



FAUPE – Forbedring af Afgrødernes Udbytte og Produktionsmæssige Egenskaber

Financeret af promilleafgiftsfonden

Forsøg og resultater fra rodscreening i væksthuse og semifield

2014, 2015 og 2016

Af

**Eric van der Graaff
Simon Fiil Svane
Kristian Thorup-Kristensen
Si Chen
Jesper Svendsgaard**

**Institut for Plante- og Miljøvidenskab
Højbakkegaard Allé 13
2630 Taastrup**

Væksthus og semifield

Generelle formål

Formålet var at udvikle hurtige og effektive screenings metoder for rodvækst som kan benyttes lokalt af forædlerne til cost-efficient og high-throughput screening af forædlings populationer. De udviklede semi-field metoder benytter homogeniseret jord fra naturlige dyrkningsbetingelser efterlignende forhold der findes under naturlige dyrkningsbetingelser. Derfor kan der opnås højere præcision end hvad der kan forventes under markforhold.

Indledning

En af FAUPES hypoteser er at optimering af NUE og tørketolerance kan opnås ved at øge afgrødernes roddybde. Derfor skal der udvikles metoder til screening af roddybde karakteristika ved at definere og bestemme parametre, der reflekterer hastigheden af rodvækst samt akkumulation af rodlængden i bestemte dybder. Metoder, der traditionelt bruges i markforsøg er meget tidskrævende, med udtagning af dybe jordprøver, hvorefter rødderne vaskes ud af jorden og kvantificeres. Alternativt findes der screeningsteknikker i væksthush, hvor kunstige vækstmedier tjener som hurtige og præcise metoder til rodscreening, men de kan ikke modellere jordens fysiske, kemiske og strukturmæssige forhold, hvilket er meget relevante faktorer for at forstå røddernes vækst og funktion under naturlige vækstforhold.

Rhizotronrør til screening af rødder semi-field forhold blev udviklet ved at bruge jord med en landbrugsmæssig traditionel dyrkningshistorie, i setup så tæt som muligt på naturlige markforhold, ved bl.a. at pakke jorden på bestemt måde. Tilstedeværelsen (læs: synligheden) af rødder er ikke nødvendigvis et mål for rodaktiviteten. Derfor blev rodvækst bedømt ved henholdsvis direkte visuel bestemmelse og ved indirekte metoder for at bestemme røddernes biologiske aktivitet i bestemte dybder. Metoderne blev udviklet og valideret i adskillige eksperimenter over flere år ved brug af 2 par hvide sorter i henholdsvis vårhvede (Dæke og April Bearded) og vinterhvede (Genius og Tabasco) med forskellige hastighed af rodvækst (April Bearded og Tabasco med hurtig rodvækst, Dæke og Genius med langsommere) som empirisk var kendt fra tidligere års forsøg i mark og semi-field.

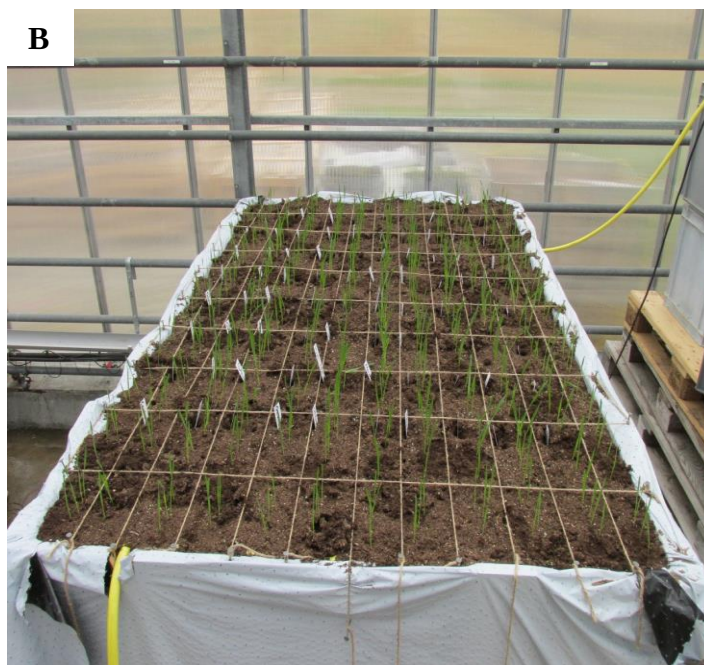
Metoder:

Forberedelse af rhizotronrør:

Standard eksperimenterne for vækst var baseret på rhizotronrør i form af gennemsigtige rør med diameter 75 mm og længde 100 cm. Rørene blev fyldt med først underjord og derefter muldjord fra lokal landbrugsmark ved forsøgsgårdene i Taastrup, netop for at sammenligne op mod markforsøg med så ens dyrkningsmedier som muligt. Der blev udført ensartet komprimering af jorden i rhizotronrørene ved hjælp af en pneumatisk vibrator i et specifikt tidsrum ved opfyldning af rørene. Herefter justeredes både jordsøjleens højde samt vægt af minirhizotron, så der var en maksimal variation mellem rhizotronrørene på 1 %. Kernerne af de hvedesorter, der skulle bruges (Dæke, April Bearded, Genius og Tabasco), blev forspiret til første rod var synlig, og derpå blev kernen overført til rhizotronrøret. Herved blev der etableret 1 plante per minirhizotron for at simulere de pladsforhold, som planten forventes at have ude i et landbrugssystem.

Rhizotronrørene blev placeret i bokse med plads til 20 stk., 10 i hver af 2 rækker. Herefter blev

kasserne placeret under drivhustag med åbne sider for at repræsentere semi-field forhold. Der blev lavet hhv. et herbicid setup, et ^{15}N setup og setup med ”rod-kegler”. I herbicid setup blev herbicidet Command placeret i de nedre 10 cm af rør i en 10 gange normal koncentration for at sikre effekt. I ^{15}N forsøget blev isotop mærket N gødning ($\text{NH}_4\text{.}^{15}\text{NO}_3$) tildelt med undervanding. I kegle eksperimentet blev kegler med en diameter der efterlod 1 mm åbning hele vejen rundt mellem kegler og indervæg på minirhizotron placeret i 85 cm dybde, for at tvinge rødderne ud til rørets kant.



Figur 1: **A:** Setup af hhv. 20 rhizotronrør i lukket boks under semifield forhold. **B:** Herbicid-boks med plads til 20 hvedesorter i plot design med 4 gentagelser. Hvert subplot er afgrænset med snore.

Analyse af parameter:

Parametrene 1-4 repræsenterer direkte malinger af den fysiske tilstedeværelse af rødder i en bestemt dybde, mens parametrene 5-7 repræsenterer indirekte malinger af biologisk rodaktivitet i en bestemt dybde.

- 1) *Rodlængde* langs væggen på rhizotronrørene: Målt med måleband.
- 2) *Rodfremkomst* i bunden af rørene: Visuelt bedømt ved rørets udmunding i bunden
- 3) *Roddensitet* ved væggen på rørene: Visuelt bedømt i de nederst 10 cm af hvert rør (90-100 cm) som antal rødder per cm tællelinje med et grid på 1 cm^2
- 4) *Antal rødder ved keglen*: Visuelt bedømt ved hele væggens omkreds i den dybde hvor keglens bredeste del er placeret. Som reference blev tilsvarende minirhizotron bedømt for rødder ved væggen i hele omkreds, her uden indsat kegler.
- 5) *Udvikling af herbicid symptomer* grundet Command optag: Blev visuelt bedømt på en skala fra 1-5 alt efter blegning af bladene suppleret med tælling af antal blade med symptomer.
- 6) *Optag af ^{15}N* : Efter tildeling af ^{15}N ($t=0$) blev det yngste fuldt udviklede blad høstet med enten 4 eller 5 dages interval fordelt på totalt 3 tidspunkter.

- 7) *Optag af vand*: Parrot¹ sensors blev placeret i bunden af rhizotronrørene, og konduktivitet som mål for jordvand blev logget for hver 15 minut i forsøgets levetid.

Herbicid-boks eksperimenter 2015 og 2016

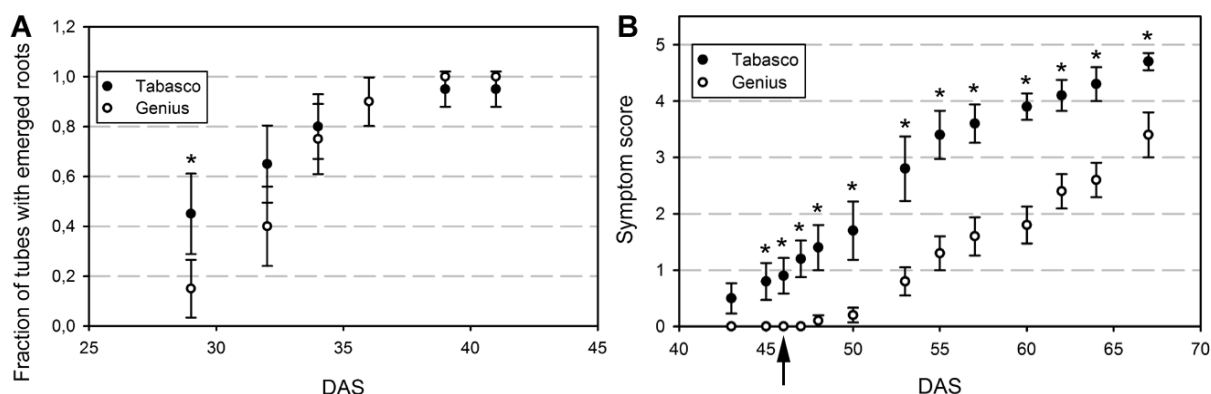
Hvede 2015: Baseret på udvikling af herbicidsymptomer i minirhizotron eksperimentet blev der i 2015 opsat et valideringseksperiment i større skala ved at bruge en boks af størrelsen (B x L x H) 1.3 m x 1.8 m x 1.3 m. Herbicidet Command et jordlag på 10 cm tykkelse i 95-105 cm dybde i 20 gange normal markdosis. Der blev udsået 20 hvedesorter i sub-plots a 9x19 cm, i 4 blokke af 20 subplots per blok. De 20 sorter blev udvalgt på baggrund af empirisk viden om forventet forskelle i sorternes rodvækst, bl.a. erfaret fra tidligere markforsøg på Højbakkegård, informationer fra forædlerne og litteraturstudier. Sorternes navne er præsenteret i figur 3. Der blev etableret 4 planter per subplot for at simulere de pladsforhold, som planterne forventes at have i agro-økosystemer. Langs kassens vægge havde hver blok værneplots a 9x19 cm med sorten Genius for at minimere randeffekter. Planterne blev scoret for hhv. plantehøjde, antal blade og antal sideskud frem til de første visuelle symptomer grundet Command blev observeret. Graden af symptomer på bladene blev vurderet daglig på en skala fra 1-6, sammen med optælling af antal planter per sub-plot der viste symptomer.

Græsser 2016: I 2016 blev der gennemført yderligere et eksperiment i herbicidboksen, denne gang med græssorter leveret fra DLF, bestående af diploide og tetraploide græsser. Vi antog at herbicidet stadig fandtes i tilstrækkelig mængde i underjorden i kassen, så jorden i kassen blev vandet op og gjort klar til nyt forsøg. Planterne blev fremstillet som speedlingplanter, der på DLF blev dyrket frem så der var et ensartet plantemateriale til forsøgets start. Græsserne blev plantet i August og vækst og udvikling af herbicidsymptomer fulgt 3 måneder frem. Det blev nødvendigt at nedklippe græsserne en gang, fordi de kraftigst voksende sorter skyggede kraftigt for de svagere inden de første symptomer begyndte at vise sig. Udviklingen af symptomer blev derefter registreret på genvæksten, hvor symptomerne blev kraftige som håbet, men også i genvæksten blev græssernes vækst så kraftig at skygning imellem planterne blev et problem.

Resultater

Rhizotron eksperimenter: I vinterhvede eksperimentet fra 2014 viste observationerne for direkte fysiske rodparametre i form af *rodlængde*, *rodfremkomst* (i bunden af rhizotronrørene) og *rod densitet* kun kortvarigt små forskelle mellem Tabasco (hurtig rodvækst) og Genius (langsom rodvækst). Figur 2 A viser her parameteren rodfremkomst, og hvordan forskelle kun ses i starten af eksperimentet. I modsætning hertil var der klare signifikante forskelle i udvikling af *symptomer pga. herbicidet Command* (figur 2 B), hvor Tabasco vist tidligste samt tydeligste symptomer over en lang tidsperiode af 25 dage. De forskellige parametre blev scoret i gentagelser af eksperimentet i 2014 og 2015 med samme resultater.

¹ Se detaljer om parrot i rapport med præsentation af rodundersøgelser i markforsøg, arbejdsmappe 1 og 3.

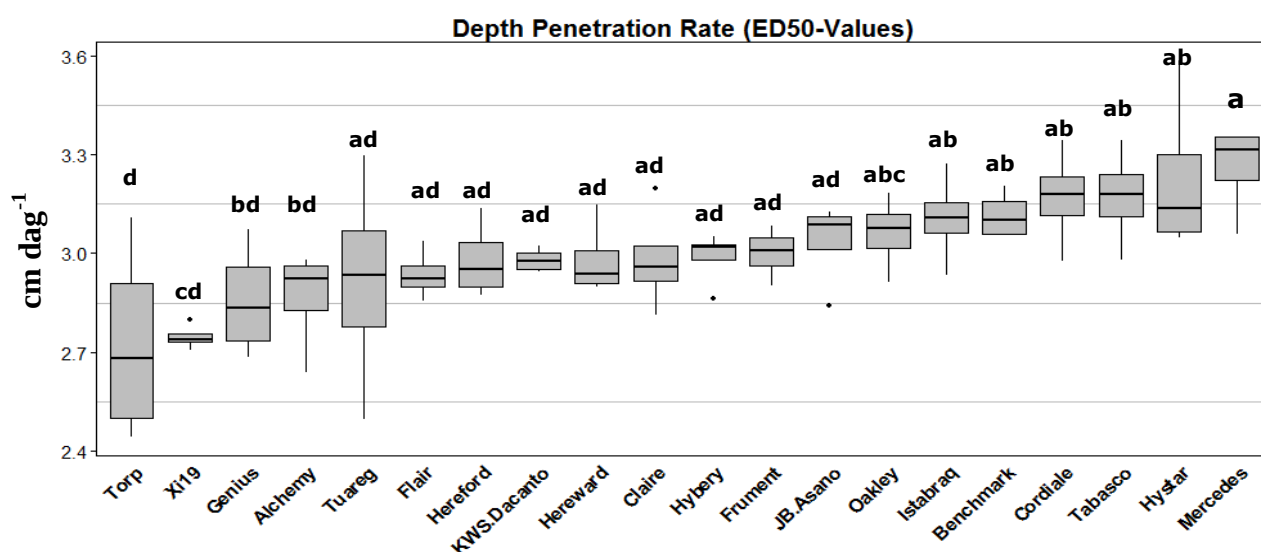


Figur 2. **A:** Sammenligning af rodfremkomst i bund af rhizotronrør mellem sorterne Tabasco og Genius. **B:** Sammenligning af herbicidsymptomer pga. Command I sorterne Tabasco og Genius. Alle resultater fra 2014 eksperiment. Pil i B viser signifikant forskel mellem Genius og Tabasco 46 DAS. DAS = Days After Sowing; * = signifikant forskel ($p < 0.05$) mellem analyserede sorter.

Selvom sorterne med hurtig rodvækst (April Bearded og Tabasco) generelt viste højere værdier i form af længde, fremkomst og densitet i flere forsøg, så var der i de fleste tilfælde ikke signifikante forskelle imellem sorterne. Modsat dette viste herbicid symptomer klart signifikante forskelle imellem sorterne. ^{15}N resultaterne understøttede herbicidforsøgene, hvor sorter med hurtigt voksende rødder havde højest ^{15}N optag ved alle 3 tidspunkter, hvor der blev målt på nyeste udviklede blad.

Brugen af rod-kegler til at tvinge rødder ud til rørets væg viste konsekvent en klar forskel mellem Tabasco og Genius sammen med en 2 gange højere roddensitet i 90-100 cm og 1.5 – 1.8 gange højere rod densitet ved væggen, hvor keglen var placeret.

Baseret på de solide data fra herbicid eksperimenterne i rhizotronrør, blev herbicid-boks eksperimentet gennemført med 20 sorter og 4 blokke. Røddernes evne til dyb vækst/penetreringsevne blev kvantificeret ud fra såkaldte ED50 (rodpenetrering i cm dag^{-1}) værdier beregnet i det statistiske software R. Forsøget viste klare forskelle i sorternes evne til at dyb rodvækst (figur 3). Det viste sig dog, at randeffekter gav en betydelig statistisk varians i data for de fleste sorter, hvorfor der kun var få signifikante forskelle i beregnet rodvæksthastighed.



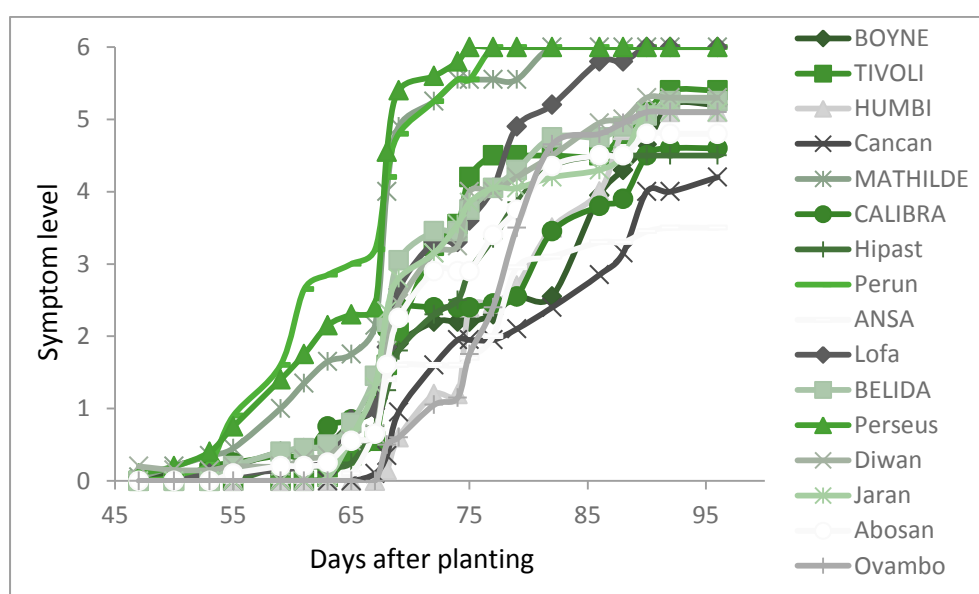
Figur 3. Boxplot af sorternes evne til rodpenetrering (cm/dag) viser sig signifikant for flere sorter trods stor varians i mange tilfælde. Den vandrette linje i hver boksplot angiver gennemsnittet fra 4 subplots. Bogstaver indikerer signifikante forskelle.

Forsøg med græssorter i herbicidboksen i 2016 viste igen at metoden kan være effektiv til at screene et større antal genotyper, og er egnet til praktisk brug og opskalering, der er dog stadig brug for erfaringer og tilpasninger. Græsserne viste sig at have meget langsommere rodvækst end hveden (figur 5), selvom de blev plantet ud frem for at blive sået ud, tog det dobbelt så lang tid før vi observerede symptomerne. Der var klare og signifikante forskelle imellem sorterne.

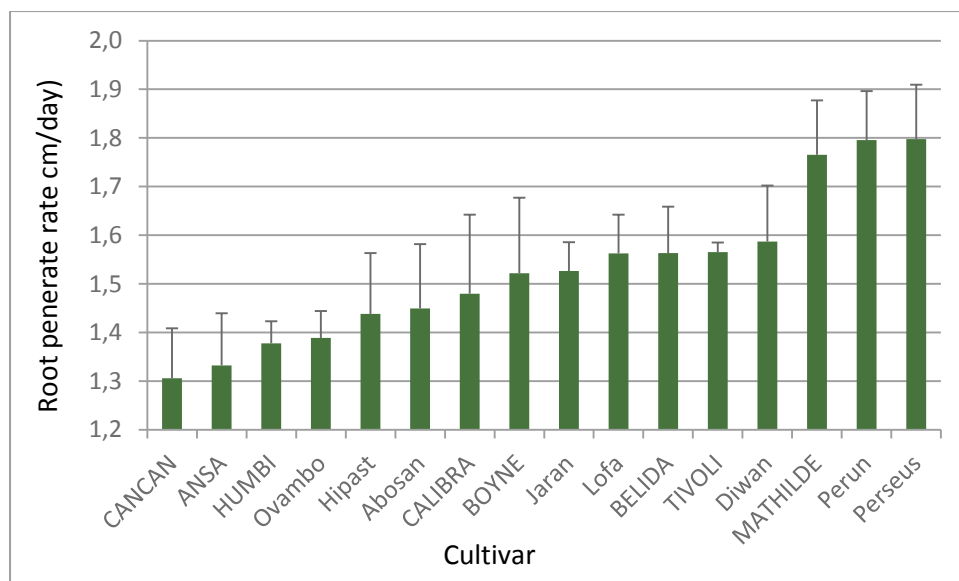
Med græssernes længere vækstperiode blev planterne kraftigere, og der opstod kraftig nabokonkurrence. Vi klippede græsserne ned en gang, men også i genvæksten hvor vi observerede herbicidsymptomerne blev konkurrencen kraftig, hvilket kan have påvirket sammenligningen imellem sorterne og øget den eksperimentelle variation.

En yderligere årsag til problemet var de store forskelle imellem sorterne, ikke mindst imellem de diploide og de tetraploide sorter. Sorterne med den svageste rodudvikling nåede aldrig at udvikle højeste symptomniveau i alle planter (figur 4), sandsynligvis fordi de blev udsat for så hård konkurrence at de forblev små og havde svært ved at udvikle dybe rødder ned til herbicidlaget.

Resultaterne viser at den konkrete udformning af en ”herbicidboks metode” skal tilpasses de arter der skal dyrkes i den. Det setup vi har arbejdet med fungerede godt til vinterhvede, men gav for stærk konkurrence imellem græsserne. Resultaterne viser også at hvor planterne kan konkurrere direkte, er det vigtigt at der ikke er for store genetiske forskelle imellem de sorter man undersøger, da det giver for ulige konkurrenceforhold.



Figur 4. Udvikling af herbicidsymptomer i græssorter, august til november 2016



Figur 5. Beregnede rodvæksthastigheder af græssorter baseret på tid fra såning til udvikling af herbicidsymptomer.

Konklusioner

Forsøgene med rodvækst i transparente rør (rhizotronrør) blev testet over to år med to par udvalgte sorter (både vinterhvede og vårhvede) der empirisk var forskellige i deres evne til hurtig rodvækst. Generelt viste målinger af roddeybde (*rodlængde*, *rodfremkomst*) som forventet hurtig rodvækst af sorterne April bearded og Tabasco, men forskellene til de langsommere sorter var sjældent statistisk signifikant. *Roddensitet* langs væggen på minirhizotronerne i 90-100 cm viste sig mest robust men var også den mest tidskrævende parameter at score (2-4 timer for 40 rør). Placeringen af rod-kegler 85 cm nede i rørene resulterede i flere synlige rødder langs væggen både ved selve keglen men også konsistent i dybden 90-100 cm. *Rodantal* ved keglen viste lignende forskelle mellem Tabasco og Genius som måling af roddensitet viste, men tidsforbruget ved scoring var væsentligt lavere, ca. 20-30 minutter per 40 rør.

Metoderne til måling af rodaktivitet (herbicid symptomer og ^{15}N optag) viste sig mere robuste og viste de største sortsmæssige forskelle, også over længere tid. Dette er lovende for praktisk anvendelse, for det er jo i praksis rodaktivitet frem for egentlig rodvækst vi ønsker at selekttere for, og målingerne på rodaktivitet vurderes at være de letteste at skalere op. Resultaterne indikerer dermed, at netop disse metoder har potentiale til at blive implementeret lokalt hos forædlerne i større skala.

Netop herbicidmetoden som indikator for hastigheden af rodvækst blev valideret to gange i 2015 (vinterhvede) og i 2016 (rajgræssorter) i et større boks setup med 20 sorter i randomiseret blok design. Randeffecter resulterede i stor varians i rod penetreringsevne sorterne imellem, men til trods for dette stemte observationerne for klare forskelle i rodpenetreringsdybden overens med tidligere markdata på samme sorter samt forventningerne for sorterne generelt baseret på udvælgelseskriterierne. Rajgræs i 2016 gav også lovende resultater, men test med to forskellige arter viste at der i praksis vil være behov for at tilpasse systemerne til netop den art man vil arbejde med. Men dette vurderes at være fuldt muligt, og at metoden er velegnet til opskalering og praktisk brug, med den viden vi nu har opnået i FAUPE projektet.