



Utveckling av herbicidresistenta ogräs i Sverige – identifiering och omfattning

Slutrapport 2006

Liv Åkerblom Espeby & Håkan Fogelfors

**Institutionen för växtproduktionsekologi
Sveriges Lantbruksuniversitet**

Finansierat av Jordbruksverket

Innehållsförteckning

Förord	4
Sammanfattning	4
Inledning	8
Projektets syfte och metoder	9
Bakgrund	10
Del 1. Allmänna fakta om herbicidresistens	10
Definition	10
Tecken på resistens	10
Resistensutveckling. Korsresistens och multipelresistens	10
Diagnos och ”monitoring”	10
Resistensmekanismer	12
Resistens pga förändrat bindningsställe	12
Resistens pga förstärkt nedbrytning av herbiciden	13
Artens betydelse	13
Del 2. Bakgrund till detta projekt	14
Resistens mot selektiva gräsherbicider	14
Ureor, särskilt isoproturon	14
Herbicider som hämmar bildning av växtfetter, s k ACCas-hämmare	14
Sufonylureor	15
Glyfosat	16
AnnueLLa gräs	17
Material och metoder	17
Översikt över utförda experiment	17
Fröprover av annueLLa gräs	18
Laboratorieexperiment	19
Renkavle. Experiment 1a. Groningstest med herbicid tillsats i vattnet av t ex Event Super	19
Växthusförsök i annueLLa gräs	20
Allmän metodbeskrivning för dos-responsförsök i renkavle, åkerven och flyghavre	20
Kompletterande metodbeskrivning för respektive art	22
Renkavle.	22
Experiment 1b-d. Dos-responsförsök i växthus med Event Super, Lexus 50WG och Arelon.	22
Åkerven. Experiment 2 a och b. Dos-responsförsök i växthus med Arelon och Monitor.	23
Flyghavre. Experiment 3 a. Preliminär dos-responsstudie med Event Super	25
Test av skottmetod för resistensdiagnos i renkavle och flyghavre. Experiment 4 a och b.	25
Resultat	26
Laboratorieexperiment.	26
Renkavle. Experiment 1a. Groningstest med herbicid tillsats i vattnet av t ex Event Super	26

Dos-responsförsök i växthus.	27
Renkavle	27
Experiment 1 b. Dos-responsförsök i växthus med Event Super	27
Experiment 1 c. Dos-responsförsök i växthus med Lexus 50WG	33
Experiment 1 d. Dos-responsförsök i växthus med Arelon	37
Åkerven	38
Experiment 2 a. Dos-responsförsök i växthus med Arelon	38
Experiment 2 b. Dos-responsförsök i växthus med Monitor	43
Flyghavre	47
Experiment 3 a. Preliminär dos-responsstudie med Event Super	47
Experiment 4a och b. test av skottmetod för resistensdiagnos i renkavle och flyghavre	47
Kvickrot	48
Material och metoder	48
Förberedelser	48
Herbicidbehandling	49
Skörd	49
Bearbetning av resultaten	49
Resultat	50
Sammanfattning	50
Morfologiska karaktärer	50
Påverkan på återväxten efter behandling	50
Provernas ursprung	51
Diskussion – slutsatser av resultaten i annuella gräs	52
Renkavle	52
Korsresistens och resistensmekanismer – hur bör det påverka preparatalet?	52
Toleransen mot Lexus 50WG i förhållande till förekomst av Event Super-resistens	52
Åkerven	53
Flyghavre	53
Diskussion kvickrot	54
Naturlig eller framkallad variation	54
Resistensmekanism	55
Spridningsrisk för eventuell glyfosatresistens	55
Resistensstrategier	55
Rapportering av projektets resultat	57
Referenser	57
Förteckning över bilagor	60

Förord

Projektet *”Utveckling av herbicidresistenta ogräs i Sverige – identifiering och omfattning”* finansieras av Statens Jordbruksverk inom programmet *”Miljöförbättrande åtgärder i jordbruket”*. Det har utförts som del av ett doktorandarbete vid Institutionen för växtproduktionsekologi, SLU (tidigare Institutionen för ekologi och växtproduktionslära). Projektet har också resulterat i ett examensarbete på agronomlinjen vid SLU, *”Resistensnivå i svensk renkavle mot två viktiga graminicider”* (Sara Sjödal, 2005).

För hjälp med den statistiska analysen vill vi tacka Jan-Eric Englund vid SLU, Institutionen för landskaps- och trädgårdsteknik, Enheten för statistik i Alnarp.

Ett särskilt tack även till Karin Jahr och Henrik Hallqvist, Jordbruksverket, för många värdefulla råd och diskussioner under projektets gång.

Uppsala, mars 2006

Liv Åkerblom Espeby och Håkan Fogelfors

Utveckling av herbicidresistent ogräs i Sverige – identifiering och omfattning. Sammanfattning av slutrapport 2006.

Projektets mål och omfattning

Projektets mål var att undersöka om det förekommer herbicidresistens i svenska bestånd av några viktiga åkerogräs. Vi ville också undersöka hur stor variationen i känslighet är mot de olika herbicider som oftast används mot dessa arter. Variationens storlek kan ge ledtrådar både om hur stor risken är för att resistens ska utvecklas och om hur man bäst kan förhindra resistensutveckling. Det är därför en viktig del av underlaget för rådgivning om hur resistens kan motverkas. Andra projektmål var att introducera snabba, säkra och billiga metoder för resistensdiagnos och att bygga upp en nationell kompetens inom området.

Projektet inriktades på gräsogräs. Både misstänkt resistens och variation i känslighet mot Event Super i renkavle och mot isoproturon¹ i åkerven undersöktes. Detta har studerats också för ett par preparat som används omväxlande med dessa två herbicider, nämligen Lexus i renkavle och Monitor i åkerven. Förekomst av korsresistens² har studerats. I kvickrot undersöktes skillnader i dostolerans mot glyfosat – en herbicid som under många år har undgått resistensfall, men där flera fall har rapporterats internationellt under senare år. Dessutom genomfördes en preliminär studie av resistens mot Event Super i flyghavre.

Projektet genomfördes vid Institutionen för växtproduktionsekologi vid Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU). Provtagning i fält utfördes under 2002 för renkavle i spridningsområdet i västra Skåne. Samma år provtogs åkerven i östra och västra Skåne, i Östergötland och på Öland. Kwickrot insamlades under 2003 i Skåne, Östergötland, Uppland samt i norra Sverige. Flyghavrematerialet insamlades 2005 i Mälardalsområdet.

Huvudmetoden för att studera resistens och varierande känslighet hos de annuella gräsen var dos-responsförsök i växthus. Kwickrot testades för tolerans mot glyfosat i krukförsök utomhus. Utvärdering av några alternativa metoder för diagnos av resistens i annuella gräs ingick också i projektet.

Resultat

1. Tydligt utvecklad resistens i renkavle mot Event Super hittades i hälften av de provtagna fälten. Endast ett fall av korsresistens med Focus Ultra konstaterades.
2. Resistens mot isoproturon var långt utvecklad hos åkerven i 10 % av fälten. Resistenta plantor förekom dock i 40 % av de testade fälten. Inga regionala skillnader kunde konstateras mellan Skåne, Öland, och Östergötland.
3. Resistens mot Lexus i renkavle kunde inte påvisas, men statistiskt signifikanta skillnader konstaterades i dostolerans, med en tendens till samvariation med Event-resistens.

¹ verksam beståndsdel i Arelon, Tolkan Cougar m fl.

² resistens mot olika herbicider pga. samma resistensgen(-er) i växten

4. Resistens mot Monitor i åkerven kunde inte påvisas, men statistiskt signifikanta skillnader konstaterades i dostolerans. Ingen samvariation med isoproturon-resistens förekom.
5. Ingen resistens mot glyfosat (Roundup m fl preparat) kunde påvisas hos kvickrot. Skillnaden i känslighet för glyfosat skilde sig signifikant mellan olika kloner, men även de mest motståndskraftiga klonerna bekämpades väl med full dos av glyfosat. Skillnaderna i glyfosatkänslighet var större inom än mellan de testade regionerna (Skåne, Östergötland, Uppland och norra Sverige).
6. För flyghavre utfördes en mindre studie, som inte påvisade några tydliga tecken på resistens mot Event Super.
7. *Frögroningstest* fungerar väl som en snabb och billig metod för diagnos av resistens mot Event Super, Focus Ultra och andra medel med samma verkningsätt. För sulfonylureor som Lexus och Monitor, samt för ljusberoende herbicider som isoproturon är *helplantstest* att föredra. Insamlat vegetativt material av renkavle kan användas för resistensdiagnos, om plantorna inte uppnått stråskjutning, s k *skotttest*.

Slutsatser och rekommendationer

Den viktigaste principen för att motverka resistensutveckling är att ***ständigt växla i sina åtgärder mot en ogräsart***. Med ett sådant förebyggande angreppssätt är möjligheten störst att uppnå ett gott resultat utan att tvingas till mer drastiska åtgärder. Några goda allmänna regler:

- a. *Håll nere ogräsmängden på fältet.*
Ju färre plantor, desto mindre risk att plantor som bär på resistensgener förekommer.
- b. *Anpassa bekämpningen efter situationen på det enskilda fältet*, som ogrästryck och det aktuella resistensläget. Var observant på olika tecken på begynnande resistens, som överlevande plantor bredvid döda av samma art. Ju tidigare upptäckt, desto större möjlighet till god effekt av valda åtgärder.
- c. *Använd alternativa bekämpningsåtgärder som kombineras med den kemiska bekämpningen.*
Undvik allt som liknar plansprutning, och eftersträva så stor variation som möjligt i bekämpningen. Enskilda fläckar eller delar av fältet kan behöva särskilda insatser..
- d. *Variera växtföljden*
Odlar inte samma gröda, t ex vårsäd, år efter år. Inslag av andra grödor gör det möjligt att använda andra herbicider eller minska användningen
- e. *Växla mellan preparat med olika verkningsätt.*
På så sätt fördröjs utveckling av resistens som beror på förändringar i ett visst bindningsställe för herbicider i växten. Vid flyghavrebekämpning, notera att Event Super, Focus Ultra och Select alla har samma verkningsätt och även bör omväxlas med andra typer av preparat.

Hur vet man då vilket verkningsätt en viss herbicid har? Agrokemiindustrins

samarbetsorgan för att förhindra resistens, HRAC, har gjort en sådan klassificering (Schmidt, 1997). Enklare tillgänglig och väl uppdaterad är databasen "International survey of herbicide resistant weeds", www.weedscience.com. (Heap, 2001). Här kan man söka på verksam beståndsdel och få upp listor över olika herbicider med angivelse både av verkningssätt enligt HRAC's klassificering och av kemisk gruppstillhörighet.

- f. *Om preparat med samma verkningssätt ändå används flera gånger i en växtföljd, eftersträva att använda herbicider som tillhör olika kemiska grupper.* I renkavle kan t ex de flesta Event-resistenta bestånden från 2002 bekämpas väl med Focus Ultra, trots att dessa båda herbicider har samma verkningssätt. Eftersom de tillhör olika kemiska grupper, påverkas inte effekten av Focus Ultra hos de plantor som kan bryta ned Event Super onormalt väl. Denna typ av strategi fördröjer resistensutveckling pga. förhöjd nedbrytning av herbicider, som tycks vara den vanligast förekommande resistenstypen hittills i arterna i Sverige, men skyddar *inte* mot resistens pga. förändringar i gemensamt bindningsställe.
- g. *Var återhållsam med kemisk bekämpning i situationer där fullgod effekt inte kan förväntas.* Detta gäller även de herbicider för vilka resistens ännu inte konstaterats. Annars kan man gradvis få ett allt motståndskraftigare bestånd, eftersom känsligheten mot de testade herbiciderna varierar. Särskilt i fall där dostoleransen samvarierat, som för Event och Lexus, bör god effekt vid varje bekämpningstillfälle eftersträvas.
- h. *Att växla mellan olika dosnivåer kan fördröja uppkomsten av en viss resistensmekanism.* Olika resistensmekanismer antas gynnas av en låg respektive hög dosnivå, vilket skulle kunna utnyttjas som en omväxlande faktor i en resistensstrategi. Detta betyder dock *inte* att man ska tumma på kravet av fullgod effekt vid varje bekämpning.
- i. *Var försiktig med användning av tankmixar*
Detta gäller särskilt om dessa inte rekommenderas av de ansvariga kemikaliefirmorna för respektive produkt. Tankmixar kan vara en verksam strategi mot resistensutveckling. Det är dock flera krav som ska vara uppfyllda för att den önskade fördröjningen av resistensuppbyggnad ska komma till stånd. Bl.a ska de ingående medlen ha olika verkningssätt, olika nedbrytningsväg i växten, finnas kvar lika länge i plantan/marken och kontrollera samma arter med lika god effekt! Även bortsett från svårigheten att hitta ideala blandningskomponenter, så är kostnaden för att använda mer än en herbicid i full dos hög, och selektiviteten mot grödan kan i vissa fall riskeras. Vinsten är också osäker – både resistens pga. förhöjd nedbrytning och multipelresistens mot flera olika herbicider pga. flera parallellt förekommande resistensgener kan ändå uppstå.

Rapportering av projektets resultat

Delar av resultaten av projektet har presenterats vid en av Jordbruksverket anordnad resistensdag i Linköping 2003 och vid en konferens anordnad av HHS i Skara 2004 samt vid möten med rådgivare och representanter för agrokemiindustrin under projektets gång. De slutliga resultaten kommer att publiceras i vetenskapliga tidskrifter, samt vid de regionala växtskyddskonferenserna under år 2006.

Inledning

Plantor av herbicidresistenta ogräs överlever en herbicidbehandling som normalt är dödlig för arten.

Herbicidresistens är idag ett stort problem i många länder världen över. Relativt många av de rapporterade fallen berör gräsogräs. Det finns ett ganska begränsat antal herbicider, som kan användas för selektiv bekämpning av gräs i stråsäd. Lantbrukare som ofta bekämpar gräs i stråsäd kemiskt kan därför lätt hamna i en situation där samma herbicid eller herbicidgrupp återkommer många gånger i ett växtföljdsomlopp.

Förekomst av ett herbicidresistent ogräsbestånd på åkermark innebär att möjligheterna för en effektiv bekämpning med god lönsamhet minskar. De herbicider som passar bäst i en viss bekämpningssituation är helt naturligt de som oftast används. Det är därför också dessa som löper störst risk att bli ineffektiva p g a så frekvent användning, att de plantor man vill bekämpa utvecklar ett resistent bestånd mot dem.

Resistens finns naturligt men sällsynt i de arter som normalt är mottagliga. Ensidig kemisk bekämpning, ensidiga växtföljder, stora ogräsförekomster och minskad mekanisk bekämpning av ogräsen är alla faktorer som ökar risken att resistenta plantor ska förekomma och uppföras i ett ogräsbestånd.

Herbicidresistens kan vara både ett ekonomiskt problem och ett miljöproblem. Dålig effekt kan innebära att lantbrukaren bekämpar ogräsbeståndet ytterligare en gång, med samma eller med ett annat preparat. På sina håll i världen har lantbrukare p g a resistensproblem rekommenderats att återgå till äldre herbicider, som både kan ha sämre miljöprofil, och vara riskabla ur hälsosynpunkt (Weersink et al., 2005).

I Sverige har ett mindre antal resistensfall rapporterats i ört- och rotostrås (Arvidsson et al., 1999). I detta projekt har studierna koncentrerats kring några årliga gräsogräs (åkerven, renkavle, och i någon mån flyghavre), och ett perenn gräs, kvickrot.

Försämrad effekt mot åkerven av isoproturon (preparatnamn bl. a. Arelon, Tolkan) och mot renkavle av fenoxaprop-P-etyl (preparatnamn Event Super, Puma Super) har noterats av lantbrukare och rådgivare i bl. a. Skåne. Där man inte kunnat hitta någon uppenbar förklaring till den dåliga effekten, som t ex olämplig väderlek, eller för långt utvecklade ogräsbestånd, har frågan ställts om orsaken kan vara resistens.

Resistens mot isoproturon i åkerven har konstaterats i Tyskland och Schweiz (Mayor and Maillard, 1997; Niemann, 2000). Resistens i renkavle och flyghavre mot bl a fenoxaprop-P-etyl (preparatnamn Event Super, Puma Super) är mycket vanligt förekommande i flera länder. Ett stort antal fall finns rapporterade i t ex Frankrike och Storbritannien (Heap, 2001) Flera fall har också konstaterats i Danmark (Mathiassen, 2002). Mot bakgrund av detta var det angeläget att undersöka resistensläget mot dessa herbicider i Sverige, och även mot de herbicider som i första hand används som omväxlingspreparat mot dessa arter. Ett sådant exempel mot renkavle är flupyrsulfuron (preparatnamn Lexus), där resistensfall konstaterats i Tyskland (Niemann et al., 2002).

Herbiciden glyfosat (Roundup Bio m fl. preparatnamn) ökar i andel av den totala herbicidanvändningen i Sverige, särskilt sedan EU-inträdet. Bidragande är dels för snäva tidsramar för mekanisk jordbearbetning, dels att kemisk bekämpning är betydligt billigare än andra åtgärder. Kemisk bekämpning med glyfosat blir därför ofta det använda alternativet mot framförallt kvickrot. Ökande areal av träd och minskning av arealen av grödor med god konkurrensförmåga mot kvickrot, är ytterligare två faktorer som kan ha del i ökningen (Olofsson and Nilsson, 1999). Glyfosat har använts sedan 1970-talet, och det dröjde länge tills resistensfall dök upp mot herbiciden. Under senare år har dock flera fall hittats i världen, framför allt i gräsarter (Baerson et al., 2002b; Heap, 2001; Perez and Kogan, 2003).

Projektets syfte och metoder:

- att undersöka motståndskraften mot herbicider hos några viktiga ogräsarter och bedöma:
 - om det förekommer klara fall av utvecklad fältresistens
 - hur stor risken är för resistensutveckling
- introducera snabbare och säkrare metoder för diagnos och screening av herbicidresistens
- att ge underlag för bättre strategier för att undvika resistensutveckling, och för att hantera konstaterade resistensfall
- att bygga upp en nationell kompetens inom herbicidresistensområdet

Kombinationer av ogräs och herbicider med misstänkta resistensfall som studerats:

- a) renkavle och fenoxaprop-P-etyl (Event Super)
- b) åkerven och isoproturon (Arelon m fl preparat)
- c) kvickrot och glyfosat (Roundup m fl preparat)

Dessutom har studier gjorts med ett par ogräsmedel som används omväxlande mot samma arter, men där det hittills inte funnits några misstänkta resistensfall i Sverige.

Det gäller sulfonyleureorna:

- d) flupyrsulfuron (Lexus) mot renkavle
- e) sulfosulfuron (Monitor) mot åkerven

Här har risken för resistensutveckling och för korsresistens bedömts. I mindre skala har även kombinationen flyghavre och fenoxaprop-P-etyl studerats.

De ogräsprover som ingått i studien insamlades under år 2002 och 2003 i Skåne (renkavle, åkerven och kvickrot), Östergötland (åkerven och kvickrot), Öland (åkerven), Uppland (flyghavre och kvickrot) och i norra Sverige (kwickrot). Både fält med misstänkt resistens och fält där odlaren varit nöjd med bekämpningseffekten provtogs. Bekämpningshistoriken är inte känd för alla fält. GPS-positioner finns för de flesta av provplatserna i Östergötland och Uppland.

Den huvudsakligen använda metodiken har varit dos-responsförsök i växthus (annuella gräs) och krukförsök utomhus (kwickrot).

Bakgrund

Del 1. Allmänna fakta om herbicidresistens

Definition

Definitionen på herbicidresistens är att ett bestånd av en ogräsart överlever en behandling med en herbicid, som normalt borde vara dödlig för arten. En förutsättning för att resistens ska misstänkas är naturligtvis att alla andra möjliga orsaker till dålig effekt först uteslutits. Naturlig okänslighet mot en herbicid i en art brukar inte kallas resistens i de här sammanhangen, och inte heller den naturliga variation i tolerans som finns inom de flesta ogräsbestånd.

Tecken på resistens

Om en bekämpning misslyckas mot en enskild art, trots att de övriga arter som bekämpningen ska kontrollera dör som avsett, så kan resistens i den överlevande arten misstänkas. Ett ännu tydligare tecken är att finna överlevande och döda plantor av samma art intill varandra i fältet (Moss, 2002).

Resistensutveckling. Korsresistens och multipelresistens.

Så vitt man vet finns resistensegenskaper naturligt i ogräsbestånden, men långt under mätbara nivåer, kanske hos någon enskild planta på miljonen (Moss, 2002). Upprepat behandling med samma eller likartade herbicider gör att den resistenta plantan får en konkurrensfördel gentemot sina normalt känsliga artfränder. Den förökar sig, medan övriga dödas innan frösättning.

För att klassas som ett fall av fullt utvecklad fältresistens, ska ogräsbeståndet ha blivit motståndskraftigt pga. ett upprepat selektionstryck, d v s återkommande bekämpning med vissa preparat år efter år. Vissa typer av resistens gör dock plantorna korsresistenta mot andra herbicider. Det kan alltså förekomma fullt utvecklad resistens i ett fält mot en herbicid som aldrig tidigare använts i fältet. Störst är risken för herbicider med samma verkningsmekanism i växten, och som tillhör samma kemiska grupp.

Termen korsresistens används då resistens mot olika herbicider beror på en och samma resistensegenskap hos ogräset. Plantor kan även bära på flera olika resistensegenskaper, som utvecklats oberoende av varandra. Detta brukar kallas multipelresistens.

Diagnos och ”monitoring

Hur fastställer man resistens?

För att säkert konstatera ett fall av fullt utvecklad fältresistens mot en viss herbicid är det önskvärt att:

- under kontrollerade förhållanden fastställa att ogräsbeståndet tål en flera gånger högre dos än den som normalt krävs för att bekämpa arten

- att visa att resistensen är så hög att den ger väsentligt nedsatt effekt av herbiciden vid en väl utförd bekämpning i fält
- att kunna påvisa, eller åtminstone göra troligt, att en viss resistensmekanism orsakar den nedsatta effekten

Att känna till vilken mekanism som ligger bakom resistensen är viktigt. Det ökar möjligheterna att förutsäga:

- vilken den bästa strategin är för att hindra fortsatt resistensutveckling
- vilka preparat som kan vara korsresistenta
- hur snabbt resistensen kan uppföras och spridas

I praktiken är det många rapporterade resistensfall som inte uppfyller alla dessa krav. I synnerhet har resistensmekanismerna varit svåra att fastställa. Molekylär analysteknik har i och för sig gjort det enklare under de senaste åren. Men det gäller framförallt vissa resistensmekanismer, där enstaka förändringar i plantans genuppsättning räcker för att ge resistens. Andra typer av resistens tycks ha en mycket mer komplicerad genetisk förklaring, kanske med flera samverkande gener, och är väsentligt svårare att knyta till en viss genuppsättning eller till en enskild biokemisk process i växten (Moss, 2002) .

Vid fall av fullt utvecklad fältresistens påverkas ogräseffekten och skördenivån märkbart. Det kan dröja tills andelen resistent individer i fältet är uppåt 30 %, innan den nedsatta effekten blir så tydlig. Att upptäcka fall begynnande resistens långt tidigare är förstås att föredra, men kan vara svårt då ett väsentligt större antal individer i så fall behöver testas.

Frötest

Frötester har fördelen att man kan snabbt och billigt kan testa många individer, och upptäcka även låga frekvenser av resistens. Alla kombinationer av arter, herbicider och resistensegenskaper lämpar sig dock inte lika väl att studeras med frötester (Moss, 2003). Att dra upp plantor i växthusmiljö från insamlade frön eller rotdelar är ännu det tillförlitligaste och vanligaste sättet att testa även större antal prover för resistens, trots den stora arbetsåtgången. En nackdel med att utgå från frö är dock att i korsbefruktande arter är det inte säkert att frö från resistent plantor ärvt resistensegenskapen. I vissa årliga arter, t ex renkavle, kan misstänkta plantor insamlas, delas, och direkt testas för resistens (Boutsalis, 2001).

Referensprov för jämförelse med fältresultat

Att så ut frö med misstänkt herbicidresistens i fältförsök är naturligtvis olämpligt, pga. risken att sprida resistensgener. För jämförelser av resistensnivån i prover från olika platser är man därför hänvisad till test i laboratorium eller växthus. Svårigheten är sedan att korrekt översätta resultaten till hur mycket den uppmätta resistensen skulle påverka ogräseffekten av herbiciden i en verklig fältsituation. Plantor uppdragna i växthus är i regel känsligare för bekämpningsmedel än plantor i samma utvecklingsstadium i fält. Ibland är de tvärtom mindre känsliga, t ex pga. för låg ljusintensitet (Moss, 1993). Effekt av en växthusdos bör alltså *inte* direkt jämföras med verkan av samma dos i en fältsituation. Ett sätt att möjliggöra sådana jämförelser är att inkludera referensprov, där

resistensnivån är känd sedan tidigare fältförsök. I det här projektet har det, så långt det varit möjligt, använts referensprover med känd resistensnivå för att avgöra om resistens av praktiskt betydelse finns i de svenska proverna eller inte.

Resistensmekanismer

Ökad motståndskraft mot en herbicid eller herbicidgrupp kan ha flera orsaker (Gressel, 2002a). Några av de klarlagda (eller föreslagna) mekanismerna bakom resistens mot herbicider är:

- Förändrat bindningsställe för herbiciden.
- Förhöjd nedbrytning av herbiciden
- Annan kemisk omvandling av herbiciden i växten
- Transport och lagring i delar av växten eller växtcellen

Även skillnader mellan individer i tillväxthastighet och plantans utseende kan avgöra effekten av en herbicid, även för plantor som befinner sig i samma utvecklingsstadium vid bekämpningstillfället. Plantor med långsam tillväxt kan undgå att ta upp medlet effektivt, medan plantor med snabb tillväxt kan spä ut dess koncentration genom att öka sin biomassa. Bladen kan ha olika vinkel eller behåring, och deras skyddande vaxskikt kan ha olika sammansättning, vilket allt påverkar upptaget i plantan. Dessa typer av förhöjd motståndskraft kan förmodligen ha stor praktisk betydelse, men även om de har en genetisk grund, så är de svåra att konstatera entydigt, då de samverkar med väderlek och övriga odlingsbetingelser. Motståndskraften är beroende av dos och av omgivningsfaktorer, och inte absolut. Nedärvingen är också i regel okänd och troligen komplex.

Resistens p g a förändrat bindningsställe

Många herbicider, i synnerhet av de nyare, selektiva grupperna, verkar genom att binda till ett visst enzym i växten och blockera dess normala funktion (Gressel, 2002b). En enstaka förändring (mutation) i den del av plantans genuppsättning som kodar för herbicidens målenzym kan räcka för att ge resistens av denna typ. Det som sker är att det ställe på enzymet dit herbiciden ska binda förändras, så att bindning omöjliggörs eller försvåras.

Resistens pga. förändrat bindningsställe ger ofta en mycket hög tolerans mot herbiciden. Det är inte ovanligt att individer som bär på en sådan resistensgen tål flera hundra gånger en normalt dödlig dos för arten av herbiciden i fråga (Park and Mallory-Smith, 2004). Det gör att denna typ av resistens är den enklaste att upptäcka, redan utan molekylär teknik.

Generellt brukar man anta att resistensutveckling pga. förändrat bindningsställe gynnas av upprepad användning av herbiciden i höga doser, som normalt dödar nära 100 % av plantorna i arten vid en väl utförd bekämpning. Plantor som bär på genen med förändringen får då en mycket stor konkurrensfördel i att föröka sig i fältet, särskilt som det bara är en enda genförändring som behöver ärvas av nästa generation för att ge full resistenseffekt (Gressel, 2002a).

Korsresistens pga. förändrat bindningsställe är ofta förekommande mellan herbicider med samma verkningsmekanism, d v s herbicider som verkar genom att binda till och blockera funktionen av samma enzym i växten. Många sådana fall har hittats för sulfonylureor, och för s k ACCas-hämmare, en grupp av gräsherbicider som hindrar bildning av växtfetter (Heap, 1997), och dit t ex preparat som Event Super, Expand Plus, Focus Ultra och Select hör.

Resistens pga. förstärkt nedbrytning eller kemisk omvandling av herbiciden

Förstärkt nedbrytning är en måttlig resistensegenskap, som man tror kan bero på flera sammanlagda faktorer (Moss, 2002). Den förhöjning av dostolerans den ger kan åtminstone till en början vara relativt låg, snarare 2 – 10 ggr den normala dosen än flera hundra gånger högre, som för förändrat bindningsställe.

Resistenstypen antas gynnas av upprepad användning av lägre doser, eller bekämpning som pga. t e x försening, väderlek etc. inte blivit optimal. Då kan även plantor med bara måttligt förhöjd tolerans få en konkurrensfördel gentemot normalt känsliga plantor i att föröka sig. Efter några år kan de olika gener som bidrar till den höjda toleransen ha spridit sig i beståndet, och allt fler individer kan bära på flera bidragande gener. Det gör att både frekvensen av resistent plantor och dostoleransen hos de resistent plantorna kan öka med upprepad användning (Gardner et al., 1998).

Korsresistens pga. förstärkt nedbrytning är svår att förutsäga. Den kan uppträda mot herbicider från skilda kemiska grupper, och med skilda verkningsmekanismer. I Storbritannien har till exempel ett renkavlebestånd hittats (Brazier et al., 2002), som kan bryta ned både herbicider som fenoxaprop-P-etyl (t ex Event Super), och pendimetalin (Stomp), trots att dessa både skiljer sig i verkningsätt och tillhör olika kemiska grupper.

Resistensutveckling pga. förstärkt nedbrytning tar i regel längre tid än resistensutveckling pga. förändrat bindningsställe. Dels är plantornas konkurrensfördel jämfört med normala plantor mindre, dels är det troligen flera genförändringar som ska ärvas samtidigt för att vidarebefordra resistensegenskapen till nästa generation (Gardner et al., 1998). Är det t ex flera växtenzym som ska samverka för att bryta ned herbiciden, så kan de gener som kodar för deras produktion sitta långt ifrån varandra i plantans genuppsättning. Det minskar risken för att de ska ärvas samtidigt av nästa generation. Den är också mycket svårare att påvisa molekylärt. Förhöjd produktion av vissa växtenzym, som bidrar till nedbrytningen, har i en del fall påvisats i resistent biotyper av en art (Hall et al., 1997; Preston et al., 1996).

Artens betydelse

Även artens egenskaper har betydelse för hur snabb resistensutvecklingen blir. Korsbefruktare sprider snabbt enstaka punktmutationer, som förändrat bindningsställe för herbiciden. Självbefruktare har större chans att föra vidare resistens som beror på flera genförändringar, och som då sprider sig fläckvis runt de ursprungliga moderplantorna. I arter med kortlivade fröbanker, som t ex många gräs, kan några års upprepad användning av samma herbicid göra stora delar av ogräsbeståndet i fältet resistent, eftersom inga ”efterslätrande” frön från tidigare, normalt känsliga generationer gror och spär ut de resistent nykomlingarna.

Del 2. Bakgrund till detta projekt

Resistens mot selektiva gräsherbicider

Ureor, särskilt isoproturon

Isoproturon var länge en av få selektiva gräsherbicider som kunde användas mot renkavle och åkerven i stråsädesgrödor. Därmed uppstod en typisk risksituation för resistensutveckling.

Isoproturon hör till herbicidgruppen fenylureor. De verkar genom att störa ett steg i fotosyntesen. Resistens mot fotosynteshämmande ureor har hittats i många arter internationellt (Heap, 2001). Mekanismerna för resistensen är inte alltid kända. Det verkar i regel vara fråga om resistenstyper med mer komplicerad nedärvning, där flera avvikelser i arvsmassan måste finnas samtidigt i plantan och samverka för att ge resistensen. Dessa typer av resistens uppkommer och sprider sig generellt ganska långsamt, och isoproturon och andra herbicider i samma grupp har därför kunnat användas både länge och ofta, innan de första tecknen på att effekten försämrats p g a resistensutveckling blivit tydliga i en del fält. Även fall där resistensen mot dessa herbicider beror på förändrat bindningsställe har hittats (Park and Mallory-Smith, 2005).

Bland de första konstaterade fallen av resistens mot isoproturon fanns åkerven i Tyskland och Schweiz (Mayor and Maillard, 1997; Niemann, 2000) och renkavle i Storbritannien (Moss and Cussans, 1991). Den mekanism som orsakat resistensen i åkerven har i några schweiziska fall konstaterats vara förstärkt nedbrytning (Delabays and Mermillod, 1999). I Tyskland har fall av högradigt resistent åkerven hittats, men mekanismen inte konstaterats (Niemann, 2000). Även i Sverige har försämrad effekt mot åkerven noterats. I ett tidigare försök vid Institutionen för ekologi och växtproduktionslära testades åkerven insamlad under år 1998 i en dosstege i växthus (Arvidsson och Fogelfors, ännu ej publicerat). En tydlig variation i motståndskraft mot isoproturon hittades. Toleransen mot substansen varierade i denna studie också i genomsnitt mellan olika regioner i landet, så att Östergötland hade de mest motståndskraftiga bestånden, Skåne de därefter mest motståndskraftiga, och Öland hade de känsligaste bestånden.

Att testa effekt av isoproturon innebär en del svårigheter. Effekten varierar beroende på ljusintensiteten, så att en dos som tåls väl i sämre ljus kan vara dödlig i starkare ljus. För denna substans är det därför extra viktigt att kunna koppla effekten i försök i växthus eller laboratoriet till förväntade effekter i fält. Enklart görs detta genom att använda mätare som tidigare i fältförsök visat sig vara resistent mot herbiciden.

Herbicider som hämmar bildning av växtfetter, s k ACCAs-hämmare

En viktig grupp av selektiva gräsherbicider är de s k ACCAs-hämmarna. Det är herbicider som hämmar bildning av fett i växten genom att blockera funktionen av enzymet acetyl-CoA-karboxylas, förkortat ACCAs. Resistens mot ACCAs-preparat kom ganska snart efter deras introduktion vid början av 1980-talet, och de står idag för en stor del av de rapporterade resistensfallen i världen.

Både förstärkt nedbrytning och förändrat bindningsställe förekommer som resistensmekanism mot ACCas-hämmare (Letouze and Gasquez, 2003), (Price et al., 2004), och även parallellt i samma planta (Claude et al., 2004). Den gen som kodar för målenzymet ACCas är väl studerad, och flera enstaka mutationer som kan ge resistens genom förändrat bindningsstället är identifierade bl. a i renkavle och flyghavre (Delye et al., 2005)

Det finns två kemiska grupper av ACCas-hämmare. I den ena gruppen återfinns den selektiva gräsherbiciden fenoxaprop-P-etyl, verksam beståndsdel i Event och Puma Super. Denna grupp, aryloxyfenoxypionater, brukar förkortat kallas FOP-gruppen. I den andra gruppen, cyklohexandioner, ofta kallade DIM-gruppen, ingår också flera selektiva gräsherbicider som är eller varit aktuella i Sverige, som cykloxidim (Focus Ultra), kletodim (Select) och setoxidim (Expand Plus).

FOP- och DIM-herbicider binder till ungefär samma bindningsställe på målenzymet ACCas (Delye et al., 2005). Om förändrat bindningsställe är orsaken till resistens mot en herbicid i FOP-gruppen, betyder det därför att plantorna ofta är korsresistenta mot både vissa FOP- och DIM-preparat. Är orsaken i stället förstärkt nedbrytning av herbiciden är korsresistens mellan FOP- och DIM-preparat däremot inte trolig.

Ett svenskt exempel där resistensmekanismen alltså skulle ha stor betydelse för möjligheterna till en god, omväxlande kemisk bekämpning är flyghavre. Under senare år har tillgången på preparat för flyghavrebekämpning förändrats. Av de herbicider som idag används i olika grödor mot arten återfinns bl. a en ACCase-hämmare av FOP-typ (Event Super) och två av DIM-typ (Focus Ultra och Select). Korsresistens på ett förändrat bindningsställe skulle alltså på en gång kunna göra tre av de vanligaste preparaten mot arten mer eller mindre verkningslösa.

Korsresistens mellan ACCas-hämmare och herbicider med andra verkningsätt pga. förstärkt nedbrytning förekommer också. Ett exempel är det tidigare nämnda brittiska beståndet av renkavle, med resistens mot fenoxaprop-P-etyl och pendimetalin (Brazier et al., 2002).

Flyghavre och renkavle är båda arter med många kända resistensfall mot ACCas-hämmare, i renkavle i bl. a Danmark, Tyskland, Frankrike och Storbritannien (Heap, 2001).

Sulfonylureor

En annan mycket viktig grupp av herbicider är sulfonylureorna, ursprungligen främst använda mot örtogräs, men idag även med flera selektiva gräsherbicider. Sulfonylureorna hindrar bildning av protein i växten genom att blockera enzymet acetolaktat-syntas, ALS, och kallas därför även ALS-hämmare. Resistens mot ALS-hämmare rapporterades mycket snart efter deras introduktion i början av 1980-talet. Det är nu det verkningsätt mot vilket allra flest resistensfall hittats i världen (Heap, 2001).

Resistens mot sulfonylureor har hittats i många arter. Bland gräsen finns rapporterade fall i t ex renkavle, bl. a i Nordtyskland mot flupyrsulfuron, verksam beståndsdel i Lexus (Niemann et al., 2002), och i flyghavre (Beckie et al., 1999).

Förändrat bindningsställe för herbiciden är den vanligast påvisade mekanismen bakom resistens mot sulfonyleureor. Men även fall av förstärkt nedbrytning av sulfonyleureor finns rapporterade. Det ovan nämnda fallet av Lexus-resistens i renkavle anges bero på förstärkt nedbrytning, som uppkommit pga. användning av fenyleureor (samma grupp som isoproturon tillhör) och av ACCas-hämmare av FOP-typen (Niemann et al., 2002).

Många olika enstaka mutationer har konstaterats kunna ge resistens pga förändrat bindningsställe på målenzymet för sulfonyleureor, ALS. De olika mutationerna ger korsresistens mellan vissa sulfonyleureor, men inte mellan andra (Tranel and Wright, 2002). Det är alltså långt ifrån givet att resistens mot en herbicid i gruppen omöjliggör användning av andra sulfonyleureor – men den stora svårigheten är att i förväg avgöra vilka som ännu är användbara på fältet i fråga.

Glyfosat

Glyfosat är ensam om sitt verknings sätt, hämning av enzymet EPSP-syntas, som medverkar i bildning av proteiner i växten. Trots att herbiciden använts sedan 1970-talet, dröjde det till 1990-talet innan tydliga resistensfall rapporterades i normalt känsliga arter av flera gräs och örter (Baerson et al., 2002b; Lee and Ngim, 2000; Perez and Kogan, 2003; Powles et al., 1998; VanGessel, 2001).

Det finns exempel på flera olika mekanismer som kan göra växter motståndskraftiga mot glyfosat. I t ex käringtand, *Lotus corniculatus*, varierar känsligheten mot glyfosat pga. förhöjd mängd av herbicidens målenzym i växten (Boerboom et al., 1990). I Malaysia hittades resistenta plantor av en annars glyfosatkänslig gräsart, *Elusine indica*. I dessa plantor hade det enzym som glyfosat verkar genom att hämma, EPSPS, blivit okänsligt pga. en enstaka mutation i detta gräs genuppsättning (Baerson et al., 2002b). Minst en ytterligare, hittills inte identifierad resistensmekanism mot glyfosat tycks förekomma i gräsogräs (Baerson et al., 2002a).

Inga kvickrotskloner har hittills klassats som glyfosatresistenta, men även hos kvickrot varierar effekten av glyfosat. Detta har tidigare iakttagits i bl. a Storbritannien (Ulf-Hansen, 1988), Canada (Tardif and Leroux, 1991a) och Sverige (opublicerade resultat, Arvidsson & Fogelfors). Orsakerna till variationen är inte helt klarlagda.

En svårighet är att kvickrot är en så kallad plastisk art, d v s den anpassar sig väl till skilda förhållanden utan att behöva förändras genetiskt. Det kan göra det svårt att särskilja effekter som beror på miljö från effekter som är ärftligt betingade, och som därmed skulle kunna vara av betydelse för resistensutveckling i kvickrot. Tillväxthastighet, förgreningsgrad hos rhizomen, behåring, bladvinklar och sammansättning av bladens vaxskikt är exempel på egenskaper vars uttryck beror av både arv och miljö, och som kan tänkas påverka effekten av glyfosat i kvickrot. Mängden rhizom, internodlängd och graden av förgrening av rhizomen avgör t ex antalet knoppnlag i olika mognadsfaser i plantans underjordiska delar. Eftersom glyfosat främst har effekt vid knoppnlagan har dessa faktorer betydelse för glyfosateffekten (Shieh et al., 1993). Skillnader mellan kvickrotskloner i transporten av glyfosat har påvisats, liksom variationer i nedbrytning av herbiciden i växten (Tardif and Leroux, 1991b). I vår studie av variation av glyfosat-tolerans i svensk kvickrot, har vi försökt att minimera skillnader som beror på egenskaper som starkt samspelar med den yttre miljön.

Material och metoder: Annuella gräs

Översikt över utförda experiment

För de tre annuella gräsen renkavle, åkerven och flyghavre utfördes:

Laboriestudier

1) Renkavle (28 prov från västra Skåne)

a) Groningstest med herbicid tillsats i vattnet av bl. a Event Super

Växthusstudier

1) Renkavle

b) Dos-responsstudie med Event Super (28 prov från västra Skåne)

c) Dos-responsstudie med Lexus 50WG (28 prov från västra Skåne)

d) Preliminär dos-responsstudie med Arelon (5 prov från västra Skåne)

2) Åkerven

a) Dos-responsstudie med Arelon (60 prov från Östergötland, Skåne och Öland)

b) Dos-responsstudie med Monitor (47 prov från Östergötland, Skåne och Öland)

3) Flyghavre

a) Preliminär dos-responsstudie med Event Super (9 prov från Uppland)

4) Test av skottmetod för resistensdiagnos

a) Renkavle

b) Flyghavre

I tabell 1 nedan redovisas de herbicider som ingått i experimenten. Av utvärderingsskäl användes bara preparat som endast innehöll en verksamt beståndsdel.

Tabell 1. I experimenten använda herbicider mot annuella gräs

<i>Preparat</i>	<i>Verksam beståndsdel</i>	<i>Art</i>	<i>I experiment nr...</i>
Event Super	fenoxaprop-P-etyl	Renkavle Flyghavre	1a (groningstest), 1b, 4a 3a
Lexus 50 WG	flupyr sulfuron	Renkavle	1c
Expand Plus	setoxidim	Renkavle	1a (endast groningstest)
Focus Ultra	cykloksidim	Renkavle	1a (endast groningstest)
Stomp	pendimetalin	Renkavle	1a (endast groningstest)
Arelon	isoproturon	Åkerven Renkavle	2a 1d
Monitor	sulfosulfuron	Åkerven	2b

Fröprover av annuella gräs

Insamlingen av renkavle och åkerven gjordes i huvudsak under sommaren 2002, och av flyghavre under sommaren 2005. Proverna togs framför allt i regioner där ogräsen i fråga regelmässigt bekämpas kemiskt. För renkavle sammanföll det i stort sett med (dåvarande) spridningsområdet som åkerogräs, d v s i ett stråk från västra Skånes sydkust till Ängelholm i nordväst. Åkerven provtogs i östra och västra Skåne, i Östergötland och på Öland. Flyghavre provtogs i Uppland, men i mindre skala.

Fältval

I renkavlestudien och för en del av åkervenstudien genomfördes intervjuer med lantbrukaren om ogräsbekämpningen på gården under tidigare år, och i synnerhet på det aktuella fältet under odlingsåret. I åkervenstudien togs en andel av fälten ut slumpvis, och i de fallen är fälthistoriken inte känd. För provytorna i Skåne och i Östergötland fastställdes dock alltid en GPS-position, för att göra det möjligt att återkomma till samma plats i ett visst fält, t ex om ovanligare resistensfall skulle hittas.

För att få en så representativ bild som möjligt av resistensläget, provtogs både fält där lantbrukaren var missnöjd med effekten av preparatet i fråga, och fält där lantbrukaren var nöjd med effekten. Prover togs både från fält eller fältdelar som var helt obehandlade med gräsherbicider, från fält behandlade med preparatet i fråga och i några fall från fält behandlade med andra gräsherbicider. Detta är viktigt att hålla i minnet vid tolkningen av resultaten av hur hög procentandel resistent plantor det finns i ett visst prov, eftersom känsliga plantor kan ha sprutats bort före provtagningen. Vad som däremot är säkert är, att om andelen resistent plantor är hög i ett prov så betyder det att andelen resistent individer i tillskottet till fröbanken för efterföljande år också blev hög.

I renkavlestudien provtogs även två fält där försök med herbicider mot bl. a renkavle utlagts, länsförsök nr L5-2450/2002. Event Super i dosen 0,8-1 liter/ha vid vårbehandling reducerade i denna försöksserie antalet renkavleplantor med över 90 % i ett försök i södra Skåne, men lämnade kvar mellan en fjärdedel och en tredjedel av plantorna i Ängelholms-försöket (Skåneförsöken, 2002).

Provtagning i fältet

Proverna samlades in i form av moget frö. I renkavle och åkerven togs de flesta fröproverna inom en yta om cirka 50 m x 100 m per fält. Minst 40 plantor provtogs per fält. I några fall, där förekomsten inte var jämnt spridd, togs provet i stället i t ex en sprutmista, en fältkant eller enstaka fläckar i fältet. I dessa prov kan antalet provtagna plantor vara något lägre. Fröproverna av åkerven från Öland kom i regel från mindre förekomster, och omfattade minst 20 plantor per prov. Av flyghavre provtogs 1-10 plantor per fält, då förekomsten var låg i samtliga provtagna fält.

Referensprov för jämförelse med fältresultat

I experimenten med annuella gräs kunde referensprov, där resistensnivån är känd sedan tidigare fältförsök, inkluderas i studierna 1b och 2a. Närmare beskrivning av de använda referensproven återfinns i tabellerna 2 och 6.

Laboratorieexperiment i renkavle

Experiment 1a. Groningstest med herbicid tillsats i vattnet av bl. a Event Super

Syftet med försöket var att:

- fastställa om resistens mot fenoxaprop-P-etyl (Event Super) förekom i fält i västra Skåne, och mäta andelen resistenta individer i fröproverna
- undersöka om korsresistens förekom
- hitta svenska renkavleprov att använda som framtida referensprov för resistens respektive känslighet mot fenoxaprop-P-etyl

Groningsanalys

Som testmetod valdes ett frögroningstest på filterpapper i petriskål (Moss, 1999b). Event Super, Expand Plus, Focus Ultra och Stomp tillsattes i groningsvattnet i koncentrationerna 5 eller 10 ppm (beroende på preparat). För varje led testades 50 frö per petriskål, i tre upprepningar, d v s 150 frö per prov. Antal grodda frö räknades efter 19 dagar.

Fröprover av renkavle

- Fröprover från 28 olika skånska fält testades.
- De 28 proven inkluderade två prov från länsförsök med herbicider mot bl a renkavle. Dessa prov, nr 311 Z och 313 Z, var tänkbara som nya, svenska referensprov för känslighet respektive resistens mot fenoxaprop-P-etyl.
- Dessutom ingick två väl studerade brittiska referensprover som mätare i experimentet (se tabell 2 nedan)

Tabell 2. Referensprov använda som mätare i renkavle i försök med ACCas-hämmare

<i>Provbeteckning</i>	<i>Resistensmekanism</i>	<i>Ursprung</i>	<i>Referens</i>
HERBISEED SUSCEPTIBLE	Känslig mot fenoxaprop-P-etyl	UK	www.herbiseed.com
PELDON	Förhöjd nedbrytning av fenoxaprop-P-etyl (Event Super) och av pendimetalin (Stomp)	UK	(Moss, 1990)
311 Z	Känslig mot fenoxaprop-P-etyl	Skånes sydkust	L5-2450/2002
313 Z	Delvis resistent mot fenoxaprop-P-etyl, okänd mekanism	Ängelholm	L5-2450/2002

Utvärdering och tolkning av groningstest i renkavle

Resistensnivån i proverna beräknades utifrån hur mycket groningsprocenten reducerats i skålarna med herbicid tillsatt i groningsvattnet, jämfört med groningen i obehandlat

led av samma fröprov. Resultaten jämfördes sedan med gröningsreduktion i referensproven.

Växthusförsök i annuella gräs

Allmän metodbeskrivning för dos-responsförsök i renkavle, åkerven och flyghavre

Syftet med försöken var:

- Att fastställa hur stor variationen i dos-tolerans mot de olika herbiciderna var inom och mellan proven.
- Att kunna avgöra hur många av proven som redan hade fullt utvecklad resistens, och hur många som hade tydlig begynnande resistens.
- Att undersöka om variationen i tolerans i renkavle mot Lexus WG och/eller Arelon samvarierade med resistens mot Event Super.
- Att undersöka om variationen i tolerans i renkavle mot Monitor samvarierade med resistens mot Arelon.

Föreberedelser

Fröproven groddes på filterpapper. Då groddplantorna nått två-trebladsstadiet planterades de över i jord, med 10-12 plantor i varje skål. I samtliga fall användes lättleror, med lågt innehåll av organiskt material. Plantorna fick sedan tillväxa i växthus inför herbicidbehandlingen.



Bild 1. Renkavle i växthusförsök

Herbicidbehandling

Herbicidbehandlingarna gjordes i en sluten sprutkammare. De utfördes då plantorna var i tre- till fyrbladsstadiet för renkavle, och i tre- till fembladsstadiet för åkerven. Trycket var 3 bar och bomhastigheten motsvarade 5,5 km/h för alla försöken. Vattnet var avjoniserat, och vätmedel tillsattes i enlighet med anvisningar från tillverkaren av respektive herbicidpreparat.

Plantorna behandlades med en dosstege av herbiciden, med två upprepningar (d v s två skålar), och i regel därmed cirka 20 plantor per fröprov och dos. Dosstegarna inkluderade doser både över och under den normalt rekommenderade fältdosen. Behandlingsleden redovisas närmare i beskrivningen av respektive experiment.

Bedömning av plantstatus och färskviktsskörd i dos-responsförsöken

Bedömning av herbicidens effekt gjordes då plantorna tydligt vissnat och/eller gulnat. Detta varierade från 3 veckor för Event Super och Lexus 50WG och 4 veckor för Arelon, till drygt 6 veckor för Monitor. För varje planta bedömdes överlevnadsstatus, från död till helt opåverkad av herbiciden. Antalet steg på bedömningsskalan varierade mellan försöken, beroende på hur entydigt plantorna kunde bedömas. Genast efter bedömningen skördades ovanjordiska växtdelar, och färskvikten mättes per planta.

Bearbetning av resultaten från färskviktsskörd i dos-responsförsöken

Resultaten från de behandlade leden relaterades till resultatet i obehandlat led av samma fröprov. Medelvärde för plantornas vikt i en behandlad skål, betecknat "FVskål", beräknades först separat för var och en av de två skålarna i ett behandlat led, enligt:

$$\text{FVskål} = \frac{\text{Summan av ovanjordiska färskvikten i skålen}}{\text{Summan av antalet plantor i skålen}}$$

Den relativa vikten av den ovanjordiska biomassan, hädanefter kallad RFV, beräknades enligt:

$$\text{RFV} = \frac{\frac{\text{Fvskål i upprepning 1} + \text{FVskål i upprepning 2}}{2}}{\frac{\text{Summan av ovanjordiska färskvikten i båda obehandlade skålar}}{\text{Summan av antalet plantor i båda obehandlade skålar}}}$$

- Har RFV ett värde lika med eller större än 1, är mängden biomassa *inte* negativt påverkad av herbicidbehandlingen för fröprovet i fråga.
- RFV beräknades dels för både levande och döda plantor sammanlagt (RFVall), dels för enbart de överlevande plantorna (RFVlev).

Statistisk analys av dos-responsförsöken

GLM-proceduren i SAS (SAS version 8.02; SAS Institute, Cary, NC, USA) användes för att analysera den relativa färskvikten av ovanjordisk biomassa i växthusförsöken. Variansanalys utfördes på varje dossteg för sig, och skillnaderna kontrollerades sedan med t-test. För relativ färskvikt har endast resultat som hade en sannolikhet på minst 95 % redovisats. Överlevnadsklassningen som var en rangordning, inte ett skalat mått, bearbetades inte statistiskt utöver kontroll av median.

Regressionsanalys av dos-responskurvan testades i samband med ett examensarbete (Sjödahl, 2005) för en del av materialet. Det visade sig att kurvanpassning inte var möjlig för de prov som innehöll resistenta plantor i högre frekvens. Orsaken är troligen att den resistenta delen av proven har en väsentligt annorlunda dos-responskurva än de känsliga individerna i samma prov, inte bara en förskjutning längs dosaxeln. Denna analysmetod användes därför inte för materialet som helhet, och redovisas inte i denna rapport.

Växthusförsök i annuella gräs, forts.

Kompletterande metodbeskrivning för respektive art.

Renkavle.

Experiment 1 b-d.

Dos-responsförsök i växthus med Event Super, Lexus 50 WG och Arelon.

Experimenten utfördes enligt den tidigare givna allmänna metodbeskrivningen för dos-responsförsök.

- Fröprov från 28 olika fält i västra Skåne testades både i experiment 1b och 1c (Event Super respektive Lexus 50WG).
- Syftet för det preliminära experimentet 1d (Arelon) var att finna en lämplig nivå för en dosstege. Därför inkluderades endast 5 prov.

Referensprov

- De tidigare beskrivna proverna 311 Z och 313 Z från lokaler för länsförsöken L5-2450/2002 användes som känslig respektive resistent mätare för fenoxaprop-P-etyl (Event Super).
- Resistenta referensprov för flupyrsulfuron (Lexus 50WG) och isoproturon (Arelon) saknades.

Herbicidbehandlingar

Vätskemängden motsvarade 200 l/ha. För Event Super och Lexus tillsattes vätnedlet Lissapol Bio. Dosstegen redovisas i tabellerna 3, 4 och 5.

Tabell 3. Behandlingsled i experiment 1c

Herbicid: Event Super		
Verksam beståndsdel: fenoxaprop-P-etyl, 70 g/liter preparat		
Normalt rekommenderad fältdos: 0,8 liter/hektar		
Led	Dos (liter/hektar)	Dos i % av normalt rekommenderad fältdos
A.	0	0 %
G.	0,32	40 %
H.	0,8	100 %
I.	2	250 %
J.	3,2	400 %
K.	5,2	650 %

Tabell 4. Behandlingsled i experiment 1d

Herbucid: Lexus 50WG		
Verksam beståndsdel: flupyrsulfuron, 500 g/kg preparat		
Normalt rekommenderad fältdos:		
Led	Dos (gram preparat/hektar)	Dos i % av normalt rekommenderad fältdos
A.	0	0 %
B.	3	15 %
C.	8	40 %
D.	20	100 %
E.	50	250 %
F.	80	400 %

Tabell 5. Behandlingsled i experiment 1e

Herbucid: Arelon FL		
Verksam beståndsdel: isoproturon, 500 g/liter preparat		
Normalt rekommenderad fältdos: 3 liter/hektar		
Led	Dos (liter/hektar)	Dos i % av normalt rekommenderad fältdos
A.	0	0 %
P.	0,45	15 %
Q.	1,2	40 %
R.	3	100 %
S.	7,5	250 %
T.	12	400 %
U.	19,5	650 %

Åkerven

Experiment 2 a och b

Dos-responsförsök i växthus med Arelon och Monitor.

Experimenten i åkerven utfördes i enlighet den tidigare allmänna metodbeskrivningen för dos-responsförsök.

- 60 prov testades med Arelon i experiment 2 a, och 47 prov med Monitor i experiment 2 b. Proven kom från Skåne, Öland och Östergötland. I huvudsak testades samma fröprov i experiment 2a och 2b. Några undantag fick göras, beroende bl. a på tillgången på väl grobart frö.

Referensprover

- Två schweiziska och ett tyskt prov av åkerven inkluderades som referenser. Resistens respektive känslighet för isoproturon hade påvisats i fält för dessa prov, vilka redovisas närmare i tabell 6.
- Resistenta referensprov för sulfosulfuron (Monitor) saknades.

Tabell 6. Referensprov använda i experiment 2a, åkerven och Arelon

<i>Provbeteckning</i>	<i>Resistensmekanism</i>	<i>Ursprung</i>	<i>Referens</i>
BASS	Känslig mot isoproturon	Schweiz	(Delabays and Mermillod, 1999)
YENS	Resistent i fältförsök pga. förhöjd nedbrytning av isoproturon	Schweiz	(Delabays and Mermillod, 1999)
SELFKANT	Okänd mekanism, men ”mycket hög resistensnivå” mot isoproturon i fält	Tyskland	(Niemann, 2000)

Herbicidbehandlingar

Vätskemängden motsvarade 110 och 130 l/ha (Arelon respektive Monitor). För Monitor tillsattes vätmiddel Biowet i rekommenderad dos. Dosstegar redovisas i tabell 7 och 8.

Tabell 7. Behandlingsled i experiment 2a

Herbicid: Arelon FL Verksam beståndsdel: isoproturon, 500 g/liter preparat Normalt rekommenderad fältdos: 3,0 liter/hektar		
Led	Dos (liter preparat/ha)	Dos i % av normalt rekommenderad fältdos
A.	0	0 %
B.	60	2 %
C.	150	5 %
D.	300	10 %
E.	750	25 %
F.	1500	50 %
G.	3000	100 %

Tabell 8. Behandlingsled i experiment 1d

Herbicid: Monitor Verksam beståndsdel: sulfosulfuron, 800 g/kg preparat Normalt rekommenderad fältdos: 18,75 g/hektar *		
Led	Dos (gram preparat/hektar)	Dos i % av normalt rekommenderad fältdos
A.	0	0 %
B.	2,80	15 %
C.	4,70	25 %
D.	9,35	50 %
E.	14,05	75 %
F.	18,75	100 %
G.	28,15	150 %
H.	37,5	200 %

* För åkerven i 2-4-bladsstadiet rekommenderas av tillverkaren en reducerad dos om 12,5 g/hektar (ref), men då plantorna var något större (3-5 blad) användes den högre rekommenderade dosen.

Flyghavre

Experiment 3 a.

Preliminär dos-responsstudie med Event Super

Provutförandet för detta preliminära test avvek på följande punkter från metodbeskrivningen för dos-responsförsöken:

- Groddplantorna planterades endast en per kruka.
- Då fröproverna var små och fröerna - trots förbehandlingar - grodde dåligt, var antalet upprepningar (d v s plantor) lågt
- Plantorna bedömdes som levande eller döda, och vägdes inte.

9 prov på uppländsk flyghavre testades. Vissa prov ingick dock bara i vissa led, p g a det låga antalet tillgängliga plantor. Plantorna herbicidbehandlades i sprutkammare i 2-4 -bladsstadiet. Vätskemängden motsvarade 140 l/ha och vätmedlet Lissapol Bio tillsattes i alla led. Utöver obehandlat led omfattade dosstegen:

- Event Super: 6 dossteg, 10 – 100 % av normalt rekommenderad fältdos (1 l/ha)

Experiment 4 a och b.

Test av skottmetod för resistensdiagnos i renkavle och flyghavre.

Syftet med experimentet var att testa en metod (Boutsalis, 2001) för att undersöka resistens hos plantor som överlevt en herbicidbehandling i fält. Fördelar jämfört med frötest är att man verkligen testar den misstänkt resistent plantan, i stället för dess avkomma, och att man inte behöver invänta frömognad. I experimentet användes växthussådda plantor i stället för fältinsamlat vegetativt material. Plantor som ännu ej skjutit strå grävdes upp och skotten delades. Rötterna kortades till 0,5 cm, och skotten till 2,5 cm. Sticklingarna planterades sedan i samma typ av lättlera som använts i övriga växthusexperiment. Överlevnaden undersöktes, och för renkavle testades om metoden gav jämförbara resultat med metodiken i experiment 1b.

Resultat av laboratoriestudier. Renkavle

Experiment 1 a. Groningstest med herbicid tillsats i vattnet av bl. a Event Super

- Fjorton av de 28 renkavleproverna klassades som resistenta mot Event Super. De hade tydlig förekomst av frö som bar på resistens mot fenoxaprop-P-etyl, den aktiva ingrediensen i Event Super (se tabell 9 nedan).
- Gränsen för tydlig resistensförekomst mot fenoxaprop-P-etyl var att minst 20 % av det grobara fröet i ett prov var helt opåverkat av tillsats av Event Super i groningsvattnet. Lägre förekomster klassades som tveksamma, i enlighet med den använda testmetodens bedömningsskala (Moss, 1999a) .
- Andelen Event Super-resistenta prov från nordvästra Skåne var 10 av 16 prov. Av 7 prov från trakten kring Lund och Staffanstorp var 4 resistenta, medan inget av de 5 proven från sydkusten var resistenta.
- Proverna 313 Z och 311 Z från två lokaler i länsförsöken L5-2450/2002 (Skåneförsöken, 2002) konstaterades vara lämpliga svenska ersättare för de brittiska mätarproven i de fortsatta försöken med Event Super. Prov nr 313 Z från Ängelholm innehöll högre andel resistenta fröer än den brittiska resistenta mätaren, PELDON (50 % mot 30 %), medan prov nr 311 Z från Skånes sydkust var Event-känsligt till över 90 %.
- Av de fjorton Event Super-resistenta proverna var det bara ett prov, nr 6A från trakten kring Staffanstorp, som var korsresistent mot setoxidim och cykloksidim (verksamma beståndsdelar i Expand Plus respektive Focus Ultra).
- Inget prov, utom mätaren PELDON, kunde gro normalt i ledet med pendimetalin (aktiv ingrediens i Stomp).

Tabell 9. Andel resistenta individer mot Event Super i prov från västra Skåne

<i>Gradering</i>	<i>Andel resistenta individer i provet:</i>	<i>% resistenta**</i>	<i>Antal provfält</i>
5*	Mycket hög förekomst	över 80%	0 fält
4*	Hög förekomst	60-80%	2 fält
3*	Medelhög förekomst	40-59%	5 fält, inkl 313 Z Ängelholm
2*	Tydlig förekomst	20-39%	7 fält plus mätaren PELDON
0 och 1*	Tveksam förekomst, eller tydligt känslig	0-19%	14 fält, inkl 311 Z , plus mätaren HERBISEED SUSCEPTIBLE

** Procentklassernas bredd är (enligt Moss klassificeringsmetod, (Moss, 1999b) 1/5 av groningsreduktionen i den känsliga mätaren. Här hämmades groningen i mätaren av fenoxaprop-P-etyl till nära 100%.

Resultat av dos-responsförsök i växthus. Annuella gräs

Renkavle

Experiment 1 b. Dos-responsförsök i växthus med Event Super

Sammanfattning

Resultaten för de 28 västskånska proven av renkavle från år 2002-2003 visade att åtta prov var så resistenta mot fenoxaprop-P-etyl* att en märkbart nedsatt effekt kan förväntas i fält. I prov från totalt 15 fält förekom resistenta plantor i tydligt mätbara nivåer, och därmed risk för snabb resistensutveckling vid ensidig bekämpning av renkavle med fenoxaprop-P-etyl. I cirka hälften av proven kunde inga tydliga tecken på resistens hittas.

Dostoleransen hos de överlevande plantorna** var högre i fyra prov än i alla de övriga 24 proven. Prov nr 6A, med korsresistens mot både fenoxaprop-P-etyl och setoxidim var ett av dem, men särskiljde sig inte i dostolerans från de övriga tre.

Inga resistenta bestånd hittades i provområdet vid Skånes sydkust, medan det i övriga västskånska regionerna (kring Lund/Staffanstorp och i nordväst) förekom både resistenta och känsliga bestånd.

** d v s Event Super hade lika eller sämre effekt mot dem (mätt som relativ viktsminskning jämfört med obehandlat led, RFVall) som mot den resistenta mätaren 313 Z*

*** mätt som relativ viktsminskning hos överlevande plantor jämfört med obehandlat led, RFVlev)*

Jämförelser mellan de västskånska renkavleproven och referensproven med känd resistensnivå.

Resultaten i överlevnad, plantstatus och biomassa efter Event Super-behandlingen av de västskånska renkavleproverna jämfördes och rangordnades i förhållande till de två referensprov (ett resistent från Ängelholm, och ett känsligt från sydkusten), från vilka det fanns fältresultat från provtagningsåret (Länsförsök L-2450/2002).

Genom rangordningen blir det möjligt att använda växthusresultaten för att avgöra om det finns resistens av praktisk betydelse i fler av de skånska proverna. Sådana jämförelser kan annars inte enkelt göras, då effekten av en viss dos i växthus inte generellt är densamma som effekten av samma dos i en verklig fältsituation³.

För att rangordning av proverna ska vara möjlig, måste dosstegen innehålla dosnivåer där mätarna tydligt skiljs åt i effekten av fenoxaprop-P-etyl i växthusmiljön. I detta fall visade det sig att effekten var lägre i växthusförsöket av en viss dos än det normala i fält för dosen. Dosstegen visade sig därför effektmässigt vara något lägre lagd än vad som var avsikten, den men täckte ändå ganska väl det önskade effektintervallet. Inget prov dog till 100 % i dosstegens två lägsta steg, led G och H, som därför inte redovisas

³ Växthusuppdagna plantor är oftast känsligare än plantor som aklimatiserats till utomhusklimat, men effekten i växthus är ibland tvärtom lägre än i en verklig fältsituation t ex pga. ljusförhållanden.

närmare. Den högsta testade dosen, K, var drygt 2,5 ggr så hög som dosen I, den lägsta dos som dödade alla plantor i något av de 28 proven.

- I dos K överlevde 94 % av plantorna i den resistenta mätaren 313Z, och inga plantor i den känsliga mätaren, 311 Z.
- Dosen K dödade samtliga plantor i 13 av 28 prov. Detta överensstämmer väl med resultaten i frötestet, där tydliga tecken på resistensförekomst hittades i 15 av 28 prov.

Utfallet i variansanalysen av påverkan på relativ färskvikt (RFV) följde ganska väl utfallet av frötestet (experiment 1a), så att de prov som hade hög frekvens av resistenta individer i frötestet också var de som fick högst relativ biomassa, jämfört med obehandlat led av samma prov i experiment 1b.

- Först i den högsta dosen K kunde resultaten i RFVall särskiljas för den känsliga respektive den resistenta mätaren.
- 3 prov var mer resistenta (i måttet RFVall) än den resistenta kontrollen, 313 Z.
- Ytterligare fem prov hade i variansanalysen lika hög RFVall (d v s var lika resistenta) som den resistenta mätaren, och också signifikant mer resistenta än den känsliga mätaren, 311Z.
- Variansanalysen av relativa vikten hos överlevande plantor, RFVlev, visade att dos-toleransen i resistenta plantor var signifikant högre hos fyra prov än i merparten av de övriga proven.

Prov nr 6A var ett av de fyra proven med högre relativ vikt, RFVlev. Experiment 1a visade att 6A är korsresistent mellan fenoxaprop-P-etyl och setoxidim. Sådan korsresistens är i regel kopplad till förändrat bindningsställe i växten för herbiciden, och till mycket hög dostolerans. De överlevande plantorna i 6A hade dock *inte* högre vikt (RFVlev) än plantorna i de övriga tre proven med höga värden på RFVlev, som var normalt känsliga för setoxidim.

Detta kan ha berott på att dosstegen hamnade för lågt. En annan tänkbar förklaring är att flera olika resistensmutationer (den i 6A och ytterligare minst en) med jämförbar dostolerans förekommer i provtagningsområdet, förutom den/de mutation/-er som ger övriga prov en lägre resistensnivå.

Resultat av överlevnadsklassning

I några olika prov visas i figurerna 1 till 6 hur hög procent av de testade plantorna som överlevde respektive dos, och hur försvagade de blev.

Dos A var obehandlat led av fröprovet, led G den lägsta och led K den högsta testade dosen. Led I var den lägsta dos som dödade alla plantor i något prov. Dos J var 1,6 ggr så hög som dos I. Dos K var 2,6 ggr så hög som dos I, och 16,25 ggr så hög som den lägsta testade dosen, G.

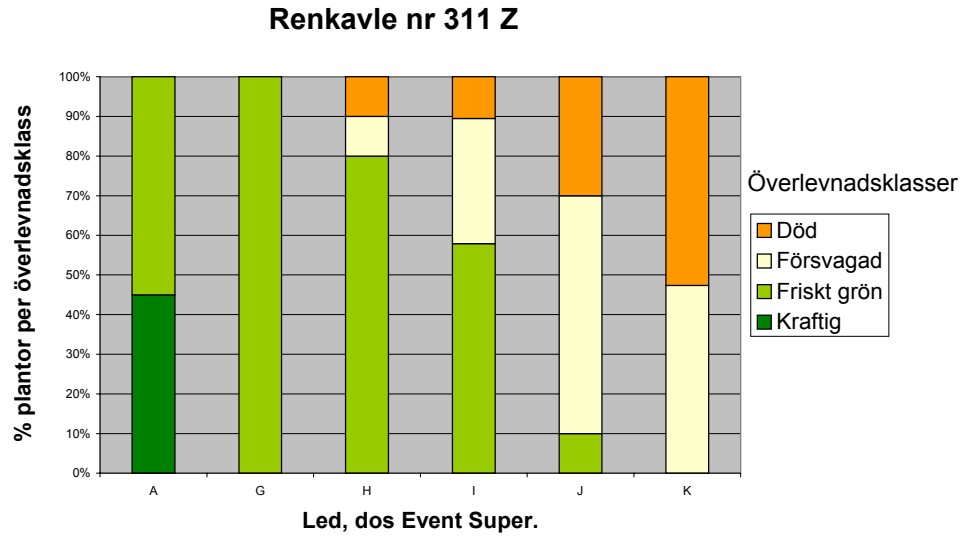


Fig 1. Den fenoxaprop-P-etylkänsliga mätaren, 311 Z, kontrollerades helt först av den högsta testade dosen, K, vilket visar att dosstegen hamnat något för lågt effektmässigt.

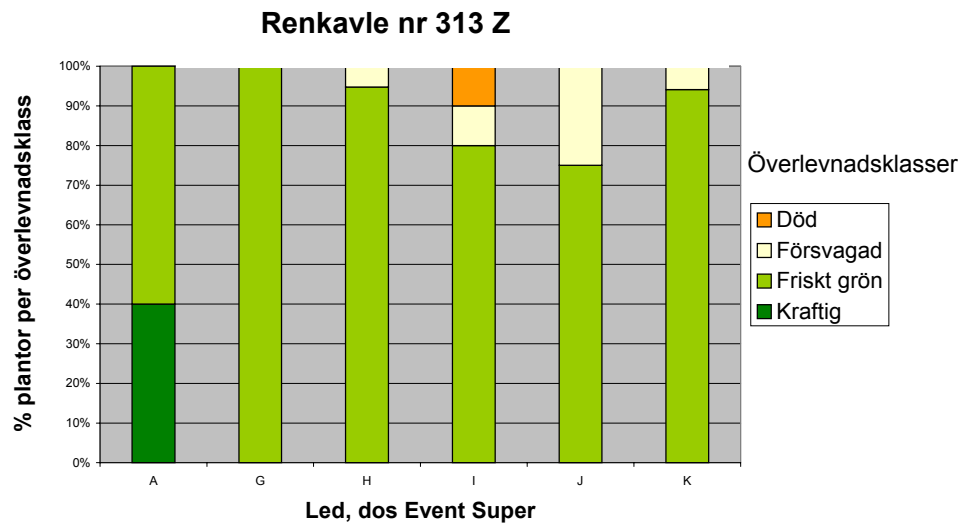


Fig 2. Den fenoxaprop-P-etylresistenta mätaren, 313 Z, kontrollerades inte av den högsta testade dosen, K.

Renkavle nr 306

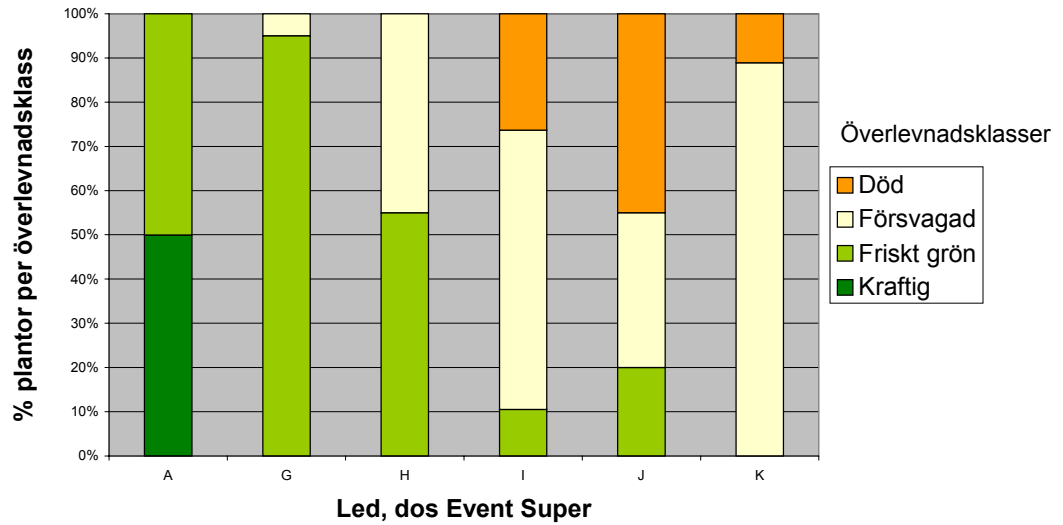


Fig 3. Kring hälften av proven visade inga tydliga tecken på resistens mot fenoxaprop-P-etyl. Det gällde t ex prov nr 306 från nordvästra Skåne.

Renkavle nr 308 B

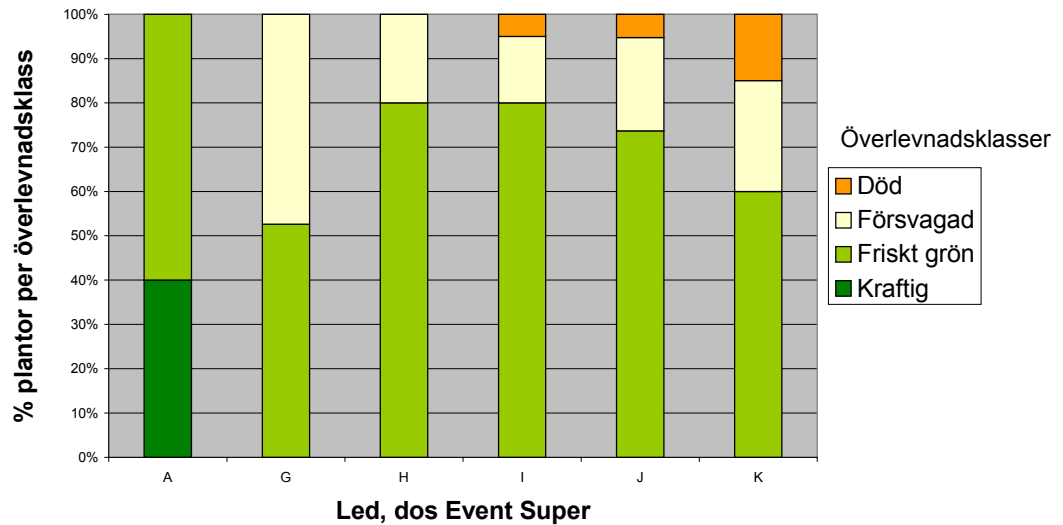


Fig 4. Det delvis resistent provet nr 308B kom från ett fält nära provtagningsplatsen för det känsliga provet nr 306 (fig 3), och med samma brukare.

Renkavle nr 6 A

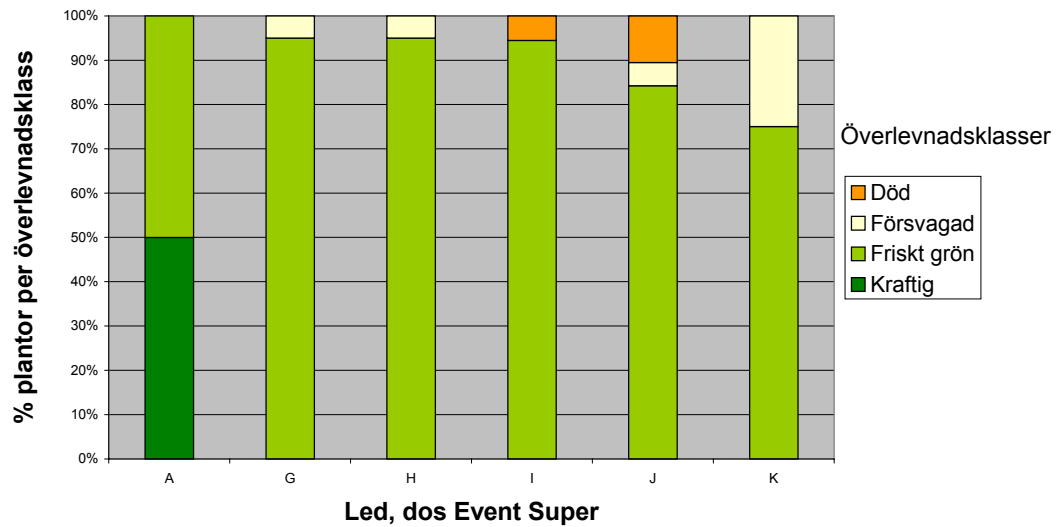


Fig. 5. Prov nr 6A från Lund/Staffanstorpsstrakten hade i frötestet (experiment 1a) visat sig vara det enda korsresistenta provet mot både fenoxaprop-P-etyl och setoxidim. Därmed är den troliga resistensmekanismen förändrat bindningsställe, och en hög dos-toleras kan förväntas.

Renkavle nr 7

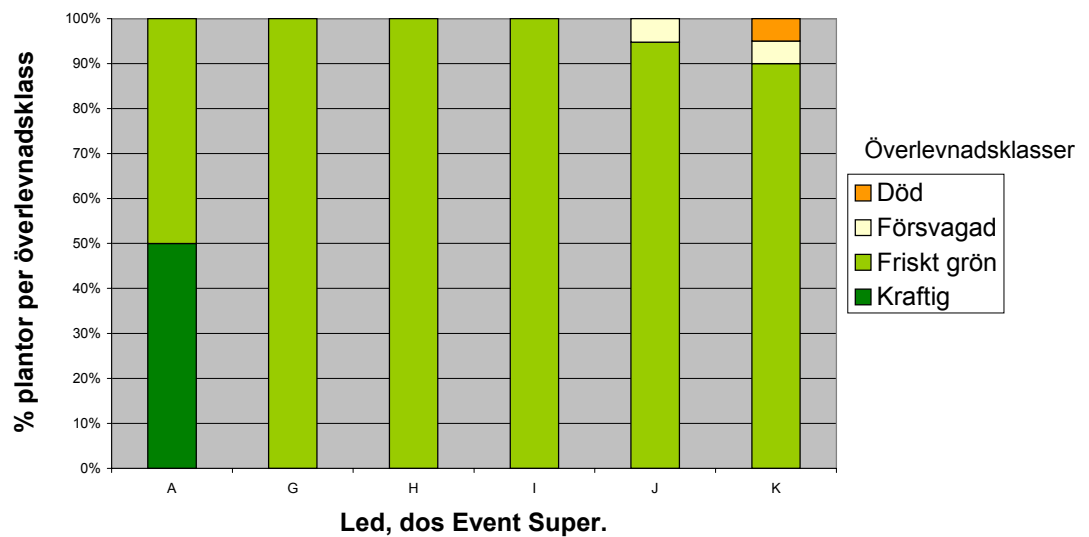


Fig 6. Prov nr 7 kom från ett intilliggande fält från nr 6A (fig. X), men med annan brukare. Provet hade en hög resistensfrekvens, men saknade nästan helt plantor som var korsresistenta mot setoxidim i frötestet (experiment 1a). Resistensen har alltså en annan genetisk bakgrund än i grannfältet 6A.

Procentuell överlevnad i renkavleproven efter behandling med Event Super

Eftersom fröproven har olika fälthistorik – vissa kommer från behandlade och andra från obehandlade fält – ger den procentuella överlevnaden inte ett exakt svar på vilken frekvens av resistenta plantor som fanns i renkavlebeståndet på ett visst fält under det aktuella provtagningsåret. Känsliga plantor kan i vissa fall ha sprutats bort före provtagningen, men om andelen resistenta plantor är hög i ett prov så betyder det att andelen resistenta individer i tillskottet till fröbanken också blev hög.

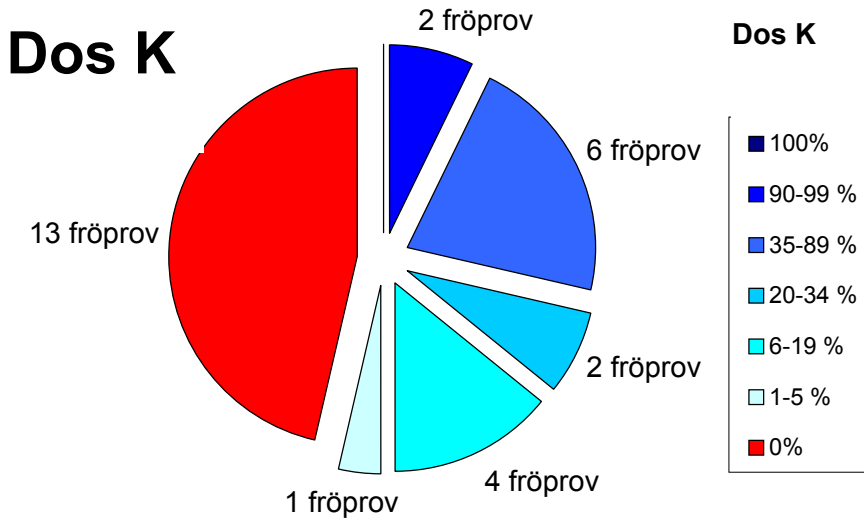


Diagram 1. Överlevnaden i de västskånska renkavleproven vid den högsta testade dosen av Event Super, led K. Den resistenta mätaren 313 Z överlevde till över 90 %, medan den känsliga mätaren 311 Z hörde till proven utan överlevande plantor i dos K.

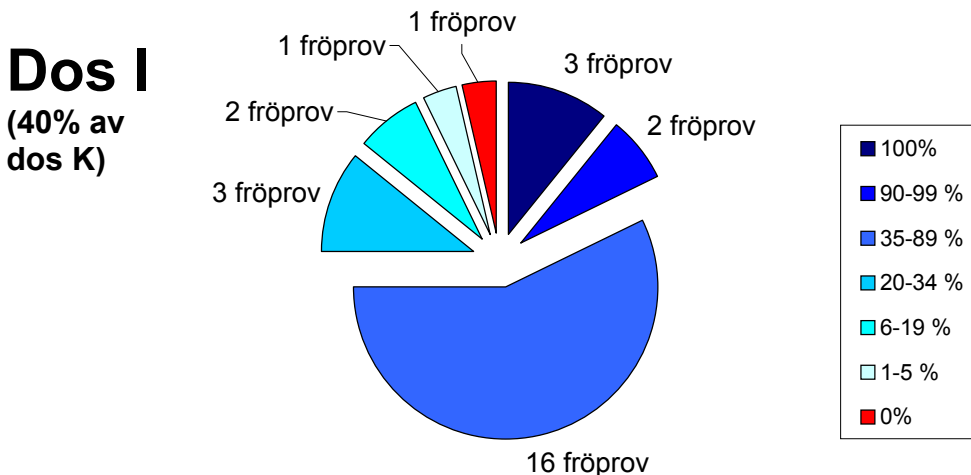


Diagram 2. Överlevnaden i de västskånska renkavleproven vid den lägsta dos, I, som dödade alla plantor i det känsligaste av de 28 proven.

Experiment 1c. Dos-responsförsök med Lexus 50WG

Sammanfattning

Resultaten för 29 västskånska prov av renkavle från 2002-2003 visade att det fanns tydliga skillnader inom och mellan prov i hur hög dos av flupyrsulfuron som plantorna tålde. I en tredjedel av proven fanns livskraftiga plantor kvar efter behandling med 6,5 ggr den dos av Lexus 50WG som dödade 100 % av plantorna i de känsligaste proven. De överlevande plantornas vikt var dock negativt påverkad. Det är därför inte troligt att resistensmekanismen förändrat bindningsställe* förekommer i proven.

I försöket ingick inga mätare med känd resistens i en verklig fältsituation mot flupyrsulfuron, och skillnaden i dos-tolerans mellan plantorna var måttlig. Några tydliga resistensfall mot herbiciden kunde därmed inte konstateras, utan de uppmätta skillnaderna kan bero på naturlig variation. Ett orostecken är, att de prov som var mest toleranta mot Lexus 50WG i viss utsträckning var samma prov som var resistenta mot Event Super. Det innebär att man inte kan utesluta en gemensam orsak, som t ex förstärkt nedbrytning av medlen. Ytterligare studier skulle dock krävas för att kunna påvisa detta.

**Denna resistenstyp kan ge flera hundra ggr ökad dostolerans, och är den oftast dokumenterade mot sulfonylureor.*

I försöket ingick inga mätare med känd resistens mot flupyrsulfuron, utan syftet var att undersöka hur stor variationen var inom och mellan proverna i toleransgrad mot herbiciden. Ett annat syfte var att studera toleransen mot flupyrsulfuron närmare i de prov som var resistenta mot fenoxaprop-P-etyl i frötestet och växthustestet.

Liksom för Event kunde dosttegen visa toleransskillnader inom och mellan proverna ganska väl, även om det visade sig att ännu högre dossteg gärna kunnat ingå. Ännu i den högsta testade dosen, F, fanns mellan tio och trettio procent livskraftiga plantor i nio av de 29 testade proven. Dosnivån F var 6,5 ggr högre än dos C, den lägsta dos som dödade alla plantor i något prov i testet

Variationsanalys och efterföljande t-test av RFV (den relativa vikten av ovanjordisk biomassa, jämfört med obehandlat led av respektive prov), visade att det med 95 % sannolikhet fanns mätbara skillnader i effekten av Lexus mellan prover vid alla dosnivåer. I alla prov var de överlevande plantornas medelvikt starkt negativt påverkad av dos F (RFV_{lev} var mycket under 1).

Toleransen mot Lexus 50WG i förhållande till förekomst av Event Super-resistens.

Viss överensstämmelse fanns mellan vilka prov som var mest toleranta mot flupyrsulfuron och de som var resistenta mot fenoxaprop-P-etyl.

- I nio prov överlevde minst tio procent av plantorna den högsta dosen, F. Av dem var sju klassade som högfrekvent eller måttligt resistenta mot Event Super, och två

som tveksamt resistent. I de prov som klassats som känsliga mot Event överlevde inga plantor dos F av Lexus.

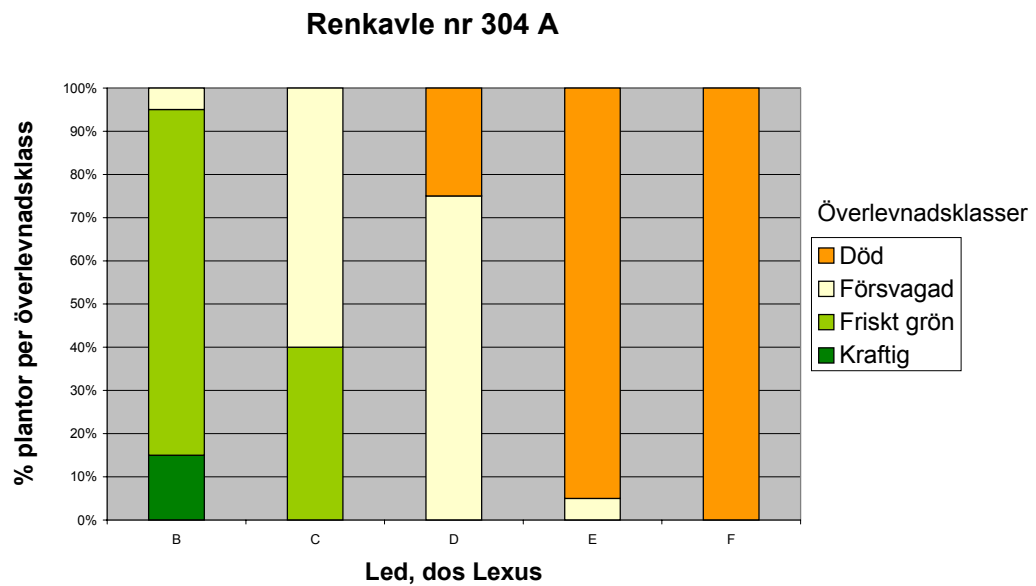
- Högst andel överlevare i dos K av Lexus, 30 %, hade det prov, nr 6A, som hade konstaterat förändrat bindningsställe som resistensmekanism.

Det fanns dock även prov där ingen överensstämmelse mellan tolerans mot Lexus WG och resistens mot Event Super hittades, och det kan inte uteslutas att överensstämmelsen mellan tålighet mot de två herbiciderna kan vara slumpmässigt betingad.

Resultat av överlevnadsklassning renkavle /Lexus 50WG

I figurerna 7 och 8 visas för några utvalda prov den procentuella överlevnaden och hur försvagade plantorna blev av Lexus-behandlingen.

Dos A är obehandlat led av fröprovet, dos B den lägsta testade och dos F den högsta testade dosen. Dos F var drygt 26 ggr så hög som dos B, och 400 % av den normalt rekommenderade fältdosen. Observera dock att effekten av en viss dos i växthus inte direkt kan jämföras med effekt i fält. Eftersom högst 20 plantor testades per dosnivå kan resultatet variera, så att överlevnaden i en högre dos ibland kan vara högre än i en lägre dos.



Renkavle nr 311 Z

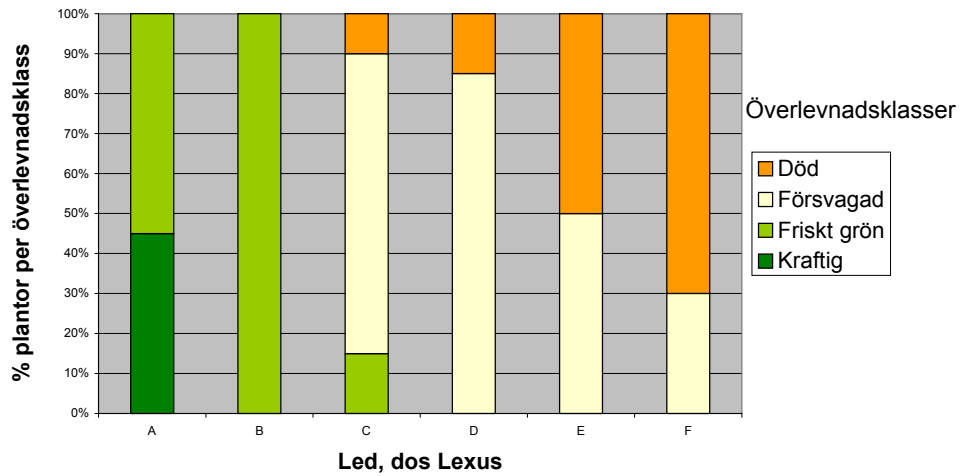
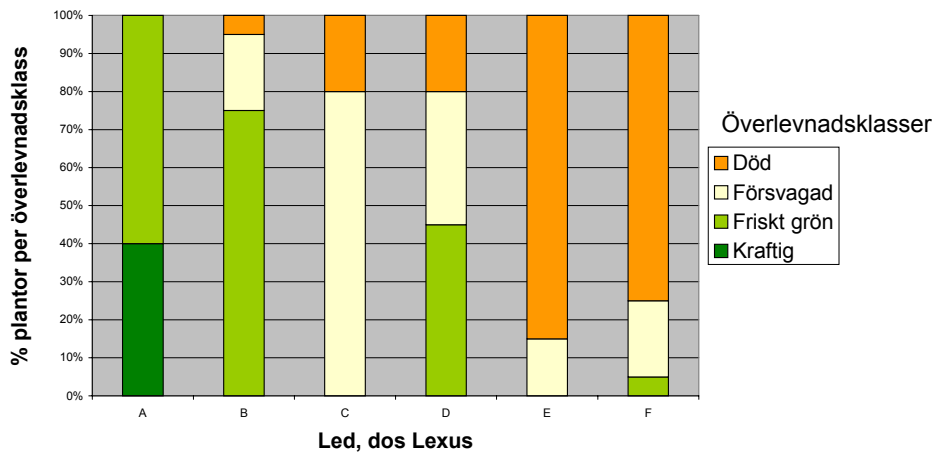
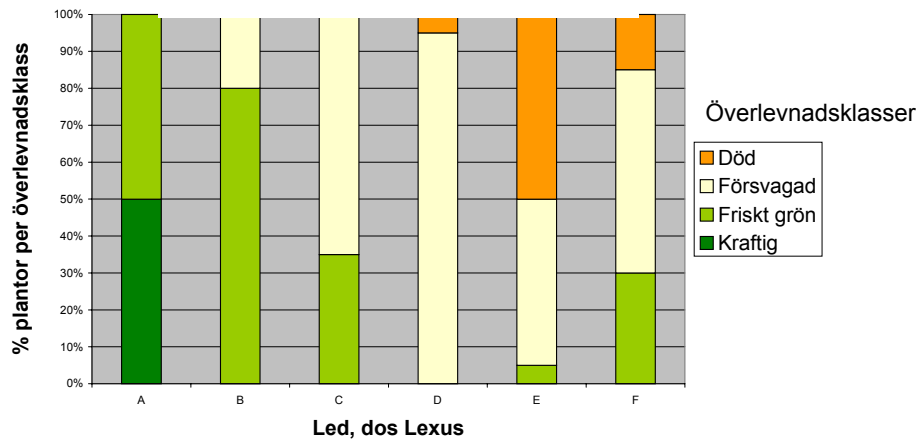


Fig 7. Bland de mer känsliga proven för flupyrsulfuron fanns t ex de ovanstående, nr 304 från nordvästra Skåne, och nr 311 Z från södra Skåne, som även var känsligt referensprov för fenoxaprop-P-etyl i experiment 1b.

Renkavle nr 313 Z



Renkavle nr 6



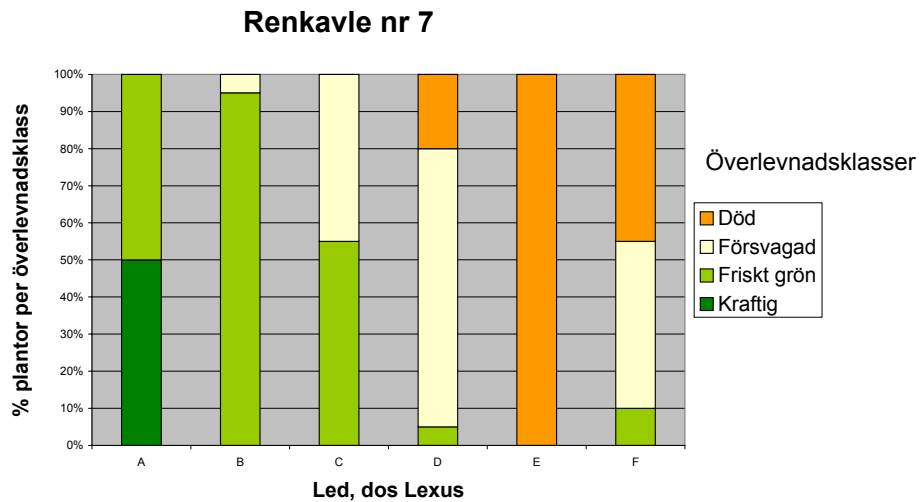


Fig 8. Bland de prov där en mindre andel av plantorna överlevde även dos D och uppåt (dos D var 20 g preparat/ha, d v s den normalt rekommenderade fältdosen) fanns de ovanstående tre, den fenoxaprop-P-resistenta mätaren från experiment 1b, nr 313 Z, och de likaledes fenoxaprop-P-resistenta proven nr 6A och nr 7.

Procentuell överlevnad i renkavleprov efter behandling med Lexus 50WG.

I experimentet ingår de 28 proven från experiment 1b, plus ytterligare ett prov. Liksom i experiment 1b kommer alltså proven från såväl obehandlade fält, och från fält behandlade med olika herbicider.

Dos F

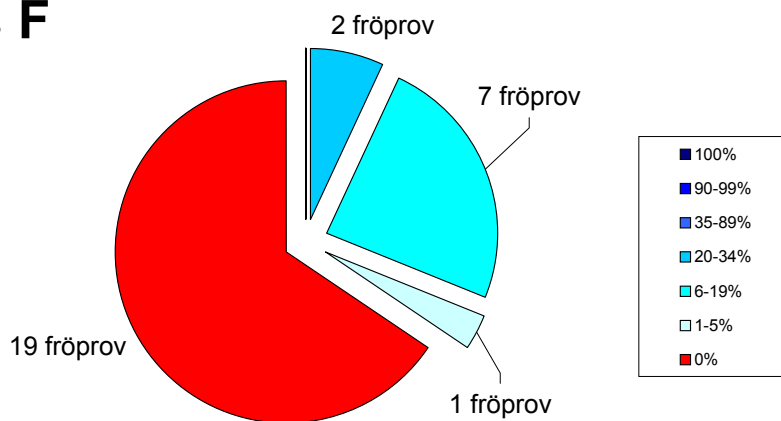


Diagram 3. Den högsta dosen, F, dödade alla plantor i två tredjedelar av proven.

Dos C (10 % av dos F)

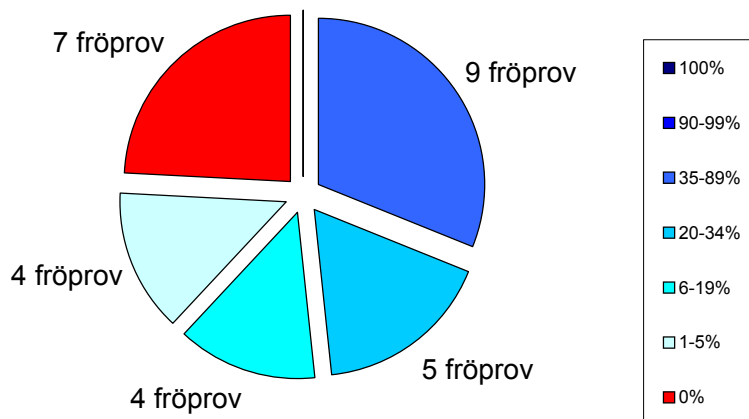


Diagram 4. I dos C, som var en tiondel så hög som den högsta dosen, F, dog alla plantor i en knapp tredjedel av proven.

Experiment 1d. Dos-responsförsök med Arelon

Den valda dosstegen av Arelon visade sig vara alldeles för högt lagd för renkavle. Dödligheten var 100 % i alla led. Inga slutsatser kunde dras av experimentet.

Åkerven

Experiment 2 a. Dos-responsförsök i växthus med Arelon.

Sammanfattning

Resultaten för de ca 60 svenska proven av åkerven från år 2002 visade att knappt 10 % av dem hade så långt utvecklad resistens mot isoproturon, att herbiciden kan ha märkbart nedsatt effekt i en verklig fältsituation. I 40 % av proverna förekom resistenta plantor*. I dessa fält finns risk för snabb resistensutveckling vid ensidig bekämpning av åkerven med isoproturonpreparat.

Några regionala skillnader kunde inte konstateras. Skillnaden mellan prover *inom* samma provtagningsregion (östra Skåne, västra Skåne, Östergötland och Öland) var generellt större än skillnaderna *mellan* regionerna.

* Med "resistent planta" avses här en planta som tål herbiciden minst lika väl som plantorna i det resistenta referensprovet YENS.

Jämförelser mellan de svenska åkervensproven och referensproven med känd resistensnivå.

Resultaten i överlevnad, plantstatus och biomassa efter Arelon-behandlingen av de svenska åkervensproven jämfördes och rangordnades i förhållande till referensproven. Dessa har tidigare fälttestats med isoproturon, och är dokumenterat känsliga respektive resistenta mot herbiciden (se tabell 6).

För att rangordning av proverna ska vara möjlig, måste dosstegen innehålla dosnivåer där mätarna tydligt skiljs åt i effekten av isoproturon i växthusmiljön. Detta lyckades den valda dosstegen väl med i led E-G. Ingen planta, vare sig i mätarna eller i de svenska proven, dog av doserna B, C eller D. Resultaten i dessa doser redovisas därför inte närmare. Den tålda dosnivån skilde sig inte bara mellan känslig och resistent mätare, utan även mellan de båda resistenta mätarna. Resultaten för mätarna i de intressanta leden, E-G, vad gäller procentuell överlevnad och RFVlev (biomassan hos de överlevande plantorna), redovisas i bilaga 1, tabell 10.

- Nästan alla de svenska proven (95 % av de testade) tålde isoproturon bättre än den känsliga mätaren, det schweiziska referensprovet "BASS". De svenska proven innehöll plantor som tålde 5 till 10 ggr så hög dos som den känsliga mätaren, utan att vikten av deras biomassa (RFVlev) nämnvärt påverkades.
- I många svenska prov (40 %) fanns plantor med en lika god, eller upp till 5 ggr bättre, dostolerans av isoproturon än den ena resistenta mätaren, det schweiziska referensprovet YENS. YENS innehöll dock procentuellt fler resistenta individer än de svenska proven.
- Sex prov (10%) innehöll resistenta plantor i så hög frekvens och med så hög dostolerans, att effekten av isoproturon i en verklig fältsituation kan förväntas vara otillfredsställande.

- Inget svenskt prov hade lika hög dostolerans mot isoproturon som det tyska, höggradigt resistenta referensprovet SELFKANT. I några få svenska prov förekom resistenta plantor som tålde den högsta testade dosen nästan lika väl.
- 100% av plantorna i den känsliga mätaren var känsliga för isoproturon. 90-100 % av plantorna i de resistenta mätarna var resistenta mot isoproturon.

Resultat av överlevnadsklassning åkerven / Arelon

I några olika prov visas i figurerna 9-13 hur hög procent av de testade plantorna i som överlevde respektive dos av isoproturon, och hur försvagade de blev.

Dos A är obehandlat led, dos E den lägsta letala dosen för några prov, och led G den högsta testade dosen, 2,8 l/ha, d v s något lägre än normal fältdos vårtid, 3 l/ha. Observera att denna dosnivå i växthus inte direkt motsvarar samma dos i fält.

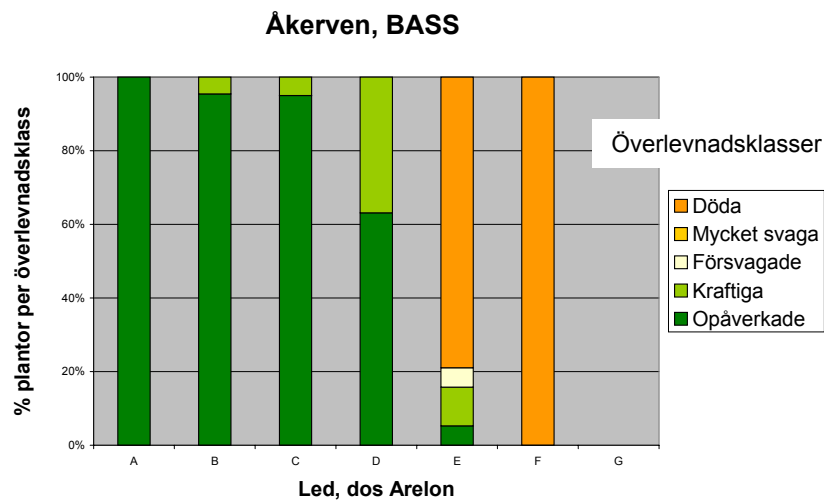


Fig. 9. Den isoproturonkänsliga mätaren BASS tålde som högst dos D. Led E gav hög dödlighet och viktsreduktion hos överlevande plantor. BASS testades ej i högsta dosen.

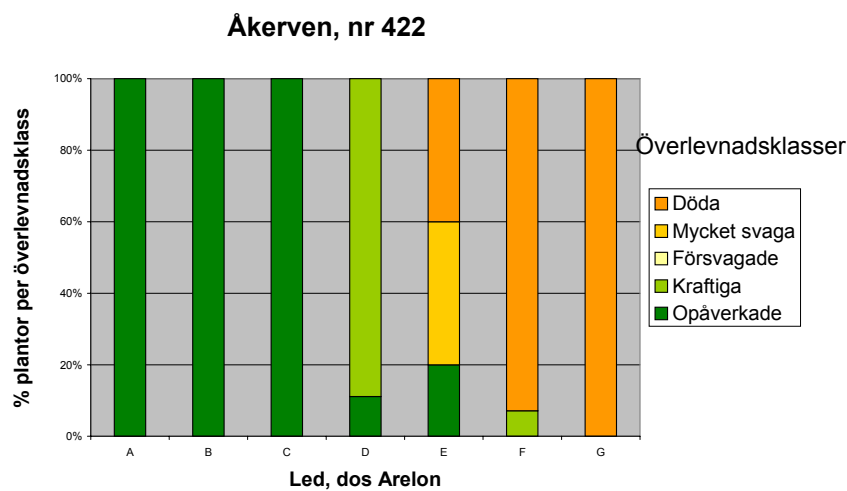


Fig 10. Ett fåtal svenska prov, bl. a nr 422 från Öland, var lika känsliga som BASS.

Den högsta dos som det schweiziska resistenta referensprovet YENS (fig 11.) tålde väl var dosen F, en fem gånger så hög dos som dosen D (den högsta dos som den känsliga mätaren klarade väl, fig. 9). F påverkade inte de överlevande YENS-plantornas medelvikt negativt (RFVlev var över 1), även om cirka hälften av plantorna ändå var synbart något påverkade av herbiciden. Några YENS-plantor överlevde även den högsta dosen (G), men medelvikten av dem (RFVlev) var kraftigt reducerad.

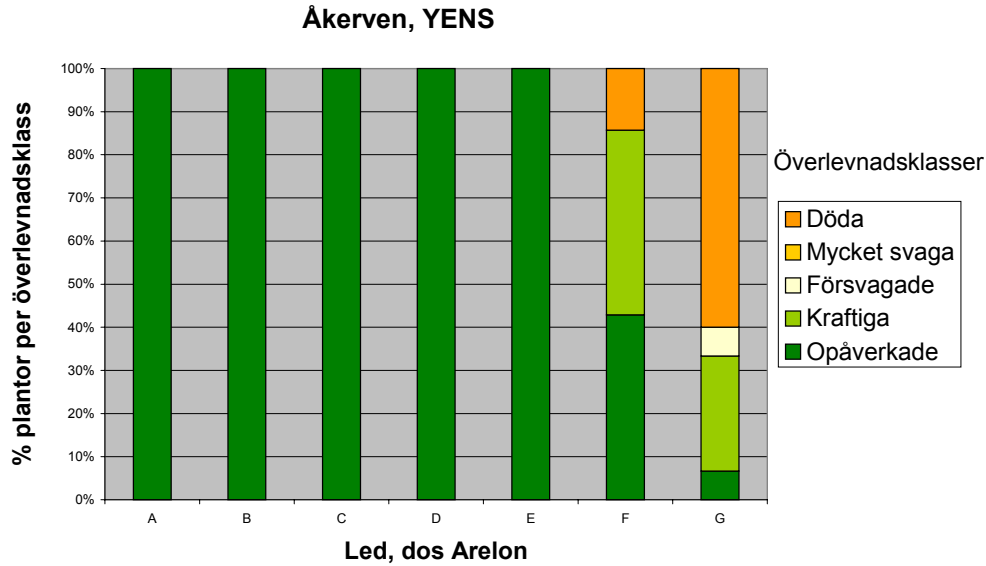
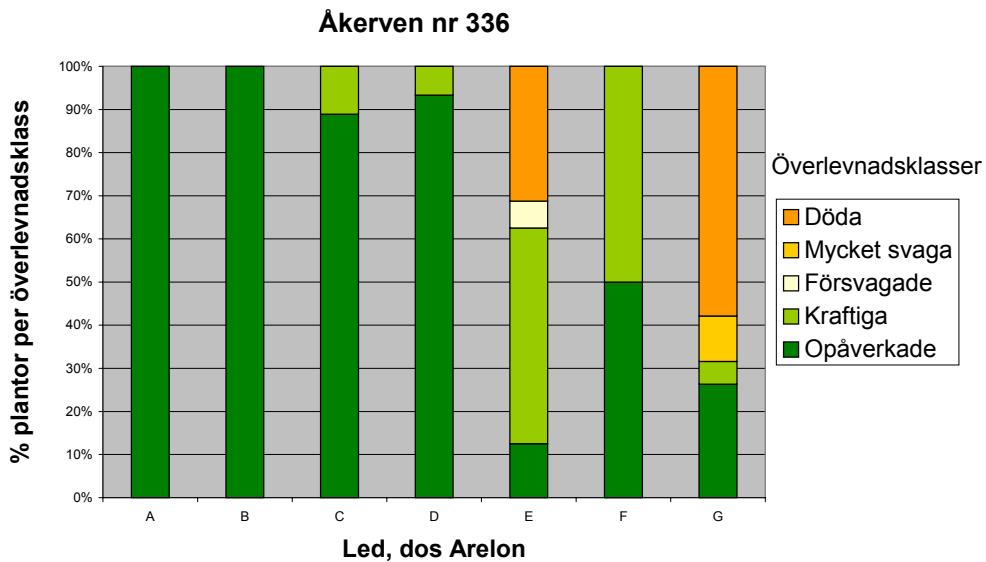


Fig 11. Resistensmekanismen i YENS är förhöjd nedbrytning av isoproturon.



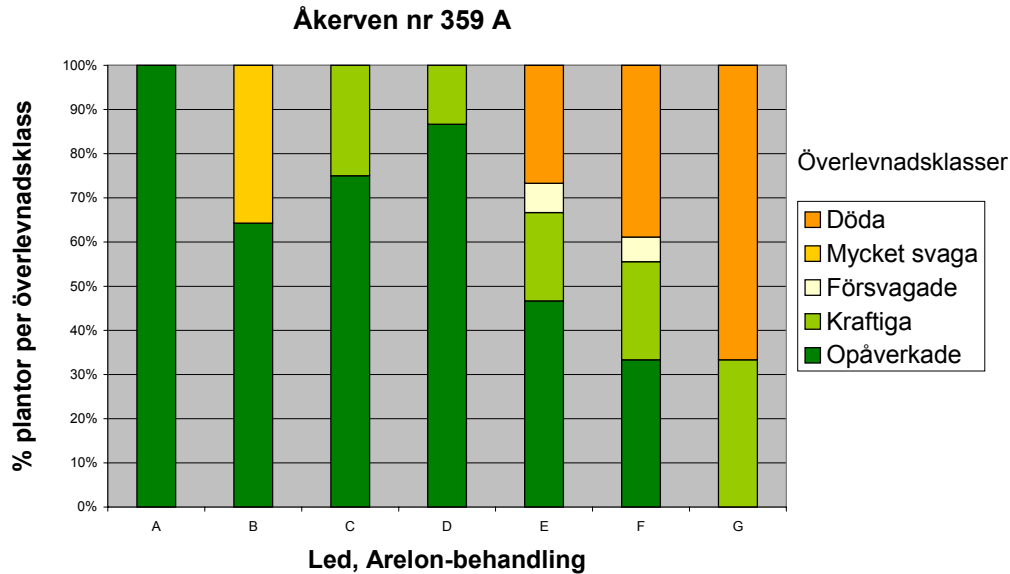


Fig 12. En med YENS jämförbar resistensnivå finns i de ovanstående svenska proven, 336 (östra Skåne) och 359A (Linköping).

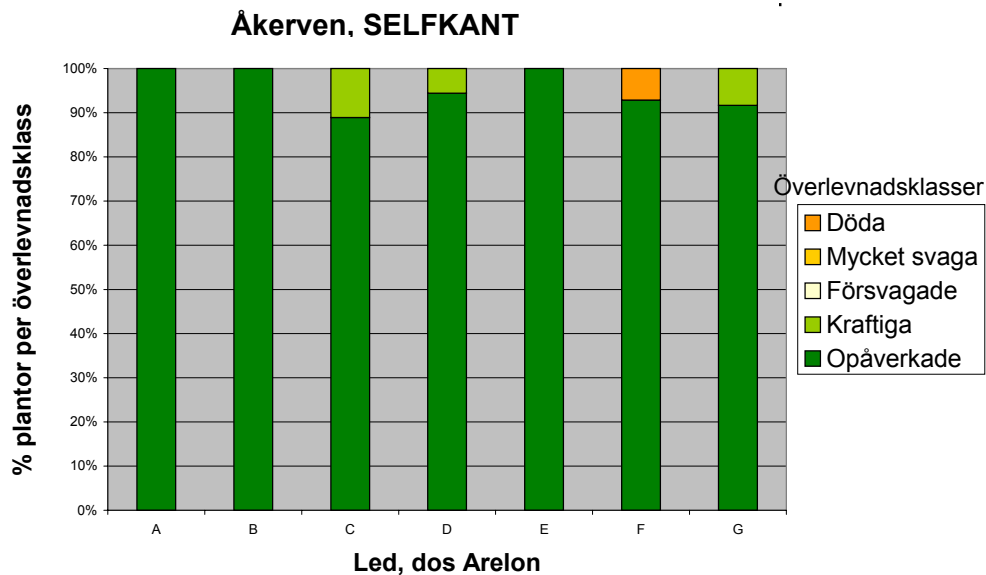


Fig. 13. Överlevnad hos den isoproturonresistenta mätaren SELFKANT

Dosstegen var för lågt lagd för att kunna avgöra hur hög dostoleransen var i den höggradigt resistenta mätaren, det tyska referensprovet SELFKANT (fig 13), med okänd resistensmekanism. I SELFKANT, tålde alla plantor dosen G, utan någon negativ påverkan alls. G var tio gånger så hög dos som D, den högsta dos som den känsliga mätaren tålde (fig 9.). Dosen G var den högsta testade dosen i experimentet, så vilken dos SELFKANT verkligen kunnat tåla fastställdes inte.

Procentuell överlevnad i åkervensproven efter behandling med Arelon

Liksom för renkavleexperimenten gäller, att den procentuella överlevnaden inte ger ett exakt svar på vilken resistensfrekvens som fanns i åkervensbeståndet på ett visst fält under det aktuella provtagningsåret. Känsliga plantor kan i vissa fall ha sprutats bort före provtagningen.

Dos G

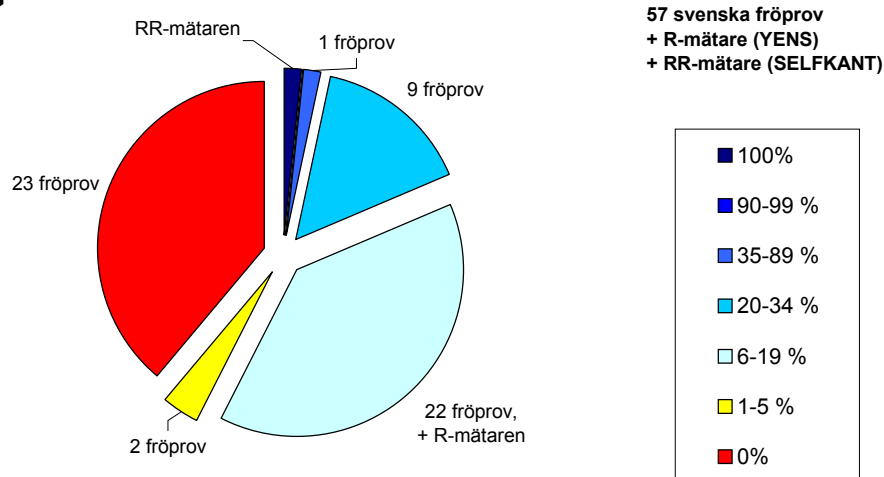


Diagram 5. Överlevnaden i de olika svenska fröproverna (57 st) vid den högsta dosen Arelon, led G. Inget prov hade så hög överlevnad som mätaren SELFKANT.

Vi ser att tio åkervensprov överlevde dos G till högre procent än mätaren YENS. YENS (fig 11.) hade dos F som gräns för hur mycket isotopuron dess resistensmekanism (förhöjd nedbrytning) kunde klara, utan att plantorna påverkades kraftigt. I ett östgötskt prov, med 40 % överlevande i dos G, påverkades de överlevande plantorna endast marginellt i vikt (RFVlev) av dos G.

Dos F

(50 % av dos G)

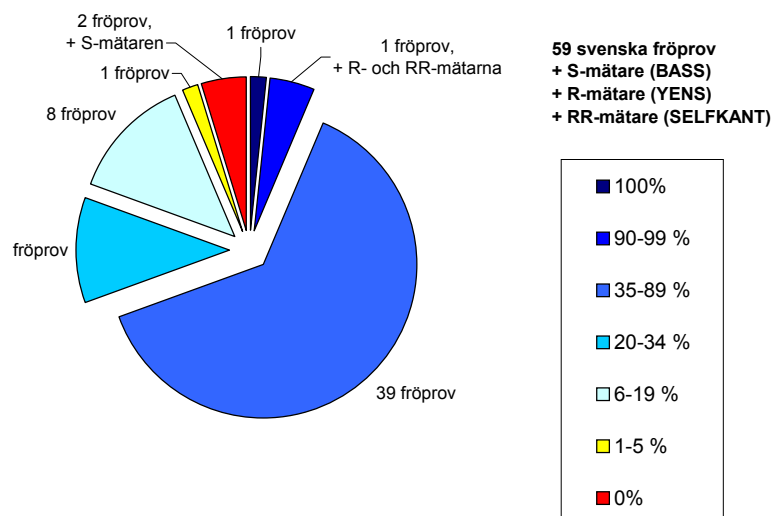


Diagram 6. Vid dosen F hade däremot de svenska proven generellt lägre andel resistenta individer än YENS (jämf. diagram 5).

Experiment 2 b. Dos-responsförsök i växthus med Monitor.

Sammanfattning

Skillnaderna i tolerans mot sulfosulfuron (Monitor) i de 47 testade åkervensproverna från år 2002 var måttliga, men varierade tydligt mellan och inom proven. Inget prov av åkerven klassades som resistent mot sulfosulfuron, och nedsättning av effekten av sulfosulfuron kan inte förväntas i något fält utifrån de funna resultaten.

Den högsta dos som de mest toleranta plantorna tålde utan att synbart försvagas var fem ggr högre än den lägsta dos som helt dödade det känsligaste av proven. Den måttliga skillnaden i dostolerans tyder på att på resistens pga förändrat bindningsställe för sulfosulfuron *inte* förekommer i åkervensproven. Vad gäller korsresistens pga förstärkt nedbrytning, så var de prov som tålde högst dos av Monitor inte samma prov som tålde högst dos av Arelon. Några tecken på sådan korsresistens mellan sulfosulfuron och isoproturon fanns alltså inte.

Inga tydliga regionala skillnader i tolerans för Monitor kunde konstateras.

Skillnaderna i tolerans mot sulfosulfuron kan mycket väl vara inom ramen för naturlig variation, vilket inte hindrar att de är tillräckligt stora för att kunna ligga till grund för resistensutveckling vid ensidig användning av herbiciden.

Syftet med försöket var att beskriva den variation i herbicidtolerans som fanns i det insamlade svenska åkervensmaterialet, och som kan ligga till grund för resistensutveckling hos arten. Inga mätare med känd fältresistens mot sulfosulfuron fanns tillgängliga att jämföra med provernas toleransnivå.

Den valda dosstegen täckte ganska väl spannet från relativt god överlevnad i de flesta proven till hög dödlighet i alla prov. Nedan redovisas resultaten för den lägsta dosen B, med D (3 x B), dos E (5 x B) och den högsta testade dosen, H, som var drygt tretton gånger så hög som B-dosen.

Överlevnaden och effekten på överlevande plantor varierade både mellan och inom de 47 testade proven inom det aktuella dosintervallet.

- Endast i lägsta dosen, B, fanns helt opåverkade plantor, och då endast i 2 av proverna. I drygt hälften av proverna fanns minst någon kraftig, bara måttligt påverkad planta kvar. Bara ett prov dog helt av B-dosen.
- Vid den tre gånger högre dosen, D, fanns kraftiga plantor kvar i en dryg sjättedel av proven (8 stycken). I alla övriga prov var eventuella överlevare starkt försvagade.
- Den högsta dosnivå där kraftiga plantor fanns kvar var i led E, 5 ggr högre än den lägsta letala dosen, B.

- I den högsta testade dosen, H, fanns överlevande plantor i sex av 45 testade prov i dosnivån. Alla plantor var dock starkt negativt påverkade av herbiciden, och skulle knappast ha överlevt en konkurrenssituation i fält.

Den statistiska analysen av relativa färskvikten (levande plus döda plantor i behandlat led jämfört med obehandlat led av samma prov, RfVall) visade att effekten på biomassan skilde sig mellan prover på alla de testade dosnivåerna.

- Vilka prover som hade högst vikt varierade något vid varje dossteg, men sex prov återkom vid flera dosnivåer bland de fem med högst biomassa kvar efter behandling. Av dessa kom två prov från Öland, och övriga fyra från östra Skåne.
- Skillnaden mellan prover *inom* samma provtagningsregion (östra Skåne, västra Skåne, Östergötland och Öland) var generellt större än skillnaderna *mellan* regionerna. Det fanns en tendens att provgruppen från Östergötland var känsligare för sulfosulfuron än proverna från de övriga regionerna.

Resultat av överlevnadsklassning åkerven / Monitor

I några olika prov visas i figurerna 14, 15 och 16 hur hög procent av de testade plantorna som överlevde respektive dos av sulfosulfuron, och hur försvagade de blev.

Dos A är obehandlat led, dos B den lägsta letala dosen för några prov, och led H den högsta testade dosen (13 x dos B). Led F motsvarar normalt rekommenderad fältdos mot åkervensplantor som passerat tre-fyrabladsstadiet, 18,75 g preparat/ha. Observera att denna dosnivå i växthus inte direkt motsvarar samma dos i fält.

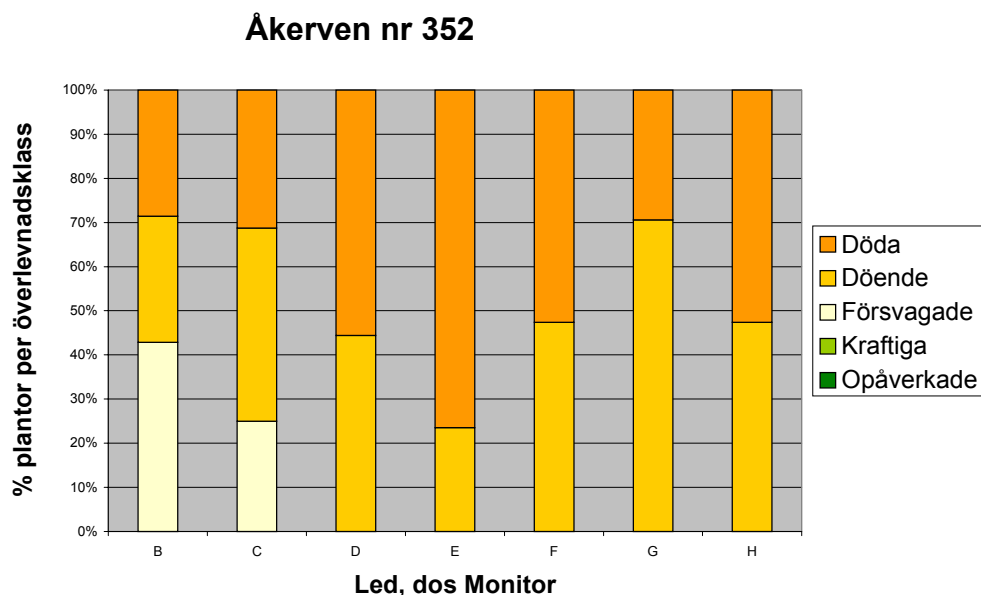


Fig. 14. I den känsligare hälften av proverna, som t ex nr 352, fanns inga livskraftiga plantor kvar ens i den lägsta testade dosen, B.

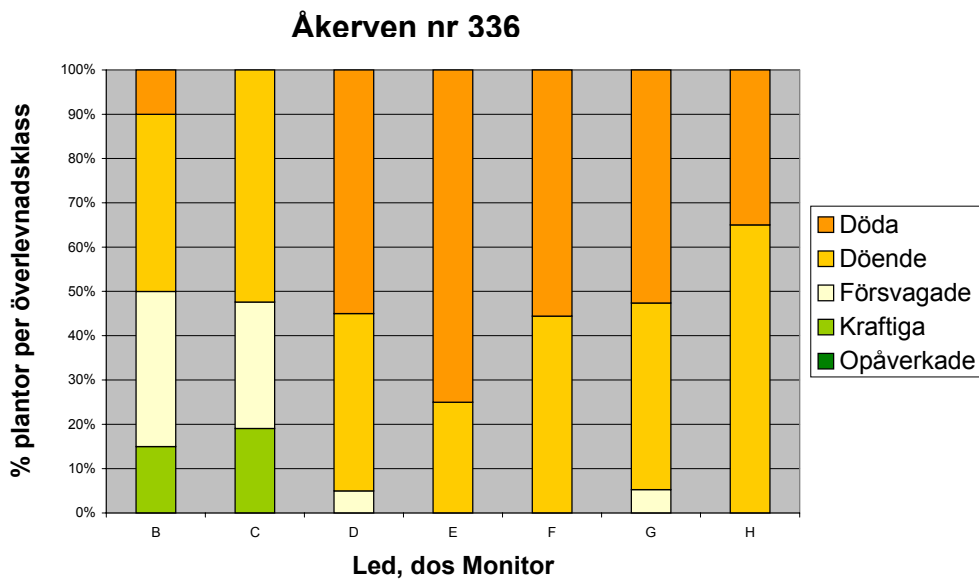


Fig 15. Det fanns ingen överensstämmelse mellan vilka prov som tålde de högsta doserna av sulsosulfuron respektive isoproturon. Prov nr 336 från östra Skåne hörde till de som klassades som resistenta mot isoproturon.

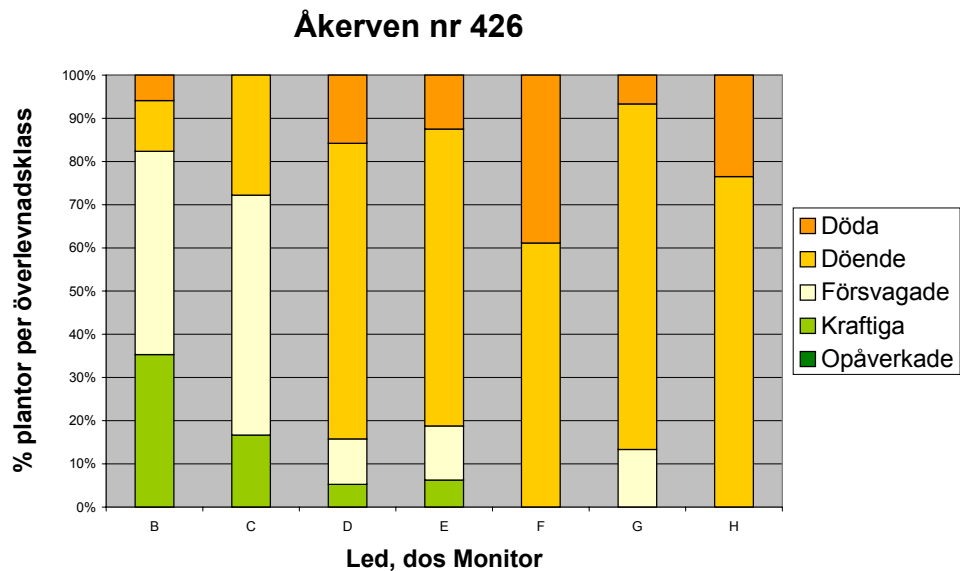


Fig 16. Livskraftiga plantor återfinns som högst i dos E, fem gånger så hög som dos B. Prov nr 426 kom från Öland.

Procentuell överlevnad i åkervensproven efter behandling med Arelon

Liksom för tidigare redovisade experimenten gäller, att både obehandlade och behandlade fält ingår i materialet.



Diagram 7. Vid den högsta testade dosen, H, dog alla plantor i merparten av proven. Endast i 6 prov fanns överlevande plantor i mätbar frekvens, dock mycket försvagade.

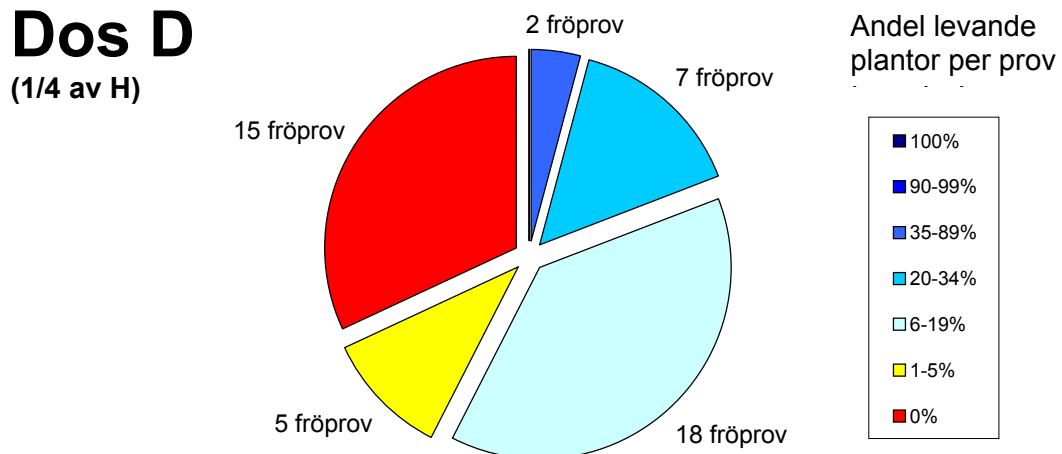


Diagram 8. Vid dosen D var överlevnaden var under 20 % i merparten av proverna. I två prov var den dock över 90 %.

Dos B (1/13 av H)

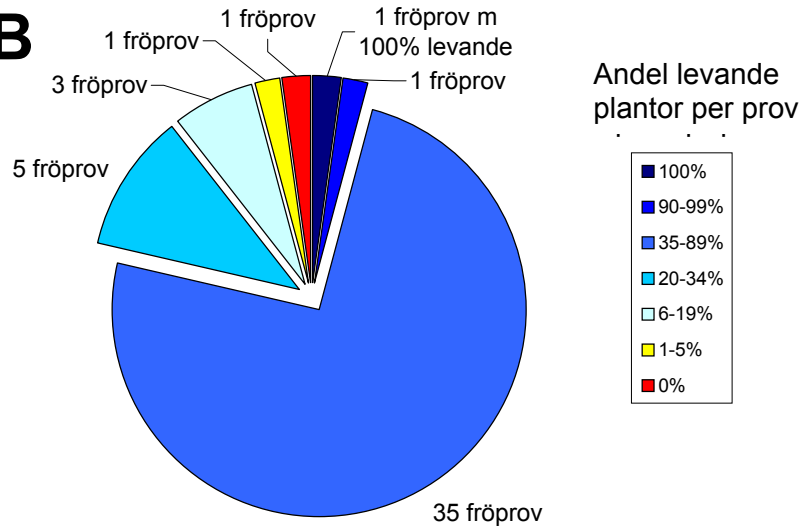


Diagram 9. Redan vid den lägsta testade dosen, B, var effekten av Monitor starkt varierande mellan proven, med en dödlighet från 0 till 100% i extremfallen.

Flyghavre.

Experiment 3 a. Preliminär dos-responsstudie med Event Super

Inget prov var opåverkat av den testade dosstegen, som var lågt lagd (upp till 100 % av normalt rekommenderad fältdos). Detta tyder på att det åtminstone inte förekom resistens pga. förändrat bindningsställe i dessa få prov. Plantantalet var pga. svag groning för lågt för att man skulle kunna dra slutsatser om det förekom resistenstyper som ger en måttligare ökning av dostoleransen, som t e x förhöjd nedbrytning av herbiciden.

Experiment 4 a och b. Test av skottmetod för resistensdiagnos i renkavle och flyghavre.

Metoden att skapa sticklingar av en misstänkt resistent planta genom att dela plantor och kraftigt korta in rötter och skott fungerade mycket väl för renkavle. De omplanterade skotten tillväxte väl, och resultaten av dos-responsförsök i växthus överensstämde med resultaten från dos-responsförsök med frösådda plantor i växthus. I renkavle är detta en användbar metod för diagnos under växtsäsongen, i synnerhet som frömognad inte behöver inväntas utan plantor i vegetativt stadium kan prepareras och insändas för testning.

I flyghavre gjordes en mindre studie av skotttestet, i vilken metoden inte fungerade väl. Ytterligare studier krävs för att få metodiken att fungera för insända vegetativa prov av flyghavre.

Kvickrot

Material och metoder.

Syftet med experimentet var att undersöka genetiskt betingade skillnader mellan svenska kvickrotskloner i förmåga att återväxa efter behandling med glyfosat.

Testmetoden utformades för att framförallt mäta skillnader som kan bero på inre faktorer. Sådana faktorer kan t ex vara att det enzym som glyfosat verkar genom att binda till och blockera, har fått förändringar i bindningsstället för herbiciden, eller produceras i högre mängd än normalt. Inverkan av faktorer som starkt samverkar med yttre växtbetingelser, som t ex förgreningsgrad och rhizomtjocklek minimerades därför så långt det var möjligt.

Förberedelser

Insamling

Under sommaren 2003 insamlades rhizom av kvickrot från omkring 100 provplatser i Sverige. Huvudsakligen kom proverna från Östergötland, Uppland och Skåne. Enstaka prover från övriga landet ingick också i studien. Merparten av proverna kom från åkermark, och några från ruderatmark, strandmiljö, äng eller skogsbryn.

Bekämpningshistoriken på provplatserna varierar från återkommande bekämpning med glyfosat till plaster där glyfosat aldrig använts. För ett antal av proverna är bekämpningshistoriken inte känd. GPS-positioner finns för provpunkterna i Östergötland och Uppland.

Uppfödning

Av det insamlade materialet valdes en sammanhängande rhizombit från varje provplats uppfödning skedde i växthus. Avsikten var dels att få tillgång till en större mängd rhizom med exakt samma genupsättning, dels att jämma ut skillnader i materialet som berodde på den ursprungliga växtplatsens tillväxtbetingelser och rhizomets ålder. Efter några månader kunde en större mängd rhizom skördas i hinkarna. Rhizomen var, efter tillväxt i den luckra och näringsrika jorden, väsentligt mer likartade mellan kloner vad avser rhizomtjocklek och förgrening än i de ursprungliga proven, vilket var den önskade effekten.

Plantering av rhizom för dos-responsförsök

De skördade rhizomen uppdelades efter tjocklek i tre klasser. Mängden rhizom per klass varierade mellan kloner, men för de flesta kloner var merparten av rhizomen i den mellersta tjocklekklassen. Endast denna fraktion användes i experimentet. Rhizomen styckades i bitar med en nod per bit, och planterades lodrätt med tolv bitar per kruka. Av kapacitetsskäl gjordes planteringen i tre omgångar, i mars, april och maj. Sammanlagt planterades 72 kloner. Två kloner valdes som kontroller, och ingick i alla tre planteringsomgångarna, för att möjliggöra jämförelser av kloner i samtliga omgångar.

Kvickroten fick sedan tillväxa först i växthus, sedan utomhus för att akklimatiseras till utomhusklimat inför behandlingen. Kvällen före herbicidbehandling flyttades de in i ett temperaturstyrt odlingsrum. Detta gjordes för att alla kloner skulle ha utsatts för samma temperatur och ljusförhållanden tiden närmast före behandlingen. Detta har visat sig ha kunna ha stor betydelse för bekämpningseffekten.

Morfologiska iakttagelser

En visuell bedömning gjordes då plantorna akklimatiserats till utomhusklimatet av hur pass upprättväxande de var och av behåningsgrad. Växetsättet kan tänkas påverka effekten av behandlingen, beroende på hur väl bladmassan träffas av sprutvätskan med den valda appliceringsmetoden och avrinning från bladen. Även behåringen kan påverka upptaget, i både positiv och negativ riktning.

Herbicidbehandling

Krukorna behandlades i en sluten sprutkammare. Behandlingen motsvarade knappt 130 l/ha sprutvätska med en körhastighet av 5,5 km/timmen och trycket var 3 bar. Den använda formuleringen av glyfosat var Roundup Bio, och som vätningsmedel tillsattes Biowet. Plantorna behandlades med en dossteg, med fyra upprepningar (krukor) per dossteg. Dossstegen var 0, 0.3, 0.9, 1.8, 3 och 5.25 liter/ha. De låga mängderna valdes då den använda experimentmetodiken med korta rhizom antogs göra plantorna väsentligt mer känsliga än i en normal bekämpningssituation i fält.

Efter behandlingen placerades plantorna åter i klimatstyrd odlingskammare under två dygn. Därefter placerades de utomhus. Tre dygn efter besprutningen klipptes det ovanjordiska materialet av, både i behandlade och obehandlade led. Detta gjordes av två skäl. För det första hindrade det fortsatt transport av glyfosat ned i rhizomen i de behandlade leden. Behandlingen skulle annars ha blivit alltför hård för det korta rhizommaterialet som användes i studien, enligt resultat i ett förberedande experiment (ej närmare redovisat i denna rapport). För det andra var den faktor vi ville mäta kvickrotsklonernas förmåga att återhämta sig efter glyfosatbehandlingen och generera nya blad, jämfört med obehandlat led.

Skörd

Sex veckor efter besprutningen klipptes återväxten, dvs den ovanjordiska delen av plantorna av, och dess färskvikt vägdes per kruka.

Bearbetning av resultaten

Återväxten för varje klon beräknades som relativ färskvikt (RFV), som är vikten av ovanjordisk biomassa i glyfosatbehandlat led, delat med vikten av ovanjordisk biomassa i obehandlat led för samma klon. Återväxten analyserades statistiskt i variansanalys, och resultaten kontrollerades med t-test. Endast RFV-resultat med minst 95 % sannolikhet i den statistiska analysen redovisas.

Resultat

Sammanfattning

Skillnaderna i dostolerans mot glyfosat hos kvickrot var generellt små, och troligen inom ramen för en naturlig variation. Toleransnivån bör, med ett möjligt undantag, inte kunna ge märkbart nedsatt effekt av den fulla normalt rekommenderade dosen i en verklig fältsituation. De mest toleranta provernas ursprung var jämnt fördelat mellan de fyra provtagningsregionerna (Skåne, Östergötland, Uppland och norra Sverige). Merparten av dem kom från lokaler i mosaiklandskap med inslag av vallodling och/eller betesmark, och i minst ett fall från mark där glyfosat enligt uppgift aldrig använts.

Det fanns inget entydigt samband mellan klonernas stråstyrka och toleransen mot glyfosat, och inte heller mellan tillväxthastighet i obehandlat led och glyfosattolerans.

Morfologiska karaktärer

Under växtperioden inne i växthus hade samtliga kloner ett ganska likartat utseende, med upprättstående blad, svag behåring och en klart grön bladfärg. Efter några veckor utomhus varierade klonernas utseende däremot tydligt. Hur pass upprättstående växtsätet var, var en entydig egenskap. Behåring varierade dock kraftigt även mellan blad på samma planta, beroende på det klimat som rått under respektive blads utveckling. Det var därmed inte möjligt att göra en korrekt jämförelse mellan klonerna för den karaktären, i synnerhet inte mellan de tre behandlingsomgångarna.

Påverkan på återväxten efter behandling

Dosnivåerna visade sig täcka det önskade effektintervallet, från måttlig effekt hos alla kloner till endast enstaka överlevande. Det gällde alla tre försöksomgångarna. Resultaten för kontrollklonen, 118K, som ingick i alla tre försöksomgångarna, skilde sig tyvärr för mycket mellan omgångarna för att resultaten skulle kunna samköras. Generellt var effekten av dosstegen i den tredje omgången förskjuten med ungefär ett steg. Jämförelse mellan kloner görs därför bara *inom* varje försöksomgång.

Variation mellan kloners förmåga att överleva olika doser av glyfosat:

- Den lägsta dos som helt slog ut återväxten av de känsligaste klonerna var dos C.
- 4 kloner kunde återväxa vid dos F (6 x dos C). Tre av dessa kloner var från Skåne, och en från norra Sverige.
- Ytterligare 5 kloner återväxte i dos E (3 x dos C) Två av klonerna var från Skåne, och en vardera från Östergötland, Uppland och norra Sverige.

Påverkan på mängden återväxt ovanjordisk biomassa jämfört med obehandlat led, RFV

Skillnaderna i effekt på den relativa återväxten (RFV), hos behandlade led, jämfört med obehandlat led av samma klon, analyserades statistiskt med variansanalys. I analysen kunde skillnader i RFV konstateras, med sannolikhet på över 95%, i de lägre doserna B, C och D, men inte i de högre doserna, där merparten av klonerna inte alls återväxte.

Provernas ursprung.

De prover som utmärkte sig för återväxt i högre doser, och/eller för högre relativ återväxt (RFV) i de lägre doserna, kom i lika mån från alla de fyra provtagna regionerna, Skåne, Östergötland, Uppland och norra Sverige. Gemensamt för klonerna var att de kom från provtagningsplatser i blandade landskapstyper, så som mosaiklandskap. Knappt hälften av proven kom från vall, beteshagar, eller väg- och åkerkanter, och drygt hälften från mark i öppen odling (stråsäd) på gårdar med kreatursdrift (med något möjligt undantag).

Tyvärr kunde de tre försöksomgångarna inte samköras i den statistiska analysen av relativ återväxt, och endast i en omgång fanns några signifikanta skillnader mellan regionala klongrupper. Det går därför inte att säga något om regionala skillnader i materialet som helhet, på statistisk grund. Betraktar man de enskilda resultaten, verkar det dock som om variationen är större *inom* regionerna än *mellan* regionerna.

Diskussion – slutsatser av resultaten i annuella gräs

Renkavle

Korsresistens och resistensmekanismer – hur bör det påverka preparatvalet?

Korsresistens pga. förändringar i det gemensamma bindningsstället i växten för Event Super och Focus Ultra konstaterades vara resistensorsak i ett prov från Staffanstorpsstrakten. Merparten av den Event-resistenta renkavlen 2002 saknade dock korsresistens med Focus Ultra, och var troligen resistent genom att bryta ned Event onormalt väl. I dessa fält skulle Focus Ultra haft god effekt.

Man bör dock hålla i minnet att om både Focus Ultra och Event Super används återkommande i växtföljden ökar risken för att resistens pga. förändringar i deras gemensamma bindningsställe ska uppstå i fältet på sikt. Det är också möjligt att förändrat bindningsställe redan blivit vanligare i svenska fält under de tre växtsäsonger som gått sedan 2002. Denna resistenstyp kan nämligen utvecklas snabbt om man ofta och återkommande använder herbicider med samma verkningsätt i ett visst fält. Bekämpningshistoriken från det egna fältet ger därför de bästa ledtrådarna till hur hög risken är för att resistens pga. förändrat bindningsställe ska ha uppkommit.

Eftersom ingen resistens mot Lexus hittades i proverna från 2002, är detta en god kandidat att växla om med i bekämpningen av renkavle. Det finns det dock orostecken. Samvariationen mellan relativt högre motståndskraft mot Lexus och resistens mot Event *kan* (men behöver inte) tyda på att plantor som är resistent mot Event pga. ökad nedbrytning av medlet även kan bryta ned Lexus något bättre än andra plantor gör. Det ska i sammanhanget påpekas att all renkavle fortfarande ändå var mottaglig för normala doser av Lexus. Man bör vara återhållsam med att använda medlet i situationer där fullgod effekt inte kan förväntas, eftersom det kan göra att plantorna med svagt förhöjd motståndskraft överlever relativt bättre än övriga, och motståndskraften mot Lexus gradvis kan förskjutas uppåt.

Det bör påpekas att Lexus och Event Super båda tillhör herbicidgrupper där resistens pga. förändrat bindningsställe snabbt kan uppstå och sprida sig i beståndet vid ofta återkommande användning av herbicider med samma verkningsätt. Att ersätta det ena med det andra är alltså ingen lösning. I värsta fall kan man få ett renkavlebestånd som bär på båda resistensegenskaperna parallellt.

Toleransen mot Lexus 50WG i förhållande till förekomst av Event Super-resistens.

Viss överensstämmelse fanns alltså mellan vilka renkavleprov som var minst känsliga mot Lexus och vilka som var resistent mot Event. Förutsatt att den iakttagna överensstämmelsen inte beror på slumpen, är de möjliga orsakerna främst av två typer. En möjlighet är att de fält som behandlats ofta med ACCas-hämmande medel, som Event Super, också behandlats frekvent med t ex sulfonyleureor. Ökad tålighet mot de två herbicidgrupperna skulle då gradvis kunnat uppkomma i fältet, pga. av processer i plantan som är oberoende av varandra, men som förekommer parallellt. En annan möjlighet är att samma process, ligger bakom överensstämmelsen. Förstärkt nedbrytning av herbicider kan då vara en av de möjliga förklaring.

Den sistnämnda teorin stämmer vid första anblicken illa överens med att det minst Lexus-känsliga provet var prov nr 6A. Den konstaterade resistensmekanismen i nr 6A är förändrat bindningsställe för ACCase-hämmande herbicider. Detta ger korsresistens mellan t ex Event Super och Focus Ultra, men inte med sulfonyleureor, som har ett annat verknings sätt. De båda resistensmekanismerna förstärkt nedbrytning och förändrat bindningsställe för fenoxaprop-P-etyl (i t ex Event Super) kan dock förekomma oberoende av varandra i samma planta i renkavle. Studier av över 600 västeuropeiska fall av resistent renkavle visade att enbart förhöjd nedbrytning av ACCashämmare var vanligast (71 %). Endast i 4 % av resistensfallen var förändrat bidningsställe ensam resistensmekanism, medan båda mekanismerna förekom tillsammans i 25 % av fallen. Det är alltså mycket möjligt att så är fallet även för prov nr 6A. I prov nr 7 (fig 8), taget på grannfältet, fanns dessutom mycket höga frekvenser av Event Super-resistens med förstärkt nedbrytning som den troliga resistenstypen.

Åkerven

I vart tionde fält var isoproturon-resistens så långt utvecklad att tydligt nedsatt effekt kan förväntas. Med tanke på den långvariga användningen var ändå förekomsten av resistent plantor ganska måttlig, både i frekvens i de enskilda fälten och i hur pass hög dos som de resistent plantorna tålde. Slående är dock hur vanligt förekommande isoproturon-resistenta åkervensplantor är i låga frekvenser i alla de provtagna jordbruksområdena. Om åkerven framöver bekämpas ensidigt med isoproturon-preparat skulle risken för resistensutveckling tills medlen blev oanvändbara vara överhängande. Idag finns dock goda möjligheter att omväxla med medel med andra verknings sätt, särskilt som ingen tendens fanns till samband med motståndskraften mot Monitor.

Flyghavre

I den preliminära studien av resistens i flyghavre mot Event Super hittades inga tecken på resistens. Proven var dock få, endast från en region (Uppland), och i de flesta fall för små för en regelrätt dos-responsstudie. Inte minst eftersom flera av de vanligast använda preparaten i Sverige mot flyghavre idag har samma verknings sätt, är vidare undersökningar av resistens och korsresistens i arten önskvärda.

Flyghavre hör, liksom renkavle, till de arter som är mycket utsatta för resistensutveckling. En studie i Minnesota och North Dakota, USA, visade att mellan år 1964 och 2000 hade förekomsten av resistens i flyghavre mot minst en av sex olika herbicider ökat från 9 % av bestånden till 43 % (Mengistu et al., 2003). Intressant är att flera studier visar att resistens mot *båda* de kemiska grupperna av ACCashämmare (FOP och DIM) uppstått snabbare pga. hög användning av FOP-typen (som Event Super), än av DIM-typen (Expand Plus, Focus Ultra, Select) (Legere et al., 2000; Mengistu et al., 2003). Omväxling i växtföljden som möjliggör användning av DIM-typspreparaten kan alltså vara av värde. Kanadensiska studier visar att förekomsten av flyghavre som var resistent mot ACCas-hämmare respektive mot sulfonyleureor var kopplad till ensidiga växtföljder, och för sulfonyleureorna även till reducerad jordbearbetning (Beckie et al., 2004).

Man trycker också på vikten av att inte helt förlita sig på kemisk bekämpning av arten, då manuell plockning av överlevande plantor visat sig vara avgörande för vilka odlare som fick resistent bestånd (Legere et al., 2000). Manuell plockning är m a o kanske det effektivaste sättet att undvika resistens mot de relativt få ogräsmedel som finns att tillgå för den viktiga flyghavrebekämpningen.

Diskussion kvickrot

Naturlig variation eller framkallad resistens

De kloner som visade sig vara mest toleranta mot glyfosat kom från vitt skilda miljöer, från norr till söder, från såväl åker som vall, bete och ruderatmark. Med ett möjligt undantag, fanns ingen kvickrotsklon där kvickroten tålde så höga doser, att effekten av full rekommenderad dos skulle vara nedsatt i en verklig fältsituation. Båda dessa faktorer tyder på att den variation som påvisats i materialet snarare är en naturlig variation än en effekt av selektionstryck.

Men det är också tydligt att det i svensk kvickrot finns en genetiskt betingad variation i hur mycket glyfosat olika kloner tål. Skillnaderna i dostolerans mellan de 72 testade kvickrotsklonerna var statistiskt signifikanta. Finns sådan ärftlig variation i herbicidtolerans, så finns också en risk att ensidig bekämpning kan ge upphov till motståndskraftiga ogräspopulationer av den bekämpade arten. Vaksamhet vad gäller effekten av reducerade doser rekommenderas för att undvika att de mer motståndskraftiga klonerna får gradvis övertag i fältet.

Resistensmekanism

Vi konstaterar att vissa kloner tål sex gånger mer glyfosat än andra, baserat främst på inre egenskaper⁴, okänt exakt vilka. Utöver denna variation, som experimentet syftat till att uppskatta, varierar troligen toleransen även pga. yttre egenskaper, som t ex förgreningsgrad av rhizomen. Variationen i verklig fälttolerans skulle alltså kunna vara ännu större än vad vårt försök visar – om de inre och yttre egenskaper som bidrar till tolerans samtidigt skulle finnas i samma planta.

Skillnaden i dostolerans mellan klonerna var så måttlig, att det inte är troligt att det i vårt material förekommer kloner där förändrat bindningsställe pga. en enstaka mutation orsakat toleransen. Detta överensstämmer med opublicerade resultat från en kvickrotsstudie vid institutionen i slutet av 1990-talet, där en något annan metodik användes än i detta försök.

Spridningsrisk för eventuell glyfosatresistens

Glyfosat hör inte till de bekämpningsmedel som är mest frekvent återkommande i normala svenska växtföljder. Det medför att selektionstrycket på åkermark bör vara ganska lågt. Den bekämpningssituation där resistensutveckling i kvickrot mot glyfosat är troligast är på mark där glyfosat används minst en gång per år. Detta är väl sällan fallet på jordbruksmark i Sverige, men kan förkomma på t ex ruderatmark. Risken för

⁴ exempel på sådana egenskaper är hur växten transporterar, lagrar, bryter ned eller blockerar herbicidens bindning i plantan

att resistens skulle spridas därifrån till jordbruksmark skulle vara högst om resistensen berodde på en enskild mutation, som lätt kunde överföras via pollen. Är det i stället, som våra resultat antyder, fråga om måttlig tolerans, är ärftligheten troligen mer komplicerad, och sannolikheten för spridning via pollen i så fall väsentligt lägre.

Resistensstrategier

Herbicidresistens utvecklas när plantor som bär på en viss resistensegenskap gynnas av odlingsåtgärderna år efter år. Den viktigaste principen för att motverka resistensutveckling är därför att **ständigt växla i sina åtgärder mot en ogräsart**. Med ett sådant förebyggande angreppssätt är möjligheten störst att uppnå ett gott resultat utan att tvingas till mer drastiska åtgärder.

Några goda allmänna regler finns :

- *Anpassa bekämpningen efter situationen på det enskilda fältet*, som ogrästryck och det aktuella resistensläget. Var observant på olika tecken på begynnande resistens, som överlevande plantor bredvid döda av samma art, eller att en viss art överlever bekämpning av medlet, trots att andra arter kontrolleras normalt av behandlingen.
- *Att hålla nere ogräsmängden på fältet*.
Ju färre plantor, desto mindre risk att plantor som bär på resistensgener förekommer.
- *Variera växtföljden*
Odlar inte samma gröda, t ex vårsäd, år efter år. Inslag av andra grödor gör det möjligt att använda andra herbicider eller minska användningen
- *Att växla mellan preparat med olika verkningsätt*.
På så sätt fördröjs utveckling av resistens som beror på förändringar i ett visst bindningsställe för herbicider i växten. Vid flyghavrebekämpning, notera att Event Super, Focus Ultra och Select alla har samma verkningsätt och bör omväxlas med andra typer av preparat.

Hur vet man då vilket verkningsätt en viss herbicid har? Agrokemiindustriens samarbetsorgan för att förhindra resistens, HRAC, har gjort en sådan klassificering (Schmidt, 1997). Enklare tillgänglig och väl uppdaterad är dock databasen "International survey of herbicide resistant weeds", www.weedscience.com. (Heap, 2001). Här kan man söka på verksam beståndsdel och få upp listor över olika herbicider med angivelse både av verkningsätt och av kemisk gruppstillhörighet. För exempel på hur dessa klassificeringar kan användas, se Växtskyddscentralernas Ogräsbrev 2002-09-09 "Resistent renkavle finns även i Sverige"(Hallqvist, 2002)

- *Använd alternativa bekämpningsåtgärder som kombineras med den kemiska bekämpningen*.
Undvik allt som liknar plansprutning, och eftersträva så stor variation som möjligt i bekämpningen. Att växla mellan minst tre olika verkningsmekanismer, och dessutom plöja varje år är troligen en långsiktigt hållbar strategi mot

resistent renkavle (Cavan et al., 2000; Chauvel et al., 2001). Enskilda fläckar eller delar av fältet kan behöva särskilda insatser.

- *Använd medel som tillhör olika kemiska grupper, om preparat med samma verkningsätt ändå används flera gånger i växtföljde.*
I renkavle kan t ex de flesta Event-resistenta bestånden från 2002 bekämpas väl med Focus Ultra. Detta fördröjer resistensutveckling pga. förhöjd nedbrytning av herbicider, som tycks vara den vanligast förekommande resistenstypen hittills i arterna i Sverige. Denna strategi skyddar dock *inte* mot resistens pga. förändrat bindningsställe. Även de olika kemiska herbicidgrupper som förekommer inom ett visst verkningsätt finns redovisade i den tidigare nämnda databasen (Heap, 2001)
- *Var återhållsam med kemisk bekämpning i situationer där fullgod effekt inte kan förväntas.*
Detta gäller även de herbicider för vilka resistens ännu inte konstaterats. Annars kan man gradvis få ett allt motståndskraftigare bestånd, eftersom känsligheten mot de testade herbiciderna varierar. Särskilt i fall där dostoleransen samvarierat, som för Event och Lexus, bör god effekt vid varje bekämpningstillfälle eftersträvas.

Vissa strategier kan vara effektiva mot resistens, men också innebära vissa risker.

- *Växla mellan olika dosnivåer*
Olika resistensmekanismer antas gynnas av en låg respektive hög dosnivå, vilket skulle kunna utnyttjas som en omväxlande faktor i en resistensstrategi. God effekt av bekämpningen ska dock eftersträvas vid varje bekämpningstillfälle. Majoriteten av de resistensfall som hittats i denna studie har en måttligt förhöjd dostolerans, troligen pga. förhöjd nedbrytning. En dos hög nog att döda dessa planter kan vara en väg att reducera korsresistens mellan herbicider med olika verkningsätt (Gardner et al., 1998), och sedan använda dessa omväxlande. Risken finns dock att man förskjuter resistensen i beståndet mot relativt mer resistens pga. förändrat bindningsställe.
- *Användning av tankmixar av olika herbicider.*
Försiktighet rekommenderas, särskilt om blandningarna inte sanktionerats av de ansvariga kemikaliefirmor som för respektive produkt. Tankmixar rekommenderas ibland som en verksam strategi mot resistensutveckling (Diggle et al., 2003). Det är dock flera långtgående krav som ska vara uppfyllda för att den önskade fördröjningen av resistensuppbyggnad ska komma till stånd. Bl. a ska de ingående herbiciderna ha olika verkningsätt, olika nedbrytningsväg i växten, finnas kvar lika länge i plantan/marken och kontrollera samma arter med lika god effekt! (Gressel, 1992). Även om sådana blandningskomponenter faktiskt kan hittas, så blir kostnaden hög för att använda mer än en herbicid i full dos, och selektiviteten mot grödan kan i vissa fall riskeras (Wrubel and Gressel, 1994). Vinsten är också osäker – både resistens pga. förhöjd nedbrytning och multipelresistens mot flera olika herbicider pga. flera parallellt förekommande resistensgener kan ändå uppstå.

Rapportering av projektets resultat

Delar av resultaten av projektet har presenterats vid en av Jordbruksverket anordnad resistensdag i Linköping 2003, vid en konferens anordnad av HHS i Skara 2004, och vid möten med rådgivare och representanter för agrokemiindustrin under projektets gång. De slutliga resultaten kommer att publiceras i vetenskapliga tidskrifter, samt vid de regionala växtskyddskonferenserna under år 2006.

Referenser

Referenser

- Arvidsson, T., Fogelfors, B. M., and Fogelfors, H. (1999). "Herbicidresistens hos ogräs - mekanismer och åtgärder."
- Baerson, S. R., Rodriguez, D. J., Biest, N. A., Tran, M., You, J. S., Kreuger, R. W., Dill, G. M., Pratley, J. E., and Gruys, K. J. (2002a). Investigating the mechanism of glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science* **50**, 721-730.
- Baerson, S. R., Rodriguez, D. J., Tran, M., Feng, Y. M., Biest, N. A., and Dill, G. M. (2002b). Glyphosate-resistant goosegrass. Identification of a mutation in the target enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. *Plant Physiology* **129**, 1265-1275.
- Beckie, H. J., Hall, L. M., Meers, S., Laslo, J. J., and Stevenson, F. C. (2004). Management practices influencing herbicide resistance in wild oat. *Weed Technology* **18**, 853-859.
- Beckie, H. J., Thomas, A. G., Legere, A., Kelner, D. J., Van Acker, R. C., and Meers, S. (1999). Nature, occurrence, and cost of herbicide-resistant wild oat (*Avena fatua*) in small-grain production areas. *Weed Technology* **13**, 612-625.
- Boerboom, C. M., Wyse, D. L., and Somers, D. A. (1990). Mechanism of glyphosate tolerance in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*). *Weed Science* **38**, 463-467.
- Boutsalis, P. (2001). Syngenta Quick-Test: A rapid whole-plant test for herbicide resistance. *Weed Technology* **15**, 257-263.
- Brazier, M., Cole, D. J., and Edwards, R. (2002). O-glucosyltransferase activities toward phenolic natural products and xenobiotics in wheat and herbicide-resistant and herbicide-susceptible black-grass (*Alopecurus myosuroides*). *Phytochemistry* **59**, 149-156.
- Cavan, G., Cussans, J., and Moss, S. R. (2000). Modelling different cultivation and herbicide strategies for their effect on herbicide resistance in *Alopecurus myosuroides*. *Weed Research* **40**, 561-568.
- Chauvel, B., Guillemain, J. P., Colbach, N., and Gasquez, J. (2001). Evaluation of cropping systems for management of herbicide-resistant populations of black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Crop Protection* **20**, 127-137.
- Claude, J.-P., Didier, A., Favier, P., and Thalinger, P. P. (2004). Epidemiological study of black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) herbicide resistance in cereal crops through the analysis of a European database. In "XIIème Colloque international sur la biologie des mauvaises herbes", pp. 567-574, Dijon.

- Delabays, N., and Mermillod, G. (1999). Développement d'un biotest rapide pour confirmer les cas de résistance à l'isoproturon chez le jouet-du-vent (*Apera spica-venti*). *Revue suisse Agric.* **31**, 245-248.
- Delye, C., Zhang, S., Michel, A., Matejicek, A., and Powles, S. (2005). Molecular bases for sensitivity to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors in black-grass. *Plant Physiology* **137**, 794-806.
- Diggle, A. J., Neve, P. B., and Smith, F. P. (2003). Herbicides used in combination can reduce the probability of herbicide resistance in finite weed populations. *Weed Research* **43**, 371-382.
- Gardner, S. N., Gressel, J., and Mangel, M. (1998). A revolving dose strategy to delay the evolution of both quantitative vs major monogene resistances to pesticides and drugs. *International Journal of Pest Management* **44**, 161-180.
- Gressel, J. (1992). Addressing real weed science needs with innovations. *Weed Technology* **6**, 509-525.
- Gressel, J. (2002a). Evolution of resistance to herbicides. In "Molecular Biology of Weed Control", pp. 78-121. Taylor and Francis, London.
- Gressel, J. (2002b). Molecular biochemistry of resistances that have evolved in the field. In "Molecular Biology of Weed Control". Taylor and Francis, London.
- Hall, L. M., Moss, S. R., and Powles, S. B. (1997). Mechanisms of resistance to aryloxyphenoxypropionate herbicides in two resistant biotypes of *Alopecurus myosuroides* (blackgrass): Herbicide metabolism as a cross-resistance mechanism. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **57**, 87-98.
- Hallqvist, H. (2002). "Ogräsbrev. Resistent renkavle finns även i Sverige." Jordbruksverket, Växtskyddscentralen Alnarp.
- Heap, I. M. (1997). The occurrence of herbicide-resistant weeds worldwide. *Pesticide Science* **51**, 235-243.
- Heap, I. M. (2001). The international survey of herbicide resistant weeds. *Internet site: www.weedscience.com*.
- Lee, L. J., and Ngim, J. (2000). A first report of glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica* (L) Gaertn) in Malaysia. *Pest Management Science* **56**, 336-339.
- Legere, A., Beckie, H. J., Stevenson, F. C., and Thomas, A. G. (2000). Survey of management practices affecting the occurrence of wild oat (*Avena fatua*) resistance to acetyl-CoA carboxylase inhibitors. *Weed Technology* **14**, 366-376.
- Letouze, A., and Gasquez, J. (2003). Enhanced activity of several herbicide-degrading enzymes: a suggested mechanism responsible for multiple resistance in black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Agronomie* **23**, 601-608.
- Mathiassen, S. (2002). personlig kommunikation.
- Mayor, J.-P., and Maillard, A. (1997). Découverte d'un biotype de jouet-du-vent résistant à l'herbicide isoproturon à Changins. *Revue suisse Agric.* **29**, 39-44.

- Mengistu, L. W., Messersmith, C. G., and Christoffers, M. J. (2003). Diversity of herbicide resistance among wild oat sampled 36 yr apart. *Weed Science* **51**, 764-773.
- Moss, S. (1999a). Rothamsted rapid resistance test. For detecting herbicide resistance in black-grass, wild oats and ryegrass. *IACR-Rothamsted*.
- Moss, S. R. (1990). Herbicide Cross-Resistance in Slender Foxtail (*Alopecurus-Myosuroides*). *Weed Science* **38**, 492-496.
- Moss, S. R. (1993). Testing black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) for resistance. In "Indian Society of Weed Science. International Symposium." Hisar, India.
- Moss, S. R. (1999b). Rothamsted rapid resistance test. For detecting herbicide resistance in black-grass, wild oats and ryegrass. *IACR-Rothamsted*.
- Moss, S. R. (2002). Herbicide-Resistant Weeds. In "Weed Management Handbook" (R. E. L. Naylor, ed.), pp. 225-252. Blackwell Publishing, Oxford.
- Moss, S. R. (2003). personlig kommunikation.
- Moss, S. R., and Cussans, G. W. (1991). The development of herbicide-resistant populations of *Alopecurus myosuroides* (Black-Grass) in England. In "Herbicide resistance in weeds and crops." (J. C. Caseley, G. W. Cussans and R. K. Atkin, eds.), pp. 45-55. Butterworth-Heinemann, Oxford.
- Niemann, P. (2000). Resistenz von Windhalm (*Apera spica-venti*) gegenüber Isoproturon. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtschaft*. **376**, 147-148.
- Niemann, P., Bunte, R., and Hoppe, J.-H. (2002). Erste Nachweise von Flupyr-sulfuron-Resistenz bei *Alopecurus myosuroides* in Norddeutschland. *Gesunde Pflanzen* **54**, 183-187.
- Olofsson, S., and Nilsson, I. (1999). Ökad användning av glyfosat - beskrivning och orsaker. *Rapport från projektet CAP:s miljöeffekter. Miljöskyddsensheten*.
- Park, K. W., and Mallory-Smith, C. A. (2004). Physiological and molecular basis for ALS inhibitor resistance in *Bromus tectorum* biotypes. *Weed Research* **44**, 71-77.
- Park, K. W., and Mallory-Smith, C. A. (2005). Multiple herbicide resistance in downy brome (*Bromus tectorum*) and its impact on fitness. *Weed Science* **53**, 780-786.
- Perez, A., and Kogan, M. (2003). Glyphosate resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. *Weed Research* **43**, 12-19.
- Powles, S. B., Lorraine-Colwill, D. F., Dellow, J. J., and Preston, C. (1998). Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. *Weed Science* **46**, 604-607.
- Preston, C., Tardif, F. J., Christopher, J. T., and Powles, S. B. (1996). Multiple resistance to dissimilar herbicide chemistries in a biotype of *Lolium rigidum* due to enhanced activity of several herbicide degrading enzymes. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **54**, 123-134.
- Price, L. J., Moss, S. R., Cole, D. J., and Harwood, J. L. (2004). Graminicide resistance in a blackgrass (*Alopecurus myosuroides*) population correlates with insensitivity of acetyl-CoA carboxylase. *Plant Cell and Environment* **27**, 15-26.

- Schmidt, R. R. (1997). HRAC classification of herbicides according to mode of action. *BCPC conference - Weeds 1997.*, 1113-1140.
- Shieh, W. J., Geiger, D. R., and Buczynski, S. R. (1993). Distribution of Imported Glyphosate in Quackgrass (*Elytrigia- Repens*) Rhizomes in Relation to Assimilate Accumulation. *Weed Science* **41**, 7-11.
- Sjödal, S. (2005). Resistensnivå i svensk renkavle mot två viktiga gramincider. In "Examensarbeten/Seminariuppsatser. Institutionen för ekologi och växtproduktionslära", pp. 34. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Skåneförsöken (2002). L5-2450-01. Ogräsbekämpning: Höstvete, örtogräs + renkavle. Vol. 2006. Fältforsk, SLU.
- Tardif, F. J., and Leroux, G. D. (1991a). Response of Quackgrass Biotypes to Glyphosate and Quizalofop. *Canadian Journal of Plant Science* **71**, 803-810.
- Tardif, F. J., and Leroux, G. D. (1991b). Translocation of Glyphosate and Quizalofop and Metabolism of Quizalofop in Quackgrass Biotypes (*Elytrigia-Repens*). *Weed Technology* **5**, 525-531.
- Tranel, P. J., and Wright, T. R. (2002). Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? *Weed Science* **50**, 700-712.
- Ulf-Hansen, P. F. (1988). "The dynamics of natural selection for herbicide resistance in grass weeds," University of Liverpool.
- VanGessel, M. J. (2001). Glyphosate-resistant horseweed from Delaware. *Weed Science* **49**, 703-705.
- Weersink, A., Llewellyn, R. S., and Pannell, D. J. (2005). Economics of pre-emptive management to avoid weed resistance to glyphosate in Australia. *Crop Protection* **24**, 659-665.
- Wrubel, R. P., and Gressel, J. (1994). Are herbicide mixtures useful for delaying the rapid evolution of resistance? A case study. *Weed Technology* **8**, 635-648.

Förteckning över bilagor

Bilaga 1. Tabell 10. Referensprov IPU, Experiment 2 a.

Bilaga 2. Resultatfiler renkavle

Bilaga 3. Resultatfiler åkerven_ Arelon

Bilaga 4. Resultatfiler åkerven_Monitor

Bilaga 5. Resultatfiler kvickrot_Roundup Bio