmpelse eller gentagne kultiveringer. Tilsvarende fandt Shilling *et al.* (1985) samme effekt af vinterrug indarbejdet i jorden, som hvis den var efterladt på jordoverfladen.

## 2.2 Allokemiske stoffers virkemåde

### 2.2.1 Glucosinolater

På trods af at effekten af glucosinolater har været kendt i mange år, findes der meget få studier, hvor nedbrydningsprodukternes virkemåde i planter og andre skadegørere er undersøgt.

Kawakishi og Kaneko (1987) viste, at isothiocyانات kan reagere med amino- og sulfohydrylgrupper på proteiner og forårsage denaturering af proteiner. Det vil kunne forklare, hvorfor bl.a. isothiocyانات er toksiske overfor mange forskellige grupper af organismer.

Fornyligt blev der publiceret et studie, hvor alm. gåsemad blev sprøjtet med methyl-, allyl- og phenylethyl isothiocyانات (Hara *et al.*, 2010). Ved høje koncentrationer blev der observeret klorose på bladene, et øget efflux af ioner fra bladene samt et forøget indhold af brintoverilte ( $H_2O_2$ ). Disse symptomer indikerer, at isothiocyانات ødelægger cellemembranerne, hvilket ligeledes kan forklare isothiocyاناتers generelle toksicitet overfor levende organismer.

Ved lave koncentrationer af de samme isothiocyانات blev der observeret en øget forekomst af de gener, som er ansvarlig for dannelsen af glutathion S-transferase, et enzym som er involveret i nedbrydningen af mange fremmedstoffer i planter bl.a. herbicider. Betydningen af dette i relation til isothiocyاناتers effekt på planter kendes ikke, men resultaterne tyder på, at planter er i besiddelse af enzymer, som kan inaktivere subletale doseringer af isothiocyانات.

### 2.2.2 Benzoxazinoider

Som tilfældet er med nedbrydningsprodukterne af glucosinolater, så kender man heller ikke benzoxazinoidernes virkemåde.

Friebe *et al.* (1997) tilskrev den fytotoksiske virkning af DIBOA og BOA en nedsat  $H^+$ -ATPase aktivitet i plasmamembranen, mens Gonzalez & Rojas (1999) undersøgte effekten af DIMBOA på havrekoleoptiler og konkluderede, at effekten af DIMBOA kunne tilskrives en effekt på peroxidaser lokaliseret i cellevæggen, hvilket gav sig udslag i produktion af en forøget produktion af brintoverilte. Reigosa *et al.* (2001) og Duran-Serantes *et al.* (2002) undersøgte effekten af fenoliske syrer og benzoxazinoider på planters fysiologiske effekter og fandt effekter på bl.a. fotosyntesen, aminosyresyntesen og ion efflux fra rødderne. Effekterne var dog betydeligt mindre, og varigheden var kortere, end efter behandling med herbicider. Burgos *et al.* (2004) undersøgte effekten af BOA og DIBOA på rodvæksten hos agurk. De fandt en række ændringer i cellerne i rodspidserne, som fik dem til at konkludere, at BOAs effekt kunne tilskrives en effekt på lipid- og proteinsyntesen. Sanchez-Moreiras & Reigosa (2005) konkluderede, at BOA havde flere forskellige fysiologiske effekter bl.a. på cellemembranerne og ATPase aktiviteten. Kato-Noguchi & Macias (2006) undersøgte effekten af MBOA på spirende karsefrø og konkluderede, at effekten af MBOA kunne tilskrives en effekt på enzymet  $\alpha$ -amylase, som er involveret i omdannelse af stivelse og andre kulhydrater til opløselige sukkerstoffer. Sammenfattende viser disse undersøgelser, at der ikke er nogen entydig forklaring på benzoxazinoidernes virkemåde.

Baerson *et al.* (2006) eksponerede planter af alm. gåseurt til høje doseringer af BOA og undersøgte expressionen af gener. De fandt, at 178 gener blev opreguleret og 73 blev nedreguleret. Blandt de opregulerede gener var der mange, som er involveret i nedbrydning af fremmedstoffer som f.eks. herbicider. Som tilfældet var for isothiocyاناتerne, så er planter tilsyneladende i stand til at nedbryde subletale doseringer af BOA og andre benzoxazinoider.



# 3. Materialer og metoder

## 3.1 Sortsforsøg

I foråret 2006 blev der udtaget planteprovér af vinterraps og vinterrug med henblik på at bestemme indholdet af henholdsvis glucosinolater og benzoxazinoider i nogle af de sorter, der dyrkes i Danmark. Prøverne blev udtaget i officielle sortsforsøg på 3 lokaliteter på Sjælland (Tystofte, Havreholm og Ny Lellinge). Sortsforsøgene blev gødsket og sprøjtet i henhold til almindelig praksis.

### 3.1.1 Udtagning af planteprovér

#### 3.1.1.1 Vinterraps

I alt 10 sorter af vinterraps (Elan, Disco, SW Calypso, Labrador, Catalina, Excalibur, Caracas, Limajor, Lioness, og ES Astrid) blev dyrket på alle 3 lokaliteter. På udtagningstidspunktet var planterne på stadie BBCH 55 (første blomster synlige). Plantematerialet blev adskilt i en rod- og topdel og lagt i plastikposer, som straks blev lagt på tøris. De frosne planteprovér blev opbevaret i fryserum ved -18°C indtil analyse. På grund af et nedbrud i en af fryserne gik rodprøverne fra Tystofte og samtlige prøver fra Havreholm tabt i 2007.

#### 3.1.1.2 Vinterrug

Der var kun 5 vinterrugsorter, som blev dyrket på alle 3 lokaliteter, Carotop, Evolo, Matador, Picasso og Rorik. Det blev derfor besluttet også at udtage planteprovér af sorten Agronom, som blev dyrket på Havreholm og Ny Lellinge, samt 7 sorter, som kun blev dyrket på Tystofte (Askari, Carotrup, Macelo, Rassant, Recrut, Rotari og Visello).

Planternes vækststadium på udtagningstidspunktet var BBCH 32-37. Der blev udtaget 2-3 planter i hver parcel, som forsigtigt blev gravet op af jorden. Den vedhængende jord blev rystet af, planten blev skyllet kortvarigt med vand og anbragt i Rilsan plastikposer, der blev mærket og straks lagt i tøris. Hele proceduren foregik i marken, og der forløb højst fem minutter fra udgravning af planten, til den var anbragt i tøris, for at sikre, at benzoxazinoidglycosiderne ikke spaltes. De frosne planter blev efterfølgende anbragt i fryserum ved -18°C. Klargøring til analyse bestod i, at de frosne planter blev delt i top og rod, som blev frysetørret individuelt i 2 døgn. Toppen blev findelt i en blender, rødderne i en Geno/Gnider kugle morter og hældt på glas.

## 3.2 Markforsøg og bioassay med nedmuldning af vinterraps og vinterrug

### 3.2.1 Valg af sorter til markforsøg

Med udgangspunkt i resultaterne af sortsforsøget blev det besluttet at anvende vinterrapsarterne Excalibur og ES Astrid og vinterrugarterne Rorik og Matador i markforsøgene. Excalibur, der er en hybridsort, og ES Astrid, der er en linjesort, repræsenterer to sorter med et forskelligt indhold (Excalibur lavt indhold, ES Astrid højt indhold) og sammensætning af glucosinolater. I modsætning til de to vinterrapsarter blev Rorik og Matador valgt udelukkende på grundlag af forskelle i det samlede indhold af benzoxazinoider med Matador som sorten med det højeste indhold. At den kvalitative sammensætning ikke blev inddraget som et kriterium i udvælgelsen af rugarterne skyldes, at tidligere undersøgelser har vist lille forskel i den biologiske aktivitet af de forskellige benzoxazinoider (Chunghong *et al.*, 2006; Mathiassen *et al.*, 2006).

Sorten Matador udgik af dyrkning i 2007 og blev derfor erstattet af sorten Carotop, som i sortsforsøget havde næsten samme høje indhold af benzoxazinoider som Matador.

### 3.2.2 Forsøgsdesign

Der blev sået et areal på 3 x 25 m af hver af de to vinterraps- og vinterrugsorter. Imellem de to vinterraps- og vinterrugsorter blev der etableret et tilsvarende areal uden afgrøde, som blev anvendt som reference både i forbindelse med de kemiske analyser og de biologiske forsøg. Dette areal blev harvet et par gange i løbet af efteråret for at holde det fri for plantevækst.

I 2006 blev vinterraps sået den 22/8 (udsædsmængde 5 kg/ha) og vinterrug den 22/9 (udsædsmængde 200 kg/ha). I 2007 var sådatoen for vinterraps og vinterrug henholdsvis den 28/8 (udsædsmængde 4 kg/ha) og 8/10 (udsædsmængde 200 kg/ha). Der blev ikke tilført gødning til forsøgene.

Vinterraps og vinterrug blev nedmuldet i 10-15 cm's dybde med en fræser henholdsvis den 27/3-2007 og 21/4-2008. Forsøgsparcerne blev fræset i alt 4 gange og efterfølgende tromlet med en cementtromle, hvilket resulterede i, at kun en meget lille del af plantematerialet var synligt på jordoverfladen (se figur 1). I 2007 var begge vinterrapssorter i strækingsstadiet (BBCH 31-32) på nedmuldningsstidspunktet, mens de i 2008 var i det tidlige knopstadium (BBCH 51). I 2007 var Matador på BBCH 24 og ca. 18 cm høj, mens Rorik var på BBCH 23 og ca. 13 cm høj, da forsøgsparcerne blev fræset, mens begge rugsorter var på stadium BBCH 25-30 i 2008.



FIGUR 1. MARK EFTER 4 GANGE FRÆSNING. YDERST TIL VENSTRE SES DEN STRIBE AF AFGRØDEN, HVORFRA DER BLEV TAGET PLANTER TIL BESTEMMELSE AF BIOMASSE. FOTO TAGET I 2007

Fræserens arbejdsbredde 2,5 m, dvs. 50 cm mindre end bredden af forsøgsparcer, hvilket efterlod en afgrødestribe, hvorfra der blev udtaget planter til bestemmelse af biomasse samt analyse af de nedmuldede planters indhold af bioaktive stoffer. På grund af en fejl blev der i 2008 ikke udtaget planteprøver af vinterraps til analyse for indhold af glucosinolater ved nedmuldning. Efter nedmuldning blev forsøgsbehandlinger (5 udtagningstider og 3 gentagelser) udlagt som et randomiseret split-plot forsøg med gentagelser som blok.

Foråret 2007 var meget tørt, og der faldt kun 5,9 mm regn indenfor de første 4 uger efter nedmuldning. I perioden frem til den sene udtagning 42 dage efter nedmuldning faldt der yderligere 11 mm regn. Med baggrund i erfaringerne fra 2007 blev det besluttet at vande forsøget i 2008 i tilfælde af mindre nedbør end normalt. I 2008 faldt der lidt mere nedbør end i 2007, men det blev alligevel besluttet at vande 3 gange med 10 mm vand for at sikre, at jordfugtigheden ikke var begrænsende for omsætningen af plantemateriale. Vandingerne blev foretaget den 25/4 (mellem 2. og 3. udtagning) samt den 7/5 og 14/5 (mellem 4 og 5 udtagning).

### 3.2.3 Udtagning af jordprøver

Der blev udtaget jordprøver til bioassay og kemiske analyser 1, 3, 7, 14 og 28 dage efter nedmuldning. Prøverne blev udtaget ved at presse rør af rustfri stål ned i jorden og efterfølgende grave rørene fri (figur 2). For vinterrugs vedkommende blev der også udtaget jordprøver umiddelbart før nedmuldning af plantematerialet.

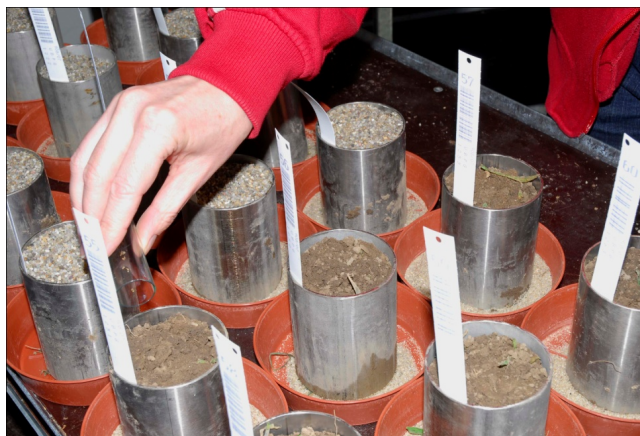


FIGUR 2. UDTAGNING AF JORDPRØVER

Jordprøver til kemisk analyse blev frosset ned umiddelbart efter udtagningen, mens jordprøverne til bioassays blev anbragt i væksthuse. Som følge af et uheld med det automatiske vandebord, hvorpå bioassayprøverne var placeret (se 3.2.4 Bioassay med jordprøver), blev der i 2007 også udtaget jordprøver 42 dage efter nedmuldning.

### 3.2.4 Bioassay med jordprøver

Rørene med jordprøver til bioassay blev umiddelbart efter udtagning anbragt i et væksthuse, hvorefter testplanterne blev sået (3 rør/gentagelser pr. testplante). I 2007 blev følgende arter anvendt som testplanter: enårig rapgræs, alm. rajgræs, bleg pileurt, fuglegræs, lugtløs kamille, hvidmelet gåsefod, burresterre, vårbyg, majs, ærter, vårraps, bederoer, såløg og stikløg. I 2008 udgik bleg pileurt, hvidmelet gåsefod og burresterre som testplanter på grund af for dårlig spiring i 2007, og i stedet blev nat limurt tilføjet. Der blev sået fra 5 til 20 frø pr. rør afhængig af testplantens størrelse (figur 3). Rørene blev placeret på et automatisk vandebord og vandet efter vægt. Det blev tilstræbt, at rørene var vandet op til ca. 80 % af jordens markkapacitet.



FIGUR 3. SÅNING AF TESTPLANTER I JORDPRØVERNE.

Som følge af et uheld med vandebordet i 2007, som betød, at hovedparten af potterne blev vippet af bordet, gik alle rørene fra udtagningen 14 dage efter og ca. halvdelen af rørene fra udtagningen 7 dage efter fræsning tabt. Som erstatning blev der i stedet udtaget jordprøver 42 dage efter fræsning.

Effekten på spiringen blev fulgt ved løbende at registrere antallet af fremspirede planter. På grundlag af registreringerne blev der beregnet et spiringsindeks (S) for hver testplante og gentagelse (Wardle *et al.*, 1991):

$$S = [N_a/a + (N_b - N_a)/b + (N_c - N_b)/c + \dots + N_n/n]$$

hvor  $N_a$  er andelen af spirede planter på dag a efter såning,  $N_b$  er andelen af spirede planter dag b,  $N_c$  er andelen af spirede planter fra dag b til c osv. Dette spiringsindeks er blevet benævnt "Speed of germination index", fordi det kun er et mål for spiringshastigheden (Anjum & Bawja, 2005). Spiringsindekset kan antage værdier fra 0, hvis der ikke spirer nogen frø, til 1, hvis samtlige frø spirer den første dag.

Spiringsindekset er et udtryk for spiringshastigheden af frø, derimod påvirkes det ikke af antallet af frø, der spirer. For også at få et mål for effekten på fremspiringen blev total antal spirede frø optalt, når det blev vurderet, at spiringen var afsluttet, hvilket typisk var 12-15 dage efter såning. Planterne blev høstet 21-28 dage efter såning, hvor der blev målt frisk- og tørvægt. For stikløg blev der ikke registeret spiringshastighed.

### 3.3 Kemiske analyser

#### 3.3.1 Glucosinolater – vinterraps

##### 3.3.1.1 Kemisk analyse af planteprov

Planteprovne blev analyseret efter frysetørring. Ekstraktionen blev udført på nøjagtigt afvejede portioner af ca. 0,5 g tørt plantemateriale, som blev findelt og tørformalet forud for ekstraktion med 3 x 3 mL 70 % kogende methanol i vand. Hvert af de tre ekstraktionstrin blev udført med vådfornaling med Ultra Turrax efterfulgt af centrifugering og opsamling/kombinering af supernatanter. Forud for det første ekstraktionstrin blev der tilsat en kendt mængde intern standard af to udvalgte rene glucosinolater, som ikke er naturligt tilstede i de undersøgte planteprov. Disse standarder følger hele ekstraktions- og analyseproceduren for at verificere både korrekt udførelse af ekstraktion og for efterfølgende kvantificering af glucosinolater i planteprovne. Selve analysen af glucosinolaterne udføres som en kvalitativ og kvantitativ analyse ved anvendelse af en on-column desulfatering af glucosinolaterne fra planteprovne efterfulgt af separation af desulfoglucosinolaterne ved brug af micellar elektrokinetisk kapillar kromatografi (Bjerg & Sørensen, 1987; Bjerregaard *et al.*, 1991; 1995; EC, 1990; Sørensen 2001; Sørensen *et al.*, 1999).

I tabel 1 er vist de glucosinolater, der er analyseret for.

TABEL 1. GLUCOSINOLATNUMRE, NAVNE OG STRUKTURER.

Glucosinolat-nummer	Navn, semisystematisk navn	Struktur, R-kæde
2	Gluconapin, But-3-enylglucosinolat	$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$
3	Glucobrassicapin, Pent-4-enylglucosinolat	$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$
4	Progoitrin, (2R)-2-Hydroxybut-3-enylglucosinolat	
5	Epiprogoitrin, (2S)-2-Hydroxybut-3-enylglucosinolat	
6	Napoleiferin, (2S)-2-Hydroxypent-4-enylglucosinolat	
11	Glucoraphanin, (R)-4-Methylsulfinylbutylglucosinolat	
12	Glucosalysin, (R)-5-Methylsulfinylpentylglucosinolat	
16	Glucotropaeolin, Benzylglucosinolat	
17	Gluconasturtiin, Phenethylglucosinolat	
18	Glucobarbarin, (2S)-2-Hydroxy-2-phenylethylglucosinolat	
23	Glucobrassicin, Indol-3-ylmethylglucosinolat	
24	Neoglucobrassicin, N-Methoxyindol-3-ylmethylglucosinolat	
27	4-methoxyglucobrassicin, 4-Methoxyindol-3-ylmethylglucosinolat	

### 3.3.1.2 Ekstraktion og kemisk analyse af nedbrydningsprodukter fra jordprøver

Nedbrydningsprodukterne fra glucosinolaterne i rapsplanterne omfatter overvejende 5-substituerede oxazolidin-2-thioner (nr. 4-6 og 18 i tabel 1), isothiocyانات (nr. 2-3 og 11-17 i tabel 1) og thiocyanation + indolderivater.

Ca. 10 g jordprøve blev afvejet nøjagtigt. Efter at uomsat plantemateriale var blevet fjernet, blev jordprøven ekstraheret ved brug af ASE® (Accelerated Solvent Extraction) (ASE 200, Dionex) med anvendelse af 3 ekstraktionscykler ved 70°C, statisk ekstraktion i 5 min. og 100 % ethanol. Ekstraktet (ca. 35 mL) blev tilsat 5 µL benzylisothiocyانات som intern standard sammen med 200 µL isopropylamin, reaktionstid på 2 timer, analyseret ved UV måling og inddampet på roterinddamper til tørhed. Genopløsning af ekstraktet i ca. 200 µL 1:1 (Milli-Q vand:methanol) og analyse ved MECC med UV detektion ved 208 og 240 nm samt med diodearray (Frandsen *et al.*, 2009). Med denne metode måler man kun indholdet af isothiocyانات, dvs. ikke alle nedbrydningsprodukter er omfattet af analysen.

Mængden af isothiocyانات omdannelsesprodukter vil fra rapsplanter komme fra myrosinasekatalyseret hydrolyse af glucosinolaterne med numrene 2, 3, 11-17 (tabel 1). Disse er kvantitativt de mest dominerende i roddele, hvor specielt gluconasturtiin (phenethylglucosinolat, nr. 17) findes i relativt store mængder. I de overjordiske plantedele er glucobrassicinapin (nr. 3) den mest dominerende af de isothiocyاناتproducerende glucosinolater. Thiocyanationen vil dannes i forbindelse med nedbrydning af indol-3-ylmethylglucosinolater under samtidig dannelse af reaktive indolforbindinger, som reagerer med nukleofile reagenser (Bellostas *et al.*, 2007; Bjerregaard *et al.*, 1994; 2000; 2001; Buskov *et al.*, 2000a; 2000b, 2000c). Deres kemiske reaktivitet er dog ikke specielt udtalt.

Under betingelser, hvor pH er som i plantesaften, og hvor der er tilstrækkelig med vand tilgængelig, vil tilstedeværelsen af myrosinase give hovedprodukterne 5-substituerede oxazolidin-2-thioner fra hydrolysen af glucosinolaterne med numrene 4, 5 og 6 (tabel 1). Disse udgør lidt over halvdelen af det totale indhold af glucosinolater i topdelen, hvorimod de udgør mindre end halvdelen af det totale indhold i rødderne. Oxazolidin-2-thioner opstår spontant efter dannelsen af de respektive isothiocyانات (Bellostas *et al.*, 2009) og har ikke samme reaktivitet overfor andre nukleophile stoffer, som det er tilfældet for isothiocyانات.

Nitriler af de respektive glucosinolater kan dannes, hvis den myrosinase katalyserede hydrolyse foregår under sure betingelser, og hvor der er jern tilstede (Bellostas *et al.*, 2009). Ligeledes kan nitriler dannes som følge af ikke enzymatisk nedbrydning af glucosinolater (Bellostas *et al.*, 2007). Dette er specielt interessant i forbindelse med nedbrydningen af glucosinolater i jord og forståelsen af hvilke glucosinolatprodukter, der kan have en effekt på spiringsevnen hos andre planter.

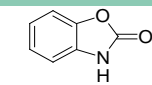
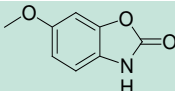
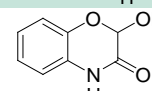
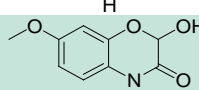
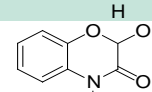
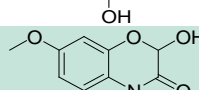
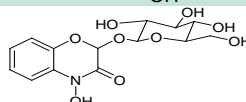
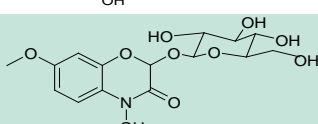
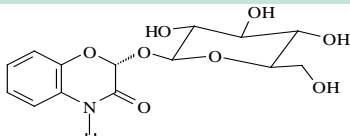
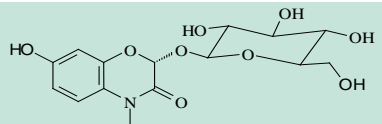
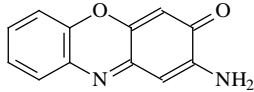
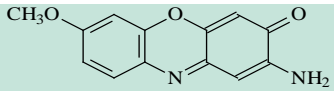
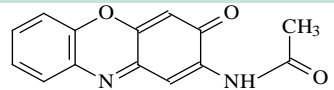
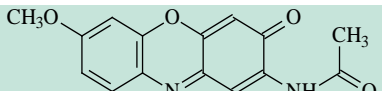
### 3.3.2 Benzoxazinoider – Vinterrug

#### 3.3.2.1 Standard opløsninger

I tabel 2 er vist de benzoxazinoider og jordmetabolitter, der er analyseret for. De udvalgte stoffer er ifølge litteraturen de mest dominerende benzoxazinoider i rug og de mest dominerende metabolitter, der dannes i jord. Analysereagenser såsom methanol, acetonitril, eddikesyre blev indkøbt gennem Rathburn og Merck.

Der blev fremstillet stamopløsninger af alle de enkelte standarder. Ud fra fortyndinger af stamopløsningerne blev der fremstillet fem blandings-standarder: A) BOA, MBOA, HBOA og HMBOA, B) DIBOA-glucosid og DIMBOA-glucosid, C) DIBOA og DIMBOA, D) HBOA-glucosid og DHBOA-glucosid og E) APO, AMPO, AAPO og AAMPO. Der blev fremstillet en fortyndingsrække af alle blandingsstandarder i methanol:vand 50:50 med 20 mM iseddikesyre i koncentrationerne 0,78; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 25,0; 50,0; 100; 200 og 400 µg/L.

TABEL 2. BENZOXAZINOIDER MED SYSTEMATISK NAVN, STRUKTURFORMLER OG ANALYSEPARAMETRE (LCMSMS ANALYSE I MRM MODE).

Akronym	Systematisk navn	Strukturformel	Molmasse	Detektion i MS/MS
BOA	benoxazolin-2-one		135.12	m/z 134/78 Rt: 19,7 min
MBOA	6-methoxy-benzoxazolin-2-one		165.15	m/z 164/149 Rt: 24,6 min
HBOA	2-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-one		165.15	m/z 164/108 Rt: 11,9 min
HMBOA	2-hydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one		195.17	m/z 194/138,1 Rt: 15,2. min
DIBOA	2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one		181.15	m/z 180/134 Rt: 13,6 min
DIMBOA	2,4-Dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one		211.17	m/z 210/164 Rt: 14,2 min
DIBOA-glucosid	(2R)-2-β-D-glucopyranosyloxy-4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-one		343.29	m/z 342/134 Rt: 12,7 min
DIMBOA-glucosid	(2R)-2-β-D-glucopyranosyloxy-4-hydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one		373.31	m/z 372/164 Rt: 13,5 min
HBOA-glucosid	(2R)-2-O-beta-D-glycopyranosyl-2H-1,4benzoxazin-3(4H)-one		327,29	m/z 326/164 Rt: 7,21
DHBOA-glucosid	(2R)-2-β-D-glucopyranosyloxy-7-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-one		343,29	m/z 342/180 Rt: 4,96
APO	2-amino-3H-phenoxazin-3-one		212,2	m/z 213/185 Rt: 38,3
AMPO	2-amino-7-methoxy-3H-phenoxazin-3-one		242,2	m/z 243/228 Rt: 40,1
AAPO	2-acetylamino-3H-phenoxazin-3-one		254,2	m/z 255/213 Rt: 40,9
AAMPO	2-acetylamino-7-methoxy-3H-phenoxazin-3-		284,2	m/z 285/243 Rt: 41,6

### 3.3.2.2 Ekstraktion

Forud for ekstraktionen blev jord - og planteprøverne (som var delt i rod og top) frysetørret og findelt. Jordprøverne blev yderligere separeret i jord og planterester. Kun jorddelen blev anvendt til analyse, mens plantedelene blev nedfrosset til eventuelt senere analyse.

Benzoxazinoiderne blev ekstraheret fra det frysetørrede og findelte jord – eller plantemateriale i et Accelerated Solvent Extraction 350 system (ASE) fra (Dionex). 5 g glødet inert Ottawa sand (partikel størrelse 20-30 mesh, Fisher Chemicals) blev tilført til de 34 mL ekstraktionsceller, og 0,1 g rod og 0,2 g top af det frysetørrede og findelte plantemateriale eller 10,0 g jord blev afvejet til ekstraktionscellen. Yderligere 5 g sand blev tilført, et filter blev anbragt foroven i ekstraktionscellen, som derefter blev vendt for at blande prøvemateriale og sand. Efterfølgende blev tomrummet i cellen fyldt op med glødede glaskugler for at optimere ekstraktionsprocessen. Prøverne blev ekstraheret med methanol:vand:iseddikesyre 80:19:1 ved 1500 psi og 80°C. Ekstrakterne blev opsamlet i vejede glasvials, som blev vejede efter ekstraktionen med indhold for at kende den nøjagtige prøvemængde.

### 3.3.2.3 Kemisk analyse

Ekstrakterne blev filtreret gennem et Sartorius SRP 15 0.45 µm filter (PTFE membran) og fortyndet med vand i forholdet 1:1. Til analysen blev anvendt et HPLC system 1200serie fra Agilent forsynet med Applied Biosystems MDS Sciex 3200 Qtrap triple quadrupol mass spectrometer (LCMSMS) med turbo electrospray ionization (ESI) i negativ/positiv multiple reaction monitoring (MRM) mode. Den kromatografiske separation foregik med en gennemstrømningshastighed på 0,2 mL/min. ved 30°C med et injektionsvolumen på 20 µL. Der blev anvendt en Phenomenex Synergi Polar RP (2.0 x 250 mm, 4 µL) kolonne. A eluenten indeholdt 3,5 % acetonitril, 4,5 % methanol og 92 % filtreret MilliQ vand (v/v) med 20 mM iseddikesyre. B eluenten var 74,5 % acetonitril, 4,5 % methanol og 20 % filtreret MilliQ vand med 20 mM iseddikesyre. Gradienten var som følger: 84 % A i 5 min. fulgt af en lineær gradient til 70 % A i 17 min., fulgt af en lineær gradient til 50 % A i 8 min, en lineær gradient til 30 % A i 2 min. og isokratisk eluering i de følgende 3 min. Efterfølgende 4 min. tilbage til 84 % A og reekvilibrering i 9 min. Den totale kørselstid var 48 min. Indsprøjtninger af opløsninger af de rene referencestoffer blev brugt til at identificere stofferne på baggrund af fragmenteringsmønster og retentionstider, som også fremgår af tabel 2. Standardkurverne blev brugt til at kvantificere stofferne, idet der blev brugt en kvadratisk funktion med 1/x vægtning.

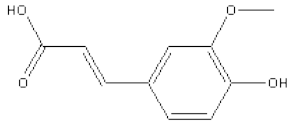
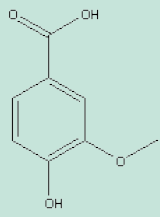
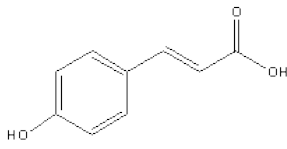
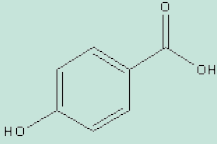
### 3.3.3 Phenoliske syrer

#### 3.3.3.1 Standardopløsninger

I tabel 3 er vist de phenoliske syrer, som er analyseret. De udvalgte stoffer er ifølge litteraturen de mest dominerende phenoliske syrer i rug. Standardstofferne er købt hos Fluka. Analysereagenser såsom methanol, acetonitril, eddikesyre blev indkøbt gennem Rathburn og Merck.



TABEL 3. PHENOLISKE SYRER MED NAVN OG STRUKTURFORMEL SAMT ANALYSEPARAMETRE I LCMS (SIM OPSAMLING).

Akronym	Systematisk navn	Strukturformel	Mol masse	Detektion i LCMS
Ferulinsyre	3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-propensyre		194.19	masse: 193 Rt: 14.6 min.
Vanillinsyre	4-hydroxy-3-methoxybenzoesyre		168.15	masse: 167 Rt: 8.3 min.
p-Coumarinsyre	(E)-3(4-hydroxy phenyl)-2-propensyre		164.16	masse: 163 Rt: 12.2 min.
p-Hydroxybenzoesyre	4-hydroxybenzoesyre		138.12	masse: 137 Rt: 7.1 min.

Der blev fremstillet stamopløsninger af alle standarder. Ud fra fortyndinger af stamopløsningerne blev der fremstillet en blandingsstandard. Der blev fremstillet en fortyndingsrække blandingsstandarder i Eluent A (90 % 20 mM eddikesyre g 10 % methanol) i koncentrationerne 5, 10, 30, 100 og 250 µg/L.

### 3.3.3.2 Ekstraktion af planteprov

De phenoliske syrer blev ekstraheret fra det frysetørrede og findelte plantemateriale i et Accelerated Solvent Extraction 350 system (ASE) fra (Dionex). 5 g glødet inert Ottawa sand (partikel størrelse 20-30 mesh, Fisher Chemicals) blev tilført til de med filter forsynede 34 mL ekstraktionsceller, og 0,1 g af det frysetørrede og findelte plantemateriale blev overført til ekstraktionscellen. Yderligere 5 g sand blev tilført, et filter blev anbragt foroven i ekstraktionscellen, som derefter blev vendt for at blande prøvemateriale og sand. Efterfølgende blev tomrummet i cellen fyldt op med glødede glaskugler. Prøverne blev elueret med methanol:vand:iseddikesyre 80:19:1 ved 1500 psi og 80°C. Ekstrakterne blev opsamlet i vejede glasvials, som blev vejet efter ekstraktionen for at kunne beregne den nøjagtige prøvemængde. For alle prøverne blev der foretaget analyse af to individuelt afvejede gentagelser for at kontrollere sikkerheden i analysemetoden (max. 10 % standardafvigelse tilladt).

### 3.3.3.3 Ekstraktion af jordprøver

Forud for ekstraktionen var de frysetørrede jordprøver blevet separeret i jord og planterester, og kun jorddelen blev anvendt til analyse, mens plantedelene blev nedfrosset til eventuel senere analyse. Jordprøverne blev findelt på morder mølle. 10 g jordprøve blev afvejet i et 50 mL falkonrør, og der tilsattes 25 mL 70 % acetonitril indeholdende 1 % eddikesyre (V/V). Prøverne blev rystet i 24 timer på blodvender. Herefter prøven blev centrifugeret ved 3200 rpm i 12 min. Supernatanten blev hældt over i et glas, som var vejtes inden. Herefter inddampedes prøven til 5 mL (= 4,3 g).

### 3.3.3.4 Kemisk analyse

Ekstrakterne blev filteret gennem et Sartorius SRP 15 0.45 µm filter (PTFE membran) og fortyndet i forholdet 1:1 med vand. Til analysen blev anvendt et HP 1100 LCMS udstyr med turbo electrospray ionization (ESI) i negativ SIM mode. DAD signalerne blev opsamlet for kontrol af identifikationen men blev ikke anvendt til kvantificeringen. Den kromatografiske separation foregik med en gennemstrømningshastighed på 0,2 mL/min. ved 35°C med et injektionsvolumen på 50 µL. Der blev anvendt en Phenomenex Fusion RP (2.0 x 250 mm, 4 µL) kolonne. A eluenten indeholdt 7 % acetonitril og 93 % filtreret MilliQ vand (v/v) med 20 mM iseddikesyre. B-eluenten var 78 % acetonitril og 22 % filtreret MilliQ vand (v/v) med 20 mM iseddikesyre. Gradienten var som følger: fra 10 % til 25 % B i 15 derpå isokratisk i 5 min., efterfulgt af en lineær gradient til 30 % B i 5 min, et lineært fald til 10 % B i 5 min. og endelig en reekvilibrering på 5 min. Indsprøjtninger af opløsninger af de rene referencestoffer blev brugt til at identificere stofferne på baggrund af masse og retentionstider, som det også fremgår af tabel 3. Standardkurverne blev brugt til at kvantificere stofferne, idet der blev brugt en lineær funktion. Der sås ingen matrixeffekter.

## 3.4 Statistiske analyser

### 3.4.1 Bioassays

Spiringsindeks samt frisk- og tørvægtsresultater blev analyseret med en tovejs variansanalyse (Generel Lineær Model) med vinterraps- og vinterrugsorter samt udtagningsstid som faktorer. Middelværdier blev sammenlignet ved hjælp af en Least Square Means test også benævnt "marginal means", som blev sammenlignet med en t-test. Analyserne blev udført med programmet SAS System for Windows V9.2.

### 3.4.2 Kemiske analyser

Resultaterne med vinterrugsorterne blev analyseret vha. tovejs variansanalyser (ANOVA) med sorter og lokaliteter som faktorer. De statistiske analyser blev udført med programmet SAS System for Windows V9.2.

## 3.5 Simulering af effekter af nedmuldning af vinterraps og vinterrug i relation til behov for kemisk bekæmpelse

De kemiske analyser viste, at allelopatiske stoffer forekom i jorden op til 4 uger efter nedpløjning. Dette afgrænser den tidsperiode, som en eventuel spirehæmning vil virke i. En forsinket fremspiring betyder, at det udbyttetab, som ukrudtet forårsager, vil blive mindre. Effekten af forsinkelsen kan beskrives med formlen (Cousens *et al.*, 1987):

$$Y_L = \frac{bN}{\exp(cT) + \frac{bN}{a}}, \quad (1)$$

hvor  $Y_L$  er udbyttetab uden bekæmpelse (%),  $N$  er fremspiringstæthed af ukrudt (planter/m<sup>2</sup>),  $T$  er forsinkelse fra afgrødetil ukrudtsfremspiring (dage),  $a$  er maksimalt udbyttetab ved høj ukrudtstæthed (%),  $b$  er udbyttetab pr. plante ved lav ukrudtstæthed (% pr. plante/m<sup>2</sup>), og  $c$  er hastigheden, hvormed effekten af ukrudtet aftager som følge af forsinkelsen (pr. dag)

Coussens *et al.* (1987) bestemte regressionskoefficienterne ( $a$ ,  $b$  og  $c$ ) for flyvehavre i vårbyg og vårhvede for 15 forsøg udført over 11 år på en lokalitet i Alberta, Canada (tabel 4). Det ses, at vårbyg var mere konkurrencestærk end vårhvede.

Det maksimale udbyttetab ( $a$ ) var mindre, og effekten af flyvehavre aftog hurtigere for vårbyg (større  $c$ ) ved forsinket fremspiring af ukrudtet.

TABEL 4. REGRESSIONSKOEFFICIENTER (ESTIMAT  $\pm$  STANDARDAFVIGELSE) FOR UDBYTTETABSMODEL. FRA COUSENS *ET AL.* (1987).

	Vårbyg	Vårhvede
$a$ (%)	49.1 $\pm$ 3.7	104.6 $\pm$ 10.7
$b$ (% pr. plante pr. m <sup>2</sup> )	0.503 $\pm$ 0.099	0.60 $\pm$ 0.08
$c$ (pr. dag)	0.266 $\pm$ 0.041	0.119 $\pm$ 0.12

Flyvehavre, som skal bekæmpes i Danmark, repræsenterer med dens gode konkurrenceevne overfor afgrøden gruppen af mest tabsgivende ukrudtsarter i vårbyg og vårhvede.

Bekæmpelsesbehovet kan bestemmes ud fra det forventede, procentuelle udbyttetab ( $Y_L$ , beregnet ud fra ligning 1), den forventede salgsværdi ( $V$ ; kr. pr. ha) og udgiften til en effektiv bekæmpelse ( $U$ ; kr. pr. ha). Hvis gevinsten er større end udgiften, skal der bekæmpes, dvs. hvis:

$$Y_L V > U, \text{ hvoraf følger at } Y_L > \frac{U}{V}$$

Ved beregningerne er der anvendt de i tabel 5 viste afregningspriser og udbyttенormer for vårbyg og vårhvede, og der er regnet med en udgift til ukrudtsbekæmpelse på 100 kr./ha.

TABEL 5. ØKONOMISKE NØGLETAL TIL BEREGNING AF BEKÆMPELSESBEHOV.

	Vårbyg	Vårhvede
Afregningspris (kr. pr. hkg)	100...180	100...180
Udbyttенorm (hkg pr. ha)	59	54
$V$ ; salgsværdi (kr. pr. ha)	5.900...10.620	5.400...9.720
$U$ ; udgift til bekæmpelse (kr. pr. ha)	100	100



# 4. Resultater

## 4.1 Sortsforsøg

### 4.1.1 Vinterrapsorter

Begrundelsen for at adskille plantematerialet i en rod- og topdel er, at der ofte er forskel på glucosinolatsammensætningen i rod og top. Der dannes derfor forskellige nedbrydningsprodukter, som kan have forskellig biologisk effekt.

I tabel 6 er vist resultaterne med de 10 sorter fra sortsforsøgene i Ny Lellinge. Der er fundet op til en faktor 3 i forskel i indholdet af glucosinolater med ES Astrid som sorten med det højeste indhold, og Caracas som sorten med det laveste indhold. Som ventet var der et højere indhold af glucosinolater i rødderne end i stængel- og bladele. Dette skyldes tilstedeværelsen af phenethylglucosinolat (nr. 17 i tabel 1) i rødderne. Phenethylglucosinolat udgør mere end 50 % af totalmængden af glucosinolaterne i rødderne, mens det kun udgør mellem 5-10 % i blad- og stængeldele. Det er ligeledes et af de stoffer, som der er interesse for i relation til væksthæmning af ukrudt, da stoffet omdannes til de mere aktive nedbrydningsprodukter thiohydroxaminsulfater og isothiocyanater (Bjergegaard *et al.*, 1994; 1995; 1999; Sørensen, 2001).

TABEL 6. MÅLING AF GLUCOSINOLATINDHOLD I RAPSPLANTER FRA NY LELLINGE. PLANTERNE BLEV ADSKILT I EN ROD- OG TOPDEL. INDHOLDET ER ANGIVET I  $\mu\text{MOL}$  GLUCOSINOLAT PR. G FRYSETØRRET PLANTEMATERIALE. ALLE MÅLINGER AF GLUCOSINOLATINDHOLD ER UDFØRT SOM TRIPPELBESTEMMELSE. TALLENE I PARENTES ER STANDARDAFVIGELSER.

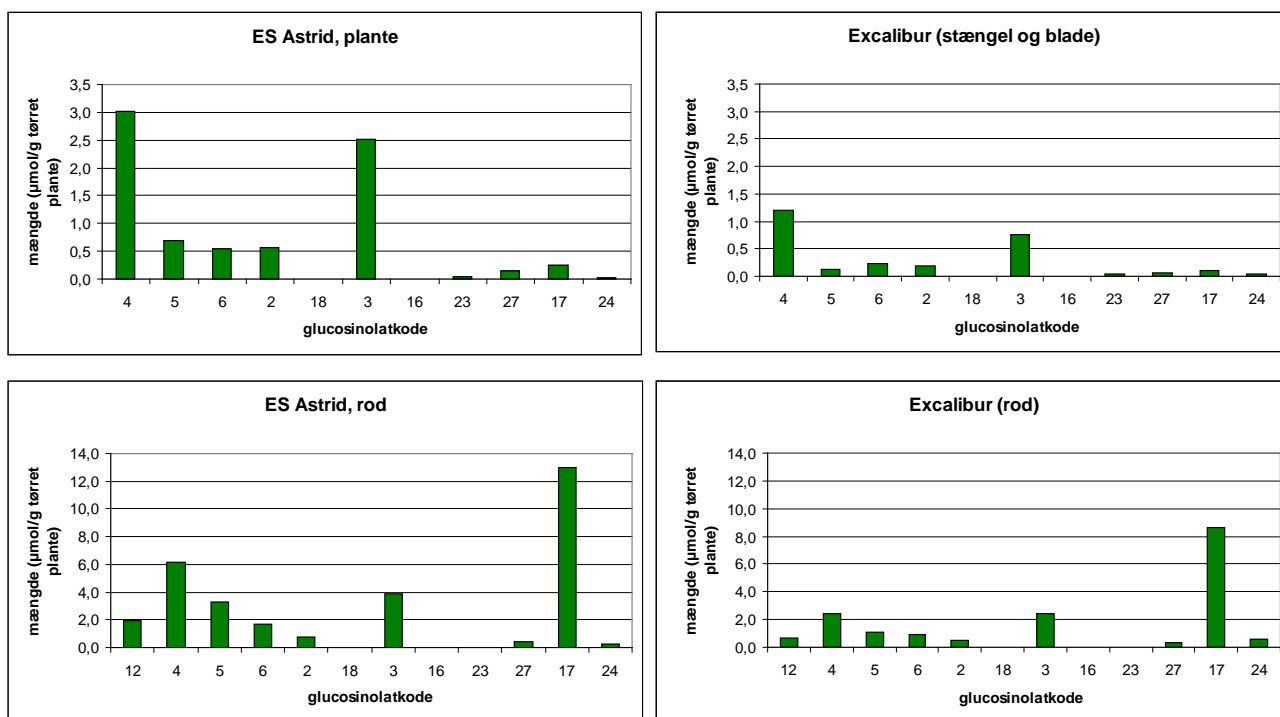
Sort	Total indhold af glucosinolater ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ tørvægt)	
	Top	Rod
Excalibur	2,7 (0,12)	17,1 (0,10)
Caracas	1,8 (0,15)	10,2 (0,15)
ES Astrid	5,3 (0,10)	30,6 (1,51)
Elan	2,5 (0,15)	18,1 (0,91)
Labrador	3,8 (0,57)	22,9 (1,42)
Calypso	3,4 (0,06)	20,2 (0,2)
Disco	3,4 (0,32)	22,7 (0,21)
Limajor	2,5 ( - )	19,9 (0,95)
Catalina	7,2 (0,07)	7,4 (6,73)
Lioness	1,8 (0,44)	32,1 (3,97)

I tabel 7 er vist indholdet af glucosinolater i blad- og stængeldelen i planter dyrket henholdsvis i Tystofte og Lellinge. Der var et lidt højere indhold af glucosinolater i stængel- og bladele i planterne fra Tystofte, men med undtagelse af sorten Catalina var der tale om små forskelle.

TABEL 7. GLUCOSINOLATINDHOLD ( $\mu\text{MOL/G TØRVÆGT}$ ) I DEN OVERJORDISKE DEL I UDVALGTE VINTERRAPSSORTER DYRKET I TYSTOFTE OG NY LELLINGE. TALLENE I PARENTES ER STANDARDAFVIGELSER.

	Tystofte	Ny Lellinge
Excalibur	3,7 (0,32)	2,7 (0,12)
ES Astrid	6,8 (1,06)	5,3 (0,1)
Elan	2,4 (0,21)	2,5 (0,15)
Labrador	3,5 (0,06)	3,2 (0,57)
Disco	4,3 (0,64)	3,4 (0,32)
Calypso	2,5 (0,26)	3,4 (0,06)
Catalina	2,4 (0,06)	7,2 (0,07)

Formålet med de kemiske analyser af planterne fra sortsforsøget var at udvælge to sorter. Intentionen var at udvælge en sort med et højt indhold og en sort med et lavt indhold af glucosinolater i de vegetative dele. Sorterne ES Astrid og Excalibur blev udvalgt ud fra deres indhold af glucosinolater og deres glucosinolatprofil. Der var i sorten Excalibur et procentvist højere indhold af indol-3yl-methylglucosinolater i rødderne i forhold til totalmængden af glucosinolater, hvilket adskilte denne fra sorten ES Astrid, som havde det største totalindhold af glucosinolater (figur 4).



FIGUR 4. ANALYSERET INDHOLD OG FORDELING AF GLUCOSINOLATER (FOR GLUCOSINOLATKODE, SE TABEL 1) I BLAD+STÆNGEL (ØVERSTE FIGURER) OG ROD (NEDERSTE FIGURER) I SORTERNE ES ASTRID OG EXCALIBUR. GLUCOSINOLATER MED KODERNE 18 OG 16 ER TILSAT SOM INTERNE STANDARDER I FORBINDELSE MED DEN EKSTRAKTIONSPROCEDURE, SOM ANVENDES VED KVANTIFICERING AF INDHOLD AF GLUCOSINOLATER I PLANTEDELENE.

#### 4.1.2 Vinterrugsorter

Rækkefølgen af sorterne med hensyn til indhold af benzoxazinoider og phenoliske syrer varierede imellem lokaliteterne (tabel 8). I modsætning til vinterraps var koncentrationen af benzoxazinoider og fenoliske syrer højst i de overjordiske plantedele. Indholdet af fenoliske syrer i rødderne var generelt meget lavt, og resultaterne er derfor ikke medtaget i tabellen.

TABEL 8. INDHOLD ( $\mu$ MMOL/G TØRVÆGT) AF BENZOXAZINOIDER (BX) I ROD OG TOP SAMT INDHOLD AF PHENOLISKE SYRER I TOP HOS 5 VINTERRUGSORTER. TALLENE I PARENTES ER STANDARDAFVIGELSER.

Sort	Havreholm			Ny Lellinge			Tystofte		
	Bx rod	Bx Top	Phenoler Top	Bx Rod	Bx Top	Phenoler top	Bx rod	Bx Top	Phenoler top
Carotop	4,66 (0,642)	15,6 (1,92)	0,99 (0,011)	3,64 (0,305)	11,7 (0,09)	1,01 (0,046)	2,52 (0,279)	10,4 (0,12)	1,63 (0,017)
Evolo	3,84 (0,366)	13,5 (1,34)	1,12 (0,019)	2,87 (0,004)	14,4 (0,69)	1,55 (0,005)	5,58 (0,029)	8,5 (0,490)	2,15 (0,045)
Matador	6,83 (0,895)	10,0 (0,39)	1,14 (0,025)	4,44 (1,331)	13,5 (0,75)	1,36 (0,019)	3,09 (0,832)	18,7 (2,55)	1,94 (0,025)
Picasso	2,42 (0,198)	6,40 (0,876)	0,87 (0,004)	7,25 (0,264)	9,95 (0,666)	1,30 (0,051)	8,18 (0,114)	12,5 (1,22)	1,74 (0,071)
Rorik	1,96 (0,235)	8,93 (0,384)	0,88 (0,001)	2,34 (0,526)	7,36 (0,068)	0,89 (0,057)	6,35 (0,611)	7,9 (0,552)	1,67 (0,005)
Agronom	4,58 (0,567)	10,65 (0,54)	1,53 (0,009)	2,72 (0,553)	7,26 (0,949)	0,92 (0,037)	-	-	-

Den statistiske analyse af resultaterne for de 5 sorter, som blev dyrket på alle 3 lokaliteter, er vist i tabel 9. Med undtagelse af indholdet af benzoxazinoider i de overjordiske plantedele, hvor der ingen forskel blev observeret imellem lokaliteterne, er der fundet en signifikant effekt af både lokalitet og sort. Endvidere er fundet en signifikant vekselvirkning imellem sorter og lokaliteter for såvel indhold af benzoxazinoider i de overjordiske og underjordiske plantedele samt fenoliske syrer i de overjordiske plantedele.

TABEL 9. RESULTAT AF TOVEJS VARIANSANALYSE AF RESULTATERNE I TABEL 3 MINUS SORTEN AGRONOM.

	Bx rod	Bx top	Phenoler top
Lokalitet	$P=0,0006$	$P=0,2996$	$P>0,0001$
Sort	$P=0,0005$	$P>0,0001$	$P>0,0001$
Lokalitet*sort	$P>0,0001$	$P>0,0001$	$P>0,0001$

I sortsforsøget på Tystofte var der ingen af de øvrige 7 sorter, som havde et højere eller lavere indhold af benzoxazinoider i de overjordiske plantedele end henholdsvis Matador og Rorik (tabel 10).

TABEL 10. INDHOLD ( $\mu\text{MOL/G TØRVÆGT}$ ) AF BENZOXAZINOIDER (BX) I ROD OG TOP SAMT INDHOLD AF PHENOLISKE SYRER I TOP HOS 7 VINTERRUGSORTER DYRKET PÅ TYSTOFTE. TALLENE I PARENTES ER STANDARDAFVIGELSER.

Sort	Bx rod	Bx top	Phenoler top
Askari	3,28 (0,186)	8,01 (1,090)	1,52 (0,004)
Carotrumpf	4,03 (0,112)	9,44 (0,182)	1,65 (0,007)
Macelo	5,60 (0,074)	9,57 (0,565)	1,48 (0,015)
Rasant	3,25 (0,434)	11,1 (0,41)	1,81 (0,033)
Recrut	5,94 (0,036)	12,7 (0,45)	1,35 (0,026)
Rotari	2,71 (0,184)	9,78 (0,944)	1,41 (0,033)
Visello	4,96 (0,059)	12,6 (2,05)	2,24 (0,033)

## 4.2 Markforsøg med nedmuldning af vinterraps og vinterrug

### 4.2.1

I 2007 var den overjordiske biomasse af Excalibur ca. dobbelt så stor som af Astrid ES, mens forskellen i rodbiomassen var mindre (tabel 11). I 2008 var vinterrapsorterne i et senere udviklingsstadium end i 2007, men biomassen var signifikant mindre, hvilket kan tilskrives et koldere efterår og vinter. I 2008 var både den over- og underjordiske biomasse større af Excalibur end af ES Astrid.

Som for vinterraps var der ligeledes stor forskel i biomassen af de to rugsorter både med hensyn til rod og top med Matador som sorten med den største biomasse (tabel 11). Som tilfældet var for vinterraps, så var biomassen signifikant mindre i 2008 end i 2007. I 2008 var der ingen forskel på biomassen af de to rugsorter.

TABEL 11. TØRVÆGT ( $\text{G}/0,25 \text{ M}^2$ ) AF VINTERRAPS- OG VINTERRUGSORTERNE VED NEDMULDNING. TALLENE I PARENTES ER STANDARDAFVIGELSER.

	2007 Top	2007 Rod	2008 Top	2008 Rod
ES Astrid	67,0 (2,81)	17,3 (2,73)	35,9 (9,52)	7,6 (1,78)
Excalibur	103,4 (16,15)	19,0 (4,64)	72,9 (11,28)	15,0 (2,57)
Rorik	45,6 (3,11)	9,2 (0,92)	24,5 (7,07)	11,5 (1,35)
Matador/Carotop	62,5 (3,40)	16,8 (4,35)	24,9 (0,74)	8,0 (0,76)

### 4.2.2 Kemiske analyser af jord efter nedmuldning af vinterraps

I tabel 12 er vist indholdet af glucosinolater i vinterrapsorterne inden indarbejdning i jorden. Da der ikke blev udtaget planteprøver i 2008, er det kun 2007 resultaterne, der er vist.

TABEL 12. INDHOLD ( $\mu\text{MOL/G TØRVÆGT}$ ) AF GLUCOSINOLATER I ROD OG TOP HOS ES ASTRID OG EXCALIBUR I 2007 FORUD FOR NEDMULDNING. TALLENE I PARENTES ER STANDARDAFVIGELSER.

	Top	Rod
Excalibur	7,2 (0,54)	24,1 (0,97)
ES Astrid	19,2 (0,86)	26,9 (2,38)



Indholdet af glucosinolater var højere end i prøverne udtaget i sortsforsøgene, men som i sortsforsøgene var indholdet specielt i de overjordiske plantedele markant højere i ES Astrid end i Excalibur. Glucosinolatprofilen i de to sorter var identisk med den fra sortsforsøgene (data ikke vist).

Koncentrationen af forskellige isothiocyanoater i jordprøverne hidrørende fra glucosinolatstrukturerne angivet i tabel 1 og som potentielt kan være frigivet fra rapsplanterne blev forsøgt estimeret ved forskellige udtagningspunkter (1, 3, 7, 14, 28 dage). Den anvendte analysemetode viste sig at være uegnet til bestemmelsen af mængden af isothiocyanoater grundet artefaktdannelser. Måleværdierne er derfor ikke inkluderet.

Analysen af det plantemateriale, der blev fjernet fra jordprøverne, viste et overraskende højt indhold af intakte glucosinolater. Ikke overraskende var der en del plantemateriale med intakte glucosinolater tilstede i jordprøverne fra udtagningerne dag 1 og dag 3 efter nedmuldning. Plantematerialet var derfor ikke knust fuldstændig under nedmuldningsprocessen. Havde dette været tilfældet ville tilstedeværende myrosinase i rapsplanterne kunnet nedbryde alt glucosinolat til forskellige nedbrydningsprodukter og det ville ikke være muligt at måle intakte glucosinolater. Mere overraskende var det, at der selv ved sidste udtagningsdag (dag 28) kunne findes plantemateriale omend i få jordprøver hvor det var muligt at detektere intakte glucosinolater. Da der ikke foreligger analyser af det plantemateriale, der blev nedmuldet, er det ikke muligt at angive, hvor stor en del af glucosinolaterne, der ikke er nedbrudt. Med udgangspunkt i indholdet i de prøver af Excalibur og ES Astrid, der blev høstet i sortsforsøgene, er det op til 30-40 % for visse glucosinolater.

#### 4.2.3 Kemiske analyser af vinterrug

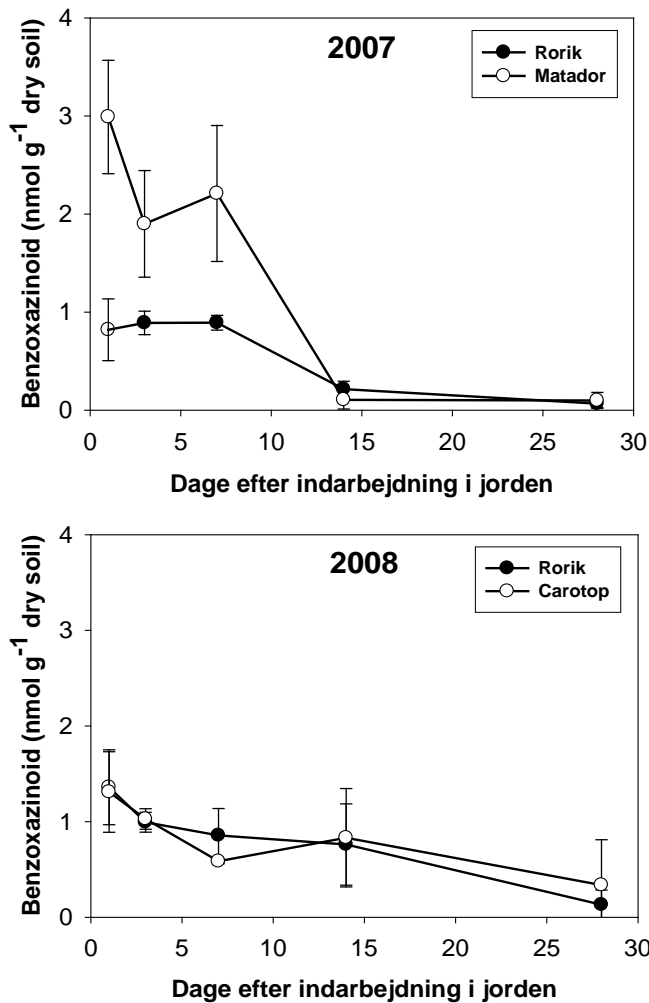
I tabel 13 er vist resultaterne af de kemiske analyser af vinterrug inden nedmuldning. Indholdet af benzoxazinoider i toppen var markant lavere end i de planteprøver, der blev udtaget i 2006 i sortsforsøgene, mens indholdet af fenoliske syrer var af samme størrelsesorden.

TABEL 13. INDHOLD ( $\mu\text{MOL/G TØRVÆGT}$ ) AF BENZOXAZINOIDER (BX) OG PHENOLISKE SYRER (PHE) I ROD OG TOP HOS MATADOR, CAROTOP OG RORIK FORUD FOR NEDMULDNING. I 2008 VAR DET AF ANALYSETEKNISKE ÅRSAGER NØDVENDIGT AT SAMLE PLANTEMATERIALET TIL EN PRØVE. TALLENE I PARENTES ER STANDARDAFVIGELSER.

2007				
Sort	Bx rod	Bx top	Phe rod	Phe top
Matador	1,62 (0,826)	2,77 (0,779)	0,56 (0,075)	1,29 (0,144)
Rorik	2,05 (0,416)	1,49 (0,247)	0,45 (0,226)	1,35 (0,124)
2008				
Carotop	2,95 (-)	3,95 (-)	0,32 (-)	1,53 (-)
Rorik	2,70 (-)	1,73 (-)	0,51 (-)	1,27 (-)

Indholdet af fenoliske syrer i jordprøverne fra de ubehandlede forsøgsled viste sig at være sammenlignelig med indholdet i de forsøgsled, hvor der var nedmuldet vinterrug. Det tyder på, at den primære kilde til fenoliske syrer i jorden var en anden end vinterrug f.eks. jordens mikroflora (data ikke vist). Der er derfor set bort fra de fenoliske syrer og deres eventuelle effekter i denne rapport. Modsat de fenoliske syrer så blev der kun fundet spor af benzoxazinoider i jordprøverne fra de ubehandlede forsøgsled.

I figur 5 er vist de samlede koncentrationer af benzoxazinoider i jordprøverne.

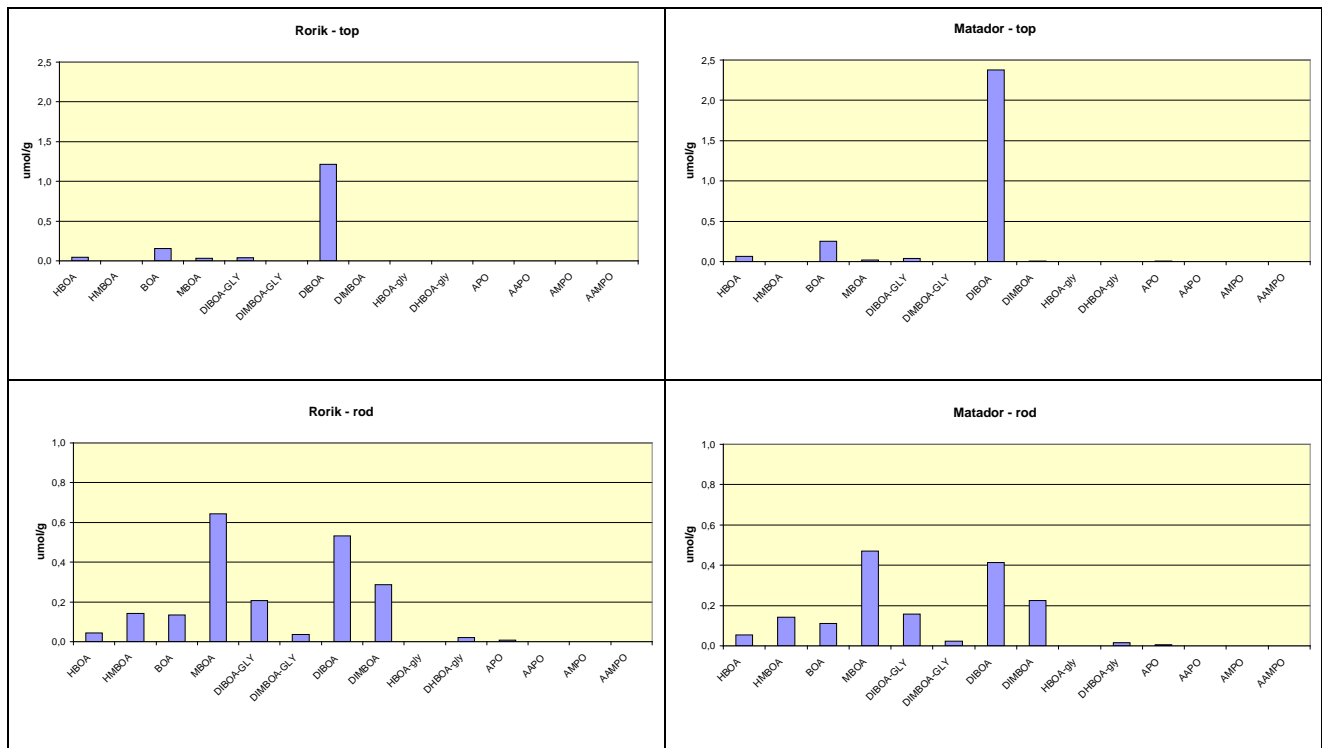


FIGUR 5. INDHOLD AF BENZOXAZINOIDER I JORDPRØVER UDTAGET 1, 3, 7, 14 OG 28 DAGE EFTER NEDMULDNING AF VINTERRUGSORTERNE MATADOR (2007), CAROTOP (2008) OG RORIK. UOMSAT PLANTEMATERIALE BLEV FJERNET INDEN ANALYSE.

I både 2007 og 2008 er der observeret en nedgang i koncentrationen af benzoxazinoider i jorden over tid. I 2007 blev der fundet et signifikant højere indhold efter indarbejdning af Matador end efter Rorik. I 2008 var der ikke forskel imellem de to vinterrugsorter.

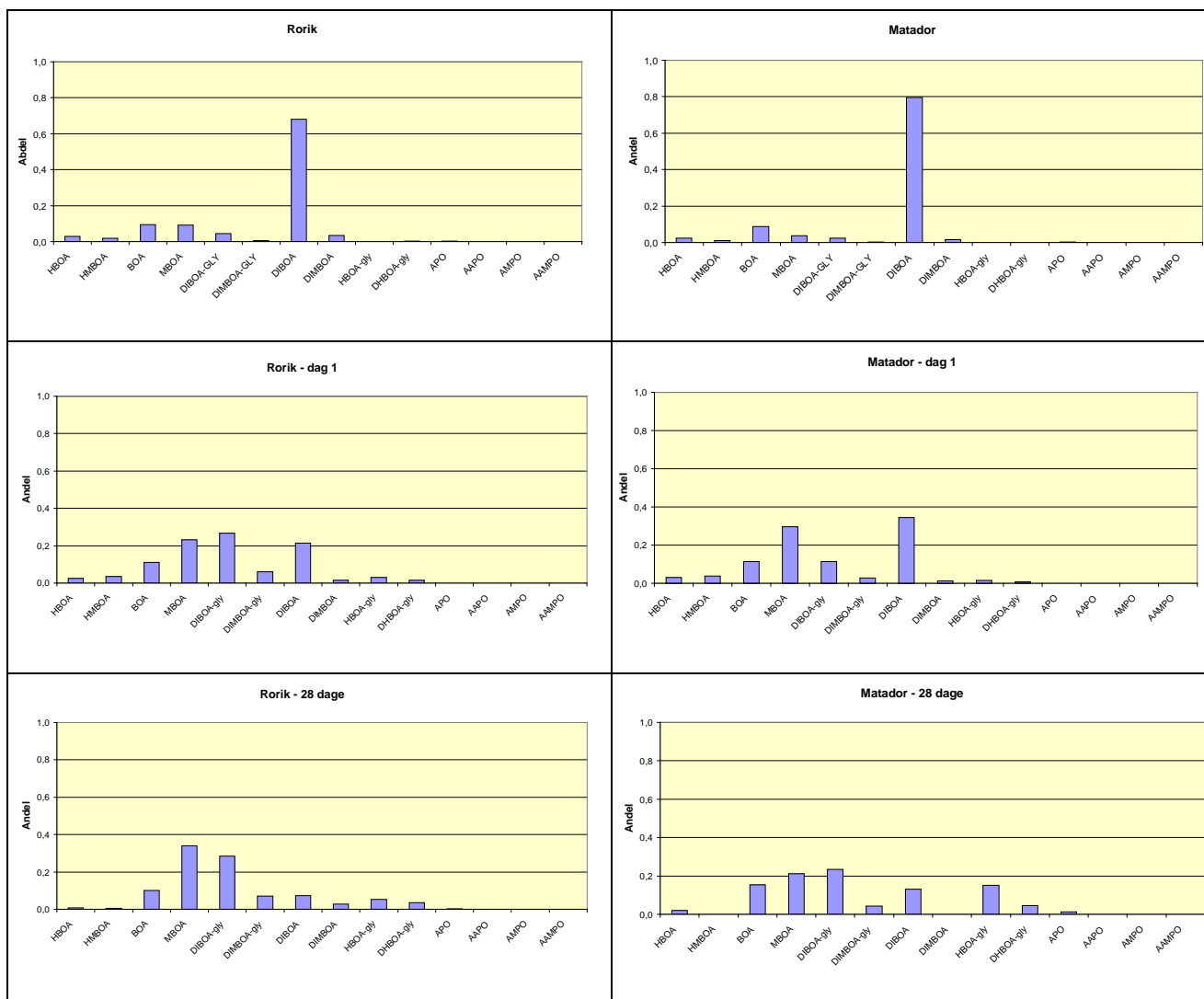
En analyse af jordprøverne, udtaget dagen før plantematerialet blev indarbejdet, viste et indhold af benzoxazinoider på 0,74; 0,87; 1,18 og 0,71 nmol/kg tør jord, hvor der var dyrket henholdsvis Rorik (2007), Matador (2007), Rorik (2008) og Carotop (2008). De tilsvarende værdier for fenoliske syrer var 0,89; 0,74; 1,36 og 1,34 nmol/kg<sup>1</sup> tør jord.

I figur 6 er vist indholdet i top og rod i Rorik og Matador af de benzoxazinoider, som der blev analyseret for. Som det kan ses, er der kun små forskelle i benzoxazinoidprofilen hos de to sorter, men der er stor forskel på sammensætningen af benzoxazinoider i henholdsvis rod og top.



FIGUR 6. INDHOLD AF DE ENKELTE BENZOXAZINOIDER I PLANTEPRØVER UDTAGET UMIDDELBART FØR NEDMULDNING. DATA STAMMER FRA 2007.

Benzoxazinoidprofilen i jordprøverne afveg signifikant fra profilen i det plantemateriale, der blev nedmuldet (figur 7), hvor profilen i plantematerialet er sammenlignet med profilen i jordprøver udtaget henholdsvis 1 og 28 dage efter nedmuldning.



FIGUR 7. INDHOLD AF DE ENKELTE BENZOXAZINOIDER I PLANTE- OG JORDPRØVER UDTAGET I DE PARCELLER, HVOR DET PÅGÆLDENDE PLANTEMATERIALE VAR NEDMULDET. DATA STAMMER FRA 2007.

#### 4.2.4 Bioassay

I 2007 var fremspiringen af bleg pileurt, hvidmelet gåsefod og burresnerre så lav (<20 %) og variabel, at det blev vurderet umuligt at anvende data til at undersøge sammenhænge imellem nedmuldning af planter og effekten på fremspiring. Endvidere var det nødvendigt at se bort fra alm. rajgræs ved 3. udtagning i 2007 og nat limurt, fuglegræs, lugtløs kamille og såløg ved 5. udtagning i 2008 ligeledes på grund af generel dårlig fremspiring.

##### 4.2.4.1 Spiringsindex

Spiringsindekset varierede fra ca. 0,075 til ca. 0,20, det vil sige variationen i spiringsindekset var mindre end 20 % af den potentielle variation (0 til 1). Summeret på tværs af udtagningstider, grønafgrøder eller testplanter blev der kun observeret små forskelle. Mest signifikant var forskellene imellem testplanterne, hvor vårbyg havde det højeste spiringsindeks og såløg det laveste spiringsindeks i både 2007 og 2008.

I tabel 14 og 15 er vist resultaterne af de statistiske analyser af resultaterne fra henholdsvis 2007 og 2008.

**TABEL 14. RESULTATET AF DE STATISTISKE ANALYSER AF SPIRINGSINDEKS, HVOR SPIRINGSINDEKS I JORD FRA DET UBEHANDLEDE FORSØGSLED ER SAMMENLIGNET MED SPIRINGSINDEKSET I JORD FRA DE FORSØGSLED, HVOR DER ER NEDMULDET VINTERRAPS ELLER VINTERRUG. I TABELLEN ER KUN ANGIVET DE TILFÆLDE, HVOR SPIRINGEN VAR LAVERE I JORD, HVOR DER VAR NEDMULDET VINTERRAPS ELLER VINTERRUG, END I UBEHANDLET JORD. RESULTATER FRA 2007.**

<b>Matador</b>										
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Fugle-græs	Lugtløs kamille	Vårbyg	Majs	Ærter	Vårraps	Bederoe	Såløg
Tidspunkt										
Dag 1	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 3	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,01	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 7	N.S.	.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 42	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,001
<b>Rorik</b>										
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Fugle-græs	Lugtløs kamille	Vårbyg	Majs	Ærter	Vårraps	Bederoer	Såløg
Tidspunkt										
Dag 1	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 3	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,05
Dag 7	N.S.	.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	P>0,10	P>0,10	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,01	N.S.	P>0,05
Dag 42	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,01	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
<b>Excalibur</b>										
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Fugle-græs	Lugtløs kamille	Vårbyg	Majs	Ærter	Vårraps	Bederoer	Såløg
Tidspunkt										
Dag 1	N.S.	P>0,05	P>0,10	N.S.	P>0,01	N.S.	P>0,05	P>0,01	N.S.	N.S.
Dag 3	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,001	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 7	N.S.	.	N.S.	N.S.	P>0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,001	N.S.	N.S.
Dag 42	P>0,10	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
<b>Astrid ES</b>										
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Fugle-græs	Lugtløs kamille	Vårbyg	Majs	Ærter	Vårraps	Bederoer	Såløg
Tidspunkt										
Dag 1	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 3	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 7	N.S.	.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 42	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

**TABEL 15. RESULTATET AF DE STATISTISKE ANALYSER AF SPIRINGSINDEKS, HVOR SPIRINGSINDEKS I JORD FRA DET UBEHANDLEDE FORSØGSLED ER SAMMENLIGNET MED SPIRINGSINDEKSET I JORD FRA DE FORSØGSLED, HVOR DER ER NEDMULDET VINTERRAPS ELLER VINTERRUG. I TABELLEN ER KUN ANGIVET DE TILFÆLDE, HVOR SPIRINGEN VAR LAVERE I JORD, HVOR DER VAR NEDMULDET VINTERRAPS ELLER VINTERRUG, END I UBEHANDLET JORD. RESULTATER FRA 2008.**

<b>Carotop</b>											
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Nat limurt	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Vårbyg	Majs	Ærter	Vårraps	Bederoe	Såløg
Tidspunkt											
Dag 1	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,05	N.S.	N.S.	P>0,10	P>0,10	N.S.
Dag 3	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,01	P>0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 7	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 14	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.				N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	
<b>Rorik</b>											
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Nat limurt	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Vårbyg	Majs	Ærter	Vårraps	Bederoe	Såløg
Tidspunkt											
Dag 1	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,01	N.S.
Dag 3	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,05	P>0,10	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 7	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 14	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.				N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	
<b>Excalibur</b>											
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Nat limurt	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Vårbyg	Majs	Ærter	Vårraps	Bederoe	Såløg
Tidspunkt											
Dag 1	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 3	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 7	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 14	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,00	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.				1	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	
<b>ES Astrid</b>											
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Nat limurt	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Vårbyg	Majs	Ærter	Vårraps	Bederoe	Såløg
Tidspunkt											
Dag 1	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 3	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,01	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 7	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 14	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.				N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	

#### 4.2.5 Antal spirende frø

I 2007 varierede den gennemsnitlige spiringsprocent for testplanterne fra 44 til 95 % med fuglegræs som den dårligst spirende. Spireprocenten af lugtløs kamille og såløg var omkring 65 %, mens alle øvrige arter spirede med 83 % eller højere.

Spireprocenterne i 2008 var meget lig spireprocenterne i 2007 med fuglegræs som den dårligst spirende (39 %). Spireprocenten af nat limurt, lugtløs kamille og såløg var på henholdsvis 71, 65 og 67 %, mens alle øvrige testplanter spirede med 83 % eller højere.

Antal spirede frø er kun opgjort i det forsøgsled, hvor der er beregnet et spiringsindeks. Der blev ikke observeret effekt på antal planter for vårbyg, majs, ærter, vårraps og bederoer, og disse testplanter er derfor for overskuelighedens skyld udeladt af de efterfølgende tabeller.

I tabel 16 og 17 er vist de statistisk analyser af antal planter.

TABEL 16. RESULTATET AF DE STATISTISKE ANALYSER AF ANTAL SPIREDE FRØ, HVOR ANTALLET I JORD FRA DET UBEHANDLEDE FORSØGSLED ER SAMMENLIGNET MED ANTALLET I JORD FRA DE FORSØGSLED, HVOR DER ER NEDMULDET VINTERRAPS ELLER VINTERRUG. SIGNIFIKANTE FORSKELLE ANGIVER, AT ANTALLET AF SPIREDE FRØ VAR LAVERE I JORD, HVOR DER VAR NEDMULDET PLANTEMATERIALE, END I UBEHANDLET JORD. RESULTATER FRA 2007.

<b>Matador</b>					
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Såløg
Tidspunkt					
Dag 1	N.S.	N.S.	P>0,01	N.S.	N.S.
Dag 3	N.S.	N.S.	P>0,001	N.S.	N.S.
Dag 7	N.S.		N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,01
Dag 42	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,10	P>0,001
<b>Rorik</b>					
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Såløg
Tidspunkt					
Dag 1	N.S.	N.S.	P>0,01	N.S.	P>0,10
Dag 3	N.S.	P>0,05	N.S.	N.S.	P>0,001
Dag 7	N.S.		P>0,10	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.	P>0,05	P>0,01	P>0,001
Dag 42	N.S.	P>0,001	P>0,05	P>0,05	P>0,01
<b>Excalibur</b>					
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Såløg
Tidspunkt					
Dag 1	P>0,001.	P>0,001.	P>0,001	N.S.	N.S.
Dag 3	N.S.	N.S.	P>0,10	P>0,10	P>0,001
Dag 7	N.S.		N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.	P>0,05	N.S.	N.S.
Dag 42	N.S.	N.S.	P>0,01	P>0,01	P>0,001
<b>Astrid ES</b>					
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Såløg
Tidspunkt					
Dag 1	N.S.	P>0,001	P>0,001	P>0,10	P>0,001
Dag 3	P>0,10	N.S.	P>0,05	P>0,001	P>0,001
Dag 7	P>0,01		N.S.	N.S.	P>0,001
Dag 28	N.S.	P>0,10	P>0,01	N.S.	P>0,001
Dag 42	N.S.	N.S.	P>0,001	P>0,001	P>0,001



TABEL 17. RESULTATET AF DE STATISTISKE ANALYSER AF ANTAL SPIREDE FRØ, HVOR ANTALLET I JORD FRA DET UBEHANDLEDE FORSØGSLED ER SAMMENLIGNET MED ANTALLET I JORD FRA DE FORSØGSLED, HVOR DER ER NEDMULDET VINTERRAPS ELLER VINTERRUG. SIGNIFIKANTE FORSKELLE ANGIVER, AT ANTALLET AF SPIREDE FRØ I DE FORSØGSLED, HVOR DER VAR NEDMULDET PLANTEMATERIALE, END I UBEHANDLET JORD. RESULTATER FRA 2008.

<b>Matador</b>						
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Nat limurt	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Såløg
Tidspunkt						
Dag 1	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,10	N.S.	N.S.
Dag 3	P>0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 7	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,10	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 42	N.S.	N.S.				
<b>Rorik</b>						
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Nat limurt	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Såløg
Tidspunkt						
Dag 1	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 3	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,01	P>0,01	N.S.
Dag 7	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 42	N.S.	N.S.				
<b>Excalibur</b>						
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Nat limurt	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Såløg
Tidspunkt						
Dag 1	N.S.	N.S.	P>0,10	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 3	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,01	P>0,01	N.S.
Dag 7	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,10	N.S.
Dag 42	N.S.	N.S.				
<b>Astrid ES</b>						
	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Nat limurt	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Såløg
Tidspunkt						
Dag 1	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,10	N.S.
Dag 3	P>0,01	P>0,10	N.S.	P>0,1	P>0,05	N.S.
Dag 7	P>0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 42	N.S.	N.S.				

#### 4.2.5.1 Friskvægt

I 2007 blev der ikke observeret signifikante forskelle i frisk- og tørvægt af planter dyrket i ubehandlet jord og i jord, hvor der var nedmuldet plantemateriale. I 2008 blev der derimod observeret signifikante effekter på flere af testplanterne. I tabel 18 er vist resultaterne af de statistiske analyser af friskvægtresultaterne fra 2008.

**TABEL 18. RESULTATET AF DE STATISTISKE ANALYSER AF FRISKVÆGT, HVOR FRISKVÆGT AF PLANTER DYRKET I JORD FRA DET UBEHANDLEDE FORSØGSLED ER SAMMENLIGNET MED FRISKVÆGTEN AF PLANTER DYRKET I JORD FRA DE FORSØGSLED, HVOR DER ER NEDMULDET VINTERRAPS ELLER VINTERRUG. SIGNIFIKANTE FORSKELLE ANGIVER, AT FRISKVÆGTEN I DE FORSØGSLED, HVOR DER ER NEDMULDET PLANTEMATERIALE, ER LAVERE END I UBEHANDLET JORD. RESULTATER FRA 2008.**

Carotop											
Tidspunkt	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Nat limurt	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Vårbyg	Majs	Ærter	Vårraps	Bederoe	Såløg
Dag 1	N.S.	P>0,05	P>0,01	P>0,05	N.S.	P>0,001	P>0,001	N.S.	P>0,001	P>0,001	N.S.
Dag 3	N.S.	P>0,05	P>0,10	P>0,01	P>0,10	P>0,001	P>0,001	N.S.	P>0,001	P>0,001	N.S.
Dag 7	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,10	N.S.	P>0,001	P>0,001	N.S.	P>0,05	P>0,001	N.S.
Dag 14	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,001	P>0,01	N.S.	P>0,10	P>0,10	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.				N.S.	P>0,001	N.S.	N.S.	N.S.	
Rorik											
Tidspunkt	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Nat limurt	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Vårbyg	Majs	Ærter	Vårraps	Bederoe	Såløg
Dag 1	N.S.	P>0,01	P>0,01	P>0,05	P>0,05	P>0,001	P>0,001	N.S.	P>0,001	P>0,001	P>0,10
Dag 3	N.S.	P>0,05	P>0,05	P>0,001	P>0,01	P>0,001	P>0,001	P>0,01	P>0,001	P>0,001	N.S.
Dag 7	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,001	P>0,001	N.S.	P>0,01	P>0,001	N.S.
Dag 14	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,001	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,01	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.				N.S.	P>0,001	N.S.	N.S.	N.S.	
Excalibur											
Tidspunkt	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Nat limurt	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Vårbyg	Majs	Ærter	Vårraps	Bederoe	Såløg
Dag 1	N.S.	N.S.	P>0,01	N.S.	P>0,10	P>0,001	P>0,001	P>0,01	P>0,001	P>0,001	N.S.
Dag 3	N.S.	P>0,05	P>0,05	P>0,01	P>0,05	P>0,001	P>0,001	P>0,05	P>0,001	P>0,001	N.S.
Dag 7	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,001	P>0,001	N.S.	P>0,001	P>0,001	N.S.
Dag 14	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,001	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.				P>0,10	P>0,001	N.S.	N.S.	N.S.	
ES Astrid											
Tidspunkt	Enårig rapgræs	Alm. rajgræs	Nat limurt	Fuglegræs	Lugtløs kamille	Vårbyg	Majs	Ærter	Vårraps	Bederoe	Såløg
Dag 1	N.S.	P>0,1	P>0,10	N.S.	N.S.	P>0,05	P>0,001	N.S.	P>0,001	P>0,001	N.S.
Dag 3	N.S.	N.S.	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,001	P>0,001	P>0,10	P>0,001	P>0,001	N.S.
Dag 7	N.S.	P>0,05	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,01	P>0,001	N.S.	P>0,01	P>0,01	N.S.
Dag 14	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,05	N.S.	N.S.	N.S.	P>0,10	N.S.
Dag 28	N.S.	N.S.				N.S.	P>0,001	N.S.	N.S.	N.S.	

### 4.3 Simulering af effekter af nedmuldning af vinterraps og vinterrug i relation til behov for kemisk bekæmpelse

Med udgangspunkt i de senere års afregningspriser og udbyttenerne for vårbyg og vinterhvede, blev der fundet tærskelværdier ( $U/V$ ) på ca. 1-2 % (tabel 19). Det kan altså stort set altid betale sig at bekæmpe konkurrencesterke ukrudtsarter som flyvehavre, da der kun skal være ganske få ukrudtsplanter til stede for at give et udbyttetab på 1-2 % ( $Y_L$ ) med de parameterværdier for  $a$  og  $b$ , som Cousens (1987) estimerede (tabel 4).

TABEL 19. ØKONOMISKE NØGLETAL TIL BEREGNING AF BEKÆMPELSESBEHOV, HVOR BEKÆMPELSESTÆRSKLEN ( $U/V$ ) ER DET FORVENTEDE UDBYTTETAB UDEN BEHANDLING.

	Vårbyg	Vårhvede
$U/V$ (%)	0,94 til 1,69	1,03 til 1,85

Hvorvidt en forsinkelse af ukrudtets fremspiringstidspunkt kan ændre væsentligt på tærskelværdien blev undersøgt ved at udlede nedenstående ligninger fra ligning (1):

$$N = \frac{Y_L a \exp(cT)}{ab - Y_L b} \quad (2)$$

$$T = \frac{\ln\left(\frac{bN}{Y_L} - \frac{bN}{a}\right)}{c} \quad (3)$$

Ligningerne 1 til 3 kan anvendes til at beregne henholdsvis:

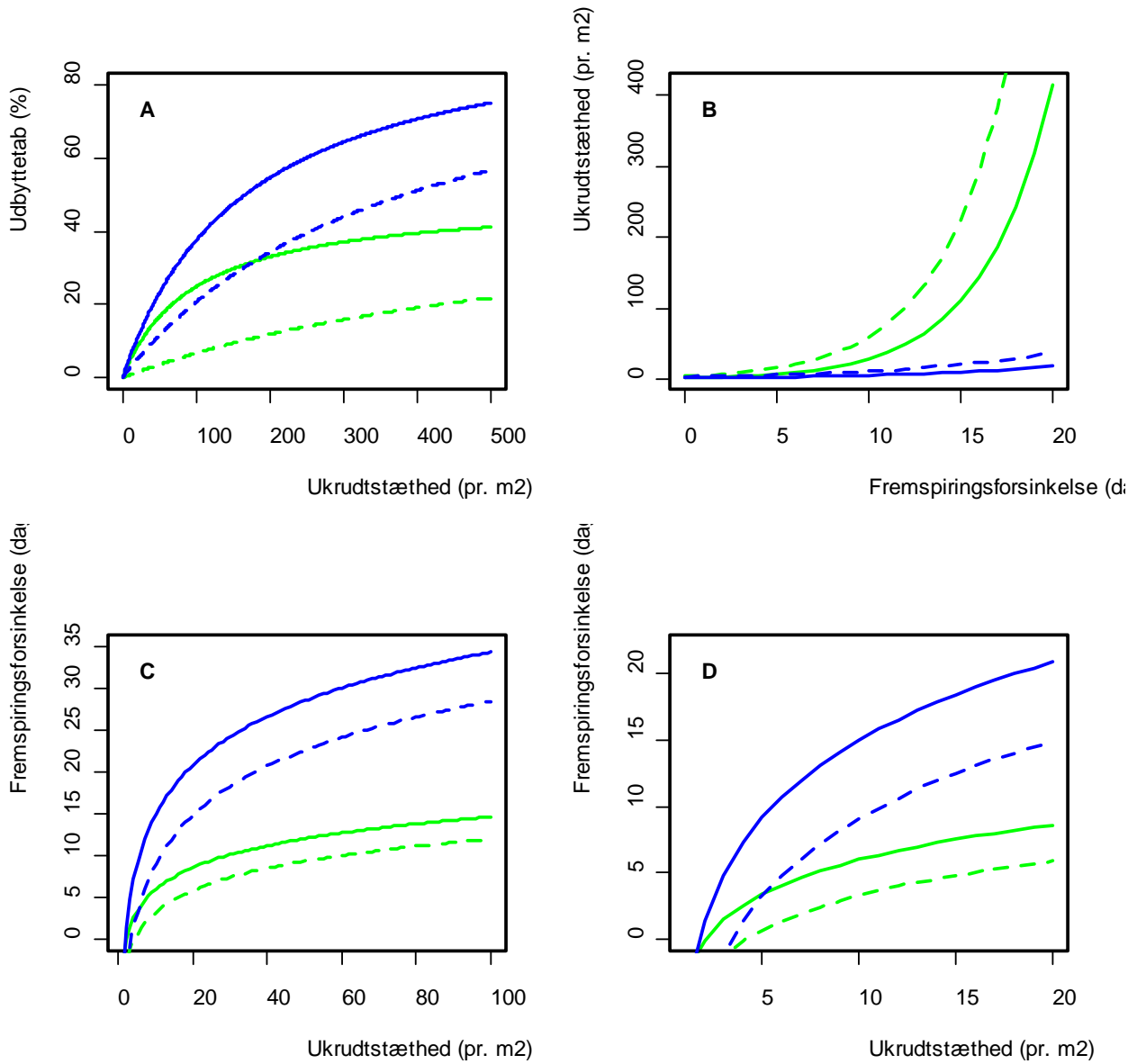
1. det forventede udbyttetab med udgangspunkt i ukrudtstætheden og forsinkelsen i fremspiringen.
2. den ukrudtstæthed med en given forsinkelse, der skal til for at forårsage et bestemt udbyttetab.
3. den forsinkelse, der skal til for at fremspiringen af ukrudt i en givet tæthed forårsager et bestemt udbyttetab.

Behovet for bekæmpelse under indflydelse af forsinket ukrudtsfremspiring blev estimeret med udgangspunkt i estimaterne for flyvehavre i vårbyg og vårhvede (Cousens *et al.*, 1987) (figur 8).

Vårbyg var mere konkurrencestærk end vårhvede, men blot en uges forsinkelse sænkede det forventede udbyttetab væsentligt (figur 8A).

En fremspiringsforsinkelse på op til 20 dage gav ingen væsentlig reduktion i behovet for bekæmpelse i vårhvede, men i den mere konkurrencesterke vårbyg kan der med blot 10 dages forsinkelse tolereres en ukrudtstæthed på op til 30-60 planter/m<sup>2</sup> ved en behandlingstærskel på 1-2 % (figur 8B).

Hvis man i stedet ser på, hvor stor en forsinkelse, der skal til, for at en given ukrudtstæthed ikke kræver behandling, så er der ved en tæthed på 20 planter/m<sup>2</sup> brug for en forsinkelse på 6-9 dage i vårbyg og 15-21 dage i vårhvede ved en behandlingstærskel på henholdsvis 2 % og 1 % (figur 8C-D). Dette afspejler igen, at vårbyg er den mest konkurrencesterke af de to arter.



FIGUR 8. SAMMENHÆNGEN MELLEM UDBYTTETAB ( $Y_l$ ) OG UKRUDTETS TÆTHED ( $N$ ) OG FORSINKELSE ( $T$ ) FOR FLYVEHAVRE I VÅRBYG (GRØN) OG VÅRHVEDE (BLÅ). HELE OG STIPLEDE KURVER VISER HENHOLDSVIS 0 OG 7 DAGES FORSINKELSE (A), OG 1 OG 2% TÆRSKELVÆRDIER (B, C, D).

# 5. Diskussion

## 5.1 Sortsforsøg

### 5.1.1 Vinterrapsorter

Sorterne ES Astrid og Excalibur blev udvalgt ud fra både forskelle i det totale indhold af glucosinolater og deres glucosinolatprofil. Der var i sorten Excalibur et procentvis højere indhold af indol-3ylmethylglucosinolater (kode nr. 23 i tabel 1) i rødderne i forhold til totalmængden af glucosinolater, hvilket adskilte denne fra sorten ES Astrid, som ellers havde det største totalindhold af glucosinolater. Forskellene i indhold af glucosinolater sorterne imellem var mindre end observeret i tidligere forsøg med amerikanske sorter (Eberlein *et al.*, 1994). Det kan sandsynligvis tilskrives, at sorterne ikke var udvalgt med henblik på at undersøge forskelle i glucosinolatindhold, men indgik i forsøgene, fordi det enten var nye sorter, hvor forædleren ønsker optagelse på den officielle sortliste, eller målesorter.

### 5.1.2 Vinterrugsorter

I overensstemmelse med tidligere undersøgelser blev der fundet et markant større indhold af benzoxazinoider i de overjordiske end i de underjordiske plantedele (Rice *et al.*, 2005). Sammenholdt med at biomassen af de overjordiske plantedele i det tidlige forår som regel vil være større end biomassen af rødder, vil eventuelle effekter skulle tilskrives de overjordiske plantedele. Et indhold af benzoxazinoider i de overjordiske plantedele, som er 8-10 gange højere end indholdet af fenoliske syrer, indikerer endvidere, at biologiske effekter primært skal tilskrives benzoxazinoiderne.

Forskellene i indhold af benzoxazinoider imellem sorterne var ca. en faktor 2, hvilket er mindre, end hvad der tidligere er fundet i vinterhvede (Niemeyer, 2009), men i overensstemmelse med, hvad Reberg-Horton *et al.* (2005) fandt i en undersøgelse med 10 vinterrugsorter.

De statistiske analyser viste en signifikant vekselvirkning imellem sorter og lokaliteter, det vil sige rækkefølgen af sorterne med hensyn til indhold af benzoxazinoider og fenoliske syrer varierede imellem lokaliteter. Hvorvidt denne vekselvirkning er et udtryk for, at lokaliteten påvirker sorterens indhold af allelopatiske stoffer forskelligt, eller om den statistiske vekselvirkning mere er et resultat af, at de absolutte forskelle imellem sorterne var forholdsvis små, er ikke muligt at afgøre. En mere detaljeret analyse af resultaterne fra sortsforsøgene, hvor bl.a. korrelationerne imellem forekomsten af de forskellige benzoxazinoider og fenoliske syrer er undersøgt, er publiceret af Carlsen *et al.* (2009).

På baggrund af resultaterne blev det besluttet at anvende sorterne Matador (højt indhold) og Rorik (lavt indhold) i markforsøget. I 2008 blev Matador erstattet af Carotop, da Matador ikke længere blev markedsført i Danmark.

## 5.2 Markforsøg

### 5.2.1 Allelopatiske stoffer i nedmuldede plantemateriale

Vækstforholdene i 2006/2007 var gunstigere end i 2007/2008, hvilket gav sig udslag i, at biomassen i foråret 2007 var op til 100 % større end i foråret 2008. Forskellene imellem årene var mest udtalt for vinterrugsorten Rorik og vinterrapsorten ES Astrid.

Koncentrationen af glucosinolater i de vinterrapsplanter, der blev nedmuldet i 2007 var højere end de koncentrationer, der blev fundet i sortsforsøgene. Forskellige udviklingsstrin (BBCH 55 vs. BBCH 31-32) kan være årsagen til denne forskel (Clossais-Bernard & Lahrer, 1991), men også forskelle i dyrkningsbetingelserne kan være en medvirkende faktor. I 2008

var udviklingstrinnet identisk med det i sortsforsøgene, men da der ikke foreligger planteanalyser fra 2008, er det ikke muligt yderligere at vurdere, om det er udviklingstrinnet, der kan forklare forskellene imellem 2006 og 2007.

I modsætning til vinterraps var indholdet af benzoxazinoider lavere i både 2007 og 2008 end i 2006. Denne forskel var mest udtalt for de overjordiske plantedele. Som tilfældet var for vinterraps, blev planteprøverne taget lidt tidligere end i sortsforsøget (BBCH 23-30 vs. BBCH 32-37). Tidligere undersøgelser med både vinterrug og vinterhvede har vist, at indholdet af benzoxazinoider falder med udviklingstrinnet (Reberg-Horton et al, 2005; Mogensen *et al.*, 2006), det vil sige det lavere indhold vanskeligt kan forklares med forskelle i udviklingstrin. Dyrkningsbetingelser og klimatiske forhold synes at være de mest sandsynlige forklaringer på det lavere indhold i 2007 og 2008.

En anden interessant forskel imellem sortsforsøgene og markforsøgene var, at i begge år var indholdet af benzoxazinoider højere i rødderne end i toppen for Roriks vedkommende, mens det forholdt sig omvendt for Matador/Carotop. At indholdet i rødderne er højere end i toppen kan skyldes, at indholdet i de underjordiske plantedele påvirkes mindre af eksterne forhold end indholdet i toppen.

Der var stor forskel både imellem år og sorter med hensyn til hvor meget biomasse, der blev nedmuldet. Mængden af allekemiske stoffer afhænger foruden af koncentrationen i planten også af biomassen. I tabel 20 er den totale mængde af henholdsvis glucosinolater og benzoxazinoider pr. m<sup>2</sup> beregnet ved at multiplicere biomassen med koncentrationen.

**TABEL 20. INDHOLD (µMOL/M<sup>2</sup>) AF BENZOXAZINOIDER (BX) OG GLUCOSINOLATER (GLS) I ROD OG TOP I HENHOLDSVIS VINTERRUGSORTERNE MATADOR, CAROTOP OG RORIK OG VINTERRAPS-SORTERNE EXCALIBUR OG ES ASTRID.**

2007			
	Bx rod	Bx top	Total
Matador	27,2	173,1	200,3
Rorik	18,9	67,9	86,8
2008			
Carotop	23,6	98,4	122,0
Rorik	31,1	42,4	73,5
2007			
	Gls rod	Gls top	Total
Excalibur	457,9	744,5	1202,4
ES Astrid	465,4	1286,4	1751,8

I 2007 var indholdet af benzoxazinoider i Matador ca. 2,5 gange højere end i Rorik, mens forskellen på Carotop og Rorik i 2008 kun var af størrelsesordenen 1,5. Som følge af den større biomasse i 2007 var den samlede mængde benzoxazinoider, der blev nedmuldet, generelt højere i 2007 end i 2008. Uanset at koncentrationen af benzoxazinoider i de overjordiske plantedele var noget lavere end forventet, så bidrog de overjordiske plantedele med størsteparten af benzoxazinoiderne med undtagelse af Rorik i 2008, hvor fordelingen imellem top og rod var næsten 1 til 1.

På trods af at indholdet af glucosinolater var højere i rødderne end i de overjordiske plantedele, så bidrog sidstnævnte med hovedparten af glucosinolaterne på grund af en betydelig større biomasse. Forskellene imellem de underjordiske og overjordiske plantedeles bidrag var dog mindre end for vinterrug specielt for Excaliburs vedkommende.

Mængden af glucosinolater, der indarbejdes i jorden med vinterraps, er betydelig større end mængden af benzoxazinoider i vinterrug. Forskellen imellem ES Astrid og Matador, vinterrug- og vinterrapsorten med det højeste indhold, var ca. 8, mens forskellen imellem Excalibur og Rorik var ca. 14. Da der ikke foreligger analyser af vinterrapsplanterne i 2008, var det kun muligt at sammenligne de to afgrøders indhold af allelopatiske stoffer i 2007.

Antager man, at plantematerialet indarbejdes i 10 cm's dybe, at jordens vægtfylde er 1,5 g/cm<sup>3</sup>, og at frigivelsen af allelokemiske stoffer fra plantematerialet er 100 %, så vil koncentrationen i jorden være som vist i tabel 21.

TABEL 21. INDHOLD (NMOL/G TØRJORD) AF BENZOXAZINOIDER (BX) OG GLUCOSINOLATER (GLS) I JORD, HVIS MAN ANTAGER, AT FRIGIVELSEN FRA PLANTEMATERIALET ER 100 %, JORD-BEARBEJDNINGSDYBDE ER 10 CM OG JORDENS VÆGTFYLDE ER 1,5 G/CM<sup>3</sup>.

	<b>2007</b>
Matador	5,34
Rorik	2,30
	<b>2008</b>
Carotop	3,25
Rorik	1,96
	<b>2007</b>
Excalibur	32,1
ES Astrid	46,7

I figur 5 kan ses, at koncentrationen af benzoxazinoider dag 1 efter indarbejdning er 2,99 og 0,82 nmol/g tørjord for henholdsvis Matador og Rorik i 2007, og 1,31 og 1,36 nmol/g tørjord for henholdsvis Carotop og Rorik i 2008. Fratrækkes koncentrationen, der blev målt umiddelbart før indarbejdning af plantematerialet, betyder det, at der på dag 1 er frigivet, hvad der svarer til koncentrationer på henholdsvis 2,25; 0,02; 0,13 og 0,65 nmol/g tørjord. Sammenlignes disse værdier med værdierne i tabel 21, svarer det til, at der i løbet af det første døgn er frigivet 42; 0,1; 4 og 33 % af benzoxazinoiderne i plantematerialet. Det er vanskeligt at lave tilsvarende beregninger for de senere udtagninger, da man i givet fald vil skulle inddrage nedbrydningen af de allelokemiske stoffer.

Af figur 6 og 7 kan ses, at benzoxazinoiprofilen i henholdsvis plantematerialet og jordprøverne udtaget efter henholdsvis 1 og 28 dage er meget forskellige. I plantepøverne er DIBOA det altdominerende benzoxazinoide og udgør op til 80 % af det samlede indhold, mens der er fundet 8 forskellige forbindelser i koncentrationer fra nogle få procent op til ca. 20 % i jordprøverne. Analyserne viser, at hovedparten af det DIBOA, der fandtes i planterne ved nedmuldning, er blevet omdannet til andre benzoxazinoide forbindelser.

Et nedbrydningsprodukt har tiltrukket speciel opmærksomhed, og det er APO, som i tidligere forsøg har haft en betydelig højere aktivitet overfor planter, end de øvrige benzoxazinoider (Mathiassen *et al.*, 2006). Som det kan ses af figur 7, så forekom APO i meget lave doseringer og udgjorde henholdsvis 0,3 og 1,3 % af benzoxazinoindholdet efter nedmuldning af henholdsvis Rorik og Matador. Til trods for den højere aktivitet vil APO ved så lave koncentrationer kun bidrage marginalt til den samlede fytotoksiske effekt.

### 5.2.2 Effekter på planter

Effekter af allelopatiske stoffer på planter kommer som regel til udtryk enten ved en reduceret og/eller forsinket fremspiring eller en væksthæmning af de spirede planter. Med henblik på at kunne vurdere alle potentielle effekter blev antal spirede frø talt jævnlige, det samlede antal spirede frø blev optalt, og planternes frisk- og tørvægt blev målt 21-28 dage efter såning.

Med udgangspunkt i de løbende optællinger af frø blev der beregnet et spiringsindeks. Der har været anvendt flere forskellige spiringsindeks i litteraturen. Anjum & Bajwa (2005) sammenlignede 6 forskellige spiringsindeks på det samme datamateriale. De konkluderede, at et indeks, som de kaldte "speed of accumulated germination", var det mest følsomme indeks, mens det indeks, som er anvendt i denne rapport, var i midtergruppen med hensyn til følsomhed. At dette indeks alligevel er valgt skyldes, at det i modsætning til "speed of accumulated germination" er upåvirket af hvor mange frø, der i alt spirer ved de forskellige behandlinger. Det er derfor et godt mål for, om spiringshastigheden er påvirket.

Som det fremgår af tabel 14 og 15, blev der fundet meget få eksempler på, at nedmuldning af vinterrug og vinterraps havde en signifikant indflydelse på spiringsindekset. Endvidere er der ingen sammenhæng imellem de målte koncentrationer af allelokemiske stoffer og effekter på spiringshastigheden. Således er der i 2007 ikke observeret flere tilfælde af signifikante effekter efter nedmuldning af Matador sammenlignet med Rorik på trods af, at der blev fundet en mere end dobbelt så høj koncentration efter nedmuldning af Matador ved de tidlige udtagninger (figur 5).

Tilsvarende er der i 2007 fundet flere tilfælde af signifikante effekter med Excalibur end efter ES Astrid. Det er ikke fastlagt om denne forskel kan skyldes den forskel der var i det procentvise indhold af indol-3-ylmethylglucosinolater. På trods af, at ES Astrid bidrog med et større indhold af glucosinolater til jordprøverne baseret på den mængde der blev nedmuldet var det Excalibur som havde signifikante effekter. Da isothiocyاناتer ikke er de eneste nedbrydningsprodukter efter glucosinater, kan det ikke udelukkes, at effekterne af Excalibur kan skyldes andre nedbrydningsprodukter, der ikke er analyseret for. Ligeledes kan effekterne også hidrøre fra andre stofgrupper som ikke er medtaget i denne undersøgelse.

I 2008 blev der observeret endnu færre signifikante effekter end i 2007, hvilket sandsynligvis kan tilskrives det lavere indhold af allelopatiske stoffer i jorden i 2008, som primært var et resultat af den mindre biomasse.

I tabel 14 og 15 er kun vist de tilfælde, hvor grønafrøderne reducerede fremspiringshastigheden. I en del tilfælde blev der målt et signifikant højere spiringsindeks i et eller flere af de led, hvor der var indarbejdet en grønafrøde end i det ubehandlede forsøgsled. Dette underbygger yderligere, at der ikke synes at være nogen klar sammenhæng imellem forekomst af benzoxazinoider i jorden og fremspiringen af testplanterne.

En medvirkende årsag til, at der er observeret meget få signifikante effekter kan være, at forskellene i spiringsindeksene for de forskellige behandlinger var meget små. Det skyldes, at der ved de første optællinger ofte ikke var fremspiret planter. Frøene var måske spiret, men da det tager nogle dage, før de bryder igennem jordoverfladen, vil de først blive registreret som spiret 1-2 dage senere, det vil sige optællingerne bidrager ikke til spiringsindekset. Nævneren i spiringsindekset stiger med tiden, hvilket betyder, at det er de tidligst spirede frø, der bidrager mest til det samlede spiringsindeks. Spiringsindekset er udarbejdet til spiringstest under standardiserede forhold f.eks. i petriskåle i spireskabe. Under sådanne forhold vil der sandsynligvis opnås en større variation i behandlingerne imellem og dermed også en større følsomhed i forsøg med allelokemiske stoffer, fordi spirede frø kan erkendes få timer efter, at spiringen er påbegyndt.

I 2007 blev der observeret signifikante effekter på antallet af spirede frø for de 4 ukrudtsarter samt såløg, mens der ingen effekter blev målt på afgrøderne (vårbyg, majs, ærter, vørraps og bederoer). Effekten var mest udtalt på fuglegræs og såløg, hvor der blev observeret effekter af en eller flere af behandlingerne ved alle udtagninger. Antallet af signifikante effekter på enårig rapgræs, alm. rajgræs og lugtløs kamille var færre. Der var ikke nogen sammenhæng imellem de målte koncentrationer af benzoxazinoider og de observerede effekter, hverken hvis man sammenligner sorterne indbyrdes, eller hvis man sammenligner over tid.

Antallet af signifikante effekter i 2008 var færre end i 2007, men som i 2007 var det kun hos ukrudtsarterne (enårig rapgræs, alm. rajgræs, nat limurt, fuglegræs og lugtløs kamille) samt såløg, at der blev observeret signifikante effekter. I 2008 var koncentrationen af benzoxazinoider næsten konstant over tid, og der var ingen forskel imellem de to sorter, så derfor er det ikke muligt at relatere de observerede effekter til de fundne koncentrationer i jorden.

Tidligere undersøgelser med glucosinolater har vist, at småfrøede arter er mere følsomme end arter med store frø (Petersen *et al.*, 2001). Dette er i overensstemmelse med vores undersøgelser, idet frøene af ukrudtsarterne samt såløg er betydeligt mindre end frøene af de øvrige afgrøder. Der mangler dog stadig bevisførelse for hvilket/hvilke stoffer som har den afgørende betydning for effekten på frø.

I modsætning til antal spirede frø var effekten på biomassen mest udtalt i 2008, hvor der blev observeret mange tilfælde af lavere biomasse ved nedmuldning af vørraps og vørrug. Da der blev fundet meget få eksempler på effekt på antal spirede frø i 2008, kan effekten på biomassen ikke tilskrives et mindre antal planter. Koncentrationen af benzoxazinoider var lavere i 2008 end i 2007. Det er derfor også vanskeligt at forklare de observerede effekter som et resultat af forekomsten af allelopatiske stoffer.

Foruden en eventuel frigivelse af allelokemiske stoffer så kan nedmuldning af plantemateriale også påvirke jordens struktur og dens fugtigheds- og iltforhold. Disse ændringer i jordstrukturen kan i sig selv påvirke både spiringen og væksten af planter. I forsøget blev der ikke nedmuldet plantemateriale i det ubehandlede forsøgsled. Det betyder, at



spiringsforholdene i de jordprøver, der blev taget i de ubehandlede forsøgsled, var forskellig fra forholdene i de øvrige forsøgsled. I praksis er det ikke muligt at eliminere denne forskel mellem behandlede og ubehandlede forsøgsled, da man ikke kender til plantearter, hvor man med 100 % sikkerhed kan sige, at de ingen allelopatiske stoffer indeholder.

Det kan ikke udelukkes, at de indirekte effekter af nedmuldning af plantemateriale kan være årsagen til eller en medvirkende årsag til de observerede effekter i 2008. Hvis det er tilfældet, er det imidlertid svært at forklare, hvorfor der ingen effekter blev registreret i 2007, hvor der blev indarbejdet en betydelig større plantemasse i jorden end i 2008.

I laboratorieforsøg, hvor effekten af benzoxazinoider og isothiocyanoater er undersøgt på spirende frø i petriskåle, har man fundet nogenlunde den samme biologiske aktivitet af de to grupper af allelopatiske stoffer. Mathiassen *et al.* (2006) undersøgte effekten af MBOA på en række forskellige ukrudtsarter og fandt ED<sub>50</sub>-værdier i niveauet 0,4-2,0 mM. Pedersen *et al.* (2001) undersøgte effekten af forskellige isothiocyanoater på forskellige ukrudtsarter, og fandt ED<sub>50</sub>-værdier fra 0,4-1,0 mM for methyl-isothiocyanoat.

Sammenholder man disse koncentrationer med de beregnede koncentrationer i jorden (tabel 21), så er koncentrationerne i jorden, selv når man antager, at de allelokemiske stoffer er 100 % plantetilgængelige, mange gange lavere. Frigivelse af allelokemiske stoffer er en dynamisk proces, hvor der kontinuerligt vil blive frigivet stoffer fra planterne, og derfor kan man ikke umiddelbart sammenligne situationen i marken med situationen i en petriskål, hvor doseringen er tilført ad en gang ved igangsætningen af forsøget. Allelokemiske stoffers effekter er netop blevet tilskrevet mange små effekter af mange forskellige stoffer såsom benzoxazinoider, fenoliske syrer etc. (Einhellig, 1995). Endvidere måler man i forsøg i petriskåle kun effekten på spiringen og den meget tidlige vækst, det vil sige forsøg i petriskåle vil ikke give nogen indikationer om effekter på den senere vækst, som den der er observeret i dette forsøg i 2008.

Ikke desto mindre er forskellen imellem den aktuelle forekomst i jorden og de fundne ED<sub>50</sub>-doseringer i laboratoriet så markante, at det ikke er sandsynligt, at de observerede effekter kan tilskrives forekomsten af allelopatiske stoffer. Det underbygges yderligere af, at der ikke synes at være nogen sammenhæng imellem de effekter, der er observeret på spiringsindeks, antal spirede frø og biomasse.

### 5.3 Simuleringer

Modelberegningerne viser, at udsættelse af ukrudtets fremspiring kan have stor betydning for udbyttetabet i konkurrencesterke afgrøder som vårbyg og vårhvede. Foruden afgrødens konkurrenceevne må det forventes, at også dyrkningsforholdene vil spille en rolle.

Modelberegningerne beror på et amerikansk studium af blot en enkelt ukrudtsart (flyvehavre). De to modelparametre (*a* og *b*), som beskriver udbyttetabet uden hensyn til fremspiringstidspunktet (det sættes til at være samtidigt med afgrødens), er blevet bestemt for en række ukrudtsarter i forskellige afgrøder og er tilgængelige i litteraturen. Flyvehavre er så nært beslægtet med kornafgrøderne, at det også under danske forhold vil være rimeligt at antage, at den fremspirer samtidigt med afgrøden. Det gælder dog ikke for en række andre ukrudtsarter, som både kan spire før og efter afgrødens fremspiring. Den tredje parameter (*c*), som bestemmer betydning af forsinkelsen, er ikke blevet bestemt for andre ukrudtsarter end flyvehavre.

En mere generel brug af modellen kræver en biologisk screening af ukrudtsarterne for at bestemme modellens parametre. Det vil dog ikke være nødvendigt at screene alle arter. Man kan i stedet beskrive modellen for ukrudtsarterne inddelt i funktionelle grupper (Storkey, 2006). Endvidere vil parametrene *a*, *b* og *c* sandsynligvis være korrelerede med den eksponentielle vækstrate for tidlig vækst, som er bestemt for en lang række ukrudtsarter (Storkey, 2004), hvilket vil reducere det empiriske arbejde.

I nærværende undersøgelse observerede vi ikke en signifikant og konstant effekt på fremspiringen af ukrudtsarterne, og det er således ikke muligt at vurdere effekten af grønafrøder på herbicidforbruget. Modelberegningerne indikerer imidlertid, at metoder, som kan forsinke fremspiringen af ukrudtet uden samtidig at hæmme fremspiringen og væksten af afgrøden, vil kunne mindske bekæmpelsesbehovet og dermed også herbicidforbruget. En nærliggende mulighed ville

være at undlade indarbejdning af grønafgrøden og i stedet efterlade det døde plantemateriale på jordoverfladen. Denne teknik, som praktiseres med succes i bl.a. USA, kræver imidlertid udvikling af nye dyrkningssystemer og markredskaber.

Det er ikke muligt at lave en eksakt beregning af økonomien i anvendelse af grønafgrøder, da projektet ikke har leveret data, som kan understøtte en vurdering af ukrudtseffekten. Ved modelberegningerne er der regnet med en udgift til herbicider på 100 kr./ha. Antager man, at forbruget af herbicider kan halveres ved rigtig valg af grønafgrøde, kan der opnås en besparelse på 50 kr./ha.

Foruden en reduktion i herbicidforbruget vil dyrkning af efterafgrøder opsamle kvælstof og dermed reducere behovet for kvælstof i den efterfølgende afgrøde, da det optagne kvælstof vil frigives igen efter indarbejdning af efterafgrøden. En veletableret efterafgrøde kan optage op til 50 kg N/ha (PlanteNyt 425, [www.landbrugsinfor.dk](http://www.landbrugsinfor.dk)). Dyrkes der korsblomstrede grønafgrøder i flere år, vil eftervirkningen typisk være i størrelsesordenen 30 kg/ha (Plante Nyt 380, [www.landbrugsinfor.dk](http://www.landbrugsinfor.dk)), hvilket med en aktuel kvælstofpris på ca. 10 kr/kg svarer til en besparelse på 300 kr/ha. Det økonomiske incitament til at dyrke efterafgrøder er derfor en mindre udgift til kvælstofgødning snarere end besparelser i udgifterne til herbicider. En økonomisk kalkule af dyrkning af efterafgrøder skal foruden besparelser til gødning og herbicider også medregne udgifterne til frø og etablering.

# 6. Konklusioner

Som nævnt i indledningen var formålet med nærværende projektet at belyse følgende problemstillinger:

1. variationen i indholdet af allelokemiske stoffer i udvalgte sorter af vinterraps og vinterrug dyrket i Danmark.
2. forekomsten af allelokemiske stoffer i jorden på forskellige tidspunkter efter indarbejdning af grønafrøden i jorden.
3. effekter på ukrudt og afgrøde ved nedmuldning af vinterraps og vinterrug forud for etablering af vårafrøder.
4. sammenhængen mellem effekter på ukrudt og afgrøde og forekomsten af allelokemiske stoffer og deres nedbrydningsprodukter.
5. effekten af at anvende grønafrøder af vinterraps eller vinterrug på behovet for kemisk bekæmpelse i den efterfølgende afgrøde.
6. økonomien i anvendelsen af grønafrøder ved at sammenholde fordelene i form af herbicidbesparelser og andre positive effekter såsom en mindsket udvaskning af næringsstoffer med de omkostninger, der er forbundet med at etablere grønafrøden.

I det følgende er der konkluderet for hver af de ovennævnte 6 problemstillinger

## *Ad. 1. Undersøge variationen i indholdet af allelokemiske stoffer i udvalgte sorter af vinterraps og vinterrug dyrket i Danmark*

Med dette projekt foreligger der nu data vedrørende indholdet af allelopatiske stoffer i et udvalg af de vinterraps- og vinterrugsorter, der dyrkes i Danmark. Variationen i de undersøgte sorter var forholdsvis lille, og et formål for fremtidige undersøgelser bør være at identificere sorter med højere indhold af allelopatiske stoffer. I den forbindelse vil resultaterne fra nærværende projekt være en værdifuld reference.

## *Ad. 2. Undersøge forekomsten af allelokemiske stoffer i jorden på forskellige tidspunkter efter indarbejdning af grønafrøden i jorden*

Nærværende projekt er et af de eneste, som har undersøgt sammenhængen imellem indholdet af allelopatiske stoffer i det nedmuldede plantemateriale og forekomsten af de samme stoffer og deres nedbrydningsprodukter i jorden. Denne viden er nødvendig for at kunne vurdere effekten af grønafrøder og ikke mindst for at kunne opstille kriterier for grønafrødernes minimumindhold af allelopatiske stoffer.

For vinterrugs vedkommende var det muligt at opstille en slags massebalance for de første dage efter indarbejdningen i jorden, da der blev analyseret for stort set alle kendte metabolitter. Opstilling af en fuldstændig massebalance forudsætter, at indholdet af allelopatiske stoffer i det plantemateriale, der blev pillet fra jordprøverne, bliver analyseret. Det var ikke tilsvarende muligt at opstille en massebalance for vinterraps, da analyser af alle grupper af nedbrydningsprodukter fra glucosinolater ikke har været mulig.

I forbindelse med projektet er der sket både en nyudvikling, en videreudvikling samt en tilpasning af tidligere anvendte analysemetoder. Disse metoder vil med fordel kunne anvendes i fremtidige projekter.

## *Ad. 3. Undersøge effekter på ukrudt og afgrøde ved nedmuldning af vinterraps og vinterrug forud for såning af vårafrøder*

Generelt blev der observeret meget få statistisk sikre effekter på fremspiring og vækst af både ukrudt og afgrøder. Dette resultat var specielt overraskende for vinterraps' vedkommende, da indarbejdning i jorden forud for såning af en afgrøde

er den fremgangsmåde, der er anvendt i alle tidligere undersøgelser, hvor der er observeret signifikante effekter. Hvorvidt forskellene kan tilskrives forskelle i indhold af glucosinolater og/eller forskelle i biomasse er vanskeligt at afgøre, da begge disse parameter meget sjældent er blevet målt i det samme forsøg.

Som følge af senere høst og tidligere såning i foråret vil vækstsæsonen for grønafrøder være kortere, end i mange af de lande, hvor de refererede undersøgelser er udført. Tilvæksten må derfor antages at være en begrænsende faktor for effekten af grønafrøder, hvilket understreger, at det er vigtigt at identificere sorter med et højt indhold af allelopatiske stoffer.

For vinterrugs vedkommende er resultaterne mindre overraskende, da det tidligere er vist, at effekten af rug er større, hvis afgrøden efterlades på jordoverfladen. Det forklares med, at det døde plantemateriale foruden at afgive allelopatiske stoffer også vil virke som en fysisk barriere for ukrudtet. En videreudvikling af anvendelsen af vinterrug som grønafrøder bør derfor fokusere på mulighederne for at efterlade det døde plantemateriale på jordoverfladen.

#### *Ad.4. Undersøge sammenhængen mellem effekter på ukrudt og afgrøde og forekomsten af allelopatiske stoffer og deres nedbrydningsprodukter*

Som følge af de få eksempler på signifikante effekter på de undersøgte testplanter er det ikke muligt at uddrage konklusioner vedrørende sammenhængen imellem forekomsten (kvalitativt og kvantitativt) og effekten på ukrudt og afgrøde.

#### *Ad. 5. Undersøge effekten af at anvende grønafrøder af vinterraps eller vinterrug på behovet for kemisk bekæmpelse i den efterfølgende afgrøde*

Det var ikke muligt at belyse sammenhængen imellem anvendelsen af grønafrøder af vinterraps og vinterrug og behovet for kemisk bekæmpelse med udgangspunkt i projektets resultater, da der som tidligere nævnt kun blev observeret få signifikante effekter.

I stedet blev det besluttet at undersøge effekten af forsinket fremspiring, som er en af de forventede effekter af grønafrøder, ved hjælp af parameterestimater genereret fra forsøg med flyvehavre i Nordamerika. Resultaterne af modelberegningerne kan ikke umiddelbart overføres til andre ukrudtsarter og danske dyrkningsforhold. Resultaterne indikerer, at blot en mindre forsinkelse i ukrudtets fremspiring kan reducere bekæmpelsesbehovet markant i konkurrencestærke afgrøder. I konkurrencesvage afgrøder og rækkeafgrøder vil effekten være mindre.

Integreret ukrudtbekæmpelse vil i de fleste afgrøder være en kombination af mange forskellige metoder (kulturtekniske, biologiske, mekaniske og kemiske), og modelberegningerne viser, at grønafrøder på trods af en helt utilstrækkelig effekt anvendt alene kan have sin berettigelse i en integreret strategi.

#### *Ad. 6. Undersøge økonomien i anvendelsen af grønafrøder ved at sammenholde fordelene i form af herbicidbesparelser og andre positive effekter såsom en mindsket udvaskning af næringsstoffer med de omkostninger, der er forbundet med at etablere grønafrøden*

Den potentielle gevinst ved dyrkning af efterafgrøder er knyttet til besparelser til kvælstofgødning i højere grad end mindskede udgifter til herbicider. Fraregnes udgifterne til frø og etablering er de kortsigtede økonomiske incitamenter begrænset. På langt sigt formodes dyrkning af efterafgrøder at resultere i en forbedret jordstruktur og et højere indhold af organisk stof, som specielt i marker med et lavt indhold af organisk stof vil kunne forbedre jordens frugtbarhed. Disse positive effekter vil imidlertid først blive realiseret efter flere års dyrkning af grønafrøder og er derfor vanskelige at inddrage i en økonomisk kalkule.

# 7. Perspektiveringer

Grønafgrøder er et af virkemidlerne i Grøn Vækst til at reducere tabet af kvælstof fra landbrugsjorden, og i de kommende år forventes arealet med grønafgrøder stige. Dette projekt var inspireret af resultater fra udenlandske studier, hvor man ofte har observeret signifikante effekter af grønafgrøder på ukrudtsfloraens sammensætning og vækst i efterfølgende afgrøder. I hovedparten af de udenlandske undersøgelser har man antaget, at effekten kan tilskrives allelopatiske stoffer, men meget sjældent har man forsøgt at korrelere biologiske effekter med forekomsten af allelopatiske stoffer. Udover at undersøge ukrudtseffekten af grønafgrøder under danske dyrkningsforhold var formålet med nærværende projekt at råde bod på dette.

En vigtig aktivitet i projektet har derfor været at udvikle analytiske metoder for både de allelokemiske stoffer og deres nedbrydningsprodukter. Ved projektets start eksisterede der metoder til analyse af plantemateriale, hvorimod det har været nødvendigt at udvikle og optimere metoder til analyse af jordprøver. Analyse af jordprøver er en større udfordring end planteanalyser, da de allelopatiske stoffer forholdsvis hurtigt nedbrydes i jorden, og der dannes en række nedbrydningsprodukter. For glucosinolaternes vedkommende var det i projektperioden kun muligt at udvikle metoder til bestemmelse af isothiocyاناتer, som er en gruppe, men ikke den eneste gruppe af nedbrydningsprodukter. Derimod er der for benzoxazinoidernes vedkommende nu en metode til rådighed for alle kendte nedbrydningsprodukter i jord, det vil sige det i fremtiden vil være muligt at følge benzoxazinoiders skæbne i jorden. *Med dette projekt er der på analysesiden opnået signifikante fremskridt, som vil gøre det muligt i fremtidige forskningsprojekter i langt højere grad at sammenkoble biologisk effekt med forekomsten af allelopatiske stoffer i jorden og dermed bidrage til at øge forståelsen af disse stoffers biologiske effekter ikke kun på skadegørere men også på "non-target" (ikke-mål) organismer.*

Med hensyn til ønsket om at belyse ukrudtseffekten af grønafgrøder er der ikke opnået entydige resultater. Statistisk signifikante effekter er få, og det har ikke været muligt at korrelere effekterne med forekomsten af allelopatiske stoffer i jorden. Med baggrund i de udenlandske erfaringer, er det overraskende, at der ikke blev observeret effekter med vinterraps, da der er anvendt samme metode som i de udenlandske forsøg. For vinterrugs vedkommende er de mest markante effekter derimod fundet, hvor plantemassen efterlades på jordoverfladen. Denne teknik kan imidlertid ikke anvendes forud for såning af vårbyg og andre bredsåede afgrøder og blev derfor fravalgt i dette projekt. *Med baggrund i resultaterne fra dette projekt foreslås det, at man i fremtidige projekter fokuserer på 1) at finde arter/sorter med et højere indhold af allelopatiske stoffer og 2) at undersøge, om man ved at ændre håndteringen af grønafgrøden, f.eks. efterlade den på jordoverfladen, kan øge effekten på ukrudtet i den efterfølgende afgrøde. Sidstnævnte vil vanskeligt kunne praktiseres i bredsåede afgrøder men være en mulighed i rækkesåede afgrøder.*

Med baggrund i de få effekter på ukrudtets spiring og vækst, der er observeret i projektet, er det ikke muligt at rådgive vedrørende grønafgrøders ukrudtseffekt og muligheden for at inddrage grønafgrøder i fremtidige integrerede ukrudtsbekæmpelsesstrategier.



# Referencer

Al-Khatib K & Boydston R. 1999. Weed control with *Brassica* green manure crops. I: Allelopathy Update, Volume 2, Basic and Applied Aspects (S.S. Narwal ed.), pp. 255-270.

Al-Khatib K, Boydston R & Deryckx W. 1995. Technical Report. Report 03-95-20, Crop & Science Dept., Washington State University, 21 pp.

Anjum T & Bajwa T. 2005. Importance of germination indices in interpretation of allelochemical effects. International Journal of Agriculture and Biology, 7, 417-419.

Baerson SR, Sanchez-Moreiras A, Pedrol-Bonjoch N, Schulz M, Kagan IA, Agarwal AK, Reigosa MJ & Duke SO. 2006. Detoxification and transcriptome response in *Arabidopsis* seedlings exposed to the allelochemical benzoxazolin-2(3H)-one. Journal of Biological Chemistry, 23, 21867-21881.

Barnes JP & Putnam AR. 1983. Rye residues contribute weed suppression in no-tillage cropping systems. Journal of Chemical Ecology, 9, 1045-1057.

Bellostas N, Kachlicki P, Sørensen JC & Sørensen H. 2007. Glucosinolate profiling of seeds and sprouts of *B. oleracea* varieties used for food. Scientia Horticulturae, 114, 234-242.

Bellostas N, Sørensen AD, Sørensen JC & Sørensen H. 2009. Type and concentration of redox reagents influencing nitrile formation upon myrosinase (*Brassica carinata*)-catalyzed hydrolysis of glucosibarin. J Mol Cat B: Enz, 57, 229-236.

Bjerg B & Sørensen H. 1987. Quantitative analysis of glucosinolates in oilseed rape based on HPLC of desulphoglucosinolates and HPLC of intact glucosinolates in Rapeseed. I: *Glucosinolates in Rapeseed: Analytical Aspects* (Wathelet J-P, ed), pp. 125-150.

Bjergegaard C, Buskov S, Ib K, Sørensen H, Sørensen JC & Sørensen S. 2001. Effects of various antioxidants and storage conditions on oxidative degradation of the indole glucosinolate 4-hydroxyglucobrassicin. In *Biologically-Active Phytochemicals in Food - Analysis, Metabolism, Bioavailability and Function*, The Royal Society of Chemistry, UK, pp. 88-90.

Bjergegaard C, Buskov S, Sørensen H, Sørensen JC, Sørensen M & Sørensen S. 2000. Reactions between glucosinolate products and thiol groups in food components. Cz J Food Sci, 18, 193-195.

Bjergegaard C, Li PW, Michaelsen S, Møller P, Otte J & Sørensen H. 1994. Glucosinolates and their transformation products - compounds with a broad biological activity. Bioact Subst Food Plant Origin, 1, 1-15.

Bjergegaard C, Michaelsen S, Møller P & Sørensen H. 1995. Separation of desulphoglucosinolates by micellar electrokinetic capillary chromatography based on a bile-salt. J Chrom A, 717, 325-333.

Bjergegaard C, Møller P, Sørensen H, Sørensen JC & Sørensen S. 1999. Micellar electrokinetic capillary chromatography of thiocarbonyl derivatives produced in reactions between isothiocyanates and amino acids. J Chrom A, 836, 115-127.

Bjergegaard C, Michaelsen S, Møller P & Sørensen H. 1991. High performance capillary elektroforesis: Determination of individual anions, carboxylates, intact- and desulfoglucosinolates. I: *Proceedings of the 8th International Rapeseed Congress*. Saskatoon, Canada, pp 822-827.

- Blum U, Shafer S & Lehmen M. 1999. Evidence for inhibitory allelopathic interactions involving phenolic acids in field soils: Concepts vs. an experimental model. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 18, 673-693.
- Borek V, Morra MJ, Brown PD & McCaffrey JP 1994. [Allelochemicals produced during sinigrin decomposition in soil](#). *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1030-1034.
- Bottenberg H, Masiunas J, Eastman C & Eastburn D. 1997. The impact of rye cover crops on weeds, insects and diseases in snapbean cropping systems. *J. Sustain. Agr.*, 9, 131-155.
- Boydston RA & Al-Khatib K (2006). Utilising *Brassica* cover crops for weed suppression in annula cropping systems. I: Handbook of Sustainable Weed Management (eds. Singh HP, Batish RB & Kohli RK), Food Products Press, New York, pp 77-94.
- Boydston RA & Hang A. 1995. [Rapeseed \(\*Brassica napus\*\) green manure crop suppresses weeds in potato \(\*Solanum tuberosum\*\)](#). *Weed Tech.*, 9, 669-675.
- Boydston RA & Vaughn SF (2002). [Alternative weed management systems control weeds in potato \(\*Solanum tuberosum\*\)](#). *Weed Technology*, 16, 23-28
- Brown PD & Morra MJ. 1995. [Glucosinolate-containing plant tissues as bioherbicides](#). *J. Agric. Food Chem.*, 43, 3070-3074.
- Burgos NR, Talbert RE & Mattice JD. 1999. Cultivar and age differences in the production of allelochemicals by *Secale cereale*. *Weed Science*, 47, 481-485.
- Burgos NR, [Talbert RE](#), [Kim KS](#), [Kuk YI](#). 2004. [Growth inhibition and root ultrastructure of cucumber seedlings exposed to allelochemicals from rye \(\*Secale cereale\*\)](#). *Journal of Chemical Ecology*, 30, 671-689.
- Buskov S, Hansen LB, Olsen CE, Sørensen JC, Sørensen H & Sørensen S. 2000a. Determination of ascorbigens in autolysates of various *Brassica* species using supercritical fluid chromatography. *J Agri Food Chem*, 48, 2693-2701.
- Buskov S, Hasselstrom J, Olsen CE, Sørensen H, Sørensen JC & Sørensen S. 2000b. Supercritical fluid chromatography as a method of analysis for the determination of 4-hydroxybenzylglucosinolate degradation products. *J Biochem Biophys Met*, 43, 157-174.
- Buskov S, Sørensen H & Sørensen JC. 2000c. Oligomeric compounds formed under acidic processing of food containing hydroxybenzyl and indol-3-ylmethylglucosinolates. *Cz J Food Sci*, 18, 31-33.
- Carlsen SCK, Kudsk P, Laursen B, Mathiassen SK, Mortensen AG & Fomsgaard IS. 2009. Allelochemicals in rye (*Secale cereale* L.): Cultivar and tissue differences in the production of benzoxazinoids and phenolic acids. *Natural Product Communications*, 4, 199-208.
- Chunhong J, Kudsk P & Mathiassen SK. 2006. Joint-action of benzoxazinone derivatives and phenolic acids. *J. Agric. Food Chem*, 54, 1049-1057.
- Clossais-Besnard N & Lahrer F. 1991. [Physiological role of glucosinolates in \*Brassica napus\* – concentration and distribution pattern of glucosinolates among plant organs during a complete life cycle](#). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 56, 25-38.
- Cousens RD, Brain P, O'Donovan JT & O'Sullivan PA. 1987. The use of biologically realistic equations to describe the effects of weed density and relative time of emergence on crop yield. *Weed Science* 35, 720-725.
- Creamer NG, Bennett MA, Strinner BR, Cardina J & Regnier EE. 1996. Mechanisms of weed suppression in cover crop-based production systems. *Hort-Sci.*, 31,410-413.



- Duran-Serantes B, Gonzalez L & Reigosa MJ. 2002. [Comparative physiological effects of three allelochemicals and two herbicides on \*Dactylis glomerata\*](#). *Acta Physiologiae Plantarum*, 24, 385-392.
- Eberlein CV, Morra MJ, Guttieri MJ, Brown PD & Brown J. 1994. [Glucosinolate production by five field-grown \*Brassica napus\* cultivars used as green manures](#). *Weed Tech.*, 12, 712-718.
- EC. 1990. Determination of the oilseed glucosinolates content by HPLC. *Off J EU Com*, L170: 03.07.27-34.
- Einhellig FA. 1995. Allelopathy: current status and future goals. In *Allelopathy. Organisms, Processes and Applications*. Inderjit, Dakshini KMM & Einhellig FA (editors), American Chemical Society, Washington, 1-24.
- Einhellig FA & Rasmussen JA. 1978. Synergistic inhibitory effects of vanillic and *p*-hydroxybenzoic acids on radish and grain sorghum. *J. Chem. Ecol.*, 4, 425-436.
- Etzerodt T, Nielsen ST, Mortensen AG, Christophersen C, Fomsgaard IS, Mortensen AG & Carlsen SCK. 2006. [Elucidating the transformation pattern of the cereal allelochemical 6-methoxy-2-benzoxazolinone \(MBOA\) and the trideuteriomethoxy analogue \[D-3\]-MBOA in soil](#). *J. Agric. Food Chem*, 54, 1025-1038.
- Frandsen HB, Jeffery EH, Møller P, Søndergaard M, Sørensen AD, Sørensen JC & Sørensen H. 2009. On-line MECC determination of isothiocyanates (ITC's), ITC-derived products and their cyclocondensation with vicinal dithiols. I: *Food for the future - the contribution of chemistry to improvement of food quality*. Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen, Denmark, pp 259-263.
- Fomsgaard IS, Mortensen SG & Carlsen SCK (2004). [Effect of phenolic compounds on the germination of six weeds species](#). *Chemosphere*, 54, 1025-1038.
- Friebe A, Roth U, Kuck P, Schnabl H & Schultz M. 1997. Effects of 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones on the activity of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase. *Phytochemistry*, 44, 979-983.
- Gents MB, Mortensen AG, Nielsen ST, Christophersen C & Fomsgaard IS. 2005. [Transformation products of 2-benzoxazolinone \(BOA\) in soil](#). *Chemosphere*, 61, 74-84.
- Gimsing AL, [Sørensen JC](#), [Tovgaard L](#), [Jørgensen AMF](#) & [Hansen HCB](#) (2006). Degradation kinetics of glucosinolates in soil. *Env. Tox. & Chem.*, 25, 2038-2044.
- Gonzales LF & Rojas MC. 1999. Role of all peroxidases in oat growth inhibition by DIMBOA. *Phytochemistry*, 50, 931-937.
- Grodzinsky AM. 1992. I: *Allelopathy: Basic and Applied Aspects* (eds. S.J.H. Rizvi, V. Rizvi), Chapman & Hall Press, 77-85.
- Hara M, Yatsuzuka Y, Tabata K & Kuboi T. 2010. Exogenously applied isothiocyanates enhance glutathione S-transferase expression in *Arabidopsis* but act as herbicides at higher concentrations. *Journal of Plant Physiology*, 167, 643-649.
- Hura T, Dubert F, Dąbkowska T, Stupnicka-Rodzyńkiewicz E, Stokłosa A & Lepiarczyk A. 2006. Quantitative analysis of phenolics in selected crop species and biological activity of these compounds evaluated by sensitivity of *Echinochloa crus-galli*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 28, 537-545.
- IAS (1996): First World Congress on Allelopathy. A science for the future. Book of Abstracts, Cadiz, Spain, 7.
- Jørgensen LN, Kudsk P & Hansen LM. 2001. Naturstoffers effekt på skadegørere. DJF Rapport, 42, 39-41.
- Kato-Noguchi H & Macias F. 2006. Possible mechanism of inhibition of 6-methoxy-benzoxazolin-2(3H)-one on germination of cress (*Lepidium sativum* L.). *Journal of Chemical Ecology*, 32, 1101-1109.
- Kawasaki S & Kaneko T. 1987. Interactions of proteins with allelu isothiocyanate. *J. Agric. Food Chem*, 35, 85-88.

- Kirkegaard JA, Gardiner PA, Desmarchelier JM & Angus JF. 1983. Biofumigation using Brassica species to control pest and diseases in horticulture and agriculture. I: Proceedings 9<sup>th</sup> Australian Research Assembly on Brassicas (Wratten N, Mailer RJ eds). Agricultural Research Institute, Wagga Wagga, pp 77-82.
- Kirkegaard JA & Sarwar M. 1998. [Biofumigation potential of brassicas](#). Plant Soil, 201, 71-89.
- Krogh S, Mensz SJM, Nielsen ST, Mortensen AG, Christophersen C & Fomsgaard IS. 2006. [Fate of benzoxazinone allelochemicals in soil after incorporation of wheat and rye sprouts](#). J. Agric. Food Chem, 54, 1064-1074.
- Kruidhof HM. 2008. Cover-crop based ecological weed management: exploration and optimization. PhD thesis, Wageningen University, 156 pp.
- Larsen J, Ravnskov S, Møller K & Bødker L. 2004. Bæredygtig produktion af småplanter i forstplanteskoler. Bekæmpelsesmiddelforskning fra Miljøstyrelsen Nr. 93 2004, 61 pp.
- Macías FA, Oliveros-Bastidas A, Marín D, Castellano D, Simonet AM & Molinillo JMG. 2004. [Degradation studies on benzoxazinoids. Soil degradation dynamics of 2,4-Dihydroxy-7-methoxy-\(2H\)-1,4-benzoxazin-3\(4H\)-one \(DIMBOA\) and its degradation products, phytotoxic allelochemicals from gramineae](#). J. Agric. Food Chem. 52, 6402-6413.
- Macías FA, Marín D, Oliveros-Bastidas A, Castellano D, Simonet AM & Molinillo JMG (2005). Structure-activity relationship (SAR) studies of benzoxazinones, their degradation products, and analogues. Phytotoxicity on standard target species (STS). J. Agric. Food Chem., 53, 538-548.
- Masunias JB (2006). Rye as a weed management tool in vegetable cropping systems.. I: Handbook of Sustainable Weed Management (eds. Singh HP, Batish RB & Kohli RK), Food Products Press, New York, pp 77-94.
- Masunias JB (1999). Production of vegetables using cover crops and living mulches. Jour. of Vegetable Production, 4, 11-31.
- Mathiassen SK, Kudsk P & Mogensen B. (2006). Herbicidal effects of soil incorporated wheat. J. Agric. Food Chem. 54, 1058-1063.
- Mogensen B, Krøngård T, Mathiassen SK & Kudsk P. 2006. Quantification of benzoxazinone derivatives in wheat (*Triticum aestivum*) varieties grown under contrasting conditions in Denmark. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 1023-1030.
- Morra MJ & Kirkegaard JA (2002). [Isothiocyanate release from soil-incorporated Brassica tissues](#). Soil Biology & Biochemistry, 34, 1683-1690.
- Niemeyer HM (2009). [Hydroxamic Acids Derived from 2-Hydroxy-2H-1,4-Benzoxazin-3\(4H\)-one: Key Defense Chemicals of Cereals](#). J. Agric. Food Chem. 57, 1677-1696.
- Petersen J, Belz R, Walker F & Hurle K (2001). Weed suppression by release of isothiocyanates from turnip-rape mulch. Agronomy Journal, 93, 37-43.
- Putnam, A. R. 1986. Allelopathy: Can it be managed to benefit horticulture? HortSci., 21, 411-412.
- Reberg-Horton SC, Burton JD, Daneshmand DA, Ma G, Monks DW, Murphy JP, Ranells NN, Williamson JD & Creamer NG. 2005. Changes over time in the allelochemical content of ten cultivars of rye (*Secale cereale* L.). Journal of Chemical Ecology, 31, 179-193.
- Reigosa MJ, Gonzales L, [Sanches-Moreiras A](#), [Duran B](#), [Puime D](#), [Fernandez DA](#), [Bolano JC](#). 2001. [Comparison of physiological effects of allelochemicals and commercial herbicides](#). Allelopathy Journal, 8, 211-220.

- Reigosa MJ, Souto XC, Gonzalez L (1999). [Effect of phenolic compounds on the germination of six weeds species](#). *Plant Growth Regulation*, 28, 83-88.
- Rice CP, Park YB, Adam F, Abdul-Baki AA & Teasdale JR. 2005. Hydroxamic acid content and toxicity of rye at selected growth stages. *Journal of Chemical Ecology*, 31, 1887-1905.
- Sanchez-Moreiras AM & Reigosa MJ. 2005. [Whole plant response of lettuce after root exposure to BOA \(2\(3H\)-benzoxazolinone\)](#). *Journal of Chemical Ecology*, 31, 2689-2703.
- Shilling DG, Hilling DG, Liebl RA & Worsham AD. 1985. Rye (*Secale cereale* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) mulch – The suppression of certain broadleaved weeds and their isolation and identification of phytotoxins. *ACS Symposium Series*, 268, 243-271.
- Storkey J. 2004. Modelling seedling growth rates of 18 temperate arable weed species as a function of the environment and plant traits. *Annals of Botany*, 93, 681-689.
- Storkey J. 2006. A functional group approach to the management of UK arable weeds to support biological diversity. *Weed Research*, 46, 513-522.
- Sørensen H (1990). Glucosinolates: Structure-properties-structure. *Rapeseed/Canola: Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology*, New York: Van Nostrand Reinholdt Publisher, pp. 149-172.
- Sørensen H, Sørensen S, Bjerregaard C & Michaelsen S. 1999. *Chromatography and capillary electrophoresis in food analysis*. Royal Society of Chemistry, UK; p. 470.
- Sørensen JC. 2001. Biorefined oilseed products. Chemistry Department, The Royal Veterinary and Agricultural University, Frederiksberg C, Denmark.
- Understrup AG, Ravnskov S, Hansen HCB & Fomsgaard IS (2005). [Biotransformation of 2-benzoxazolinone to 2-amino-\(3H\)-phenoxazin-3-one and 2-acetylamino-\(3H\)-phenoxazin-3-one in soil](#). *Journal of Chemical Ecology*, 31, 1205-1222.
- Wardle DA, Ahmed M & Nicholson KS. 1991. Allelopathic influence of nodding thistle (*Carduus nutans* L.) seeds on germination and radical growth of pasture plants. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 101, 110-118.
- Wolf RB, Spencer GF & Kwolok WF (1984). Onhibition of velvleaf (*Abutilon theophrastis*) germination and growth of benzyl isothicyanate, a natural toxicant. *Weed Science*, 32, 612-615.
- Zasada IA, Rice CP & Meyer SLF. 2007. Improving the use of rye (*Secale cereale*) for nematode management: potential to select cultivars based on *Meloidogyne incognita* host status and benzoxazinoid content. *Nematology*, 9, 53-60.

## Efterafgrøder af vinterraps og vinterrug – allelokemiske stoffer og ukrudtseffekt

Som led i Grøn Vækst vil der i de kommende år skulle etableres efterafgrøder forud for forårssæede afgrøder. Efterafgrøder er afgrøder, som dyrkes i perioden fra høst til etablering af den næste afgrøde. Formålet med at øge arealet med efterafgrøder er at mindske udvaskningen af kvælstof, men udenlandske forsøg har vist, at efterafgrøder også kan hæmme fremspiringen og væksten af ukrudtet og dermed mindske behovet for kemisk ukrudtsbekæmpelse. I projektet "Efterafgrøder af vinterraps og vinterrug – allelokemiske stoffer og ukrudtseffekt" blev ukrudtseffekten af efterafgrøder af vinterraps og vinterrug undersøgt. Ukrudtseffekten af både vinterraps og vinterrug var lille og variabel, og dyrkning af disse efterafgrøder giver ikke grundlag for at mindske forbruget af herbicider i den efterfølgende afgrøde.



Miljøministeriet  
Miljøstyrelsen

Strandgade 29  
1401 København K  
Tlf.: (+45) 72 54 40 00

[www.mst.dk](http://www.mst.dk)