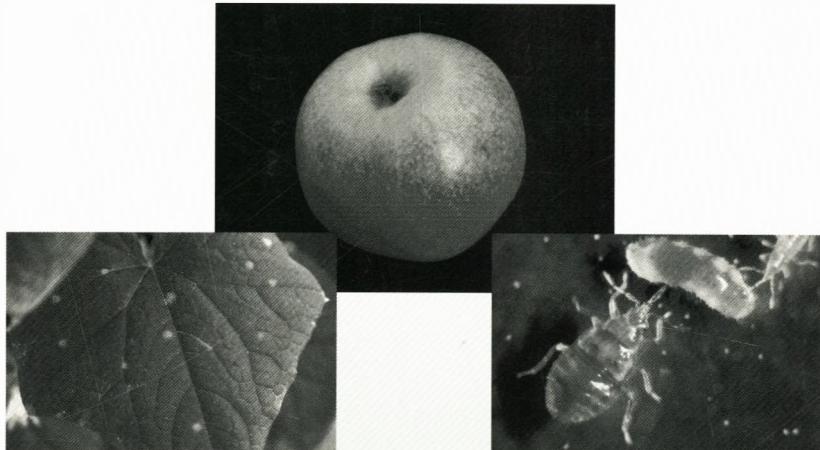




DJF rapport

Februar 2000

Nr. 12 • Havebrug



17. Danske Planteværnskonference Havebrug

17th Danish Plant Protection Conference
Horticulture

Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri
Danmarks JordbruksForskning

17. Danske Planteværnskonference

Havebrug

17th Danish Plant Protection Conference

Horticulture

DJF rapport Havebrug nr. 12 • februar 2000

Udgivelse: Danmarks JordbrugsForskning Tlf. 89 99 19 00
Forskningscenter Foulum Fax 89 99 19 19
Postboks 50
8830 Tjele

Løssalg: t.o.m. 50 sider 50,- kr.
(incl. moms) t.o.m. 100 sider 75,- kr.
over 100 sider 100,- kr.

Abonnement: Afhænger af antallet af tilsendte rapporter,
men svarer til 75% af løssalgsprisen.

Forsidefotos: Henny Rasmussen

Indholdsfortegnelse

Biologisk bekæmpelse af skadedyr

Biologisk bekæmpelse af skadedyr i væksthuse, status og fremtidsperspektiver

Biological pest control in glasshouses, status and future perspectives

Henrik F. Brødsgaard & Annie Enkegaard 7

Forskning i mikrobiologisk bekæmpelse af skadedyr

Research in microbial control of pests

Jørgen Eilenberg 17

Anvendelse af biologisk bekæmpelse i væksthuskulturer – status og fremtidsperspektiver

The use of biological control in glasshouse crops - status and future perspectives

Aage Kjær Larsen 21

Anvendelse af biologisk bekæmpelse i frugtavl

Use of biological control in fruit growing

Svend Ramborg 27

Biologisk bekæmpelse af sygdomme

Research in antagonistic microorganisms with potential for control of pathogenic foliar fungi

Forskning i antagonister med potentiale til at bekæmpe bladpatogene svampe

David S. Yohalem 31

Forskning i biologisk bekæmpelse af rodsygdomme

Research into biological control of root diseases

Dan Funck Jensen 37

Biologisk bekæmpelse af plantepatogene svampe med arbuskulær mykorrhiza

Biological control of plant pathogenic fungi with arbuscular mycorrhiza

John Larsen 43

Status for anvendelse af mikrobiologiske midler

Markedsførte mikrobiologiske bekæmpelsesmidler i Danmark – krav til dokumentation af effektivitet

Microbiological pesticides on the marked in Denmark – requirement for documentation of efficacy

Klaus Paaske 51

Erhvervets erfaringer og forventninger til fremtiden

The experiences and expectations of the trade to the future

Henrik Sivertsen 59

Forsøgsmæssig baggrund for effektiviteten af markedsførte mikrobiologiske mider og nye midler på vej

Supresivit (*Trichoderma harzianum*): "Effektforsøg"

Supresivit (*Trichoderma harzianum*): "Evaluation of effect-trials"

Steen Borregaard 63

BINAB's effektive, økonomiske og miljøvenlige *Trichoderma* produkter som mulige Systemic Acquired Resistance (SAR) i jordbær

BINAB's effective, economical, and environment compatible *Trichoderma* products as possible Systemic Acquired Resistance (SAR) inducers in strawberries

Thomas Ricard & Henrik Jørgensen 67

TRI 002 og TRI 003 Nyt biologisk produkt til stimulering af plantevækst

TRI 002 and TRI 003 New biological plantgrowth stimulant

Kees van Heemert, Hottem Veenstra & Henrik Jørgensen 77

***Gliocladium catenulatum* J1446 – et nyt biofungicid til havebrugsafgrøder**

Gliocladium catenulatum J1446 – a new biofungicide for horticultural crops

Marina Niemi & Marja-Leena Lahdenperä 81

Væksthus

Samspil mellem arbuskulær mykorrhiza og meldug hos agurk

Interactions between arbuscular mycorrhiza and cucumber mildew

John Larsen & David S. Yohalem 89

Microbial management of early establishment of grey mould in pot roses

Mikrobiologisk bekæmpelse af gråskimmel i potteroser

David S. Yohalem 97

Dannelsen af bioaerosoler under udbringning af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler og ved efterfølgende arbejdsprocesser i potteplanter The formation of bioaerosols in greenhouses in relation to microbiological control of pests and working activities <i>Bent Løschekohl</i>	103
Livscyklusforhold for spindemidegalmyggen <i>Feltiella acarisuga</i> Life table characteristics of the predatory gall midge <i>Feltiella acarisuga</i> <i>Annie Enkegaard, Henrik F. Brødsgaard & Stig Jacobsen</i>	113
Fugtighedens indflydelse på prædationskapaciteten over for spindemide-æg hos larver af spindemidegalmyggen (<i>Feltiella acarisuga</i>) Influence of humidity on the functional response of larvae of the gall midge (<i>Feltiella acarisuga</i>) feeding on spider mite eggs <i>Annie Enkegaard, Henrik F. Brødsgaard & Mette Skovly Svendsen</i>	119
Friland	
<i>Pythium</i>-skulderråd i kinakål og muligheder for biologisk bekæmpelse <i>Pythium</i> leaf and head rot in Chinese cabbage and possibilities of biocontrol <i>Kaare Møller, John Hockenhull og Birgit Jensen</i>	125
Teldor® WG 50 - nyt effektivt svampemiddel til frugt- og bæravl Teldor® WG 50 - new High-Efficacy Fungicide for Fruit-Growing <i>Klaus Heltbech, Jørgen Jensen, Jens Husby & Peter Højer</i>	135
Generelt	
Sygdomme og skadedyr i dansk gartneri, 1999 Some major pests in nurseries in Denmark in 1999 <i>Lene Petersen</i>	147

Biologisk bekæmpelse af skadedyr i væksthuse, status og fremtidsperspektiver

Biological pest control in glasshouses, status and future perspectives

Henrik F. Brødsgaard & Annie Enkegaard

Danmarks JordbruksForskning

Afdeling for Plantebeskyttelse

Forskningscenter Flakkebjerg

DK-4200 Slagelse

Summary

Biological control of pests through releases of beneficial arthropods began already in the 1930s. After a period with pest control based exclusively on pesticides, problems with pesticide resistance became so severe that growers again showed interest in biological control. Today, biological pest control is implemented on the entire Danish glasshouse area producing vegetables and on 30% of the area producing ornamentals. The present Danish research on biological control of pests in glasshouses is concentrated on investigations of basal biological aspects of new potential beneficial arthropods and especially on possible positive or negative interactions among the various beneficial organisms introduced with biological control programs in potted ornamentals.

Status for biologisk skadedyrsbekæmpelse

Skadedyrenes paradis

Ved dyrkning af planter i væksthus er forholdene ikke kun optimale for planterne men også for de insekter og mider, der lever af planterne. Det stabile varme klima i væksthusene, de (set fra dyrenes side) oceaner af mad og den totale mangel på naturlige reguleringsmekanismer, som skadedyrene ellers er utsat for i den fri natur uden for væksthusene, betinger en særlig hurtig populationsudvikling af skadedyrene og et deraf følgende højt skadedyrstryk i væksthuskulturer.

Tidlig biologisk bekæmpelse

Allerede i 1930'erne indførte gartnerne dog naturlige reguleringsmekanismer til væksthuskulturer, idet snyltekvepsen *Encarsia formosa* blev brugt til bekæmpelse af mellus (Spreyer, 1927). I denne periode blev der på en forsøgsstation i England årligt produceret halvanden million snyltekvepse til 800 engelske gartnerier, og der blev desuden eksporteret hvepse til andre lande i Europa, Canada, Australien og New Zealand (Hussey & Bravenboer, 1971). Brugen af *Encarsia formosa* blev imidlertid indstillet efter fremkomsten af syntetiske insekticider i slutningen af 1940'erne, og alle skadedyrsproblemer blev herefter imødegået ved behandling med pesticider. De effektive pesticider på markedet gjorde gartnerne i stand til at

producere stadig mere effektivt og stadig vanskeligere afgrøder, som f.eks. en lang række prydplanter. Ud fra et produktionsmæssigt synspunkt er pesticider noget nær ideelle, da de er billige, er nemme at bruge og har en øjeblikkelig virkning, uanset hvordan dyrkningspraksis i øvrigt er i de enkelte gartnerier.

Insekticider og resistens

Dyrkning af planter i væksthus har jo en lang række fordele. Her kan nævnes oplagte eksempler som f.eks. årstidsuafhængighed (kunstig klimastyring) og i forhold til skadedyr, at væksthusene er lukkede systemer, hvor smittetryk fra det omgivende land er reduceret betydeligt. Dette er som hovedregel en stor fordel, men såfremt der alligevel indslæbes skadedyr i væksthuset, kan det lukkede system faktisk vise sig at blive en ulempe. Bortset fra nogle få uger i højsommeren er indslæbte skadedyrspopulationer i danske væksthuse isolerede populationer, som ikke op blandes med individer fra andre populationer uden for væksthusene. Disse forhold er stort set ideelle til "fremavl" af resistente egenskaber hos skadedyrspopulationerne i væksthuse, da samtlige individer i en aktuel population ved en pesticidbehandling udsættes for påvirkning af pesticidet, i modsætning til i markagrøder, hvor der sker en opblanding af skadedyrspopulationen i afgrøden med insekticidfølsomme individer fra ubehandlede tilgrænsende områder. Manglen på "opblanding" af skadedyrspopulationerne i væksthuse betyder, at der er et meget stort selektionstryk mod dannelse af pesticidresistens.

Biologisk bekæmpelse - for alvor

Allerede i slutningen af 1950'erne opstod der resistensproblemer i forbindelse med kemisk bekæmpelse af væksthusspindemider. Gartnerne begyndte derfor at kikke sig om efter alternativer, og interessen blev hurtigt vakt omkring biologisk bekæmpelse ved hjælp af nyttedyr. Undersøgelser af Dosse (1959) og Bravenboer (1963) viste, at rovmiden *Phytoseiulus persimilis* var et endog yderst effektivt nyttedyr til bekæmpelse af spindemider. Allerede i 1968 blev denne rovmide derfor udnyttet til biologisk bekæmpelse i praksis, især i Holland og England. I 1970 oplevede de danske væksthusgrøntsagsgartnere også alvorlige pesticidresistensproblemer hos både spindemider og mellus, hvorfor de introducerede henholdsvis *P. persimilis* og den genopdagede snyltehveps *Encarsia formosa*. Hurtigt blev det klart for grøntsagsgartnerne, at biologisk skadedyrsbekæmpelse var nemmere, billigere og langt mere behagelig at arbejde med end traditionel kemisk bekæmpelse, således at biologisk skadedyrsbekæmpelse i 1978 blev benyttet på 75% af arealet med agurk og 50% af arealet med tomat (Berendt, 1980). I 1982 var brugen af biologisk bekæmpelse i agurk og tomat steget til henholdsvis 87% og 74% (Hansen, 1984). Udviklingen fortsatte, så i 1980 blev ikke kun mellus og spindemider bekæmpet biologisk, men tillige bladlus og minérflyer med henholdsvis galmyg (*Aphidoletes aphidimyza*) og snyltehvepse (*Dacnusa sibirica* og *Diglyphus isaea*). I slutningen af 1980'erne kunne også tidligere sekundære skadedyr såsom trips bekæmpes biologisk med rovmider (*Amblyseius barkeri* og *A. cucumeris*), hvorved alle de alvorligste skadedyr i grøntsagskulturer blev omfattet af det biologiske

bekæmpelsesprogram, som da rutinemæssigt blev benyttet på stort set hele væksthusareal et med grøntsagskulturer (Brødsgaard, 1989).

Prydplanter

Som følge af den succesfulde udbredelse af biologisk bekæmpelse i danske væksthusgrøntsager har den danske forskning vedrørende biologisk skadedyrsbekæmpelse siden slutningen af 1980'erne været koncentreret om at fremskaffe ny viden om skade- og nyttedyr i prydplantekulturer, så også prydplantegartnerne ville blive i stand til at implementere alternativer til kemisk bekæmpelse. Problematikken vedrørende brugen af pesticider i prydplantekulturer er selvfolgelig helt anderledes end, hvad der i første omgang er den drivende faktor for spiselige afgrøder. I grøntsagskulturer ønsker man frem for alt at undgå restkoncentrationer af pesticider på de salgbare produkter. I ikke-spiselige afgrøder som prydplanter er restkoncentrationer af pesticider ikke et nært så stort incitament for indførelsen af alternativer til pesticider. Her er det i første omgang arbejdsmiljømæssige forbedringer og pesticidresistensproblematikken, der er de drivende faktorer.

For prydplantekulturer har implementeringen af biologisk skadedyrsbekæmpelse været vanskeligere end for grøntsagskulturer af flere årsager: Brugen af kemiske midler er mindre problematisk, idet antallet af godkendte midler er stort og sprøjtefristerne relativt korte; antallet af forskellige skadedyrsarter på de enkelte kulturer er generelt stort, hvilket gør bekæmpelsesprogrammerne meget komplekse; produktionsforløbet er klima- og dyrkningsmæssigt mere varierende i løbet af kulturforløbet end for grøntsagskulturer; den relativt korte produktionstid pr. kultur gør det vanskeligt at opnå en etablering af udsatte nytteorganismer og en længerevarende kontrol; der er ofte en betydelig import af plantemateriale fra mange egne af verden med heraf følgende indslæbning af skadedyr; og sidst men ikke mindst da prydplanter jo skal sælges på deres æstetiske værdi, er det niveau af skadedyr, som kan tolereres i prydplantekulturer lavt sammenlignet med grøntsager, hvor det normalt kun er frugterne, der sælges. Disse problemstillinger har betydet, at på trods af at prydplantegartnerier udgør tre fjerdedele af det samlede danske væksthusareal, kom biologisk bekæmpelse først rigtig i gang her i 1987. Det var et mikrobiologisk bekæmpelsesmiddel, den insektpatogene svamp *Verticillium lecanii*, der banede vejen for biologisk bekæmpelse i prydplantekulturer. Mikrobiologiske bekæmpelsesmidler var i Danmark dengang undtaget en egentlig godkendelsesprocedure, hvilket betød, at midlerne kunne tages i anvendelse umiddelbart efter deres udvikling. På grund af *V. lecanii*'s bredspektrede og høje effektivitet under forhold med høj luftfugtighed blev den brugt i stiklingefasen i en lang række kulturer og banede derigennem vejen for en udvidelse af bekæmpelsesprogrammerne med andre nytteorganismer. I 1989 blev der brugt biologisk bekæmpelse på 10% af prydplantearealet (Borregaard, 1990) og i 1993 var anvendelsen steget til 15% (Enkegaard, 1993). I 1998 var anvendelsen af biologisk bekæmpelse på prydplantekulturer yderligere steget til 30% af arealet (Enkegaard *et al.*, 1999).

Selvom anvendelsesgraden af biologisk skadedyrsbekæmpelse i prydplantekulturer i Danmark er mindre end i grøntsagskulturer, er Danmark et af de få lande, hvor brugen af biologisk bekæmpelse i prydplantekulturer er kommet ud over det eksperimentelle stadie, og

hvor erhvervsmæssig udnyttelse kan udtrykkes i tocifrede procent tal. De vigtigste årsager til den succesfulde implementering af biologisk bekämpelse i prydplanter i Danmark, har for det første været muligheden for at starte nye kulturer praktisk taget fri for skadedyr efter behandling med *V. lecanii* i stiklingefasen (og da skadedyr i danske prydplanter som nævnt hovedsagelig inficerer kulturen med de indkøbte stiklinge, reducerer dette tiltag skadedyrsproblemerne betragteligt senere i produktionsforløbet). For det andet har implementering af strategier specielt designet til prydplanter så som præventive introduktioner af nyttedyr og udnyttelse af "keep-down" strategien (Brødsgaard, 1995), hvor løbende udsætninger af nyttedyr under hele kulturforløbet bruges til konstant at holde skadedyrspopulationerne under den meget lave skadetærskel medvirket til en øget anvendelse af biologisk bekämpelse. Lavere priser på nyttedyr fra sidst i 1980'erne og til nu har endvidere gjort det økonomisk muligt at holde skadedyrene under skadetærsklen i en lang række plantekulturer. Derudover er det europæiske netværk mellem både producenter og forhandlere af nyttedyr blevet så udbygget, at forsyningssikkerheden er meget stor. Blot få dages forsinket leverance af nyttedyr kan blive fatal for et succesfuldt bekämpelsesresultat, men i dag er det yderst sjældent, at et biologisk bekämpelsesprogram må opgives af den grund.

Aktuel forskning

I de senere år har forskningen i biologisk bekämpelse af skadedyr i udlandet fokuseret mere og mere på udvikling af biologiske bekämpelsesprogrammer til prydplanter. Dette ses tydeligt på de resultater, der er fremlagt på IOBC konferencerne i 1996 og 1999 (van Lenteren, 1996, 1999). I flere og flere lande er implementeringen af biologisk bekämpelse i grøntsagskulturer nu kommet så langt, at interessen samles om prydplanter. Fælles for den spirende forskning i udlandet er, at der forsøges udviklet generelle programmer for prydplanter. Den mangeårige danske erfaring siger dog, at sådanne generelle retningslinier kan være et godt udgangspunkt, men skal biologisk skadedyrbekämpelse blive en succes, er det nødvendigt at udvikle gartnerispecifikke bekämpelsesprogrammer. Grundelementerne i disse bør baseres på tidligere års erfaring om hvilke skadedyr, der plejer at være problemer med, samt hvor de første angreb plejer at opstå. Det er faktisk ofte sådan, at problemerne og angrebsmønstret ligner hinanden meget fra år til år i de enkelte gartnerier. Derudover er det essentielt at foretage en kontinuerlig monitering af skadedyr, så antallet af de utsatte nyttedyr eventuelt kan justeres i forhold til det aktuelle antal af skadedyr i afgrøden. Det er sjældent optimalt at utsætte nyttedyr i forhold til antal kvadratmetre, der ønskes behandlet, men eftersom nyttedyr jo æder skadedyr og ikke kvadratmetre, må udsætningerne af nyttedyr justeres i forhold til de aktuelle tætheder af skadedyr.

Interessen for potentialet i biologisk bekämpelse af skadedyr i prydplanter er også tydelig hos producenterne af nyttedyr. De senere år er der sket en kraftig stigning i antallet af kommersielt tilgængelige nyttedysarter (tabel 1), hvoraf de mange kun er relevante for prydplanter. Det varierede udbud af nytteorganismer betyder, at det i dag er muligt at bekæmpe alle de vigtigste skadedyr i både grøntsags- og prydplanter.

Tabel 1. Antallet af arter af nytteorganismer, der markedsføres i Danmark i (1998) til biologisk bekæmpelse i væksthuse. Number of species of beneficial organisms that are marketed for biological control in glasshouses in Denmark (1998).

Type af organisme Type of organism		Antal arter No. of species
Rovmider	Predatory mites	8
Rovtæger	Predatory bugs	7
Svirrefluer	Syrphids	1
Mariehøns	Ladybirds	7
Guldøjer	Lacewings	1
Galmyg	Gallmidges	2
Snyltekvepse	Parasitic wasps	22
Rovtrips	Predatory thrips	1
Nematoder	Nematodes	4
Svampe	Fungi	1
Bakterier	Bacteria	1
Virus	Virus	1

Interaktioner i biologiske bekæmpelsesprogrammer

Da der som nævnt tidligere på de fleste prydplantekulturer er en række forskellige skadedyrsarter, der kræver bekæmpelse samtidig, er det som regel nødvendigt at udsætte flere forskellige arter af nytteorganismer samtidigt. Det skyldes, at mange af nytteorganismerne er monofage, og derfor kun kan bekæmpe én art af skadedyr. En del af de nytteorganismer, der bruges i de nuværende bekæmpelsesprogrammer, er dog polyfage og vil derfor ikke blot æde "målskadedyret" men også ikke-målorganismer, herunder andre nyttedyr. Der er derfor i de fleste biologiske bekæmpelsesprogrammer til prydplantekulturer risiko for, at der opstår en række utilsigtede samspil mellem de forskellige skadedyr og de introducerede nytteorganismer. Sådanne samspil ses som regel ikke i grøntsagskulturer, hvor skadedyrskomplekserne er mere simple. I prydplantekulturer udsættes der desuden ofte flere nytteorganismer mod samme skadedyr, for at skadedyrspopulationen kan presses ned under den meget lave skadetærskel, hvilket også kan bevirkе, at der opstår utilsigtede samspil, da der kun foreligger meget få undersøgelser af mulige konsekvenser af interaktioner mellem komplekser af skade- og nyttedyr. Undersøgelser af sådanne interaktioner i avancerede biologiske bekæmpelsesprogrammer er derfor nødvendige for, at det med nogenlunde sikkerhed vil være muligt at sammensætte optimale programmer for en given kultur og for, at det med en vis sikkerhed er muligt at forudsige bekæmpelsesforløbet.

I det igangværende forskningsprogram "Biologisk og mikrobiologisk bekæmpelse af skadenvoldere" finansieret af Fødevareministeriet, hvor væksthusdelen tidligere er beskrevet på Planteværnskonferencen (Enkegaard 1996), har vi valgt at fokusere indsatsen på netop disse ukendte interaktioner mellem polyfage nytteorganismer og henholdsvis mål- og ikke-mål-

organismer. Vi har undersøgt tilsigtede og eventuelle utilsigtede effekter af rovtæger, rovmider og galmyg (Brødsgaard & Enkegaard, 1997), jordlevende rovmider (Brødsgaard *et al.*, 1996) og insektpatogene svampe (Vestergaard & Eilenberg, 1999).

Potentielle nye nyttedyr

Foruden interaktionsstudier undersøger vi basal biologi og prædationspotentiale af nye potentielle nyttedyr, som eventuelt kan optimere de nuværende bekæmpelsesprogrammer i væksthuskulturer. Således har vi lavet undersøgelser af den jordlevende rovmide *Lasioseius fimentorum*, som kunne være et alternativ til *Hypoaspis* spp. (Enkegaard & Brødsgaard, 2000) samt rovtægen *Macrolophus caliginosus* (Hansen *et al.*, 2000) og galmyggen *Feltiella acarisuga* (Brødsgaard *et al.*, 1999; Svendsen *et al.*, 1999), som kunne være alternativer eller supplementer til *Phytoseiulus persimilis* i mange prydplantekulturer, hvor luftfugtigheden er for lav til, at rovmiden kan fungere optimalt.

Som led i vores bestræbelser på at finde nyttedyr, der er optimale til biologisk bekæmpelse i prydplantekulturer, har vi i løbet af det seneste år undersøgt muligheden for at benytte snyltehvepsen *Praon volucre* til bladlusbekæmpelse. Denne parasitoid, som er almindeligt forekommende på friland i Danmark, hvor den kan regulere bladlusangreb i kornafgrøder, syntes vi var interessant at undersøge nærmere, da den er i stand til at finde bladlusinficerede planter på baggrund af de specifikke duftstoffer mange plantearter udsender, når de er angrebet af bladlus. Vores forhåbning var, at den i prydplantekulturer ville kunne opsøge og finde bladlus ved meget spredte angreb. Hvis denne snyltehveps kan fungere i prydplantekulturer i væksthus på samme måde, som den fungerer i kormarker (der ikke sprøjtes med insekticider), vil den kunne regulere bladlus på så lave tætheder, at skadetærsklen langt fra ville blive overskredet. Vi indledte med at udføre laboratorieundersøgelser, der skulle belyse om *P. volucre* ville være i stand til succesfuldt at fuldføre en parasitering af fem af de almindeligst forekommende bladlusarter i væksthuskulturer, nemlig agurkbladlus (*Aphis gossypii*), ferskenbladlus (*Myzus persicae*), stribet kartoffelbladlus (*Macrosiphum euphorbiae*), kartoffelbladlus (*Aulacorthum solani*) og kornbladlus (*Sitobium avena*). Resultaterne af laboratorieundersøgelserne viste desværre, at *P. volucre*'s parasitering ikke var særlig effektiv med mindre end 10% udvikling af snyltehvepse fra parasiterede bladlus. Forsøgene viste dog, at der var en forhøjet dødelighed af bladlusene i de grupper, hvor der var utsat snyltehvepse i forhold til kontrolgruppen. Dette gjorde sig i særlig gældende hos kartoffelbladlusene, hvor der dog slet ikke skete en succesfuld udvikling af snyltehvepse fra de parasiterede bladlus. På baggrund af erfaringerne fra disse laboratorieforsøg udførte vi også et væksthusforsøg over halvanden måned med biologisk bekæmpelse af agurkbladlus på chrysanthemum. Resultaterne fra dette forsøg viste, at *P. volucre* var i stand til at forsinke udviklingen af bladluspopulationerne i to uger, men at bekæmpelsen ikke var så effektiv, at lusene blev bekæmpet. På basis af resultaterne fra disse forsøg konkluderede vi, at *P. volucre* ikke er en oplagt kandidat til biologisk bekæmpelse af bladlus i væksthuskulturer på trods af dens evne til at opspore bladlusinficerede planter.

Fremtidsperspektiver

Hvis skadedyrsbekæmpelse i væksthuskulturer udelukkende baseres på sprøjtning med pesticider, vil der uvægerligt opstå resistens hos skadedyrene på grund af det før omtalte store selektionstryk. Det er derfor vor opfattelse, at den vigtigste vej til en bæredygtig og vedvarende bekæmpelse af skadedyr går gennem integrerede programmer, hvor det bærende element er biologisk bekæmpelse.

Biologisk bekæmpelse har i forhold til kemisk bekæmpelse en udpræget iboende træghed. Et succesfuldt resultat er derfor afhængig af, at gartneren til stadighed er på forkant med udviklingen af skadedyrene og inddrager alle tiltag, der kan begrænse skadedyrstrykket. Skadedyrsbekæmpelse bør derfor være en integreret del af planteproduktionen. Allerede ved udvælgelsen af plantesorter og stiklingeleverandører bør gartneren tænke på skadedyr. Oftest er der stor forskel på sorters egenskaber som værtplante for skadedyr, og hvor det er muligt, vil det være en stor fordel at vælge sorter, hvor de skadedyr, der erfaringsmæssigt er mest problematiske i den pågældende kultur, har den langsomste populationsudvikling. Med hensyn til stiklingematerialet, bør gartneren vælge leverandører med få skadedyrsproblemer, og som kan garantere, at der ikke er pesticidrester på planterne, der er uforenelige med det biologiske bekæmpelsesprogram, som gartneren har planlagt at benytte i produktionen.

Mange gartnerier benytter svovlfordampning som forebyggende behandling mod meldug. Det har vist sig, at det er en alvorlig hindring for en succesfuld biologisk skadedyrsbekæmpelse, da de fleste nyttedyr er følsomme over for selv få timers natlig svovlfordampning. Nye observationer tyder imidlertid på, at svovlfordampning ikke er nødvendig i det nuværende benyttede omfang. En del nye fungicider baseret på strobilariner som aktivstoffer er desuden skånsomme over for nyttedyr og er således integrerbare med eksisterende biologisk skadedyrsbekæmpelse ved hjælp af nyttedyr. De kan således også bruges som nødbremse, hvis klimastyringen ikke kan forhindre angreb af meldug.

Et andet oplagt tiltag, som desværre ikke er særligt benyttet, er, at etablere karantænefaciliteter i gartneriet, hvori indkøbt plantemateriale placeres under observation i en periode. Eventuelle indslæbte skadedyr vil kunne registreres og bekæmpes under karantæneforhold - og skulle uheldet være ude, at der er fulgt en 0-toleranceskadegører med planterne, er det oplagt billigere at kassere planterne i et karantæneareal. Uden karantænefaciliteter er der stor risiko for, at hele gartneriet bliver sat i fortsat avlkontrol eller i værste fald, at hele produktionen bliver kasseret. Med et rent udgangsmateriale fra et karantæneareal vil skadedyrsbekæmpelse i produktionsarealet ikke blot forløbe lettere, den vil også blive langt billigere, end hvis indkøbt plantemateriale med skadedyr sættes direkte ind i produktionsarealet.

I 1999 er der i Danmark blevet godkendt en række nye insekticider og acaricider, så bladlus, mellus, minérflyer, trips og spindemidler igen kan bekæmpes effektivt kemisk. Det har nu vist sig, at der er en hel del af de gartnerier, der tidligere brugte biologisk bekæmpelse, som nu desværre er gået tilbage til udelukkende at benytte pesticider. Da kun få af de nye midler kan integreres med biologisk bekæmpelse, vil det blive vanskeligt at bibeholde et differentieret integreret bekæmpelsesprogram. Det er derfor nærliggende at frygte, at "levetiden" for de nye pesticider vil blive kort på grund af en hurtig resistensopbygning hos

skadedyrene som følge af en ensidig anvendelse. Hvis pesticiderne kun bruges som en "nødbremse", vil gartnerne kunne have nytte af dem i en meget længere periode, end hvis de bruges uden omtanke (Brødsgaard & Enkegaard, 1999). Der ligger derfor et stort oplysningsarbejde hos konsulentjenesten, for at få gartnerne til at bruge pesticiderne med omtanke.

Sammendrag

Biologisk bekæmpelse af skadedyr med udsætning af nyttedyr begyndte allerede i 1930'erne. Efter en periode, hvor skadedyr udelukkende blev bekæmpt kemisk, opstod der i 1970'erne så store pesticidresistensproblemer, at interessen for biologisk bekæmpelse blev vakt igen. I Danmark i dag benyttes biologisk bekæmpelse på hele arealet med væksthusgrøntsager og på 30% af arealet med væksthusprydplanter. Den igangværende danske forskning vedrørende biologisk bekæmpelse af skadedyr i væksthuse er koncentreret om basalbiologiske undersøgelser af nye nyttedyr og især positive og negative interaktioner mellem de mange arter af skadedyr og nyttedyr, der findes samtidig på prydplante-kulturer.

Litteratur

- Berendt O. 1980. Trend of biological control in glasshouses in Sweden and Denmark. IOBC/WPRS Bull. 3, 11-16.
- Brøregaard S. 1990. Status og fremtid: biologisk skadedyrsbekæmpelse. Gartner Tidende, 106, 246-247.
- Bravenboer L. 1963. Experiments with the predator *Phytoseiulus riegeli* Dosse on glasshouse cucumbers. Mitt. Schweitz. Entomol. Ges., 36, 53.
- Brødsgaard H.F. 1989. An update on biological control in Danish glasshouses. NC Flower Grower Bull., 34, 2-5.
- Brødsgaard H.F. 1995. 'Keep Down' - A concept of biological thrips control in ornamental pot plants. I B.L. Parker, M. Skinner & T. Levis (eds.): Thrips biology and management. Plenum Publishing Corporation, New York, 221-224.
- Brødsgaard H.F. & Enkegaard A. 1997. Interactions among polyphagous anthocorid bugs used for thrips control and other beneficials in multispecies biological pest management systems. I Pandalai (ed.) Recent Res. Devel. in Entomol. 1, 153-160.
- Brødsgaard H.F. & Enkegaard A. 1999. Pesticidernes redning. Gartner Tidende, 11, 14-15.
- Brødsgaard H.F., Jacobsen S. & Enkegaard A. 1999. Life table characteristics of the predatory gall midge *Feltiella acarisuga*. IOBC/WPRS Bull. 22 (1), 17-20.
- Brødsgaard H.F., Sardar M.A. & Enkegaard A. 1996. Prey preference of *Hypoaspis miles*: non-interference with other beneficials in glasshouse crops. IOBC/WPRS Bull., 19 (1), 23-26.
- Dosse G. 1959. Über einige neue Raulbmilbenarten (Phytoseiidae). Pflanzenschutzberichte, 21, 44-61.
- Enkegaard A. 1993. Biologisk/integreret bekæmpelse af skadedyr i prydplanter i væksthuse status, fremtidsperspektiver og nyheder fra udlandet. Tidsskr. Planteavl, S-2237, 233-242.

- Enkegaard A.* 1996. Det nye forskningsprogram: Biologisk og mikrobiologisk bekämpelse af skadevoldere. En redegørelse for indsatsen på væksthusområdet. SP-rapport, 4, 321-325.
- Enkegaard A. & Brødsgaard H.F.* 2000. *Lasioseius fimetorum* (Acarina: Podocinidae) – a soil-dwelling predator of glasshouse pests? BioControl (*in press*).
- Enkegaard A., Jensen D.F., Folker-Hansen P. & Eilenberg J.* 1999. Present use and future potential for biological control of pests and diseases in Danish glasshouses. IOBC/WPRS Bull. 22 (1), 65-68.
- Hansen D.L., Brødsgaard H.F. & Enkegaard A.* 2000. The life table characteristics of *Macrolophus caliginosus* preying upon *Tetranychus urticae*. Entomologia Experimentalis et Applicata. (*In press*).
- Hansen L.S.* 1984. Biologisk/integreret bekämpelse af skadedyr i agurkkulturer. Naturens Verden, 240-248.
- Hussey N.W. & Bravenboer L.* 1971. Control of pests in glasshouse culture by the introduction of natural enemies. I: Biological Control. C.B. Huffaker (ed.) Plemum, New York, 195-216.
- Spreyer E.R.* 1927. An important paresite of the greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood). Bull. Entomol. Res. 17, 301-308.
- Svendsen M.S., Enkegaard A. & Brødsgaard H.F.* 1999. Influence of humidity on the functional response of larvae of the gall midge (*Feltiella acarisuga*) feeding on spidermite eggs. IOBC/WPRS Bull. 22 (1): 243-246.
- van Lenteren J.C.* 1996. Integrated control in glasshouses. (ed.) IOBC/WPRS Bull. 19 (1), 206.
- van Lenteren J.C.* 1999. Integrated control in glasshouses. (ed.) IOBC/WPRS Bull. 22 (1), 294.
- Vestergaard S. & Eilenberg J.* 1999. Få side-effekter. Gartner Tidende, 11, 8-9.

Forskning i mikrobiologisk bekæmpelse af skadedyr

Research in microbial control of pests

Jørgen Eilenberg

Institut for Økologi

Den Kongelige Veterinær- og Landbohøjskole

Thorvaldsensvej 40

DK-1871 Frederiksberg C

Summary

The status and future perspectives of microbial control of pests in Danish horticulture are discussed. Products based on fungi (*Verticillium lecanii*), virus (AsGV), bacteria (*Bacillus thuringiensis*) and nematodes (*Steinernema* spp., *Heterorhabditis* spp. and *Phasmarhabditis hermaphrodita*) exist and are used in Denmark. Some expansion on the number of products, targets and crops can be expected in the future. Besides the use as microbial control agents, more knowledge on the ecology of insect pathogens may lead to operationalised use of insect pathogens in natural regulation of pests.

Indledning

Biologisk bekæmpelse af skadedyr omfatter brugen af prædatorer, parasitoider og mikroorganismer. I stedet for biologisk bekæmpelse kan man støde på betegnelsen "biologisk kontrol". Denne betegnelse skyldes en direkte men uheldig oversættelse af det engelske udtryk "biological control" og bør ikke anvendes.

Når der anvendes insektpatogene mikroorganismer til biologisk bekæmpelse, bruges betegnelsen "Mikrobiologisk bekæmpelse". Mikrobiologisk bekæmpelse af skadedyr, omfatter brugen af følgende insektpatogene mikroorganismer:

- Virus
- Bakterier
- Svampe
- Protozoer

Insektpatogener fra disse grupper af mikroorganismer har meget varierende livscyklus og økologi men har det tilfælles, at de siden 1993 er omfattet af lovgivningen (Direktiv 91/414/EEC). Insektparasitære nematoder er ikke mikroorganismer og er derfor ikke omfattet af denne lovgivning. På grund af deres ringe størrelse og deres infektionsbiologi, hvori indgår bakterier, er de dog alligevel ofte grupperet sammen med insektpatogene mikroorganismer som en del af mikrobiologisk bekæmpelse.

Udover de nævnte mikroorganismer findes der andre patogener hos insekter blandt andet rickettsier. Da kun virus, bakterier, svampe, protozoer og nematoder har haft praktisk betydning for bekæmpelse af insekter inden for havebrug, vil kun disse blive behandlet.

Der er to hovedstrategier for mikrobiologisk bekæmpelse:

- 1) Udneyning af et produkt til at bekæmpe skadedyr
- 2) Understøtning af den naturlige regulering af skadedyr

Indtil videre er det den førstnævnte strategi, der anvendes i praksis. Mikrobiologisk bekæmpelse omfatter her udneyning af levende organismer f.eks. udspredning af sporer baseret på et godkendt produkt. Understøtning af den naturlige regulering af skadedyr baseres på, at man kan konstatere meget høje mortaliteter blandt skadedyr på grund af insektpatogene mikroorganismer.

Der er forsket i andre anvendelsesmuligheder af insektpatogene mikroorganismer f.eks. brug af deres stofskifteprodukter (sekundære metabolitter), der kan være toksiske over for insekter. Dette er dog ikke mikrobiologisk bekæmpelse. Genetisk manipulerede planter, der selv producerer *Bacillus thuringiensis*-toxin, er heller ikke mikrobiologisk bekæmpelse, men en form for planteresistens, og vil derfor heller ikke bliver behandlet yderligere her.

Status

Der er i øjeblikket kun få mikrobiologiske midler til bekæmpelse af skadedyr inden for havebrugsafgrøder til salg i Danmark.

Verticillium lecanii ("Mycotal" og "Vertalec") har i en årrække været til salg til bekæmpelse af mellus, bladlus, trips og spindemider i væksthuse. Der er tale om to forskellige produktionssstammer af den samme svamp, med delvis forskelligt værtspektrum.

Virus (AsGV) ("Agrovir") produceres i små mængder til bekæmpelse af knoporme (*Agrotis segetum*). Det er blevet anvendt i gulerødder, men kun på få hektar om året.

Bacillus thuringiensis var. *kurstaki* ("Biobit", "Dipel/Bio-Quit") anvendes til bekæmpelse af sommerfuglelarver (kålsommerfugle med mere). *B. thuringiensis* var. *israelensis* ("Vectobac" og "Bactimos") sælges til bekæmpelse af sørgemyg i væksthuse.

Nematoderne (*Steinernema* spp. og *Heterorhabditis* spp.) anvendes i et vist omfang til bekæmpelse af øresnudebiller (både udendørs og indendørs), sørgemyg og gåsebiller. Til visse snegle anvendes *Phasmarhabditis hermaphrodita*.

Status primo 2000 er således, at der eksisterer produkter baseret på svampe, virus, bakterier og nematoder til brug i dansk havebrug. De fleste produktionssstammer har eksisteret i årevis og sælges også i vores nærmeste nabolande. Mikrobiologisk bekæmpelse af insekter fylder dog stadig ikke meget i den efterhånden store samlede pakke af produkter til biologisk bekæmpelse i væksthuse. Udendørs er mikrobiologisk bekæmpelse kun anvendt i meget begrænset omfang.

Fremtidsperspektiver

Fremtiden for mikrobiologisk bekæmpelse af insekter vil være afhængig af en række forhold:

- 1) Øget tilgængelighed af produkter til løsning af konkrete bekæmpelsesproblemer
- 2) Øget viden om naturlig regulering af insekter med mikroorganismer
- 3) Øget viden om eventuelle uønskede effekter ved mikrobiologisk bekæmpelse

Ad 1): Den umiddelbare forventning inden for de nærmeste år er, at de eksisterende produkter stadig vil være på markedet måske med udvidede anvendelsesområder (afgrøder, skadedyr) Desuden vil enkelte nye produkter formentlig være introduceret eller under introduktion: svampene *Paecilomyces* spp., *Beauveria* spp. og *Metarhizium* spp. mod forskellige insekter både inde og ude samt flere typer virus mod forskellige viklere i frugtavl. De nævnte mikroorganismer er mest "gamle kendinge", der findes som produkter i andre lande. Der eksisterer dog en meget stor pulje af insektpatogene mikroorganismer, som er potentielle kandidater til mikrobiologisk bekæmpelse. Mange arter eller typer er kun kendt fra den første beskrivelse eller har kun været genstand for nogle få biologiske studier. Der mangler for de nye kandidater viden om f.eks. virulens, effektiv opformering og formulering. Der bør også peges på, at selv for de velkendte arter mangler der viden om deres spredningsøkologi efter udsætning.

Ad 2): Øget viden om naturlig regulering af insekter er en del af en samlet, økologisk forståelse af, hvordan man undgår skadedyrsproblemer. Både i danske væksthuse og på udendørs afgrøder har forskellige mikroorganismer, især svampe, vist, at de naturligt kan "rydde op": *Entomophthora*-svampe på gulerodsflyer og *Erynia* sp. på sorgemyg i væksthuse. Udendørs har undersøgelser af økologien af insektpatogener i danske kålafgrøder vist, at både svampe, bakterier og protozoer naturligt angriber kålflyer, og svampene kan medføre høje, naturlige mortaliteter. På bladlus er der observeret en lang række insektpatogene svampe både i væksthuse og på udendørs afgrøder. Desuden er det påvist, at danske jorder indeholder et stort reservoir af naturligt forekommende insektpatogener.

Det vil være perspektivrigt at forske mere i, hvordan naturligt forekommende insektpatogener kan understøttes ved dyrkningsmæssige og landskabsmæssige tiltag. En øget overgang til økologisk jordbrug på friland vil kunne påvirke den naturlige regulering af skadedyr med insektpatogene mikroorganismer. Også i væksthuse bør man forske mere i, hvordan den naturlige regulering kan understøttes.

Ad 3): I forbindelse med øget brug af biologisk bekæmpelse og øget bevidsthed om økologiske processer i jordbruget er der blevet øget fokus på hvilke uønskede effekter, der er ved mikrobiologisk bekæmpelse. Der bør klart forskes mere i eventuelle effekter, således at beslutningsgrundlaget for godkendelse bliver så godt som muligt. Der er konkrete, afgrænsede spørgsmål, som kan besvares efter specifikke undersøgelser: Kan en insektpatogen svamp fungere sammen med nytteinsekter i væksthuse? Er der sundhedsmæssige uønskede risici ved større udbringning af insektpatogener?

Mere langsigtet er det ønskeligt, at der fremskaffes mere viden om, hvordan massiv udsætning af insektpatogener påvirker miljøet både selve dyrkningsarealet og de omgivende arealer. Her er der behov for en indsats, der ikke ser på mikrobiologisk bekæmpelse som et isoleret fænomen, men ser denne bekæmpelsesform som en del af en helhed.

Konklusion

Sammenfattende kan konkluderes, at der blandt insektpatogene mikroorganismer er et biologisk potentiale til både at udvikle en række nye egentlige produkter og til at anvende viden om naturlig regulering. Om dette biologiske potentiale udvikles, vurderes og eventuelt anvendes direkte i dansk havebrug vil imidlertid afhænge af forskningsindsatsen.

Sammendrag

Status for mikrobiologisk bekæmpelse af skadedyr i dansk havebrug diskuteres. For tiden er der både svampe (*Verticillium lecanii*), virus (AsGV), bakterier (*Bacillus thuringiensis*) samt nematoder (*Steinernema* spp., *Heterorhabditis* spp. og *Phasmarhabditis hermaphrodita*.) til salg. Der kan forventes et vist øget udbud af produkter, men udbuddet vil være afhængigt af forskningsindsatsen. En øget forskningsindsats inden for økologi af naturligt forekommende insektpatogener kan bidrage til, at den naturlige regulering af skadedyr med insektpatogene mikroorganismer kan anvendes som en del af et dyrkningskoncept.

Anvendelse af biologisk bekæmpelse i væksthuskulturer - status og fremtidsperspektiver

The use of biological control in glasshouse crops - status and future perspectives

Aage Kjær Larsen

Dansk Erhvervsgartnerforening

Konsulentvirksomheden

Hvidkærvej 29

DK-5250 Odense SV

Summary

Of the around 50 natural enemies on the Danish market, every year millions of a few species are used, whereas others are practically not used at all. Total turnover in Denmark is around 20 million DKr. The main part of the products is imported from large foreign producers.

Numerically, the most popular products are the predatory mite against thrips, *Amblyseius cucumeris*, the predatory mite against spider mites, *Phytoseiulus persimilis*, the parasitic wasp against whiteflies, *Encarsia formosa*, the parasitic wasp against aphids, *Aphidius colemani*, the soil-living predatory mite *Hypoaspis miles/aculeifer*, and the nematode against sciad flies, *Steinernema* sp.

Some natural enemies are used all year round, but most are used in the summer season. Banker plants, and predatory mites in slow-release bags are among the novelties during the last few years.

The trade expects biological control to be used at least to the same extent in the future, as it is today. However, some natural enemies are lacking in the assortment, which could work better in the Danish climate, both winter and summer.

Indledning

I de danske erhvervsgartneriers væksthuse, det være sig både potteplante- og grønsagsgartnerier, anvendes der i dag biologisk bekæmpelse i meget vekslende grad. I nogle gartnerier bruges så godt som ingen kemiske midler, mens andre (endnu) ikke har taget biologien under deres vinger, og stadig ser biologisk bekæmpelse som en fremtidsløsning.

I denne artikel er forsøgt givet et overblik over den nuværende situation på det danske marked for makrobiologiske midler. Det vil primært sige en orientering om hvilke nytteorganismer der i praksis anvendes, samt et bud på erhvervets behov og ønsker til den nærmeste fremtid.

Status

Det danske marked

I øjeblikket markedsføres godt 50 forskellige makrobiologiske midler i Danmark. Den totale omsætning på biologiske produkter i Danmark skønnes ud fra de givne oplysninger at være omkring 20 mio. kr. i 1999. Stigningen i omsætningen har været omkring 10-15% om året de seneste år.

Dansk producerede nyttedyr dækker kun en lille del af den samlede danske omsætning, og en reel produktion foregår kun hos et par stykker af de 4-5 danske forhandlere. Langt hovedparten af nyttedyrene importeres fra store udenlandske producenter som Koppert, Novartis og BioBest.

Praktisk brug af nyttedyr

De markedsførte nyttedyr kan groft inddeltes i prædatorer (f.eks. rovmider, rovtæger, mariehøns) og parasitoider (f.eks. snyltehveps).

Nogle nyttedyr finder bedst anvendelse forebyggende, det vil sige *før* skadedyret viser sig, mens andre har potentielle til at blive sat ind når der *er* konstateret angreb. Ligeledes arbejder nogle nyttedyr bedst, når de sættes ud tæt på byttedyret, mens andre er gode til selv at opsoge byttet/værten. Én af de ting, der også skal tænkes på ved anvendelsen er, at nogle nyttedyr er udprægede specialister, som derfor kun har ringe effekt overfor andre skadedyr end det foretrakne. Andre nyttedyr er generalister, hvor byttedyrets art ikke er særligt afgørende.

Nytteorganismer anvendes primært som *en del* af arsenalet mod skadenvoldere, således at kemiske midler stadig, af de fleste gartnerier, betragtes som en nødvendighed for at bevare sikkerheden for en 100% bekämpelse.

De mest anvendte nyttedyr

På baggrund af informationer fra danske forhandlere af biologiske midler, kan der fås et samlet overblik over de for tiden mest anvendte makrobiologiske midler i danske erhvervsgartnerier (tabel 1). Set over de sidste tre år er der, ifølge én af forhandlerne, med få undtagelser tillige et stigende forbrug af de i tabellen nævnte nyttedyr.

Et stykke under de, i tabel 1, nævnte nyttedyr ligger en gruppe med lidt sjældnere anvendelse. Det er blandt andre bladlus-mariehønsene *Harmonia axyridis* og *Hippodamia convergens*, samt bladlus-snyltehvepsen *Aphidius ervi* og spind-rovmiden *Amblyseius californicus*. De to sidstnævnte ser dog begge ud til at få stadigt stigende anvendelse.

Nogle af de *mindst* anvendte nyttedyr i erhvervsgartnerier er blandt andre guløjnen *Chrysoperla carnea*, bladlus-snyltehvepsene *Aphelinus abdominalis* og *Lysiphlebus testaceipes*, bladlus-rovtægen *Anthocoris nemorum*, mellus-snyltehvepsen *Eretmocerus californicus*, mellus-mariehønen *Delphastus pusillus*, trips-rovmiden *Amblyseius degenerans*, rovtripsen *Franklinothrips vespiformis*, rovfluen *Coenosia* sp., sommerfuglelarve-rovtægen *Podisus* sp., samt spindemide-galmyggen *Feltiella acarisuga*, som dog er et nyere produkt.

Tabel 1. De mest anvendte nyttedyr i danske væksthusgartnerier (prydplanter og grøn-sager), december 1999 (Danske forhandlere af nytteorganismer, pers. kommunikation).
 Most frequently used natural enemies in Danish glasshouse nurseries (ornamentals and vegetables), December 1999 (Danish distributors of beneficials, pers. comm.).

Nyttedyr Natural enemy	Skadedyr Target pests
Trips-rovmide (<i>Amblyseius cucumeris</i>) Predatory mite	Trips, div. mider Thrips, various mites
Spind-rovmide (<i>Phytoseiulus persimilis</i>) Predatory mite	Spindemider Spider mites
Jord-rovmide (<i>Hypoaspis miles/aculeifer</i>) Soil-living predatory mite	Sørgemyg, tripslarver m.m. Sciarid flies, thrips larvae etc.
Mellus-snylehveps (<i>Encarsia formosa</i>) Parasitic wasp	Mellus Whiteflies
Bladlus-snylehveps (<i>Aphidius colemani</i>) Parasitic wasp	Mindre bladlus Smaller aphids
Minérflue-snylehveps (<i>Dacnusa sibirica</i>) Parasitic wasp	Minérfluer Leaf miners
Minérflue-snylehveps (<i>Diglyphus isaea</i>) Parasitic wasp	Minérfluer Leaf miners
Æg-snylehveps (<i>Trichogramma</i> sp.) Parasitic wasp	Sommerfuglelarver Butterfly/moth larvae
Bladlus-galmyg (<i>Aphidoletes aphidimyza</i>) Gall midge	Bladlus Aphids
Mellus-rovtæge (<i>Macrolophus caliginosus</i>) Predatory bug	Mellus, bladlus, spindemider Whiteflies, aphids, spider mites
Orius-rovtæge (<i>Orius</i> sp.) Predatory bug	Trips, bladlus, mider Thrips, aphids, mites
Sørgemyg-nematod (<i>Steinernema</i> sp.) Nematode	Sørgemyg m.m. Sciarid flies etc.
Snudebille-nematod (<i>Heterorhabditis megidis</i>) Nematode	Øresnudebiller Weevils

Udover de "rigtige" nyttedyr har humlebier, til bestøvning af blandt andet tomatkulturer, en udbredt anvendelse. Fangplader til registrering af flyvende skadedyr er ligeledes meget nyttet.

Årstidsvariationer

Nogle nyttefyre bliver anvendt jævnt fordelt over hele året. Det gælder primært trips-rovmiden *Amblyseius cucumeris*, bladlus-snyltekvepsen *Aphidius ervi*, jord-rovmiderne *Hypoaspis miles/aculeifer* og sørgemyg-nematoderne *Steinernema* sp.

De fleste nyttefyre bruges dog primært i sommerhalvåret, hvor skadedyrene også optræder mest massivt. Det drejer sig f.eks. om trips-rovtægen *Orius* sp., bladlus-snyltekvepsen *Aphidius colemani*, bladlus-galmyggen *Aphidoletes aphidimyza*, spind-rovmiden *Phytoseiulus persimilis*, minérflue-snyltekvepsen *Diglyphus isaea* og mellus-snyltekvepsen *Encarsia formosa*.

Brugen af mellus-rovtægen *Macrolophus caliginosus*, samt humlebistader, begrænser sig tilsyneladende primært til første halvdel af kalenderåret.

Nyheder

Blandt nyhederne på markedet de senere år har været trips-rovmider (*Amblyseius cucumeris*, eventuelt blandet med spind-rovmiden *Phytoseiulus persimilis*), i såkaldte slow-release poser. Princippet er, at rovmiderne kan forlade det beskyttede miljø i poserne i en jævn strøm og i takt med udklækningen. Poserne skal på grund af den stadige opformering kun fornys med flere ugers mellemrum.

De såkaldte banker planter har tillige vundet relativt stor udbredelse. Her kan gartneren selv opformere nyttefyre, primært bladlus-snyltekvepsen (*Aphidius* sp.), på bladlus, som kun æder af de kornplanter, de er sat ud på. Herved har man et system til længerevarende oprettholdelse af en nyttefyrsbestand mod bladlus i væksthuset.

Fremtidsperspektiver

Der har gennem en årrække været en god udvikling indenfor biologisk bekæmpelse i væksthuse. Forventningen i branchen er, at biologisk bekæmpelse fremover vil anvendes i produktionen af både potteplanter og grønsager, i mindst samme grad som i dag.

Kemikalier

Én af de ting, der efterlyses blandt udbyderne af biologiske produkter, er mere hensyntagen til effekten på nyttefyrene, når der godkendes nye kemikalier, samtidig med at der udstedes forbud mod ældre kemikalier. Eksempelvis kom et nyt kemisk middel mod spindemider på markedet i 1998, som udover spindemiderne også slår mobile stadier af rovmider ihjel. Samtidig blev et ældre middel, som kun havde lille effekt på rovmider, forbudt.

Sortimentet

Én udbyder synes, at der på nuværende tidspunkt er bredde nok i sortimentet, vel at mærke såfremt de gængse nyttefyre udnyttes lidt bedre end nu. Der kan dog ofte være problemer med bekæmpelsen af bladlus om vinteren. Det nævnes også, at der mangler biologiske midler mod Håret Engtæge, som af og til forekommer i blandt andet agurkkulturer.

En anden udbyder mener, at der mangler biologiske produkter til anvendelse i årets mørke måneder, og til anvendelse ved lavere temperaturer. Mange af de nyttedyr, der anvendes i dag har deres oprindelse i varmere klimaer, og virker måske ikke altid optimalt under danske lys- og temperaturforhold.

Modsat kan det om sommeren blive for varmt, og luftfugtigheden for lav, til at visse nyttedyr fungerer optimalt. Her ligger en udfordring til forskerne, i retning af at finde nogle arter/varianter frem, som bedre kan klare de danske forhold. På den anden side kunne man også forestille sig, at væksthusklimaet kunne styres mere til gavn for nyttedyrene.

Sammendrag

Af de godt 50 nyttedyr, som findes på det danske marked, bruges der hvert år millionvis af nogle få arter, mens andre arter slet ikke er slæt igennem. Den totale årlige omsætning i Danmark andrager i omegnen af 20 mio. kr. Hovedparten af produkterne importeres fra store udenlandske producenter.

De antalsmæssigt populæreste produkter er trips-rovmiden *Amblyseius cucumeris*, spind-rovmiden *Phytoseiulus persimilis*, mellus-snylehvepsen *Encarsia formosa*, bladlus-snylehvepsen *Aphidius colemani*, jord-rovmiderne *Hypoaspis miles/aculeifer* og sørgemygnematoden *Steinernema* sp.

Nogle nyttedyr anvendes året rundt, men de fleste har en højsæson henover sommeren. Blandt nyhederne de seneste år er banker planter, og rovmider i slow-release poser.

Branchen forventer, at biologisk bekæmpelse fremover vil anvendes i mindst samme grad som i dag. Der mangler dog til en vis grad nyttedyr, der kan arbejde optimalt under danske vinterforhold, samt ved sommerforhold med høje temperaturer/lav luftfugtighed.

Erkendtlighed

Tak til Borregaard BioPlant/Reitzel BioPlant ApS, JA Consult/Bøg Madsen, EWH BioProduction og Garta, uden hvis bistand denne artikel ikke kunne realiseres.

Anvendelse af biologisk bekæmpelse i frugtavl

Use of biological control in fruit growing

Svend Ramborg

Rådgivningsudvalget for Frugt og Bær

Rugårdsvej 197

DK-5210 Odense NV

Summary

The use of biological control methods outdoors is difficult. Climate, growing conditions, the correlation and the balance between chemical control and beneficial animals make active control quite uncertain and often the effect has not appeared at all. Especially the organisms *Trichoderma* and *Bacillus thuringiensis*, which are very sensitive towards the climate, are very difficult to use outdoors. Releasing predatory mites in tree fruit is the best success story we have until now. During several years, many tree fruit growers have solved their problems with spider mites by using predatory mites, but in some cases, the control fails, the predatory mites disappear for no apparent reason and the spider mites return.

Indledning

I Danmark har kendskabet til de biologiske sammenhænge mellem skadedyr og deres prædatorer (nyttedyr) på træfrugt været kendt meget længe. Man har udmærket været klar over, at hvis man som frugtavlere fik en alvorlig og voldsom opformering af spindemider, så var årsagen den, at man havde bekæmpet nyttedyrene væk med stærke insekt- og spindemidemidler. Med det betød ikke så meget. Tilgangen af nye midler kunne nemt hamle op med spindemidernes resistensdannelse under danske forhold. Værre var det i Mellem- og Sydeuropa, hvor spindemiderne var resistente over for næsten alle tilgængelige acaricider. Som konsekvens heraf opstod der i 70'erne i Schweiz et begreb som IP (integreret plantebeskyttelse), hvor der blev taget særlige hensyn til rovinsekter og rovmider i valg af bekæmpelsesmidler. Det var herefter muligt at begrænse eller helt undgå angreb af spindemider. Det næste skridt var at overflytte rovmiderne fra plantage til plantage, så man på denne måde hurtigt kunne starte en ny population i løbet af kort tid frem for at vente på den naturlige indvandring.

Det oprindelige Integreret Plantebeskyttelse ændrede sig senere til Integreret Produktion med et regelsæt, som udoover at begrænse anvendelsen af bekæmpelsesmidler skadelige for nyttifaunaen også inddrager andre dyrkningsforhold med blandt andet det mål, at fremme tilstedeværelsen af nyttedyr.

Tabel 1. Anvendelse af biologisk bekæmpelse i frugt- bæravl. Use of biological control in fruit- and berry growing.

	Nyttedyr/Beneficial animal	Skadevolder/Pest
Aktiv anvendelse af biologiske midler (udsprøjtning, udsætning)	<i>Trichoderma harzianum</i> Supresivit	Gråskimmel
	<i>Bacillus thuringiensis</i> Dipel Biobit WP	Sommerfuglelarver: - Viklere - Frostmålere - Uglelarver Møl
	<i>Typhlodromus pyri</i> <i>Amblyseius andersoni</i> <i>Amblyseius finlandicus</i>	Frugtræspindemide Væksthusspindemide Bladgalmider
	<i>Steinernema carpocapsae</i> Nematop NemaGreen	Larver af øresnudebiller og gåsebiller
Naturligt forekommende nyttedyr, hvis tilstedevarsel kan fremmes .	Blomstertæger <i>Anthocoris</i> <i>Orius</i>	Æg og nymfer af pærebladlopper, bladlus og spindemider, galmyglarver,
	Rovtæger - <i>Psallus ambiguus</i> - <i>Atractotomus mali</i> - <i>Heterotoma planicornis</i> - <i>Nabis</i>	Bladlus, viklerlarver, frostmålerlarver, galmyglarver,
	Ørentvist <i>Forficula auricularia</i>	Frugtræspindemide, væksthusspindemide, bladlus, æg af pærebladlopper
	Guldøje <i>Chrysoperla carnea</i>	Bladlus og små larver af viklere
	Mariehøne <i>Coccinella 7-punctata</i> <i>Adalia 2-punctata</i>	Bladlus, blodlus, skjoldlus
	Snyltehvepse	Larver og æg af viklere, målere, møl, bladlus
	Galmyg <i>Aphidoletes aphidimyza</i>	Bladlus, spindemider
	Svævefluer <i>Episyphus balteatus</i> <i>Scaeva pyrastri</i>	Bladlus
	Rovthrips	Frugtræspindemider, bladgalmider
	Mejser Musvitter	Larver af viklere, målere og uglelarver.

Fra 1990 har danske IP-avlere arbejdet med en eller anden form for biologisk bekæmpelse. Det er især udnyttelsen af rovmider, som har været mest udbredt. Mange avlere har købt filtbånd med rovmider, som kommer fra plantager, hvor man med sikkerhed ved, at rovmiderne er resistente mod nogle af de mest udbredte insektsmidler.

IP dyrkningen tager også hensyn til tilstedeværelsen af andre nyttedyr, blandt andet rovtæger, ørentviste, snyltehvepse samt den lange række af bladluseprædatorer.

Hvor rovmiderne er nemme at flytte rundt på og styre, er det anderledes vanskeligt at manipulere med de andre nyttedyr i plantagen. Man kan fremme tilstedeværelsen af nyttedyr ved at tilbyde passende skjul og bedre yngleforhold, men uden garanti for at nyttedyrene indfinder sig.

Hvor det for kernefrugtavlere har været IP, som har skabt interessen for udnyttelse af biologiske bekæmpelsesmetoder, har det for bærfrugtavlere været mangel på egnede kemiske bekæmpelsesmidler. Det har for bærfrugtavlere været nødvendigt at finde og afprøve alternativer til blandt andet bekæmpelse af gråskimmel, viklerlarver og jordboende skadedyr.

Anvendelsen af biologiske bekæmpelsesmetoder på friland er vanskelig. Klima og dyrkningsforhold og hele samspillet, balance mellem kemisk bekæmpelse og nyttedyrene indbyrdes bevirker, at en aktiv bekæmpelse er noget usikker, og det er ofte sket, at effekten helt udebliver. Det er især de klimafølsomme organismer *Trichoderma* og *Bacillus thuringiensis*, som er vanskelige at anvende på friland. Udsættelse af rovmider i træfrugt er den bedste succeshistorie vi har indtil nu. Mange træfrugtavlere har i flere år løst deres spindemideproblemer ved hjælp af rovmider. Men i enkelte situationer svigter bekæmpelsen, rovmiderne forsvinder uden påviselig grund, og spindemiderne kommer derefter tilbage.

Der vil fremover være mere fokus på den biologiske bekæmpelse, og i de tilfælde hvor det lykkes at producere nyteorganismer til udsættelse er producenterne parate til at udnytte resultaterne. Men det vil fortsat ske under hensyntagen til dyrkningssikkerheden, arbejdsindsatsen og prisen i forhold til alternative metoder.

Research in antagonistic microorganisms with potential for control of pathogenic foliar fungi

Forskning i antagonister med potentiale til at bekæmpe bladpatogene svampe

David S. Yohalem

Afdeling for Plantebeskyttelse

Danmarks JordbrugsForskning

Forskningscenter Flakkebjerg

DK-4200 Slagelse

Summary

Isolates of filamentous fungi, yeast-like fungi, yeasts and strains of bacteria that inhibit the activities of various pathogenic fungi have been identified and investigated. However, at present, only two isolates are explicitly labelled for use in management of foliar diseases: Trichodex for grey mould and AQ10 for powdery mildews. Isolates of *Ulocladium atrum*, *Clonostachys rosea*, *Verticillium lecanii* and *Trichoderma* spp. are among the more promising fungi evaluated for control of grey mould and powdery mildews. Yeast and yeast-like isolates of *Sporothrix flocculosa* (=*Pseudozyma flocculosa*), *Aureobasidium pullulans*, *Cryptococcus* spp., *Rhodotorula* spp., and *Sporobolomyces* spp. also show promise as tools in foliar disease management.

Current status

Danish greenhouse agriculture has developed in an era of inexpensive and effective chemical management of foliar disease problems. Although resistance to agrichemicals became (and becomes) apparent relatively quickly under the intensive monocultures and consequent selection pressures of glasshouse horticulture, new generations of chemicals have been available and strategies have been developed that maximise their utility. Moreover, chemicals are generally independent of the physical environment in terms of their efficacy, some show post-infection efficacy and can reduce pathogen activities to near zero, which is important when market constraints mandate zero tolerance. In contrast, the behaviour of antagonists either directly applied, or by manipulating the plant and/or the greenhouse environment is susceptible to micro-environmental variation and fluctuation. If applied to plants, there are issues of formulation and microbial vigour, as well as worker health that must be considered.

At present, there are only two biological control agents explicitly grown and marketed for use in the management of foliar plant disease: Trichodex (Mahkteshim Chemical, Be'er Sheva, Israel) for grey mould control; and AQ10 (Ecogen Inc., Langhorne, Pennsylvania) for management of powdery mildews. Neither demonstrates the type of control to which producers of ornamental plants have become accustomed, although both have demonstrated

delay in epidemic development that should be useful in vegetable production (Dik & Elad, 1999; Sztenberg *et al.*, 1989).

While there has been much work in characterising the activity and behaviour of these isolates, there has also been progress in the evaluation of other filamentous fungi, yeasts, yeast-like organisms and bacteria. Strategies for antagonist selection by consideration of the disease cycle (for a review see Fokkema, 1996), by mode of action (*e.g.* Elad, 1996) and by other ecologically desirable criteria (*e.g.* Andrews, 1992) have been reviewed. The status of biological control of grey mould and of powdery mildew under greenhouse conditions was recently reviewed (Elad *et al.*, 1996). In the remainder of this paper, I focus on recent investigations into several of the organisms that have been studied for control of grey mould and powdery mildews, primarily in greenhouses.

Antagonists against grey mould

Among the genera so far examined most research has been directed towards isolates of *Trichoderma*. *Trichoderma* is cosmopolitan, easily isolated from many environments and can be easily identified in culture. Isolates are easy to cultivate and relatively easy to manipulate. Many mechanisms have been observed for isolates that antagonise other fungi: hyperparasitism; inhibition through the activities of extracellular enzymes (*e.g.* chitinases, proteases) or other antimycotic substances; nutrient competition (Elad, 1996); and induced systemic resistance (De Meyer *et al.*, 1998). None of these mechanisms excludes the others. Most isolates of *Trichoderma* do not survive well on aerial plant parts.

Recent reports indicate a significant reduction in sporulation from grey mould lesions and consequent delay in epidemic development in cucumber and tomato when treated with Trichodex (Dik & Elad, 1999; Dik *et al.*, 1999). Trichodex was also observed to induce resistance to grey mould in bean distal to the point of inoculation (DeMeyer *et al.*, 1998).

Ulocladium atrum was first identified as an antagonist of *Botrytis* in onion. Subsequent research has shown isolates to be effective in reducing sporulation in cyclamen, gerbera and potted rose (Köhl *et al.*, 1998; Köhl and Gerlagh, in press). Preliminary results (Yohalem, unpublished) indicate significant suppression of *Botrytis* sporulation in tomato stem lesions treated with conidia of *U. atrum*. *Ulocladium* is easily cultured and survives well under the varying conditions of moisture and drought found on aerial surfaces. Spores are large and heavily melanised. At high densities the spores may be visible to the naked eye. The putative mode of action is nutrient competition through pre-emptive colonisation of senescent host tissues, required for sporulation of *Botrytis* spp.

Sutton and co-workers (Sutton *et al.*, 1997) have studied the activity, population dynamics and a novel method of delivery using insects to vector spores of *Clonostachys rosea* to flowers in strawberry and other fruit crops. Da Silva *et al.* (1998) reported reduction of inoculum from senescent rose petals with application of *C. rosea*. While efficacy has been observed in greenhouse plants, control was lost when leaf wetness was interrupted (Köhl *et al.*, 1998).

Yeasts and yeast-like fungi from several genera have been implicated in biological control. Competition for nutrients has shown the primary means by which these organisms

are active (e.g. Filonow, 1998). In some circumstances, yeasts are as effective or more effective than are filamentous fungi in antagonising *Botrytis* diseases (Elad *et al.*, 1994b). Bacteria including *Pseudomonas* spp., *Xanthomonas maltophilia*, *Lactobacillus* and *Bacillus* spp. have been similarly shown to reduce sporulation of the pathogen in infected tissues, although induced resistance has also been implicated in their activities (Elad, *et al.*, 1994a).

Antagonists against powdery mildews

Mildews are most active under relatively dry conditions. For their control to be effective, antagonists must survive and be active under conditions which are generally too dry for successful establishment of applied epiphytes. Hence, most success has been with organisms applied in wetting agents; either oils or soaps. Most attempts at biological control of mildews are with hyperparasites.

Ampelomyces isolates are hyperparasites of powdery mildew oidia and cleistothecia. When applied in paraffin oil some isolates may show significant control of mildew under glasshouse conditions (e.g. Sztejnberg *et al.*, 1989). However, AQ10 did not control disease in cucumber in a series of experiments where isolates of *Verticillium lecanii* and *Pseudozyma flocculosa* did (Dik, *et al.*, 1999). As noted, the only organism currently registered for biological control of powdery mildews is an *Ampelomyces*.

Isolates of *Verticillium lecanii* which parasitize mildews have been selected on the basis of their abilities to perform under environmental conditions conducive to mildew development (Verhaar *et al.*, 1999), a technique which can be applied generally. Efficacy improves with the addition of wetting agents (Verhaar *et al.*, 1998).

The yeast-like fungus *Pseudozyma flocculosa* (=*Sporothrix flocculosa*) inhibits spore germination, growth of mycelium and the development of oidia of several mildews through the action of a fatty acid antibiotic that interferes with the membrane integrity of the pathogens. An isolate has been shown significantly effective in reducing mildew in cut roses (Bélanger, *et al.*, 1994) and in cucumber (Dik, *et al.*, 1998) under near-commercial conditions. Spores may be dried and re-hydrated to form an effective suspension when applied with a wetting agent.

Isolates of *Tilletiopsis*, a yeast, may also significantly reduce damage by mildews under conditions of high evaporative potential (Urquart *et al.*, 1994).

Conclusion

Biological control with microorganisms involves the interaction of host, pathogen, environment, other microorganisms resident on plant surfaces and the biocontrol agent(s). A biological control agent may be effective on one host, but not another. A fuller understanding of the mechanisms at work in and synecology of the system is work in progress. The integration of known biocontrol agents with conventional practices and with environmental manipulation has been shown effective in managing several plant diseases; however, where cosmetic considerations are paramount further research and changes in expectations will both be needed in order to implement a biological control program. Nevertheless, there is hope for

even greater success with several of the organisms discussed above, as well as for the endeavour as a whole.

Dansk Sammendrag

Der findes for øjeblikket kun to kommersielle produkter, som specifikt virker mod bladsvampe, nemlig Trichodex mod gråskimmel og AQ10 mod meldug. Der er derfor behov for at finde yderligere kandidater til mikrobiologiske midler til biologisk bekæmpelse af patogene bladsvampe.

Isolater af svampe og bakterier, som har en hæmmende virkning på aktiviteten af patogene bladsvampe, er blevet identificeret og undersøgt. Isolater af svampene *Ulocladium atrum*, *Clonostachys rosea*, *Verticillium lecanii* og *Trichoderma* spp. er blandt de mere lovende til bekæmpelse af meldug og gråskimmel. De gærlignende svampe *Pseudozyma*(=*Sporothrix*) spp., *Aureobasidium pullulans*, *Cryptococcus* spp., *Rhodotorula* spp., og *Sporobolomyces* spp. har ligeledes vist sig at være lovende til bekæmpelse af bladsygdomme.

Literature

- Andrews J.H. 1992. Biological control on the phyllosphere. Annu. Rev. Phytopathol. 30:603-635.
- Bélanger R., Labbé C. & Jarvis W.R. 1994. Commercial-scale control of rose powdery mildew with a fungal antagonist. Plant Dis. 78:420-424.
- da Silva Tatagiba J., Maffia L.A., Barreto R.W., Alfenas A.C. & Sutton J.C. 1998. Biological control of *Botrytis cinerea* in residues and flowers of rose (*Rosa hybrida*). Phytoparasitica 26: 8-19.
- De Meyer G., Bigirimana J., Elad Y. & Höfte M. 1998. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. Eur. J. Plant Pathol. 104:279-286.
- Dik A.J. & Elad Y. 1999. Comparison of antagonists of *Botrytis cinerea* in greenhouse-grown cucumber and tomato under different climatic conditions. Eur. J. Plant Pathol. 105:123-137.
- Dik A.J., Koning G. & Köhl J. 1999. Evaluation of microbial antagonists for biological control of *Botrytis cinerea* stem infection in cucumber and tomato. Eur. J. Plant Pathol. 105:115-122.
- Dik A.J., Verhaar M.A. & Bélanger R.R. 1998. Comparison of three biological control agents against cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in semi-commercial-scale glasshouse trials. Eur. J. Plant Pathol. 104:413-423.
- Elad, Y. 1996. Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. Eur. J. Plant Pathol. 102:719-732.
- Elad Y., Köhl J. & Fokkema N.J. 1994a. Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic bacteria and fungi. Eur. J. Plant Pathol. 100:315-336.

- Elad Y., Köhl J. & Fokkema N.J.* 1994b. Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. *Phytopathology* 84: 1193-1200.
- Elad Y., Malathrakis N.E. & Dik A.J.* 1996. Biological control of *Botrytis*-incited diseases and powdery mildews in greenhouse crops. *Crop Protection* 15:229-240.
- Filonow A.B.* 1998. Role of competition for sugars by yeasts in the biocontrol of gray mold of apples. *Biocontrol Sci. & Technol.* 8: 243-256.
- Fokkema N.J.* 1993. Opportunities and problems of control of foliar pathogens with microorganisms. *Pestic. Sci.* 37: 411-416.
- Köhl J. & Gerlagh M.* (in press). Biological control of *Botrytis cinerea* in roses by the antagonist *Ulocladium atrum*. *Med. Fac. Landbouww. Rijks-Univ. Gent.*
- Köhl J., Gerlagh M., De Haas B.H. & Krijger M.C.* 1998. Biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* under commercial growing conditions. *Phytopathology* 88: 568-575.
- Sutton J.C., Li D.-W., Peng G., Yu H., Zhang P.G. & Valdebenito-Sanhueza R.M.* 1997. *Gliocladium roseum*: a versatile antagonist of *Botrytis cinerea* in crops. *Plant Dis.* 81:316-328.
- Sztejnbg S., Galper S., Mazar S. & Lisker N.* 1989. *Ampelomyces quisqualis* for biological and integrated control of powdery mildew in Israel. *J. Phytopathol.* 124: 285-295.
- Urquhart E.J., Menzies J.G. & Punja Z.* 1994. Growth and biological control activity of *Tilletiopsis* species against powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) on greenhouse cucumber. *Phytopathology* 84: 341-351.
- Verhaar M.A., Hijwegen T. & Zadoks J.C.* 1999. Improvement of the efficacy of *Verticillium lecanii* used in biocontrol of *Sphaerotheca fuliginea* by addition of oil formulations. *BioControl* 44:73-87.
- Verhaar M.A., Hijwegen T. & Zadoks J.C.* 1998. Selection of *Verticillium lecanii* isolates with high potential for biocontrol of cucumber powdery mildew by means of components analysis at different humidity regimes. *Biocontr. Sci. Technol.* 8:465-477.

Forskning i biologisk bekæmpelse af rodsygdomme

Research into biological control of root diseases

Dan Funck Jensen

Institut for Plantbiologi

Sektion for Plantepatologi

Den Kongelige Veterinær- og Landbohøjskole

Thorvaldsensvej 40

DK-1871 Frederiksberg C

Summary

Root diseases can cause severe problems both in field crops, orchards and greenhouses. Chemical control is not always effective and there is concern about side effects of pesticides on the environment and food quality. Thus, there is a need for alternative control measures with no or reduced inputs of pesticides. Biological control, using antagonistic micro-organisms, is such an approach which is used increasingly on a commercial scale in greenhouse crops. However, the use of biological control on field crops and in orchards is still limited. There are two main reasons why the use of biological control is not as widespread as it could be. First of all, new legislation, requiring that new biological control agents are approved by the authorities, is an important obstacle for commercial use. The other reason is that there is still a need for more information about the mechanisms by which antagonists control diseases in crops growing under different conditions. New methods based on DNA technology have been developed which can be used for obtaining such information. This will be demonstrated using examples from greenhouse experiments with antagonistic *Trichoderma* spp. and *Gliocladium* spp. How such results can be used for optimising biological control measures on a commercial scale will be discussed.

Indledning

Rodsygdomme kan give alvorlige tab både på friland og i væksthuskulturer. Kemisk bekæmpelse virker ikke altid effektivt mod patogener, og disse udvikler ofte resistens mod de anvendte pesticider. Der er desuden en stigende bekymring for, hvordan miljø, grundvand og fødevarekvalitet påvirkes af pesticider. For nylig har ekspertudvalg vurderet på, hvordan pesticidforbruget kunne reduceres i jordbruget og bekæmpelsen erstattet med alternative metoder. Til disse alternativer hører biologisk bekæmpelse. En form for biologisk bekæmpelse er den, hvor man fremmer jordens gavnlige mikroorganismer, så de hæmmer sygdommene. En anden er den form, der vil blive behandlet her, hvor der tilføres mikroorganismer (kaldet antagonister) til plantekulturen, som er i stand til at bekæmpe

patogenerne. For at kunne tilrettelægge en effektiv biologisk bekæmpelse, er det nødvendigt med en intensiveret basal forskning i patogenernes og antagonisterne biologi i de plantekulturer, hvori bekæmpelsen skal virke. Der er også behov for, at de opnåede forskningsresultater formidles videre til producenter og leverandører af biologiske bekæmpelsesmidler, samt til konsulenter og planteproducenter, før metoderne kan udnyttes optimalt i kommerciel skala.

Status

Biologiske bekæmpelsesmidler på markedet

Internationalt set, findes der i dag markedsført omkring 30 mikrobiologiske bekæmpelsesmidler til bekæmpelse af plantesygdomme, hvoraf ca. 20 er udviklet til brug i væksthuse mod forskellige sygdomme (jævnfør Jensen & Lumsden, 2000). I Danmark er der kun markedsført få, de fleste baseret på arter hørende til svampeslægten *Trichoderma*. En væsentlig årsag hertil er, at der er indført en lov (i henhold til EU direktiv 91/ 414/EEC) om godkendelse af bekæmpelsesmidler, der også omfatter de biologiske bekæmpelsesmidler. De midler, der ikke var markedsført på det tidspunkt loven trådte i kraft, skal således godkendes, før de må anvendes, mens der er givet dispensation til at anvende midler, der var på markedet før lovens ikrafttræden. Nogle arter af *Trichoderma* kan således i dag benyttes uden endelig godkendelse. Godkendelsen tager tid og er omfattet af betydelige omkostninger for ansøgeren, hvorfor mange nye midler baseret på andre mikroorganismer end arter af *Trichoderma* ikke er blevet markedsført.

I Danmark skønnes det, at biologisk sygdomsbekæmpelse bliver anvendt i omkring 50% af arealer med tomat, 30% af arealerne med agurk og i 30% af arealer med potteplanter (Lene Petersen, pers. medd.). På friland er anvendelsen meget begrænset, men vi har på KVL igangsat forskning i anvendelsen af biologisk bekæmpelse i afgrøder som gulerod, kål, kartoffel og løg samt i byg, hvede og sukkerroer. Vi har også et større projekt i gang i frugtavl med biologisk bekæmpelse af æbleskurv og kirsebærbladplet. Flere af projekterne er i samarbejde med firmaer og andre forskningsinstitutioner.

I forskningen fokuseres internationalt en del på at undersøge samspillet mellem patogener og antagonister for derved at få en bedre forståelse for, hvordan antagonisterne bekæmper patogenerne. De fleste af undersøgelserne gennemføres i laboratoriet i forsøg uden jord og planter. Det tyder på, at flere mekanismer kan være involveret. Under sådanne laboratorieforhold udskiller antagonisterne sekundære metabolitter eller cellevægsnedbrydende enzymer, der hæmmer patogenerne. Der er dog meget få undersøgelser af, hvorvidt disse mekanismer er af betydning i jord, rodzone og på planteoverflader, og i givet fald under hvilke forhold og tidspunkt i kulturen, de er virksomme. Der er også flere mekanismer, der kun kan undersøges, når planten er til stede, som for eksempel hvis antagonisterne igangsætter resistensreaktioner i planterne over for sygdomme. I forskningen på Sektion for Plantepatologi har vi specielt koncentreret vores forskning om at kunne følge antagonisterne og deres samspil med patogenerne i naturlige systemer i jord, voksemedier og

på planter. Vi har udviklet mærkningsmetoder, så vores antagonister bliver blå eller fluorescerende (Thrane *et al.*, 1995). Herved kan vi følge dem i jorden og på planteoverflader i potteforsøg med biologisk bekæmpelse (Green & Jensen, 1995). Vi har også mulighed for at måle, hvornår de er aktive. Med udviklingen af disse metoder har vi nu mulighed for at undersøge om den biologiske bekæmpelse er optimal under forskellige dyrkningsforhold, og på hvilket tidspunkt i kulturen bekæmpelsen er effektiv. Man kan også herved få viden, om der er behov for at tilføre antagonisterne flere gange i en kultur, eller om en tilførsel er tilstrækkelig. Endelig giver de udviklede metoder mulighed for at undersøge om antagonisterne skulle have uønskede sideeffekter for eksempel på kulturplanten eller andre gavnlige mikroorganismer i plantekulturen (Green *et al.*, 1999).

Erfaringer med *Trichoderma*-produkterne

Den kommersielle anvendelse i Danmark er, som nævnt, fortrinsvis baseret på *Trichoderma* produkter, som bliver brugt mod gråskimmel forårsaget af *Botrytis cinerea* og rodsygdomme forårsaget af patogener hørende til slægterne *Pythium*, *Fusarium*, *Thielaviopsis* og *Rhizoctonia* i væksthuskulturer. Vi ved fra forsøg i klimakamre og forsøgshuse, at man kan opnå en god biologisk bekæmpelse af flere alvorlige plantesygdomme, hvis de rigtige mikroorganismer anvendes, og man ved, hvornår og hvordan de skal tilføres plantekulturen. Erfaringerne med *Trichoderma*-produkterne i erhvervsgartnerier er endnu begrænset til nogle få år, og der er delte meninger om deres virkning. Produkterne anvendes ofte som en forebyggende behandling for at undgå angreb af flere forskellige sygdomme også mod sygdomme, som de slet ikke er udviklet til at bekæmpe. Det er derfor usandsynligt, at man vil opnå en optimal bekæmpelse i alle tilfælde. Samtidig er det vanskeligt at vurdere virkningen, hvis produkterne ikke kan sammenlignes med ubehandlede planter – skyldes manglen på sygdom i en plantekultur, at den biologiske bekæmpelse er effektiv, eller skyldes det, at patogenet mangler i den pågældende kultur?

Eksempel på forskning i biologisk bekæmpelse

Prøver fra potteplantegartnerier

Vi har i 1998 i samarbejde med konsulenter fra DEG udtaget prøver af voksemedierne fra flere danske potteplantegartnerier, der anvendte *Trichoderma* produkter til biologisk bekæmpelse. Der blev taget prøver både før og en måned efter behandling med *Trichoderma*. Målet var at undersøge om antagonisten kunne genfindes i potten op til en måned efter behandlingen. Indholdet af *Trichoderma* blev bestemt ved pladespredningsteknik, det vil sige, man fortrinsvis bestemmer antallet af *Trichoderma*-sporer, der er pr. gram voksemedium. Ved hjælp af genetiske ”fingeraftryk” (UP-PCR) blev det herefter godtjort, at det var de tilførte *Trichoderma* arter, der blev målt i prøverne.

Resultaterne (Lübeck & Jensen, ikke publiceret) viste, at *Trichoderma* kunne findes på et højt niveau i voksemedierne også en måned efter tilførsel til plantekulturen. Et andet interessant resultat var, at *Trichoderma* kunne spredes med den recirkulerende

næringsstofopløsning fra potter på behandlede borde, til potter på ubehandlede borde, hvor den dog blev fundet på et lavere niveau.

Denne type undersøgelser viser kun om *Trichoderma* overlever i voksemidiet, men ikke om den er aktiv i bekæmpelsen af sygdomme eller patogener. Dette kan bedst undersøges i egentlige forsøg, hvor ovennævnte mere avancerede metoder kan anvendes. Vi har derfor sideløbende med undersøgelserne af prøver fra gartnerierne gennemført klimakammerforsøg, hvor vi undersøgte, om *Trichoderma* var aktiv i voksemidiet, eller om den kun var tilstede i form af inaktive svampesporer. Resultater har tydeligt vist, at antagonisten på grund af manglende næring kun er i aktiv vækst de første 3-4 døgn efter iblanding i voksemidiet, hvorefter den danner inaktive sporer (Green & Jensen, 1995). Det har også vist sig at næring, der udskilles fra sunde rødder, ikke er tilstrækkelig til, at antagonisten vil være aktiv i rodzonen (Green & Jensen, 1995), men hvis rødderne angribes af sygdom, for eksempel et *Pythium* angreb, vil antagonisten kunne udnytte de døde eller døende rødder som næring (Green, Heiberg & Jensen, submitted). Herved kan *Trichoderma* hindre, at sygdom spredes fra syge til sunde rødder senere i kulturen, og angreb kan også undgås de første døgn efter iblanding af antagonisten. Vi er i øjeblikket ved at afslutte lignende undersøgelser af et isolat af svampe *Gliocladium roseum* (*Clonostachys rosea*), som er en meget lovende antagonist, der indgår i et bekæmpelsesmiddel, vi er ved at udvikle færdigt i forskningsgruppen på KVL (Jensen *et al.*, 2000).

Fremtidsperspektiver

Forskningen internationalt set ser ud til at tage to forskellige retninger. **I den ene retning** søger man, på grundlag af den viden man opnår ved mekanisme studier, at udnytte gener eller genprodukter fra antagonistiske mikroorganismer. Man søger for eksempel at overføre gener fra antagonister til planter for derved at opnå sygdomsresistens i planterne, eller man undersøger om genprodukter kan anvendes som nye typer af fungicider til sygdomsbekæmpelse. Der er således ved denne retning ikke mere tale om biologisk bekæmpelse, men en ny indgangsvinkel til den velkendte kemisk bekæmpelse eller planteforædling til at opnå resistente planter ved gensplejsning. **I den anden retning**, som vi følger, arbejdes der direkte på at anvende antagonister til en egenlig biologisk bekæmpelse ved tilførsel af biologiske bekæmpelsesmidler til plantekulturen. Forskningen i denne retning sigter specielt på at optimere den biologiske bekæmpelse, ved at studere økologien og interaktioner mellem mikroorganismerne i plantekulturerne, og at undersøge hvordan biologisk sygdomsbekæmpelse kan udnyttes sammen med andre ikke-kemiske bekæmpelsesmetoder. Biologisk bekæmpelse vil på denne måde kunne indgå centralt i større integrerede bekæmpelsesstrategier, der sigter mod en sund planteproduktion med reduceret anvendelse af kemiske pesticider (se f.eks. Jensen & Lumsden, 2000). Lovgivningen om godkendelse af biologiske bekæmpelsesmidler er en væsentlig hindring for, at nye produkter vil blive markedsført. I forbindelse med programmer inden for EU og initiativer fra OECD søger man for tiden at finde løsninger, der kan gøre godkendelsesprocedurerne enklere og

hurtigere at gennemføre, så det i fremtiden vil blive mere attraktivt at søge om godkendelse af nye biologiske bekæmpelsesmidler.

Konklusion

Der mangler stadig meget viden om biologisk bekæmpelse af sygdomme, virkningsmekanismer og økologien af antagonister og patogener i plantekulturer både på friland, i frugtplantager og i væksthuse. Manglende viden om den rette anvendelse og utilstrækkelig dokumentation af bekæmpelseseffekten ved anvendelsen af de biologiske midler vil kunne resultere i varierende og måske negative erfaringer med biologisk sygdomsbekæmpelse. Gennem en intensiveret forskning, hvor antagonistene følges efter de er tilført plantekulturen, vil der kunne opnås en forøget viden om produkternes rette anvendelse under danske forhold, så bekæmpelsen kan optimeres. En sådan viden vil kunne udnyttes af producenter til at skræddersy formuleringer af bekæmpelsesmidler og anvise tilførselsmetoder til anvendelse af deres produkter. En sådan forskningsbaseret viden vil også kunne føre, til at biologisk bekæmpelse kan indpasses som en central del i større integrerede bekæmpelsesstrategier, hvor der sigtes mod begrænset anvendelse af pesticider.

Sammendrag

Rodsygdomme kan forårsage alvorlige sygdomme både i markagrøder, frugtplantager og væksthuse. Kemisk bekæmpelse af plantesygdomme er ikke altid effektiv, og der er en stigende bekymring for, hvilke utilsigtede effekter pesticider kan have på miljøet, grundvand og fødevarekvalitet. Der er derfor et stort behov for alternative bekæmpelsesmetoder uden anvendelse, eller stærkt begrænset anvendelse af pesticider. Biologisk bekæmpelse, hvor man anvender antagonistiske mikroorganismer er en sådan metode, der nu vinder indpas i væksthuskulturer. På friland og i frugtavl er anvendelsen af biologisk sygdomsbekæmpelse stadig begrænset. Der er to hovedårsager til, at biologisk bekæmpelse ikke er så udbredt, som den kunne være. Først og fremmest er ny lovgivning, der kræver, at biologiske bekæmpelsesmidler godkendes af myndighederne, før de kan anvendes, en væsentlig hindring for at få produkter markedsført. Den anden årsag er, at der stadig mangler megen viden om, hvordan antagonistene hæmmer sygdomme i plantekulturerne under forskellige dyrkningsforhold. Nye metoder baseret på DNA teknologi, der gør det muligt at få mere viden på dette område, er blevet udviklet. Dette vil blive demonstreret gennem eksempler fra væksthusforsøg med *Trichoderma* spp. og *Gliocladium* spp. Det vil også blive diskuteret, hvordan resultater fra sådanne forsøg, kan anvendes til at optimere anvendelsen af biologisk bekæmpelse i kommersiel skala.

Litteratur

Green H., Heiberg N. & Jensen D.F. (submitted). The use of a GUS transformed strain of *Trichoderma harzianum* to study spermosphere and rhizosphere activity in relation to

- biocontrol of *Pythium* damping-off and root rot. Submitted for publication to European Journal of Plant Pathology.
- Green H. & Jensen D.F.* 1995. A tool for monitoring *Trichoderma harzianum*: II. The use of a GUS transformant for ecological studies in the rhizosphere. *Phytopathology* 85: 1436-1440.
- Green H., Larsen J., Olsson P.A. Jensen D.F. & Jakobsen I.J.* 1999. Suppression of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* by external mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* in root free soil. *Applied and Environmental Microbiology* 65, No. 4: 1428-1434.
- Jensen B., Knudsen I.M.B. & Jensen D.F.* 2000. Biological seed treatment of cereals with fresh and long-term stored formulations of *Clonostachys rosea*: Biocontrol efficacy against *Fusarium culmorum*. *European Journal of Plant Pathology*: Accepted.
- Jensen D.F. & Lumsden R.D.* 2000. Biological control of soilborne pathogens. In: Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops. R. Albajes, M.L. Gullino, J.C. van Lenteren and Y. Elad (Eds.). Kluwer Academic Publishers, Chapter 23 20. *In press*.
- Thrane C., Lübeck M., Green H., Degéfu Y., Allerup S., Thrane U. & Jensen D.F.* 1995. A tool for monitoring *Trichoderma harzianum*: I. Transformation with the GUS gene by protoplast technology. *Phytopathology*: 1428-1435.

Biologisk bekæmpelse af plantepatogene svampe med arbuskulær mykorrhiza

Biological control of plant pathogenic fungi with arbuscular mycorrhiza

John Larsen

Danmarks JordbrugsForskning

Afdeling for Plantebeskyttelse

Forskningscenter Flakkebjerg

DK-4200 Slagelse

Summary

The symbiosis between arbuscular mycorrhizal fungi and most herbaceous plants, which is known as arbuscular mycorrhiza, is an important factor for plant growth and health in natural soil ecosystems. Besides increasing plant growth and stress tolerance, the symbiosis can suppress diseases. Indeed, several experiments have shown that arbuscular mycorrhiza can suppress fungal root pathogens and the diseases they cause. The reasons for this disease suppression are not clear, but physical and physiological changes in mycorrhizal plants as well as direct interactions have been proposed mode of actions. The influence of arbuscular mycorrhiza on the development of foliar pathogens has not received similar attention, but experiments have shown that plants with mycorrhiza can increase tolerance against foliar pathogens. Inoculum of arbuscular mycorrhizal fungi is now commercially available in several European countries and the USA. However, before actual implementing of arbuscular mycorrhiza in greenhouse production of ornamentals and vegetables, more research is needed in order to find an optimal plant-fungus combination for each crop in question considering all the beneficial effects of the symbiosis.

Indledning

Arbuskulære mykorrhizasvampe er vigtige komponenter i naturlige jordøkosystemer, hvor de indtager en nøglerolle for planters ernæring og sundhed. Disse svampe, som hører til koblingsvampene, danner symbiose med de fleste urteagtige planters rødder. Symbiosen, der kendes som arbuskulær mykorrhiza, er vidt udbredt, og langt størstedelen af alle planter herunder også vores kulturplanter danner arbuskulær mykorrhiza under naturlige forhold. Det er især den gavnlige effekt på planters vækst, som kendetegner symbiosen, men vækststimulering er ikke den eneste positive indvirkning af mykorrhiza på værplanten. Forhøjet tolerance mod salt og tørkestress, forbedring af jordens krummestruktur og hæmning af sygdomme er andre positive virkninger af mykorrhiza. Mykorrhizasvampe findes imidlertid ikke i konventionelle voksemidier, og arbuskulær mykorrhiza udvikles derfor normalt ikke hos planter dyrket i væksthus. Såfremt man ønsker at udnytte de gavnlige effekter af mykorrhizasvampe på planters vækst og sundhed ved dyrkning af potteplanter og

grønsager i væksthus, er det derfor nødvendigt at iblande mykorrhizasvampe i voksemidiet eller at pode småplanter.

Formålet med denne artikel er at give en redegørelse for mulighederne for anvendelse af mykorrhiza til biologisk bekæmpelse af sygdomme i væksthuskulturer baseret på en kort gennemgang af litteraturen om interaktioner mellem arbuskulær mykorrhiza og plantepatogener.

Hvad er mykorrhiza?

Arbuskulær mykorrhiza er betegnelsen for symbiosen mellem de fleste urteagtige planters rødder og visse koblingsvampe. Symbiosen er kendtegnet af en gensidig udveksling af næringsstoffer. Arbuskulære mykorrhizasvampe, som er obligat biotrofe, modtager sukkerstoffer fra værplanten, der til gengæld forsynes med uorganiske næringssalte. Dannelse af arbuskulær mykorrhiza sker ved, at overvinrende chlamydosporer spirer ved kontakt med nye rødder, der koloniseres. Rodsystemets cortex gennemvoksdes af svampen, og herfra vokser svamphen ud i jorden og danner et netværk af hyfer, som er ansvarlige for transporten af fosfor fra jord til værplante. Symbiosen er uspecifik, hvilket indebærer, at enkelte arter af mykorrhizasvampe kan danne symbiose med mange forskellige plantearter. Effekten af symbiosen på plantens vækst og sundhed afhænger dog af den funktionelle kompatibilitet mellem plantearten og svampeisolatet, der indgår i symbiosen. Arbuskulær mykorrhiza er et klassisk eksempel på en mutualistisk symbiose, hvorfor der er stor fokus på symbiosens positive indflydelse på værplantens vækst og sundhed heriblandt betydningen af arbuskulær mykorrhiza for udvikling af plantesygdomme. Der er lavet en række oversigtsartikler om emnet, hvor der kan findes oplysninger om effekter af mykorrhiza på plantepatogene virus, bakterier, svampe og nematoder (Dehne, 1982; Linderman, 1994; St-Arnaud *et al.*, 1995), hvor den generelle fremstilling er, at mykorrhiza hæmmer rodsygdomme men stimulerer bladsygdomme. Nyere undersøgelser viser dog, at trods en øget udvikling af bladsygdomme hos planter med mykorrhiza ser det ud til, at mykorrhizaen inducerer tolerance hos værplanten, hvilket indebærer, at planter med mykorrhiza alligevel klarer sig bedre, når de inficeres af bladpatogener end planter uden mykorrhiza. I det følgende bliver effekter af mykorrhiza på plantepatogene svampe nærmere beskrevet.

Mykorrhizas indflydelse på plantepatogene svampe

Rodpatogene svampe

I et litteraturstudie af artikler fra perioden 1972-1996 omhandlende studier af interaktioner mellem arbuskulær mykorrhiza og plantesygdomme fandt St-Arnaud *et al.* (1995) 236 interaktionsstudier i 125 artikler. Over halvdelen af disse studier beskriver effekter på rodpatogene svampe. Patogenets udvikling blev hæmmet af mykorrhiza i 42% af disse studier, og plantens symptomer på sygdom blev formindsket i 65% af studierne. Tallene dækker over forsøg med mange forskellige patogener, men især patogenerne *Pythium*, *Phytophthora* og *Fusarium* optræder hyppigt i oversigten.

Bladpatogene svampe

Samspil mellem arbuskulær mykorrhiza og bladpatogene svampe er endnu ikke særlig veldokumenteret. Der er kun udført få studier, som dog i de fleste tilfælde viser, at planter med mykorrhiza udvikler mere patogen end planter uden mykorrhiza (West, 1995). Årsagen hertil menes at være, at blade fra planter med mykorrhiza har et højere indhold af fosfor end blade fra planter uden mykorrhiza. Selvom planter med mykorrhiza udvikler mere bladsygdom er der i flere tilfælde eksempler på øget tolerance, hvilket bevirker, at planter, som bliver inficeret med bladpatogener, overordnet klarer patogeninfektionen bedre end planter uden mykorrhiza (Dugassa *et al.*, 1996). Der er dog også eksempler på, at arbuskulær mykorrhiza ikke påvirker udviklingen af meldug f.eks. fra forsøg med meldug hos agurk (Larsen & Yohalem, 2000).

Virkemekanismer

Årsagen til de sygdomshæmmende effekter af arbuskulær mykorrhiza kendes ikke i detaljer, men der er foreslået forskellige forklaringsmodeller som f.eks. ændring af værplantens næringsindhold, resistensinduktion, antagonisme fra mikroorganismer tilknyttet mykorrhiza og direkte interaktioner mellem mykorrhizasvampe og patogener. Forskellige mekanismer kan ligge til grund for sygdomshæmning i forskellige plante-mykorrhiza-patogen-miljø kombinationer, men det er højest sandsynligt ikke enkelte mekanismer, men en kombination af flere forskellige mekanismer, som er ansvarlig for den sygdomshæmmende virkning af arbuskulær mykorrhiza. I det følgende vil terorien bag de forskellige forslag til virkemåde blive gennemgået.

Øget fosforniveau

Planter med mykorrhiza har ofte et højere indhold af fosfor end tilsvarende planter uden mykorrhiza, og flere undersøgelser har sammenlignet effekten af mykorrhiza og fosfor på rodpatogener (Smith, 1988). Graham & Menge (1982) fandt, at den hæmmende effekt af mykorrhiza på goldfodsyge hos hvede også kunne opnås gennem gødskning med fosfor. I modsætning hertil fandt Caron ingen effekt af fosfor på udvikling af rodråd forårsaget af *Fusarium*, og Bødker *et al.* (1998) fandt, at gødskning med fosfor øgede forekomsten af oosporer af *Aphanomyces euteiches* iærterødder, hvorfor den sygdomshæmmende effekt af mykorrhiza ikke alene kan tilskrives et øget indhold af fosfor.

Resistensinduktion

Når planter inficeres af et patogen, induceres forsvarssystemer i det angrebne væv. Planten forsvarer sig gennem cellvægsfortykelse, dannelse af patogeneserelaterede proteiner (f.eks. chitinase og β -1,3-glucanase) og akkumulering af phytoalexiner. Mykorrhizasvampes kolonisering af værplantens rodsysten kan forårsage induktion af omtalte forsvarssystem men dog kun i mindre omfang sammenlignet med induktion af planteforsvar ved infektion med patogener (Gianinazzi-Pearson, 1996), hvilket tyder på, at induktion af planteforsvar er af mindre betydning for arbuskulær mykorrhizas sygdomshæmning. Nyere undersøgelser viser dog en mulig sammenhæng mellem dannelsen af mycorrhizaassocieret isoforme af β -

1,3-glucanase og hæmning af *Phytophthora parasitica* i tomatrødder (Pozo *et al.*, 1999) og *Aphanomyces euteiches* i ærterødder (Slezack *et al.*, 1999). Endvidere er der kun udført få undersøgelser af forholdet mellem funktionel kompatibilitet i plante-mykorrhizasvampe kombinationer og induktion af planteforsvar, og plante-mykorrhiza kombinationer med vækstdepressioner bør inddrages i studier af forholdet mellem funktionel kompatibilitet og induktion af planteforsvar.

Mykorrhiza associeret mikroorganismer

Planter med mykorrhiza har en ændret rodexudation (Graham & Menge, 1982; Bansai & Mukerji, 1994), hvilket sandsynligvis er årsagen til, at mikrofloraen tilknyttet mykorrhizarhizosfæren både er kvalitativ og kvantitativ forskellig fra mikrofloraen tilknyttet rhizosfæren fra planterødder uden mykorrhiza (Meyer & Linderman, 1986; Secilia & Bagyaraj, 1987; Bansai & Mukerji, 1994). Ændringen i rodexudation kan således foranlede, at populationen af mikroorganismer i mykorrhizosfæren overvejende er saprotrofe (Bansai & Mukerji, 1994). Budi *et al.*, (1999) isolerede bakterier fra slægten *Paenibacillus* fra mykorrhizarhizosfæren fra *Sorghum bicolor* koloniseret med mykorrhizasvampen *Glomus mosseae*. Denne mykorrhizaassocierede bakterie hæmmer flere rodpatogener og fremmer mykorrhizadannelsen. Det er således muligt, at arbuskulær mykorrhizas sygdomshæmmende effekt ikke skyldes mykorrhizaen selv men mikroorganismer, som er specielt tilknyttet mykorrhizaen. Endvidere viser nye undersøgelser, at flere mykorrhizasvampe har bakterier beslægtet med slægten *Burkholderia* boende under cellevæggen i både hyfer og sporer (Bianciotto *et al.*, 1996). Visse arter fra denne slægt anvendes til biologisk bekämpelse af rodpatogener (Mao *et al.*, 1998).

Direkte interaktioner mellem mykorrhiza og rodpatogener

Direkte interaktioner mellem arbuskulære mykorrhizasvampe og rodpatogener kan finde sted i både rod, rhizosfære og hyphosfære, hvor konkurrence om plads og næring, og antibiotise er mulige udfald. Patogen og mykorrhiza ses ofte voksende i hver sin tilstødende nabocelle i rodsystemet, hvorfor egentlig antibiotise i plantevævet ikke er særlig sandsynlig. Anvendelse af specifikke fedtsyrer som markører til estimering af biomasse og oplagsnæring af ærterodpatogenet *Aphanomyces euteiches* i rødder med og uden arbuskulær mykorrhiza viste, at såvel patogenets biomasse som dets mængde af oplagsnæring var væsentlig mindre i ærterødder med mykorrhiza end i ærterødder uden mykorrhiza, hvilket peger på en mulig konkurrence mellem svampene om sukkerstoffer. En anden forklaring kunne være, at rødder med mykorrhiza udgør en ringere næringskilde for patogenet (Larsen, upubliceret).

Der er kun udført enkelte undersøgelser af interaktioner mellem arbuskulære mykorrhizasvampe og rodpatogener i jord. St-Arnaud *et al.* (1997) fandt, at populationen af *Fusarium oxysporum* og sygdomsudviklingen hos nellike forårsaget af dette patogen blev markant reduceret af det eksterne mycelium fra den arbuskulære mykorrhizasvamp *Glomus intraradices*. Ligeledes blev populationstætheden af rodpatogenet *Pythium ultimum* hæmmet af mycelium fra *Glomus intraradices* i rodfrí jord (Larsen, upubliceret).

Etablering af mykorrhiza i væksthuskulturer

Inokulum af arbuskulære mykorrhizasvampe er nu kommersielt tilgængelige i flere europæiske lande og USA men sælges dog fortørnsvis som vækststimulerende midler. Da arbuskulære mykorrhizasvampe er obligat biotrofe, kan inokulum udelukkende produceres med en værtplante. I første omgang startes en ny kultur udfra en enkelt spore af et mykorrhizaisolat. Herefter kan voksemediet indeholdende rødder og sporer bruges som inokulum til nye kulturer. Hvis man ønsker en renere vare er det muligt at købe inokulum alene baseret på sporer men til en væsentlig højere pris end voksemediet fra en mykorrhizakultur. Til brug ved kulturer i væksthus kan podningen foregå på småplante niveau, hvor inokulummet iblandes voksemediet. Der er flere forhold, som er afgørende for en god mykorrhizabehandling. Anvendelse af voksemedier, som er beriget med næringsstoffer med et højt indhold af fosfor, hæmmer mykorrhizadannelsen. Nyere undersøgelser af mykorrhizadannelse hos potteroser i kompost af elefantgræs og sphagnumbaserede voksemedier beriget med næringsstoffer viser, at tilsætning af næringsstofbindende stoffer som Alumina i disse voksemedier fremmer mykorrhizadannelsen (Hanne Rasmussen, personlig meddelelse). Brug af pesticider er et andet vigtigt forhold for mykorrhizadannelsen, da visse svampemidler hæmmer mykorrhizadannelsen (Kurle & Pfleger, 1994).

Konklusion

Gennemgang af litteraturen viser potentialet af arbuskulære mykorrhizasvampe til biologisk bekämpelse af sygdomme, især sygdomme forårsaget af rodpatogene svampe. Denne gruppe af svampe har flere gavnlige effekter på planters vækst og sundhed, som bør udnyttes ved dyrkning af potteplanter og grønsager i væksthus. Som med de fleste andre mikrobiologiske bekämpelsesmidler er årsagen til deres sygdomshæmning mangelfuld beskrevet, og der er behov for uddybende forskning til belysning af dette forhold. For hver enkelt kultur vil der være én ideel mykorrhizasvamp, og der er således behov for yderligere forskning inden for mykorrhiza i væksthuskulturer i såvel prydplanter som grønsager for at finde frem til velegnede plante-svamp kombinationer, som overordnet giver den optimale udnyttelse af symbiosens forskellige gavnlige effekter.

Sammendrag

Arbuskulær mykorrhiza, som er betegnelsen på symbiosen mellem arbuskulære mykorrhizasvampe og urteagtige planters rødder, er en vigtig faktor for planters vækst og sundhed i naturlige jordøkosystemer. Symbiosen kan udover at øge planters vækst og stresstolerance virke sygdomshæmmende. Der er således en lang række forsøg, som viser, at arbuskulær mykorrhiza hæmmer rodpatogene svampe og de sygdomme de forårsager. Årsagen til denne sygdomshæmning er ikke klarlagt, men fysiske og fysiologiske ændringer i planter med mykorrhiza og direkte interaktioner er foreslægtet som virkemåde. Betydningen af mykorrhiza for udvikling af bladsvampe har ikke fået samme store opmærksomhed, men forsøg har påvist, at planter med mykorrhiza har en øget tolerance mod bladpatogener. Inokulum af arbuskulære mykorrhizasvampe er nu kommersielt tilgængelige i flere

europeiske lande og USA, men en fremtidig udnyttelse af denne gavnlige symbiose inden for væksthussektoren kræver en uddybende forskning for at finde frem til en optimal plante-swamp kombination, hvor symbiosens gavnlige effekter på værtplanten udnyttes bedst muligt under de forhold, som kulturen dyrkes under.

Litteratur

- Bansal M. & Mukerji K.G. 1984. Positive correlation between VAM-induced changes in root exudation and mycorrhizosphere microflora, *Mycorrhiza* 5, 30-44.
- Bianciotto V., Bandi C., Minerdi D., Sironi M., Tichy H.V. & Bonfante P. 1996. An obligately endosymbiotic mycorrhizal fungus itself harbors obligately intracellular bacteria. *Applied Environmental Microbiology* 62, 3005-3010.
- Budi S.W., van Tuinen D. & Gianinazzi S. 1999. Isolation from the *Sorghum bicolor* mycorrhizosphere a bacterium compatible with arbuscular mycorrhiza development and antagonistic towards soilborne fungal pathogens, *Applied Environmental Microbiology* 65, 5148-5150.
- Bødker L., Kjøller R. & Rosendahl S. 1998. Effect of phosphorus and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on disease severity of root rot of peas (*Pisum sativum*) caused by *Aphanomyces euteiches*. *Mycorrhiza* 8, 169-174.
- Caron M., Fortin A. & Richard C. 1986. Effect of phosphorus concentration and *Glomus intraradices* on *Fusarium* crown and root rot of tomatoes, *Phytopathology* 76, 942-946.
- Dehne H.W. 1982. Interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens, *Phytopathology* 72, 1115-1119.
- Dugassa G.D., von Alten H. & Schonbeck F. 1996. Effects of arbuscular mycorrhiza (AM) on health of *Linum usitatissimum* L infected by fungal pathogens, *Plant and Soil* 185, 173-182.
- Graham J.H. & Menge J.A. 1982. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil phosphorus on take-all disease of wheat, *Phytopathology* 72, 95-98.
- Gianinazzi-Pearson V. 1996. Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: Getting to the roots of the symbiosis, *Plant cell* 8, 1871-1883.
- Kurle J. & Pfleger F.L. 1994. The effects of cultural practices and pesticides on VAM fungi, In: *Mycorrhizae and Plant Health* (F.L. Pfleger R.G. Linderman, eds.), APS Press, St. Paul. 101-132.
- Larsen J. & Yohalem D.S. 2000. Betydningen af arbuskulær mykorrhiza for udvikling af meldug hos agurk, DJF rapport nr. 12, 2000.
- Linderman R.G. 1994. Role of VAM fungi in biocontrol. In: *Mycorrhizae and Plant Health* (F.L. Pfleger R.G. Linderman, eds.), APS Press, St. Paul. 1-25.
- Mao W., Lewis J.A., Lumdsen R.D. & Hebbar K.P. 1998. Biocontrol of selected soilborne diseases of tomato and pepper plants, *Crop Protection* 17, 535-542.
- Meyer J.R. & Linderman R.G. 1986. Selective influence on populations of rhizosphere or rhizoplane bacteria and actinomycetes by mycorrhizas formed by *Glomus fasciculatum*, *Soil Biology and Biochemistry* 18, 191-196.

- Pozo M.J., Azcon-Aguilar C., Dumas-Gaudot E. & Barea J.M. 1999. β -1,3-glucanase activities in tomato roots inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and/or *Phytophthora parasitica* and their possible involvement in bioprotection, Plant Science 141, 149-157.
- Slezack S., Dumas-Gaudot E., Rosendahl S., Kjøller R., Paynot M., Negrel J. & Gianinazzi S. 1999. Endoproteolytic activities in pea roots inoculated with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and/or *Aphanomyces euteiches* in relation to bioprotection, New Phytologist 142, 517-529.
- Smith G.S. 1988. The role of phosphorus nutrition in interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi with soil-borne nematodes and fungi, Phytopathology 78, 371-374.
- St-Arnaud M., Hamel C., Caron M. & Fortin J.A. 1995. Endomycorizes VA et sensibilité des plantes aux maladies: Synthèse de la littérature et mechanisms d'interaction potentiels, La Symbiose Mycorhizienne, eds J.A. Fortin, C. Charest & Y. Piché, 51-87, Orbis, Freleighsburg, Canada.
- St-Arnaud M., Hamel C., Vimard B., Caron M. & Fortin J.A. 1997. Inhibition of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* in non-VAM species *Dianthus caryophyllus* by co-culture with *Tagetes patula* companion plants colonized by *Glomus intraradices*, Canadian Journal of Botany 75, 998-1005.
- West H.M. 1995. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and foliar pathogens: consequences for host and pathogen, Multitrophic interactions in terrestrial systems: the 36th symposium of the British Ecological Society, Royal Holloway, ed. V.K. Brown. 79-86.

Markedsførte mikrobiologiske bekæmpelsesmidler i Danmark – krav til dokumentation af effektivitet

Microbiological pesticides on the marked in Denmark – requirement for documentation of efficacy

Klaus Paaske

Danmarks JordbrugsForskning

Afdeling for Plantebeskyttelse

Forskningscenter Flakkebjerg

DK-4200 Slagelse

Summary

When EU Directive 91/414/EØF was implemented in Denmark 26 July 1993, microbiological pesticides were included in the same legislation as the chemical pesticides. As a consequence they must now be approved and for products already on the market, application for approval had to be submitted within a year in order to continue selling until a decision about approval could be made by the Registration Authorities. Application was accepted for 18 products, but until today no decision about registration has been made for any microbiological product.

Indledning

Den 5. juli 1991 vedtog EFs Landbrugsministerråd ”Direktiv om markedsføring af plantebeskyttelsesmidler” – Direktiv 91/414/EØF. Ved direktivet indførtes en fællesskabsprocedure for godkendelse af plantebeskyttelsesmidler herunder også mikrobiologiske midler. Formålet med direktivet var at skabe ensartede regler for, at et plantebeskyttelsesmiddel kun godkendes, når det er tilstrækkeligt effektivt, ikke har unacceptable virkninger på planter eller miljøet og ikke har skadelig virkning på mennesker eller dyrs sundhed eller på grundvandet.

Direktivet er gennemført i dansk lovgivning ved lov nr. 1067 af 23. december 1992, og de nærmere regler blev fastsat i Miljøministeriets Bekendtgørelse nr. 584 af 9. juli 1993 om bekæmpelsesmidler, den seneste udgave er bekendtgørelse om bekæmpelsesmidler nr. 241 af 27. april 1998. For de mikrobiologiske plantebeskyttelsesmidler har Miljøstyrelsen udgivet Vejledning nr. 8 1993, der nærmere beskriver hvilke datakrav, der kræves i en ansøgning om godkendelse.

Da EU-direktivet trådte i kraft 26. juli 1993, var der markedsført en række mikrobiologiske bekæmpelsesmidler i Danmark. For disse blev der indført en overgangsordning, der indebar, at producenten eller forhandleren af disse midler skulle indsænde ansøgning om godkendelse inden 26. juli 1994 efter reglerne i bekendtgørelsen, hvis man fortsat ønskede at sælge midlerne efter denne dato. Ellers ophørte retten til fortsat salg.

Forvaltningen af kemiske bekæmpelsesmidler i Danmark varetages af Miljøstyrelsens Pesticidkontor (tidligere Bekæmpelsesmiddelkontoret). De mikrobiologiske midler lå tidligere også i Miljøstyrelsen men forvaltes i dag af en anden institution under Miljøministeriet nemlig Skov- og Naturstyrelsens Landbrugs- og Bioteknologikontor.

Ansøgte produkter

Da ansøgningsfristen udløb, var der indsendt ansøgning om godkendelse af 18 produkter. I tabel 1 er vist en oversigt over de midler, hvor der er indsendt ansøgning om godkendelse, og som findes på markedet i dag.

Tabel 1. Oversigt over mikrobiologiske midler, der må sælges i Danmark og udbydes på markedet. List of microbial products, which are allowed to be sold in Denmark and are available.

Produktnavn	Producent	Dansk repræsentant	Aktivstof, organisme	Anvendelse mod
Product name	Producer	Danish distributor	Active organism	Target pest
Binab T	Binab, Sverige	Garta	<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Trichoderma polysporium</i>	visse svampe
Supresivit	Fytovita, Tjekkiet	Borregaard BioPlant	<i>Trichoderma harzianum</i>	visse svampe
Mycostop	Kemira, Finland	Bøg Madsen Gartnercenter	<i>Stretomyces griseovirides</i>	visse svampe
Rotstop	Kemira, Finland	Hedeselskabet	<i>Phlebiopsis giganta</i>	rodfordærver
Mycotal	Koppert, Holland	Garta	<i>Verticillium lecanii</i>	mellus
Vertalec	Koppert, Holland	Garta	<i>Verticillium lecanii</i>	bladlus
Vectobac 12 AS	Abbott, USA	Cillus	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israeliensis</i>	larver af sørgemyg og stankelben
Bactimos WP	Abbott, USA	Garta	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israeliensis</i>	larver af sørgemyg og stankelben
Dipel	Abbott, USA	Cillus	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	larver af visse Lepidoptera-arter
Novo-Biobit WP	Abbott, USA	Garta	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	larver af visse Lepidoptera-arter
Agrovir	Saturnia, DK	Saturnia	<i>Agrotis segetum</i> <i>granulosos virus</i>	ageruglens larve (knoporme)

Tabel 2. Oversigt over mikrobiologiske midler, hvor der ikke er søgt om godkendelse, men tilladelse til salg givet. List of microbial products, where application for registration is not submitted, but permission to sell is given.

Produktnavn	Producent	Dansk repræsentant	Aktivstof, organisme	Anvendelse mod
Product name	Producer	Danish distributor	Active organism	Target pest
Trichodex	Makhteshim, Israel	Borregaard BioPlant	<i>Trichoderma harzianum</i>	visse svampe
Bio-Fungus	Belgien	Borregaard BioPlant	<i>Trichoderma harzianum</i>	visse svampe
TR 002	USA	Garta	<i>Trichoderma harzianum</i>	visse svampe
TR 003	USA	Garta	<i>Trichoderma harzianum</i>	visse svampe

Der sælges desuden produkter, der ikke var på markedet før 26. juli 1993. Ved tolkning af hvilke produkter, der må sælges, har Miljøstyrelsen/Skov- og Naturstyrelsen besluttet at give tilladelse til salg af andre produkter med den begrundelse, at disse indeholder samme aktivstof (organismer af samme art), som er i produkter, der er ansøgt. I tabel 2 er vist oversigt over disse midler. Der er så vidt vides ikke indsendt ansøgning om godkendelse af disse midler.

De indsendte ansøgninger har nu ligget hos Miljøstyrelsen/Skov- og Naturstyrelsen i 5½ år, men der er endnu ikke truffet nogen afgørelse om godkendelse af noget middel. Hvornår det sker vides ikke.

Effektivitetsdokumentation

Krav

For at et mikrobiologisk bekæmpelsesmiddel kan godkendes, skal det dokumenteres, at det er tilstrækkeligt effektivt til det anbefalede formål. Kravene er angivet i bekendtgørelsen om bekæmpelsesmidler, og generelt kræves det, at forsøgene skal være udført under klimatiske, jordbundsmæssige og øvrige forhold, der er sammenlignelige med danske og i overensstemmelse med internationalt anerkendte retningslinier f.eks. EPPO-guidelines, hvor sådanne foreligger. Desuden er det for nyere forsøg et krav, at disse skal være udført af en GEP-anerkendt forsøgsenhed (**Good Efficacy Practice**). For forsøg udført i Danmark gælder det forsøg udført efter 1. januar 1996.

Af skaffe den fornødne dokumentation om midlers effektivitet og egnethed i praksis kræver, at de anvendes under markforhold, der svarer til den eventuelle fremtidige anvendelse. Der skal søges om tilladelse til gennemførelse af sådanne forsøg. For mikrobiologiske midler er kravet, at der til Skov- og Naturstyrelsen indsendes en række oplysninger om midlet, dets akutte toksicitet, dets patogenicitet over for pattedyr samt en række andre oplysninger. Det er samtidig en betingelse at midlerne udleveres vederlagsfrit. Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeris forskningsinstitutioner og andre laboratorier og institutioner, der er akkrediteret, kan få generel tilladelse til at foretage bestemte forsøg og undersøgelser med ikke-godkendte bekæmpelsesmidler.

Miljoministeriet har lavet en aftale med Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri om, at effektivitetsvurdering af bekæmpelsesmidler udføres ved relevante institutioner. For bekæmpelsesmidler til landbrugs- og havebrugsformål er det Danmarks JordbrugsForskning, Afdeling for Plantebeskyttelse, der udfører vurderingerne.

I effektivitetsdokumentationen kræves følgende punkter belyst:

1. Indledende range-finding undersøgelser

Disse skal give mulighed for at vurdere, om midlets anvendelse i overensstemmelse med brugsanvisningen sikrer den tilstræbte effekt mod de skadevoldere, der søges godkendelse til. Dette laves oftest som doseringskurver for de relevante skadegørere.

2. Markforsøg

Virkningen dokumenteres ved frilands- eller væksthusforsøg, afhængig af det ansøgte anvendelsesområde. Midlet skal være afprøvet mod de i brugsanvisningen nævnte

skadegørere i minimum 1/2 og 1/1 dosering i forhold til et relevant standardmiddel og en ubehandlet kontrol. Angrebsgraden i ubehandlet skal dokumenteres.

3. *Oplysning om udvikling eller mulig udvikling af resistens*

Ved begrundet formodning om eller konstateret udvikling af resistens hos skadegørere overfor midlet skal der foreligge tidssvarende og repræsentativ undersøgelse fra Danmark eller et sammenligneligt område over skadevolderens følsomhed.

4. *Virkning på udbytte og kvalitet af afgrøden eller kvaliteten af behandlede produkter*

Såfremt der i de foreliggende forsøg er tegn på, at midlet kan have en negativ indflydelse på mængde eller kvalitet af udbyttet eller på kvaliteten af planteprodukter, skal dokumentationsmaterialet belyse disse effekter.

5. *Fytotoksicitet for målgruppen af planter eller planteprodukter*

Hvis der i de foreliggende forsøg er registreret fytotokiske effekter, skal der foreligge forsøg, hvor midlet er afprøvet i det dobbelte af normal dosering.

6. *Observerede uønskede eller utilsigtede bivirkninger*

Er der observeret eller risiko for effekt på andre organismer end målgruppen, på efterfølgende afgrøde eller af behandlede plantedele, der anvendes til formeringsformål, skal dette blyses.

7. *Sammendrag og evaluering af punkt 1 – 6*

Ovenstående punkter gælder for alle bekæmpelsesmidler uanset oprindelse. For de mikrobiologiske vil der være punkter, der ikke er særligt relevante, hvorfor dokumentationen af hvert enkelt punkt vil blive vurderet i henhold til midlets karakter, anvendelse med videre.

Danske effektivitetsforsøg

Der er gennem årene udført en række forsøg med mikrobiologiske midler ved Danmarks JordbrugsForskning. For en stor del af disse forsøg især mod svampesygdomme gælder, at de er finansieret helt eller delvist af avlerorganisationer. Interessen fra firmaside for at få udført forsøg ved Danmarks JordbrugsForskning har været stor, men viljen til at finansiere arbejdet har ikke stået mål med interessen.

Udover forsøg ved DJF er der udført enkelte forsøg ved andre forsøgsenheder i Danmark.

Godkendelse

Der er som nævnt endnu ikke givet nogen godkendelse til mikrobiologiske midler i Danmark. For de i tabel 1 viste produkter er effektivitetsvurderingerne foretaget af Danmarks JordbrugsForskning og sendt til Skov- og Naturstyrelsen.

Generelt kan det fastslås at mængden og kvaliteten af den effektivitetsdokumentation, der fulgte med ansøgningerne, må betegnes som mangelfuld i forhold til de ansøgte anvendelsesområder, og en del af den er af en karakter, der ikke er anvendelig til formålet.

Det kan derfor konkluderes, at vurderet ud fra de nuværende regler for effektivitetsdokumentation kan Danmarks JordbrugsForskning ikke anbefale godkendelse for alle de ansøgte midler og for visse af midler kun til en begrænset del af de ansøgte anvendelsesområder. Dette gælder især svampemidlerne.

Fremtidige midler

For nye mikrobiologiske plantebeskyttelsesmidler, det vil sige med organismer (aktivstoffer), der ikke var markedsført indenfor EU før 26. juli 1993, gælder at disse skal søges godkendt efter de fælles EU-regler. Dette indebærer at aktivstoffet godkendes og optages på EU-listen, det såkaldte Anneks 1, hvorefter producenten nationalt skal søge om godkendelse for det formulerede produkt. Optagelse af et aktivstof på Anneks 1 indebærer, at de enkelte lande i principippet skal acceptere godkendelsen, således at de nationale ansøgninger kun skal indeholde den krævede dokumentation for det formulerede produkt. Regler for de fælles principper for denne gensidige godkendelse af aktivstoffer er vedtaget for de kemiske bekämpelsesmidler, men der er endnu ikke lavet tilsvarende regler for de mikrobiologiske midler.

Tabel 3. Oversigt over effektivitetsforsøg ved Danmarks JordbrugsForskning med markedsførte mikrobiologiske plantebeskyttelsesmidler. List of efficacy trials conducted with microbiological pesticides by the Danish Institute of Agricultural Sciences.

Produkt Product	Antal forsøg i alt, periode No. of trials total, period	Skadevolder Pest	Kultur Crop	Antal forsøg No. of trials
Binab T	11, 1996 - 1998	gråskimmel gråskimmel gråskimmel gråskimmel gråskimmel <i>Phytophthora</i>	jordbær hindbær solbær prydplanter væksthusagurk prydplanter	3 1 1 3 1 2
Supresivit	4, 1996 - 1998	<i>Rhizoctonia</i> <i>Phytophthora</i>	prydplanter prydplanter	3 1
Trichodex	1, 1998	gråskimmel	prydplanter	1
Mycostop	6 1993 - 1998	Fusarium udbytte	prydplanter væksthusagurk	4 2
<i>Verticillium lecanii</i> (Mycotal og Vertalec*)	15, 1988 - 1994	væksthusmellus bomuldsmellus ferskenbladlus væksthusspindemider saintpauliatrips	prydplanter prydplanter prydpl. + peber bønne agurk	5 4 3 2 1
Vectobac 12 AS	9, 1988 - 1993	sørgemyg væksthussnudebiller	prydplanter prydplanter	7 2
Bactimos WP	4, 1992 - 1993	sørgemyg	prydplanter	4
Dipel	18, 1987 - 1991	knopvikler, frostmåler æblevikler blommevikler jordbærvikler	æble æble blomme jordbær	10 3 2 3
Biabit	7 1985 - 1987	knopvikler, frostmåler æblevikler	æble æble	6 1

*: de udførte forsøg med *Verticillium lecanii* er alle udført med produkterne MicroGermin A, MicroGermin F eller MicroGermin Plus fra Chr. Hansen's Biosystem. Der forligger ikke danske forsøg med Mycotal eller Vertalec, men produkterne betragtes som sammenlignelige.

I tabel 4 er vist de mikrobiologiske aktivstoffer, hvor ansøgning om EU-godkendelse er indsendt og accepteret. Når en ansøgning om godkendelse efter EU-reglerne er accepteret, kan der nationalt søges om provisorisk godkendelse, dvs. en betinget godkendelse for anvendelse indtil den endelige afgørelse om godkendelse er givet. Sådanne godkendelser gives normalt for 3 år, hvorefter det forventes at beslutning om godkendelse er truffet.

Hvornår den første EU-godkendelse af et mikrobiologisk middel sker er uvist. Men det kan have lange udsigter, da der endnu ikke foreligger vedtagne regler for vurdering og godkendelse af de mikrobiologiske midler. Men der er enighed om, at reglerne for de kemiske midler ikke er anvendelige. De skal tilpasses de mikrobiologiske midlers natur og egenart. Det må være et krav fra både producenter og jordbrugserhvervene samt forskningsverdenen at dette sker meget hurtigt, da den nuværende situation er en hindring for den fortsatte udvikling af de mikrobiologiske bekæmpelsesmidler.

Tabel 4. Oversigt over mikrobiologiske midler, hvor der er søgt om EU-godkendelse.
List of microbiological pesticides where application for EU approval has been submitted.

Produktnavn Product name	Producent Producer	Dansk repræsentant Danish distributor	Aktivstof, organisme Active organism	Ansøgt anvendelse Applied usage
AQ 10	Ecogen, USA	-	<i>Ampelomyces quisqualis</i>	meldug i vin
Contans	Prophyta, Tyskland	Borregaard Bioplant	<i>Coniothyrium minutans</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> og <i>S. minor</i>
PreStop	Kemira, Finland	-	<i>Gliocladium catenulatum</i>	
PreFeRal		Borregaard Bioplant	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Væksthusmellus og bomuldsmellus
Cedemon	BioAgri , Sverige	-	<i>Pseudomonas chloroaphis</i>	udsædssbærne svampesygdomme i korn
Spod-X	Thermo Trilogy, USA	-	<i>Spodoptera exigua nuclear polyhedrosis virus</i>	<i>Spodoptera exigua</i>
-	-	-	<i>Zucchini Yellow Mosaic Virus</i> (ZYMV mild strain)	-

Konklusion

I Danmark har udviklingen indenfor mikrobiologiske midler til bekæmpelsesformål stort set stået stille siden EU-direktivet om plantebeskyttelsesmidler blev indført. En række produkter, der var markedsført inden da, er søgt godkendt nationalt og må fortsat sælges. Men på trods af at der er gået 5½ år, er der ikke truffet afgørelse om godkendelse af noget produkt. Og da nye produkter skal godkendes efter EU-reglerne, er der heller ikke kommet nye produkter til. Der ligger ansøgning om EU-godkendelse for syv nye organismer (aktivstoffer), men da der indenfor EU endnu ikke er fastsat regler for, hvordan disse midler skal evalueres, vil der sandsynligvis gå lang tid, før den første godkendelse vil ske.

Med hensyn til effektivitet er kravet til mikrobiologiske midler i principippet det samme som for kemiske midler. For de ansøgninger, der er effektivitetsvurderet, er den foreliggende dokumentation sparsom, især for midlerne mod svampesygdomme.

Litteratur

Bekendtgørelse om Bekämpelsesmidler nr. 241 af 7. april 1998.

<http://www.sns.dk/natur/natur.htm#Mikro>

http://europa.eu.int/comm/dg06/phyt/protection/index_en.htm

Resultater af forsøg med fungicider og insekticider i havebrugskulturer ved Statens Planteavlfsforsøg/Danmarks JordbrugsForskning. Publikationer af forsøgsresultater fra 1985 til 1998.

Vejledning fra Miljøstyrelsen nr. 8 1993, Mikrobiologiske plantebeskyttelsesmidler.

Erhvervets erfaringer og forventninger til fremtiden

The experiences and expectations of the trade to the future

Henrik Sivertsen

Dansk Erhvervsgartneriforening

Torveporten 10

DK-2500 Valby

Summary

In Danish horticultural enterprises there is an increasing interest for application of microbiological products to control various pests within the field of crop protection. The interest has been increasing concurrently with the growing supply of products and the more professional marketing, which is becoming the case within the area.

The confidence in using the microbiological products in stead of the traditional chemical products is definitely growing. When using the word "confidence" I mean that there is no risks regarding environment and health as long as the products used are biological or microbiological.

A complete change from the chemical to the biological or microbiological products for control of pests in Danish horticultural enterprises, is seldom altogether a success. It is often necessary to combine the biological or microbiological products with traditional chemical products in order to ensure a satisfactory control of the more obstinate pests, especially when the pests in question fall under the category of 0-tolerance pests, and particularly, if Denmark at the same time is protected zone for the pest in question.

From now on, the question will probably be whether this positive attitude can be maintained because the microbiological products for controlling pests have had several conditions and advantages, which must be considered to change or cease entirely.

The present marketing of the microbiological pests is taking place solely on the basis of the recommendations of the companies.

In the future, it must be expected that when the Environmental Protection Agency is taking on the regulation of these products, demands of efficiency will be requested similar to the demands made on the chemical products today.

When the Environmental Protection Agency or the EEC demand the same for the microbiological products as goes for the chemical products, it is probably a question of how many of the products will be left on the Danish market.

A future duty, which is said to be 3%, increased costs for an actual registration and approval of the products will, other things being equal, result in a higher price, which, if there is a future for the microbiological products, must be reflected in a similar larger advantage in terms of better effect, higher prices for the produced goods etc.

Indledning

Der er i danske gartnerier en stigende interesse for anvendelse af mikrobiologiske midler til bekæmpelse af diverse skadevoldere. Interessen har været stigende i takt med det stigende udbud af midler og den mere professionelle markedsføring, som efterhånden er gældende inden for området.

Den større professionalisme, hvormed midlerne markedsføres, har betydning for brugernes kendskab, forståelse og tillid til midlernes effektivitet.

Det, at de biologiske- og mikrobiologiske midler ikke henregnes til den gruppe af midler, der har den meget negativt ladede betegnelse "Pesticider", kan have betydning, når et gartneri skal vælge midler til bekæmpelse af en eventuel skadevolder.

I forholdet til gartneriets ansatte og i en vis grad også over for gartneriets kunder er det i visse tilfælde af stor betydning, at gartneren kan oplyse, at virksomheden ikke anvender pesticider i deres produktion.

Der er helt klart en større tillid til anvendelse af de mikrobiologiske midler end til de traditionelle kemiske midler. Med tillid skal forstås tillid til, at der ingen risiko er med hensyn til miljø og sundhed, når blot de anvendte midler er biologiske eller mikrobiologiske.

En fuldstændig overgang fra de kemiske til de biologiske og mikrobiologiske midler i bekæmpelsen af skadevoldere i danske gartnerier er sjældent en udelt succes. Oftest må der kombineres med de mere traditionelle kemiske midler for at sikre en tilfredsstillende kontrol af de mere genstridige skadevoldere og ikke mindst, når de pågældende skadevoldere hører ind under 0-tolerance skadegørene og især, hvis Danmark samtidig er beskyttet zone for den pågældende skadevolder.

Den udfasning af de kemiske midler, der har fundet sted i Danmark, siden Miljøstyrelsen startede revurderingsarbejdet, og som har ført til stadig færre kemiske midler at vælge imellem, kan i visse situationer have fået gartnerne til at vælge de ikke-kemiske metoder alene, fordi der ikke har været andre muligheder.

På nuværende tidspunkt er det min opfattelse, at de fleste danske gartnerier har accepteret de biologiske og mikrobiologiske midler som et alternativ til de kemiske midler, og det enten man har valgt at gøre meget eller lidt brug af midlerne.

Spørgsmålet fremover vil nok være om denne positive indstilling kan opretholdes. Når jeg mener, det kan være et spørgsmål, så er det, fordi de mikrobiologiske midler til bekæmpelse af skadevoldere har haft flere forhold og fordele, som må forventes at ændres eller helt bortfalde.

Krav om effektivitet

Den nuværende markedsføring af de mikrobiologiske midler sker alene på baggrund af firmaernes anbefalinger.

Fremover må det forventes, at når Miljøstyrelsen påtager sig reguleringen af disse produkter, så vil krav om effektivitet blive forlangt i lighed med de krav, der i dag stilles til de kemiske midler.

De effektivitetsdata, vi indtil nu har set på disse produkter, er ikke ligefrem iøjnefaldende gode. Forsøg udført som DJF-forsøg for erhvervets GAU-midler har stort set indtil nu altid

indeholdt mulige biologiske midler for at kunne sammenligne effekterne. De opnåede effekter har stort set alle været på højde med det ubehandlede led eller lidt ringere, hvilket har ført til, at vi på det seneste har valgt ikke at fokusere så stærkt på de mikrobiologiske midler. Det er vores opfattelse, at gartnerne i praksis opnår tilfredsstillende resultater, når de anvender mikrobiologiske midler, hvilket vil sige resultater, der er langt bedre end de resultater, der opnås ved de traditionelle effektivitetsforsøg.

Krav om dokumentation

De firmaer, der markedsfører de mikrobiologiske midler, har kun i meget begrænset omfang skullet indsende dokumentation for at opnå Miljøstyrelsens tilladelse til salg. Salgsemballagernes udseende, indhold, brugsanvisning mm. står alene for udbyderens regning.

Når Miljøstyrelsen eller EU kræver samme krav opfyldt for de mikrobiologiske midler, som i dag gælder for de kemiske midler, er det nok et spørgsmål om, hvor mange af midlerne, der vil være tilbage på det danske marked.

Økonomi

Rent økonomisk er det efter sigende ikke ligefrem billigere at anvende de mikrobiologiske midler frem for de kemiske og det på trods af, at de mikrobiologiske midler ikke er belagt med afgift, som tilfældet er for de kemiske midler.

En fremtidig afgift, som efter sigende bliver på 3%, øgede omkostninger til en egentlig registrering og godkendelse af midlerne vil alt andet lige føre til en højere pris, som, hvis de mikrobiologiske midler skal have en fremtid, skal kunne afspejles i en tilsvarende større fordel i form af bedre effekt, højere priser for de producerede varer eller lignende.

Supresivit (*Trichoderma harzianum*): "Effektforsøg"

Supresivit (*Trichoderma harzianum*): "Evaluation of effect-trials"

Steen Borregaard

Borregaard BioPlant ApS

Helsingforsgade 27 B

DK - 8200 Århus N

Summary

The evaluation of the product: "Supresivit" (*Trichoderma harzianum*) as a plant-protection product should be evaluated along different lines compared to the evaluation of chemical products.

Both the effect on pathogens and the stimulating effect on plant-growth are important in these new microbiological products.

Supresivit was tested at the institute of Biotechnology in Kolding in the years 1997-1999. Very positive effects on grey-mould (*Botrytis cinerea*) from potroses were significant both in vitro and in vivo trials. Cress treated with Supresivit survived significantly better than control plants.

Trials from 1990 also showed an increase in biomass from different agricultural seeds treated with Supresivit (5 gram/100 gram of seeds).

Indledning

Anvendelsen af mikrobiologiske midler mod svampesygdomme i planteproduktionen er godt etableret her i landet. Flere midler er registrerede efter de lokale krav, der findes på området.

Produktet "Supresivit" med nyttesvamphen *Trichoderma harzianum* var et af de første mikrobiologiske midler, der gennemgik denne registrering, og har også fået stor udbredelse både i væksthusproduktion og frilandsproduktion.

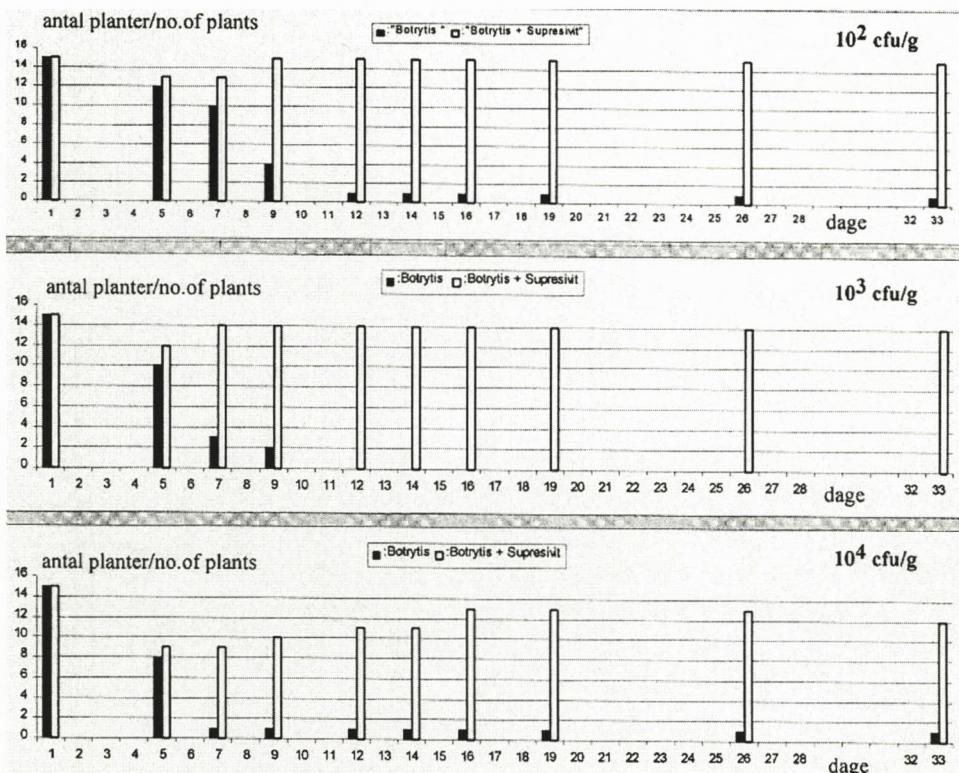
Effektvurderingen af mikrobiologiske midler, der er en vigtig del af registreringen, er midlertidigt henlagt, selvom disse midler foreløbigt er placeret under registreringen af bekämpelsesmidler.

Effekten af *Trichoderma* produkter er ikke direkte sammenligneligt med effekten af kemiske fungicider. Aspekter som vækstfremning, stress-stabilitet hos planterne med videre har lovgivningsmæssigt ingen betydning i sammenhæng med *Trichoderma*-produkterne, hvilket det sandsynligvis burde have.

Resultater

I kombination med et bredere projekt i perioden 1997-1999 sammen med Bioteknologisk Institut i Kolding, undersøgte Borregaard BioPlant effekten af Supresivit mod forskellige patogener både in vitro og in vivo.

På figur 1 ses effekten af Supresivit på *Botrytis cinerea* (gråskimmel indsamlet fra potteroser i DK) i inficerede karseplanter.



Figur 1. Antal overlevende karseplanter i pottejord (efter 33 dage) inficerede med *Botrytis cinerea*: ■ sammenlignet med inficerede karseplanter i pottejord iblandet Supresivit □ 1999. Number of surviving cress-plants in potsoil (after 33 days) infected with *Botrytis cinerea*: ■ compared with infected cress-plants in potsoil mixed with Supresivit □ 1999.

Der ses en total beskyttelse af planterne, der er behandlede med både Supresivit og *Botrytis* i forhold til planter kun behandlet med *Botrytis*, der næsten alle døde inden for en periode på 1-2 uger efter behandlingen.

Selv ved forøgede koncentrationer af *Botrytis* (10^4 cfu/g) ses den samme effekt, og sammenlignende forsøg på petriskål viste helt klart, at Supresivit har en bekämpende effekt mod gråskimmel.

Fytotoksisk virkning samt den vækstfremmende virkning er også undersøgt i flere omgange.

På forskningsinstituttet for Kemisk Teknologi, Bratislava lavede Ing. Liana Ujhelyinova i 1990 flere tekniske undersøgelser af produktet Supresivit.

12 landbrugskulturer blev undersøgt for frisk plantemasse 14 dage efter bejdsning med Supresivit (5 gram til 100 gram frø). Plantemassen blev opgjort i % i forhold til kontrol.

	Hvede/ wheat	Byg/ barley	Hirse/ millet	Rug/ rye	Blomkål/ cauliflower	Sukkerroe/ sugar-beet
Supresivit: 5 gram/100 gram frø:	111,2 %	132,1%	181,8%	105,4%	92,1%	113,7%

En del kulturer var ikke signifikant forskellige fra kontrollen, men en væsentlig forbedring sås med de bejdsede frø fra hvede, byg, hirse og sukkerroe.

Konklusion

Mikrobiologiske produkter må vurderes ud fra deres effekt, og da et produkt som Supresivit viser sig både at have vækstfremmende og bekæmpende effekt, er det væsentligt, at produktet vurderes ud fra begge disse parametre.

BINAB's effektive, økonomiske og miljøvenlige *Trichoderma* produkter som mulige Systemic Acquired Resistance (SAR) i jordbær

BINAB's effective, economical, and environment compatible *Trichoderma* products as possible Systemic Acquired Resistance (SAR) inducers in strawberries

Thomas Ricard
BINAB Bio-Innovation AB
Box 161
546 22 Karlsborg
Sweden

Henrik Jørgensen
Garta
Havkærvej 81
Tilst
DK-8381 Mundelstrup

Summary

During the last 3 years, informal (comparison of biological vs. chemical treatment) trials by Swedish commercial growers under the supervision of the local farmer advisor for small fruit, were followed by 2 years of formal (untreated control vs. biological treatment) tests by three independent organisations in Denmark, France and Switzerland.

In these tests BINAB's *Trichoderma* products (BINAB®TF-WP and BINAB®T Vector) met commercial, technical and economical criteria for the suppression of grey mould caused by *Botrytis cinerea* in open field grown strawberries (i.e. the use of the *Trichoderma* preparations tested were cost effective for the commercial grower).

The compatibility of BINAB's *Trichoderma* products with workers, end users and the environment have been demonstrated over a period of 25 years of continuous production and marketing. This experience is consistent with the worldwide observations of numerous workers involved with research, development and commercialisation of *Trichoderma* products since 1932 (Weindling). These various endeavours have been reviewed comprehensively by Harman *et al.* (vol. 1 & 2).

Materialer og metoder

De aktive ingredienser i begge de testede præparater er de samme nemlig BINAB's *Trichoderma polysporum* ATCC 20475 og *Trichoderma harzianum* ATCC 20476, der virker

inden for et temperaturspektrum på 2°C – 32°C. Disse *Trichoderma* kulturer bliver formuleret til færdige produkter, og aktiviteten er udtrykt i kolonidannende enheder (CFU). Det garanterede minimum er 100.000 CFU/g for BINAB TF WP og 1.000.000 for BINAB T Vector.

De færdige produkter er testet for bakterie- og svampeforenninger og giftighed over for daphnier, fisk og fugle.

BINAB TF WP blev udbragt med standard sprojeteudstyr, mens BINAB T Vector blev placeret i dispensere fastgjort på humlebistader til udbringning af bestøvende humlebier (figur 1). Det grundlæggende design af dispenserne blev udviklet af Yu and Sutton på University of Guelph, Ontario i Canada.

De orienterende forsøg hos svenske jordbærproducenter blev lavet i Vestsverige under observation af den lokale frugtavlkskonsulent Kirsten Jensen fra Länsstyrelsen för Västra Götalands Län.

De officielle forsøg i Danmark blev udført af Agrolab A/S efter OECD's GLP og GEP retningslinier. I Frankrig blev de officielle forsøg udført af Service de la Protection de Végétaux (PV) under det franske landbrugsministerium. De schweiziske forsøg blev udført af FiBL (Forschungsinstitut für biologischen Landbau). Alle tre serier af officielle forsøg inkluderede ubehandlet kontrol. De orienterende forsøg sammenlignede BINAB's produkter med standard kemiske svampedræbende midler.

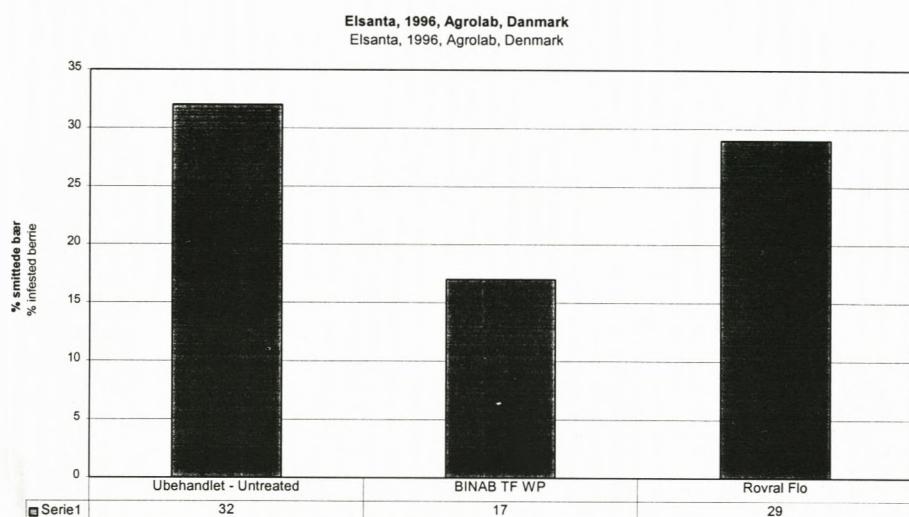


Figur 1. Humlebistade og toetages dispenser i jordbærmark med indgang/udgang med fronten fremad. 1. Bumblebee hive and two floor dispenser in strawberry field with exit/entry facing viewer.

Når humlebierne skal ud af stadet, går de igennem det nederste niveau på dispenseren, som indeholder BINAB T Vector et biologisk pulver, som klæber til deres ben og krop. Humlebierne efterlader noget af det biologiske pulver på alle de blomster de besøger. Humlebierne kommer tilbage i stadet fra marken igennem det øverste niveau. I figur 5 er der vist resultater fra afprøvningsforsøg.

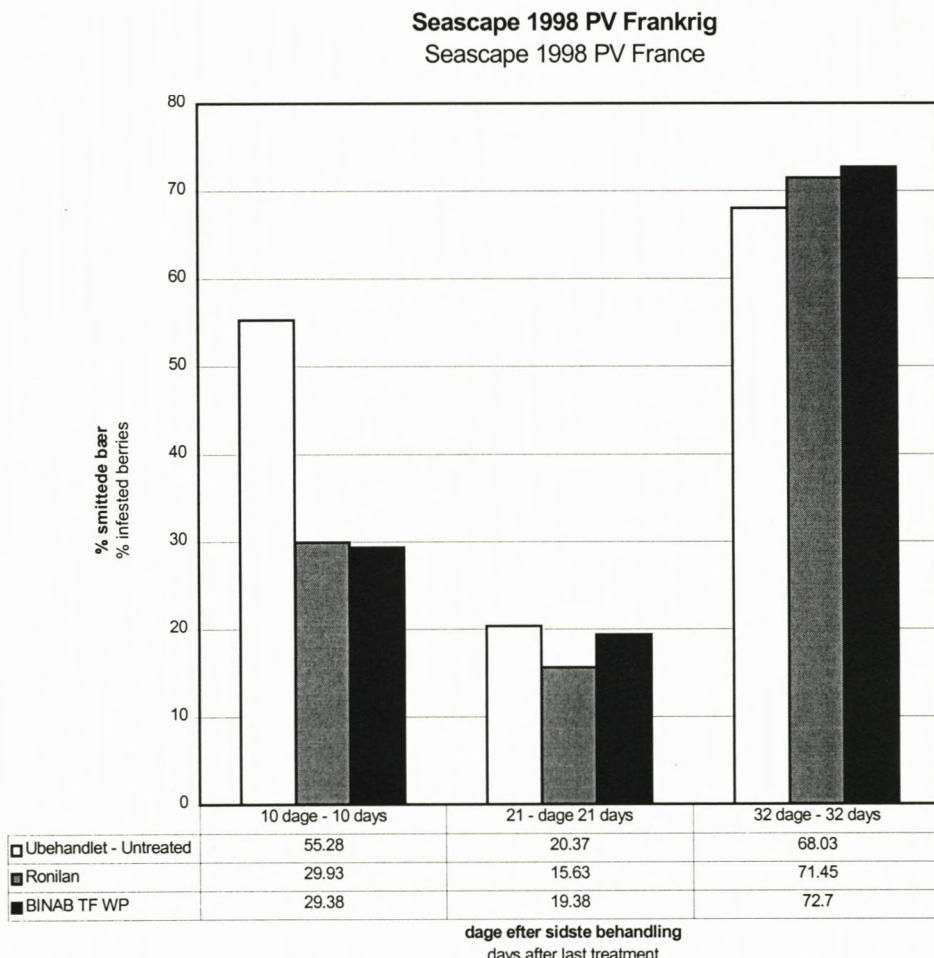
De orienterende forsøg i Sverige gav anledning til, at der blev gennemført egentlige afprøvningsforsøg i Danmark med optimale doseringer. De franske og schweiziske undersøgelser har yderligere bidraget til at belyse BINAP-præparaternes effekt

Figur 2, 3, 4 og 5 viser resultater fra de gennemførte afprøvningsforsøg (registreret i de formelle forsøg).



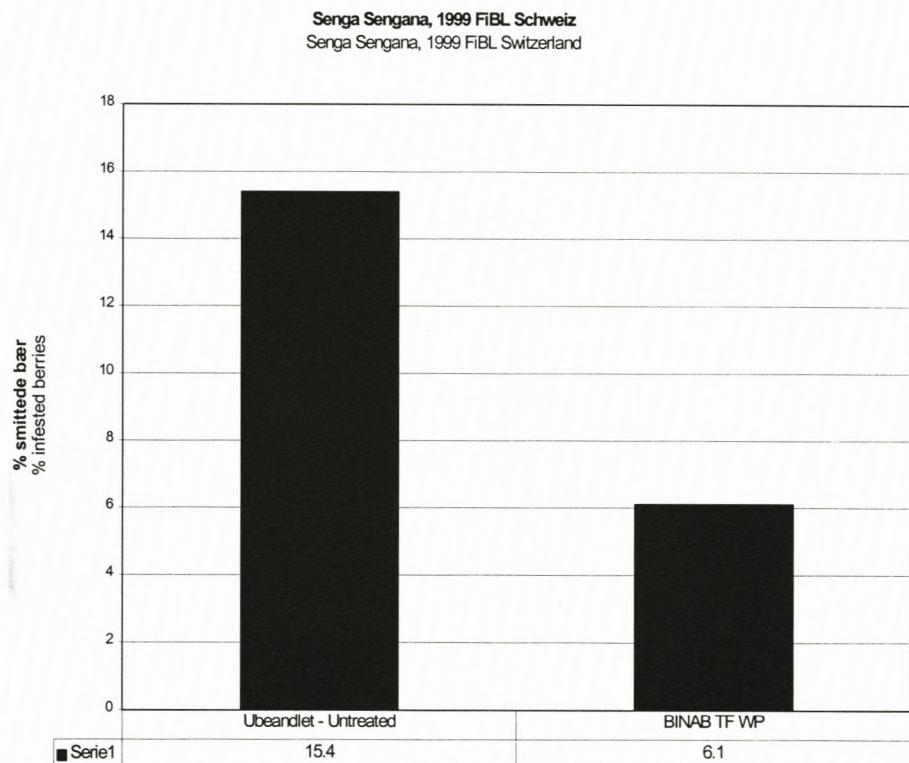
Figur. 2 I 1996 blev BINAB TF WP testet formelt i Danmark mod gråskimmel (*Botrytis cinerea*) i jordbær. Effektiviteten blev målt ved optælling af Botrytis-angrebne bær i ubehandlede, BINAP TF WP og Rovral Flo (3,0 l/ha) behandlede parceller. Hver behandling blev gentaget 4 gange. Behandlingen med 500 g Binab TF WP/ha gav en signifikant lavere procentdel smittede bær end den ubehandlede kontrol og Rovral Flo ved 3,01 l/ha. Produkterne blev udbragt 4 gange igennem sæsonen. Ved markedsføring i Frankrig viste BINAB TF WP sig at opfylde effektivitetskriterierne. I alle sager, hvor der blev inkluderet kemisk bekämpelse, stod BINAB's produkter gunstigt i sammenligningen. In 1996 the biofungicide BINAB TF WP was tested formally on strawberries in Denmark against grey mould (*Botrytis cinerea*). The efficacy was measured with the standard method, percentage of infested berries per plot and treatment. Each treatment had 4 replications. The treatment of 500 g BINAB TF WP/ha. gave significantly lower percentage of infested berries than untreated control and Rovral Flo at 3.01 l/ha. The products were applied 4 times during the season. The pathogen may have been tolerant to

Rovral Flo (a registered trademark owned by manufacturer Rhone Poulenc). For marketing in France BINAB TF WP was found to fulfill efficacy criteria. In all the cases where chemical fungicides were included, BINAB's products compared favorably.



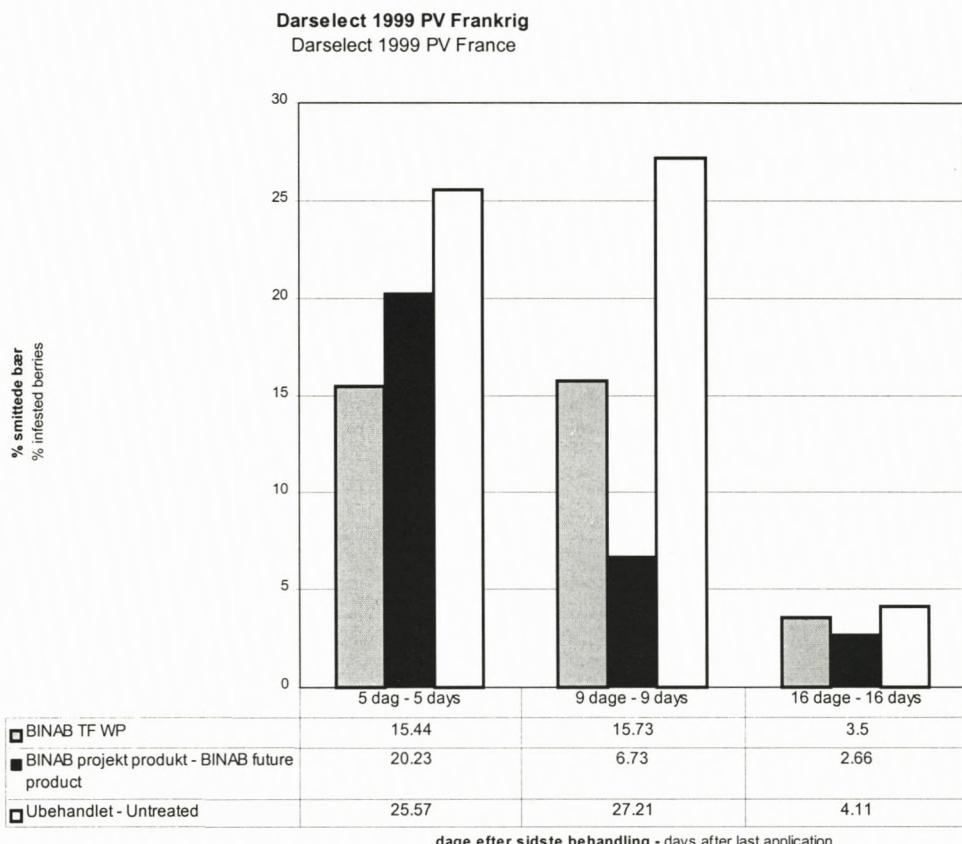
Figur 3. I forsøg i 1998 på jordbær mod gråskimmel (*Botrytis cinerea*) i Frankrig blev BINAB TF WP (500 g/ha) sammenlignet med Ronilan DF (1,5 kg/ha) og ubehandlet kontrol. Hver behandling blev gentaget 3 gange. Effekten blev opgjort ved optælling af smittede bær. Der var fire gentagelser. Ved den første optælling var der en signifikant forskel mellem behandlede og ubehandlede, men der var ikke nogen signifikant forskel mellem BINAB TF WP og Ronilan DF. Ved anden og tredje opgørelse var der ingen

signifikant forskel mellem behandlede og ubehandlede bær. Ronilan DF er et registreret varemærke fra BASF AG. Trial in 1998 on strawberries against grey mould (*Botrytis cinerea*) in France comparing BINAB TF WP (500 g/ha) with Ronilan DF (1.5 kg/ha) and untreated control. Each product was applied 3 times. The results were obtained through the evaluation of infested berries per treatment. There were 4 replications. At the first evaluation there was significant difference between untreated and treated, there was no significant difference between BINAB TF WP and Ronilan DF. At the second and third evaluation there was no significant difference between treated and untreated. Ronilan DF is a registered trademark of BASF AG.



Figur 4. Et forsøg i Schweiz i 1999 på jordbær mod gråskimmel (*Botrytis cinerea*) viser effekten af BINAB TF WP (500 g/ha)/1 kg sukker/ha sammenlignet med ubehandlede bær. Effektiviteten blev opgjort ved optælling af smittede bær. Der var 3 gentagelser. Der blev udført 6 behandlinger med BINAP/sukker. Første behandling fandt sted en uge før blomstring og den sidste skete to uger før høst. Effekten af behandling med BINAB TF WP var statistisk signifikant i forhold til den ubehandlede kontrol. A trial in Switzerland in 1999 on strawberries against grey mould (*Botrytis cinerea*) comparing BINAB TF WP (500 g/ha) and 1 kg of sugar/ha with untreated control. The efficacy was evaluated

through the amount of infested berries per treatment. Each treatment had 3 replications. There were a total of 6 applications of BINAB TF WP beginning one week before blooming and ending two weeks before harvest. The treatment with BINAB TF WP was statistically significant from the untreated control.



Figur 5. BINAB T Vector (påført med humlebier) i kombination med BINAB's pulver formuleringer udsprøjtet med traditionelt udstyr (BINAB TF WP 500 g/ha og en ny BINAB formulering 500 g/ha) sammenlignet med ubehandlet kontrol. Der blev kun udført en udsprøjtning med BINAB's pulver formuleringer. På grund af den højere forekomst af gråskimmel ved den første plukning i forhold til den anden, må en sprøjtning før blomstring anbefales som en ekstra beskyttelse. BINAB T Vector (applied via bumblebees) in combination with BINAB's wettable powders sprayed out with traditional equipment (BINAB TF WP 500 g/ha and a new BINAB formulation 500 g/ha) compared to untreated control. Only one spraying with BINAB's wettable powders was performed. Due to the higher incidence of grey mould in the first picking as compared to the second, a spraying before blooming may be recommended for additional protection.

Tabel 1. Tabellen viser resultaterne af en test, som kræves af de svenske registreringsmyndigheder - Kemikalieinspektionen (KEMI). Testen viser forekomst af svampe i BINAP-behandlede og ikke-behandlede bær. Der blev ikke fundet nogen *Trichoderma spp.* kolonier på de behandlede bær, og skimmel- og gær-tallene var ikke højere end på de ubehandlede. The table shows a test required by the Swedish pesticide registration authorities, Kemikalieinspektionen (KEMI). The issue was how BINAB treated strawberries compared with the Livsmedelsverkets (the Swedish Food Inspection Authorities) standards for fungal population on food products, especially fresh fruit. The Standard testing method “proposed Method for Mould and Yeast Determination in Food” developed by the “Nordic Committee on Food Analysis” by the French PV. No. *Trichoderma spp.* colonies were found. The mould and yeast counts on the treated berries were not higher than on the untreated berries.

Log 3 (10 base)	Skimmel Moulds	Gær Yeasts	<i>Trichoderma spp.</i>
Ubehandlet Untreated	6,5	4	0
BINAB TF WP BINAB TF WP	7	10	0
BINAB projekt produkt BINAB Project Product	1,5	8	0

Diskussion

BINAB T Vector systemet er yderst effektivt. Det sparer tid og penge og belaster ikke miljøet og fungerer også selv om vejret er fugtigt. Selv når markerne er så våde, at traktoren risikerer at køre fast, er humlebierne i stand til at besøge blomsterne og beskytte jordbærrene mod gråskimmel. Effektiviteten af BINAB TF WP holder i 10 dage men ikke mere end 21 dage, jvnf. figur 3.

Behandling med BINAP via humlebier skal suppleres med en sprøjtninger før og efter blomstring.

De her beskrevne resultater er uventede. De er ikke i overensstemmelse med tidligere erfaringer med *Trichoderma* præparerter over årene (Adams, 1990).

Systemic Acquired Resistance (SAR)

De ensartede resultater opnået over 3 år og 4 forskellige steder foruden, at der er anvendt forskelligt personale og behandlingssteder (friland i stedet for væksthus, blad/blomster behandling i stedet for rhizosphere påføring) er ikke i overensstemmelse med de generelle erfaringer af *Trichodermas* virkning på svampepatogener.

Det franske PV kunne ikke isolere *Trichoderma* forekomster på jordbær, selvom de var behandlet med både BINAB TF WP og humlebi udbragt BINAB T Vector. Kun *Botrytis*,

Cladosporium og gær blev fundet på bærrene. Hvordan kunne mycoparatisering finde sted, når der manglede en mycoparasit?

Der var rigelige næringsmidler på bærrene. Svampe var tilstede på alle bærrene men ikke *Trichoderma* spp.

En for nylig forstået mekanisme Systemic Acquired Resistance (SAR) kan være forklaringen. Den ”udvikler beskyttelse (af planter) imod et bredt spektrum af mikroorganismer på en måde sammenligneligt med immunforsvaret hos pattedyr” ifølge Sticher *et al.* (1997). Den bliver udløst eller forårsaget af en minimal ekspansion af planten med visse mikroorganismer. SAR er påvist i en række forskellige dyrkningssituitioner. I en rapport beskriver Martinez *et al.* (1999) effektiviteten af *Trichoderma harzianum* enzymer med introduktion af SAR i meloner, agurker, tomater og vinranker. Varigheden af SAR effekten er rapporteret som 14 dage, hvilket er i overensstemmelse med effektiviteten af behandling med BINAB TF. WP (se figur 3).

Hvis SAR er involveret i beskyttelsen af jordbær imod *Botrytis* efter udsættelse for *Trichoderma* sporer og metabolitter fra BINAB TF WP eller BINAB T Vector, forklarer det, at der kun behøves en lav dosering på 500 g pr. ha imod de 1,5 tons, som bliver rapporteret af Strashnow *et al.* (1985) til bekämpelse af *Rhizoctonia solani* efter desinfektion med methyl bromid med 200 kg/ha. Dette resultat viser sammen med andre (Adams, 1990), at en bestand af mindst 10^5 *Trichoderma* sporer/g i jord er nødvendigt til at kontrollere en plantesygdom med en koloni tæthed på ikke mindre end 200 sporer/g jord. Der er ingen mulighed for at opnå 10^5 *Trichoderma* sporer pr./g bær på friland med en BINAB TF WP dosering på 500 g/ha eller med påføring af BINAB T Vector med humlebier.

Forurening nedsætter effektiviteten

Det er afgørende for *Trichoderma*-præparererne, at de ikke er forurenede med andre mikroorganismér. Beskadigelse fra bakterieforurening blev erfaret i den tidlige produktion af BINAB's aktive *Trichoderma* ingredienser.

Derfor blev der udviklet procedurer til at undgå bakterieforurening i produktionen og kvalitetskontrol af de færdige produkter.

Imidlertid er dette ikke praksis hos alle producenter af *Trichoderma* svampedræbende midler. Et eksempel på forurenede *Trichoderma* produkter på markedet blev rapporteret i Ricard + Ricard rapporten (1997), og forurenede *Trichoderma* produkter er stadig på markedet den dag i dag.

SAR konceptet åbner nye perspektiver i udviklingen af miljøvenlige produkter til plantebeskyttelse og åbner mulighed for udvikling af plantebeskyttelsesstrategier til bekämpelse af gråskimmel i jordbær.

Konklusion

Effektiviteten af BINAB TF WP og BINAB T Vector imod gråskimmel (*Botrytis cinerea*) er observeret konstant i adskillige europæiske lande på forskellige jordbærsorter over en periode

på 3 år. Disse gode resultater kan forklares med udviklingen af SAR i jordbærplanterne som et resultat af deres eksponering af kendte SAR fremkaldere, som er tilstede i *Trichoderma harzianum*.

Litteratur

- Adams P.B. 1990. The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. *Anna Rev. Phytopathology* 28:59.72.
- Harman G.E. & Kubicek C.P. eds. 1998. *Trichoderma & Gliocladium*. Vol. 1 & 2 Taylor & Francis Inc. 1900 Frost Road, Suite 101, Bristol, PA 19007, Taylor & Francis Ltd, 1 Gunpowder Square, London, EC4A 3DE.
- Yu H. & Sutton J.C. 1997. Effectiveness of Bumblebees and honeybees for delivering inoculum of Harman et al vol. 1and 2. *Gliocladium roseum* to raspberry flowers to control *Botrytis cinerea*. *Biological Control* 10: 113 – 122.
- Ricard J.L. & Ricard T.L. 1997. The ethics of biofungicides – A case study: *Trichoderma harzianum* ATCC 20 476 on Elsanta Strawberries against *Botrytis cinerea* (gray mold). *Agriculture and Human Values* 14: 251 – 258.
- Martinez C., Besnard O. & Baccou J.C. 1999. Stimulation des defenses naturelles des plantes: Celluloses et protéases d'origine biologiques: Deux exemples d'élicteus. *Phytoma* 521: 16 – 19.
- Sticher L., Mauch Mari B. & Métraux J.P. 1997. Systemic Acquired Resistance Annu. Rev. *Phytopathology* 35: 235 – 70.
- Weindling R. 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite on other soil fungi. *Phytopathology* 22: 837 – 45.

TRI 002 og TRI 003 Nyt biologisk produkt til stimulering af plantevækst

TRI 002 and TRI 003 New biological plantgrowth stimulant

Kees van Heemert and Hottem Veenstra

Plantsupport

Convent 9

1613 EM Grooetbroek

Nederland

Henrik Jørgensen

Garta

Havkærvej 81

Tilst

DK- 8381 Mundelstrup

Summary

Introduction of the *Trichoderma harzianum* strain TRI 002/TRI 003 as granules and wettable powder respectively has shown significantly good results, both in scientific research as in practical situations. As plant growth promotor in several crops an increase in the development of the rootsystem was assessed and as a consequence more vitality, productivity and quality was shown. In a number of cases prevention of certain roottdiseases were observed. Additionally, the high and constant number of colony forming units per gram, the availability of a rootcolonisation assay and a fingerprinting method make the use of this biological product in agriculture very attractive.

Indledning

Igennem mange år er der udført forsøg med biologiske produkter i jord og kunstige substrater for at stimulere plantevæksten. Imidlertid har et begrænset antal af disse produkter nået det praktiske påføringsstade. Disse produkter kan på den ene side være udtræk fra f.eks. planter eller visse udefinerbare naturlige stoffer, og på den anden side kan de være præpareret fra særlige mikroorganismer. De fleste af disse er svampe – og bakterieprodukter eller i mindre grad mycorrhizae og actinomycae. Som følge af den større bekymring for brugen af syntetiske og giftige kemikalier i landbruget og tilgængeligheden af visse potentielle nye biologiske produkter, overvejer flere og flere producenter at skifte til biologiske metoder. I dette indlæg er resultaterne præsenteret af et biologisk produkt som i modsætning til flere biologiske produkter eller mikroorganismer er pålidelig for producenten baseret på både effektivitet og kvalitetskontrol.

Materialer

TRI 002 og TRI 003 er to formuleringer fra den samme *Trichoderma harzianum* stamme. Granulatet er produceret med et cfu/g niveau på $2-3 \times 10^{8}$. Dette produkt bruges primært i

pottejord. I almindelighed kan virksomheder i Europa mikse dette granulatprodukt i doseringer på 100 – 1000 gram pr. m³ pottejord. Pulveret TRI 003 kan opløses i vand og har også et cfu niveau på 2-3 x 10⁸. I behandlingen, som diskuteret nedenfor, er TRI-pulveret blevet iblandet vækstmediet til azalea og opløst i vand for agurker. Som plantemateriale blev azalea og agurk valgt som værende 2 vigtige afgrøder i væksthuse i Europa.

En specifik petriskåltest blev brugt for at analysere tilstedeværelsen af *Trichoderma* svampe. Denne analyse er baseret på en specifik agar type indeholdende antibiotika og svampedræbende midler, som kun lige tillader *Trichoderma* sporerne at gro. Ved at putte små stykker af rødderne på agarren, kan planter analyseres for tilstedeværelsen af *Trichoderma* efter 7 dage.

Resultater og diskussion

For at overkomme vanskeligheder med rodfæstningen af Azalea stiklinger blev *Trichoderma* kilden anvendt både som granulat og pulver. I en test på 1.200 stiklinger blev der lavet en sammenligning mellem effekten af TRI 002 blandet med jorden (600 gram/m³ jord), dypning af stiklingerne i TRI 003, en kombination af de to foregående. Efter 6 uger blev rodfæstningen bestemt. Resultaterne kan ses i figur 1. Det ses helt klart, at der er en forskel i procentdel af rodfæstning. Fem forskellige rodfæstningsklasser blev defineret fra nul rødder (klasse 1) til godt rodfæstede med en rodmasse på 4-5 cm i diameter (klasse 5).

Tilsyneladende var en kombination af TRI 002 og TRI 003 den bedste behandling og er signifikant forskellig fra kontrolstiklingerne. Resultaterne er fortolket og overført til praksis hos adskillige Azalea producenter som bruger *Trichoderma* nu. For nylig er producenterne begyndt kun at bruge TRI 003 som udvanding, og de vander jorden med en opløsning af TRI 003, før stiklingerne bliver stukket i jorden. Det er ikke nødvendigt at tilføre TRI 002 til jorden mere. Denne metode virker godt og producenterne vælger denne metode, fordi det er nemmere i deres planlægning af kulturen, og fordi de kan tilføre produktet selv.

I agurk blev der udført et eksperiment med at tilsætte TRI 003 til rockwool og kokosjord substrater. Det er temmelig nemt at opløse TRI 003 i vand og gennemvæde substraterne. I begge tilfælde blev der brugt en dosering på 1,6 gram pr. 100 agurkeplanter. I figur 2 kan det observeres, at der er en klar forskel mellem behandlede og ubehandlede grupper. Både hvad angår rockwool og kokosjorden er der sket en udbyttestigning af agurker i stk./m² og i kg/m² på 5 – 10%. Figur 2 viser effekten af TRI 003 på ydelsen af agurker.

Som en kvalitetskontrol eksisterer der en nem metode til at analysere tilstedeværelsen eller manglen på *Trichoderma* på rødderne. Man lægger rodstykker i petriskål på et specifikt agar substrat. For det tilfælde at nogle få sporer af *Trichoderma* er på rodoverfladen vil en formering finde sted inden 7 dage ved 25°C. Især i tilfælde af tvivl fra kundernes side omkring effektivitet/tilstedeværelse af TRI 002/003 i rodzonen er en sådan rodkolonisationsanalyse nyttig.

Til slut kan en systematisering for identifikation af TRI 002/003 anvendes. Denne systematisering er baseret på specifikke enzymmønstre, der sætter dig i stand til at skelne mellem TRI 002/003 og andre *Trichoderma* kilder eller *Trichoderma*-stammer, som forekommer naturligt i

jorden. Denne fingeraftryksteknologi er ny på dette felt for biologisk kontrol med mikroorganismer.

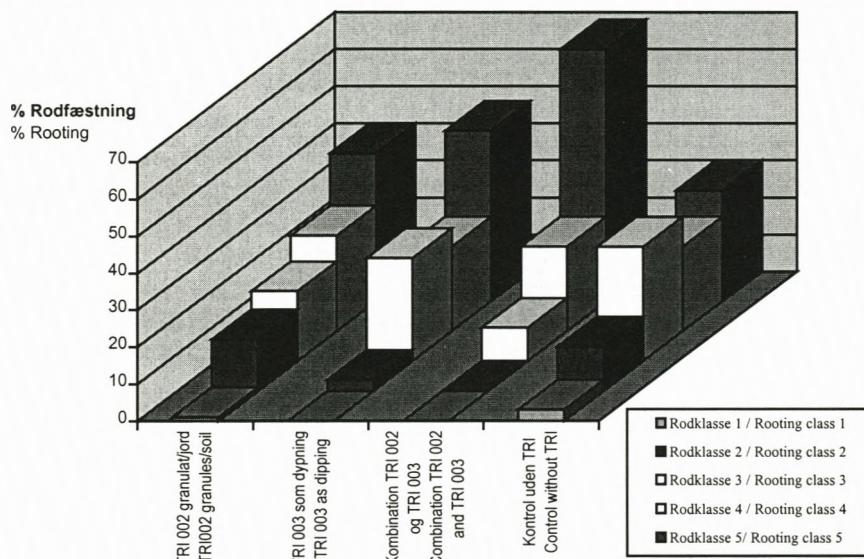
Ifølge resultaterne af Datnoff *et al.*, 1995 viste TRI 002/003 sig at have præventiv effekt imod sygdomme så som *Fusarium* i tomater. Men også kontrol af *Pythium* og *Rhizoctonia* blev fundet.

I afgrøder så som agurk, Azalea, Eustoma og Calceolaria er disse kontroleffekter blevet observeret i praktiske forsøg hos producenter. Konkurrence om føden med patogene svampe og produktion af kitin kan i tilfælde af en tidlig udbringning til unge planters rodzone være forklaringen på mindre eller slet ingen forekomst af svampesygdomme. Gennem en tidlig kolonisation af rodzonene med *Trichoderma* opnås en højere vitalitet i løbet af udviklingen af høsten.

Formindskelse af brugen eller helt udelade de kemiske svampedræbende midler kan være meget gavnlig for landbruget både arbejds- og markedsføringsmæssigt.

% Rodfæstning Azalea - % Rooting Azalea

Effekt TRI 002/003 - Effekt TRI / 003



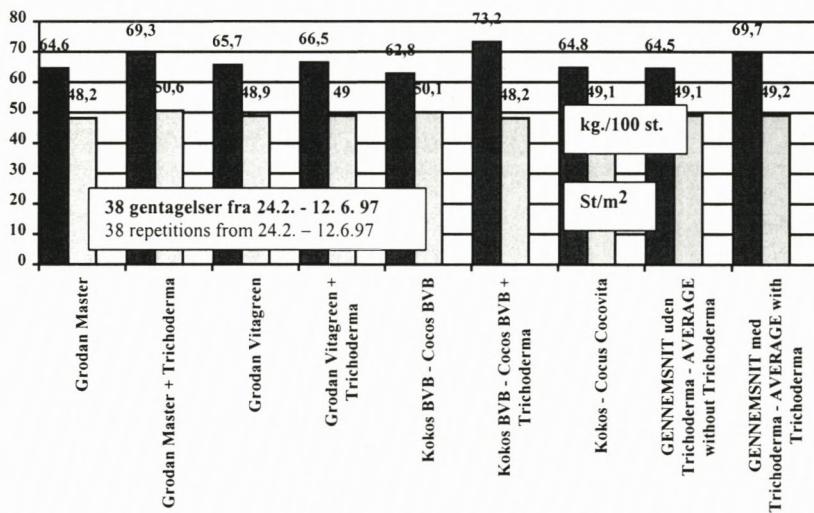
Rodklasse/Rooting class

1. Ingen rødder/No roots
2. Dårlig rodfæstning, 1 cm. rodlængde/Bad rooting, 1 cm rootlength
3. Små rødder, diameter ca. 2 cm/Small rootplug, diameter about 2 cm
4. Rimelige rødder, diameter ca. 3 cm/Reasonable rootplug, about 3 cm diameter
5. God rodfæstning, rødder 4 – 5 cm. diameter/Well rooted, rootplug diameter 4-5 cm

Figur 1. Azalea forsøg Aalsmeer. Azalea trials Aalsmeer.

Sorter: "Europa" (RZ) – Plantning: 23.1.97 – Plantetæthed: 1,9 planter/m² i V-system.

Varieties: "Europa" (RZ) – Planted: 23.1.97 – Plant density: 1.9 plants/m² in V-system.



Figur 2. Drivagurker på diverse substrater i lukket og steriliseret system: Forsøg med *Trichoderma harzianum* for udbytteforøgelse. Cucumber on various substrates in a closed and sterilized system: Test with *Trichoderma harzianum* for increasing of yield.

Erkendtlighed

Vi takker "Lehr – und Versuchsanstalt Straelen" i Tyskland for brugen af deres data omkring agurker.

Vi takker Forsøgsstationen for Blomsterdyrkning og Væksthusgrøntsager i Aalsmeer for eksperimenter udført på Azalea.

Litteratur

Datnoff L.E., Nemec S. & Pernezny K. 1995. Biological control of *Fusarium* Crown and Rootrot of tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. Biological control 5 , 427-431.

Kromwijk A. & Brandts A. 1996. Schimmel bezorgt Azaleastek een grotere wortelkluit. Vakblad voor de Bloemisterij. 49, 54.

Gliocladium catenulatum J1446 – et nyt biofungicid til havebrugsafgrøder
Gliocladium catenulatum J1446 – a new biofungicide for horticultural crops

Marina Niemi & Marja-Leena Lahdenperä
Kemira Agro Oy
Espoo Research Centre
P.O.Box 44
FIN-02271 Espoo

Summary

Gliocladium catenulatum strain J1446, isolated from Finnish field soil, is the active ingredient of a new biofungicide developed by Kemira Agro Oy. The antagonist has been widely tested on a range of horticultural crops in laboratory and glasshouse conditions and shown good control efficacy of seed- and soil-borne diseases caused by e.g. *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* and *Alternaria*, foliar diseases caused by *Didymella* and *Botrytis*, and storage diseases caused by *Helminthosporium* and *Rhizoctonia*. The product is registered in the USA under the trade name Primastop, and recommended for the control of damping-off on vegetable, herb and ornamental seedlings, root and stem rot diseases in vegetables and ornamentals, *Didymella* in cucumber and tomato, grey mould in ornamentals, and fungal diseases in stored potatoes. Registration in the EU under the trade name PreStop is in progress. Further testing of the biofungicide will be done to verify the effect on *Pythium* root rot in rockwool cultivation and to evaluate the control efficacy against *Botrytis* on strawberry in field conditions.

Introduction

Gliocladium fungi are known as effective antagonists of soil-borne fungal diseases such as *Pythium* and *Rhizoctonia*, and a commercial biofungicide product based on a strain of *G. virens*, was introduced on the US market a few years ago for the control of damping-off diseases of seedlings (Lumsden, 1995). A promising strain J1446 of *G. catenulatum* was isolated by the Finnish Agricultural Research Centre in screening studies for effective antagonists, and proved to be an effective biocontrol strain in evaluation tests with numerous horticultural crops. The microbe was formulated into a powdery product by Kemira Agro Oy and further tested against a range of seed- and soil-borne and foliar fungal diseases of important glasshouse crops.

This paper gives some examples of the control efficacy obtained with the unformulated microbe *G. catenulatum* strain J1446 and with the formulated product. The viability of the preparations used in the trials was between 10^8 and 10^9 colony forming units per gram.

Control of damping-off diseases

Pythium damping-off

Very good control of artificially infected *Pythium* in cucumber on rockwool was obtained by treatment with a 1% suspension of *G. catenulatum* J1446 (drenching with 5 ml per block). Under this very severe *Pythium* infection *G. catenulatum* J1446 drastically reduced the disease and consequently improved emergence (table 1). Biological treatment was as effective as chemical treatment with Previcur (0.25%, 5 ml per block).

Tabel 1. Fremspiring af agurkfrøplanter i rockwool. Kemira Agro Oy, Espoo Research Centre, 1996. 1. Emergence of cucumber seedlings in rockwool. Kemira Agro Oy, Espoo Research Centre, 1996.

Behandling/Treatment	Fremspiring/Emergence, %	
	10 dage/days	14 dage/days
Sund kontrol (ubehandlet)/Healthy control (untreated)	90.0	92.5
<i>Pythium</i> infection	5.0	5.0
<i>G. catenulatum</i> J1446, udvandet/drench	35.0	60.0
Previcur, udvandet/drench	45.5	60.0

Tabel 2. Effekt af *G. catenulatum* J1446 tilført i en dosering på 0,5 g/l spagnum til bekæmpelse af *Pythium*-rodbrand i basilikum-frøplanter. Frøplanternes sundhed blev bedømt efter en skala på 0 – 3 (0 = sund, 1 = symptomer på kimbladene, 2 = svage symptomer på frøplantens rødder og stængelbasis, 3 = kraftige symptomer eller frøplanten visnet). Agricultural Research Centre Finland. Effect of *G. catenulatum* J1446, applied at a rate of 0.5 g/l peat, in controlling *Pythium* damping-off in basil seedlings. Seedling health was assessed using a scale of 0 - 3 (0 = healthy, 1 = symptoms on cotyledon leaves, 2 = slight symptoms on roots and base of seedling, 3 = severe symptoms or seedling dead). Agricultural Research Centre of Finland, 1996.

Behandling/Treatment	Fremspiring Emergence, %	% sunde frøplanter Proportion of healthy seedlings, %	Tørvægt af frøplanter, g pr. potte/Dry weight of seedlings g per pot
Sund kontrol/Healthy control	75.5 a	75.5 a	0.64 a
<i>Pythium</i> infection	42.0 b	37.5 c	0.31 b
<i>G. catenulatum</i> J1446, op blandet/mixing	61.0 ab	54.5 abc	0.46 ab
<i>G. catenulatum</i> J1446, udvandet/drench	45.5 b	42.0 bc	0.34 b
Tirama, tørbejdsning/dry seed treatment	67.0 a	62.0 ab	0.46 ab
P-værdi, behandlingP-value, treatment	0.0002	0.0002	0.0001

Formulated *G. catenulatum* J1446 product showed good control efficacy of artificially introduced *Pythium* damping-off in basil grown in peat. Mixing the biofungicide into the peat was slightly more effective than drench of the peat substrate after sowing, and was as effective as the chemical treatment (table 2).

***Phytophthora* damping-off**

In two glasshouse trials with artificially infected peat-based growing medium, *G. catenulatum* J1446 was compared with standard fungicide drenches against *Phytophthora cryptogea* damping-off of petunia (Dwarf compact mixed) and marigold (Golden Gem). In both trials, mixing of *G. catenulatum* J1446 into the peat immediately before infection with *Phytophthora cryptogea* significantly reduced the disease (table 3). In the first trial with petunia, mixing into the medium was more effective than the drenches with either fungicide. In the second trial with marigold, mixing was as effective as fungicide drenches.

Tabel 3. Effekt af *G. catenulatum* J1446, tilført i en dosering på 1 g/l voksemedium, på total plantetørvægt af petunia og morgenfrue 28 dage efter udplantning i et spagnumbaseret voksemedium kunstigt smittet med zoosporer af *Phytophthora cryptogea*. Resultaterne er gennemsnitsværdier af 10 gentagelser. The Scottish Agricultural College, 1996. Effect of *G. catenulatum* J1446, applied at a rate of 1 g/l growing medium, on total plant dry weight of petunia and marigold 28 days after planting in a peat-based growing medium artificially infected with zoospores of *Phytophthora cryptogea*. Results are mean values of ten replicates. The Scottish Agricultural College, 1996.

Behandling/Treatment	Total plantetørvægt, g pr. plante/Total plant dry weight, g per plant	
	Petunia	Morgenfrue/Marigold
sund kontrol/Healthy control	2.97	0.52
<i>Phytophthora</i> infection	0.86	0.37
<i>G. catenulatum</i> J1446, opblanding/mixing	2.52	0.69
<i>G. catenulatum</i> J1446, udvanding/drench	1.20	0.54
Fisons Filex, udvanding/drench	1.66	0.55
Fongarid, udvanding/drench	1.70	0.70
LSD (P=0.05)	0.54	0.18

G. catenulatum J1446 has also provided good control of seed- and soil-borne damping-off caused by *Alternaria*, *Cladosporium*, *Pythium* and *Rhizoctonia* on several bedding plants, as reported by Lahdenperä and Mohammadi (1996), and on vegetables and herbs both in experimental and in commercial conditions.

Control of *Pythium* root disease

Use of formulated *G. catenulatum* J1446 product in a commercial glasshouse growing cucumber on rockwool with natural *Pythium* infection, resulted in higher yield of cucumbers and healthier root systems (table 4). Drench after transplanting at a rate of 0.25 g/ 100 ml per plant, repeated after one month, was more effective than chemical treatment, applied once as a drench after transplanting.

Tabel 4. Effekt af *G. catenulatum* J1446 på udbytte og rodsundhed af agurk cv. Boloria i et finsk erhvervsgartneri. Rodsundhed blev bedømt 2,5 måneder efter udplantning efter en skala på 0 – 2 (0 = sund, 1 = svage symptomer, 2 = kraftige symptomer eller rodvisning). Välimäki Greenhouse, Loimaa/ Agricultural Research Centre of Finland, 1994. Effect of *G. catenulatum* J1446 on yield and root health of cucumber cv. Boloria in a commercial glasshouse in Finland. Root health was assessed 2.5 month after transplanting, using a scale of 0 - 2 (0 = healthy, 1 = slight symptoms, 2 = severe symptoms or dead). Välimäki Greenhouse, Loimaa/ Agricultural Research Centre of Finland, 1994.

Behandling/Treatment	Udbytte/Yield, kg/m ²				Relativt udbytte/ Relative yield	Sunde rødder/ Healthy roots, %
	August	September	October	Total yield		
Untreated	0.3	10.7	3.9	14.9	100	41.7
<i>G. catenulatum</i> J1446, udvanding/drench	0.4	11.4	4.4	16.1	108	72.2
Previcur, udvanding/drench	0.2	11.5	3.7	15.4	103	27.8
P-værdi/P-value (Tukey's HSD method)				0.289		

Control of foliar diseases

Didymella black stem rot

Unformulated *G. catenulatum* strain J1446 was used for control of naturally occurring black stem rot (*Didymella bryoniae*) of cucumber in a commercial glasshouse in Finland. Four randomly chosen rows á c. 130 plants per row of cucumber, cultivar Mitola, were treated by spraying the stems with 0.1 or 1% of *G. catenulatum* J1446 suspension (15 ml per plant). Four untreated rows were used as a control. The first spraying was done one week after transplanting and a second spraying three weeks later. The control efficacy, evaluated 2.5 months after transplanting, was reasonably good with the lower application rate, and further improved when more spores of *G. catenulatum* J1446 were applied (table 5).

Two of the untreated control rows were situated next to the glasshouse wall, where the conditions are different from the rest of the glasshouse. The disease incidence in these control rows did not represent the average situation in the glasshouse, and to get a more reliable view of the disease situation and control efficacy, the results from 2 rows per treatment in the middle part of the glasshouse were also calculated and are included in table 5.

Tabel 5. Antal agurkeplanter med symptomer på agurksyge (*Didymella bryoniae*) ved forsøgsafslutningen. Varpio Greenhouse, Virkkala/Kemira Agro Oy, Espoo Research Centre, 1997. Number of cucumber plants with symptoms of black stem rot at the end of the trial. Varpio Greenhouse, Virkkala/ Kemira Agro Oy, Espoo Research Centre, 1997.

Behandling/Treatment	Antal forsøgs- planter/ Total number of test plants	Totale antal inficerede planter /Infected plants, calculated from all rows		Antal inficerede planter i de midterste rækker %/Infected plants, calculated from the middle rows %
		Antal/ Number	%	
Ubehandlet kontrol/Untreated control	501	43	8.6	12.5
0.1% <i>G. catenulatum</i> J1446, sprøjtning/spray	527	20	3.8	4.9
1% <i>G. catenulatum</i> J1446, sprøjtning/spray	527	9	1.7	0.8

Subsequent trials with the formulated product in commercial conditions have verified that *G. catenulatum* J1446 can be successfully used to control *Didymella* of cucumber.

***Botrytis cinerea* grey mould**

Control of natural grey mould infection in ornamental cuttings has been tested in a few trials, with variable success. In one trial with fuchsia, excellent control efficacy was obtained by dipping the cuttings prior to potting, while mixing into the peat and spraying were less effective application methods (table 6).

In a trial with geranium in commercial glasshouse conditions, one application (10 g/m²) of unformulated *G. catenulatum* J1446 at potting was not as effective as chemical treatment which was done twice, at potting and one week later. Reasonably good results were obtained with integrated control, i.e. one biological and two chemical treatments (table 7).

Tabel 6. Effekt af *G. catenulatum* J1446 på roddannelse og forekomst af *Botrytic cinerea* i stiklinger af *Fuchsia* cv. Beacon. Agricultural Research Centre of Finland, 1998. Effect of *G. catenulatum* J1446 on rooting and incidence of *Botrytis cinerea* in cuttings of *Fuchsia* cv. Beacon. Agricultural Research Centre of Finland, 1998.

Behandling/Treatment	Forekomst af gråkimmel 1 måned efter behandling/Incidence of grey mould 1 month after treatment			Andel af salgbare planter 2 måneder efter behandling/Proportion of saleable plants 2 months after treatment	
	Sunde planter % Healthy plants %	Svagt inficerede planter % Slightly infected plants %	Urodede eller døde planter % Unrooted or dead plants %	Sunde planter % Healthy plants %	Svagt inficerede planter % Slightly infected plants %
Ubehandlet kontrol/ unhandled control	16	8	76	22	2
<i>G. catenulatum</i> J1446, opblanding i spagnum/mixing with peat	38	14	48	48	4
<i>G. catenulatum</i> J1446, dypning/dipping	58	26	16	76	8
<i>G. catenulatum</i> J1446, sprøjtning ved potning/spraying at potting	18	18	64	30	6
<i>G. catenulatum</i> J1446, sprøjtning efter 1 uge/spraying after 1 week	22	10	68	28	4
Ronilan, sprøjtning/spraying	20	10	70	30	0

Tabel 7. Bekæmpelse af naturlig forekomst af gråkimmel i stiklinger af *Pelargonium* cv. Mercur i et væksthuserhvervsgartneri. Der indgik 2240 stiklinger pr. behandlig. Roddannelse blev bedømt efter en skala fra 0 – 3 (0 = ingen rødder, 1 = 1-3 rødder, 2 = 4-5 rødder, 3 = >5 rødder). Ansariyhtymä, Luumäki/Kemira Agro Oy, Espoo Research Centre, 1999. Control of natural occurrence of grey mould in cuttings of *Pelargonium* cv. Mercur in a commercial glasshouse. There were 2240 cuttings per treatment. Rooting was assessed using a scale of 0 – 3 (0 = no roots, 1 = 1-3 roots, 2 = 4-5 roots, 3 = >5 roots). Ansariyhtymä, Luumäki/ Kemira Agro Oy, Espoo Research Centre, 1999.

Behandling/Treatment	Roddannelse/ Rooting		Salgbare planter/ Saleable plants		<i>Botrytis</i> inficerede planter/ <i>Botrytis</i> infected plants		
	Index 0-3	Relative %	% af totale antal % of all	Relativt Relative	% visne % killed	Totalle antal Total no.	Relativt
Control	1.03	100	64.9	100	4.8	32.1	100
<i>G. catenulatum</i> J1446, uformuleret/unformu- lated	1.20	117	73.3	113	4.5	23.1	72
<i>G. catenulatum</i> J1446, formuleret/formulated	117	114	75.5	116	3.3	20.8	65
Chemical (Rovral) blanding/integrated (J1446 + Rovral)	1.40	136	86.7	134	1.5	10.0	31
	1.31	127	80.6	124	1.9	16.7	52

Control of storage diseases

Excellent control of silver scurf (*Helminthosporium solani*) and canker (*Rhizoctonia solani*) of potato has been obtained with *G. catenulatum* J1446 in experimental conditions. Biological treatment was as effective as or more effective than chemical fungicides, even at as low temperatures as 5°C. A trial to assess the effectiveness of *G. catenulatum* J1446, applied as a spray at harvest, in practical storage conditions is in progress.

Commercial status and future perspectives

The above reported results, demonstrating the efficacy of *Gliocladium catenulatum* J1446 in controlling a wide range of soil-borne, seed-borne and foliar fungal diseases of several important horticultural crops and potato, are part of the extensive documentation that has been submitted to the registration authorities in the USA and in the EU. EPA approval was obtained in 1998, and state registration in selected states is in progress. *G. catenulatum* J1446 will be marketed in the US under the trade name Primastop®, and recommended especially for seedling production.

In May 1999, the European Commission made a decision on the completeness of the submitted dossier on *Gliocladium catenulatum* J1446. As Rapporteur Member State, the Finnish Plant Production Inspectorate is now preparing a monograph to be sent to the other Member States by the end of May 2000. Inclusion of *Gliocladium catenulatum* J1446 as a new active substance in Annex I to Council Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant-protection products on the market is expected within 2 to 3 years, after which the new biofungicide PreStop® will be launched on the market.

Meanwhile, testing of *G. catenulatum* J1446 is continuing, with the main emphasis on providing more data on the efficacy in controlling *Pythium* root disease in rockwool, a major problem in European glasshouse production, and controlling *Botrytis* on strawberry in field conditions.

By developing and commercialising this new, effective biofungicide Kemira Agro Oy expands and complements its biocontrol product family, which includes the widely used *Streptomyces* based product Mycostop® for the control of e.g. *Fusarium* in glasshouse crops, and Rotstop®, based on *Phlebiopsis gigantea*, for the control of root and butt rot of conifers.

Dansk sammendrag

Gliocladium catenulatum, linjen J1446, isoleret fra finsk markjord, er den aktive ingrediens i et nyt biofungicid udviklet af Kemira Agro Oy. Antagonisten er blevet testet på et bredt sortiment af forskellige havebrugsafgrøder under laboratorie- og væksthusbetingelser og har vist god bekæmpelseseffekt på frø- og jordbårne sygdomme forårsaget af f.eks. *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* og *Alternaria*, på bladsygdomme forårsaget af *Didymella* og *Botrytis* og på lagersygdomme forårsaget af *Helminthosporium* og *Rhizoctonia*. Produktet er registreret i USA under handelsnavnet Primastop og anbefales til bekæmpelse af rodbrand i frøplanter af grønsager, krydderier og prydplanter, af rod- og stængelråd i grønsager og prydplanter, af *Didymella* i agurk og tomat, af gråskimmel i prydplanter og til bekæmpelse af

svampesygdomme i lagrede kartofler. Produktet er ved at blive registreret i EU under handelsnavnet Prestop. Yderligere test af biofungicidet vil blive udført for at verificere effekten på *Pythium*-rodråd i rockwool-dyrkning og for at vurdere bekæmpelseseffekten over for *Botrytis* på jordbær på friland.

Literature

- Lahdenperä M.-L. & Mohammadi O.* 1996. Gliocladium Biopreparation in controlling damping-off on bedding plants. In: Advances in biological control of plant diseases. (Eds. Wenhua et al.). Proc. IWCPD in Beijing, May 22-27, 1996. 68-71.
- Lumsden R.D.* 1995. Development of *Gliocladium virens* for biological control of *Pythium* and *Rhizoctonia* damping-off diseases of seedlings. In: European Journal of Plant Pathology. XII International Plant Protection Congress, The Hague, The Netherlands, 2-7 July, 1995.

Samspil mellem arbuskulær mykorrhiza og meldug hos agurk

Interactions between arbuscular mycorrhiza and cucumber mildew

John Larsen & David S. Yohalem

Danmarks JordbrugsForskning

Afdeling for Plantebeskyttelse

Forskningscenter Flakkebjerg

DK-4200 Slagelse

Summary

Arbuscular mycorrhiza is an important component in natural soil ecosystems for plant growth and health. Indeed, arbuscular mycorrhiza has been shown to suppress root pathogens and the disease caused by these pathogens. Little is known, however, about interactions between arbuscular mycorrhiza and foliar pathogens. In order to further study the influence of arbuscular mycorrhiza on plant health we conducted two pot-experiments studying possible interactions between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and cucumber powdery mildew. In both studies, plants were inoculated with mildew two weeks after seedling emergence and plants were mycorrhized or not, prior to mildew infection. Plants were harvested two weeks after mildew infection. We found no influence of the cucumber - *G. intraradices* symbiosis on development of cucumber mildew in terms of numbers of colonies per unit area. Similarly, development of mycorrhiza as examined with microscopy after clearing and staining of the root systems was unaffected by mildew. Mildew infection caused growth reduction of the host plant, which was unaffected by the mycorrhizal status of the plant. The cucumber - *G. intraradices* symbiosis caused growth reductions of the host plant bigger than with mildew alone. Future research in this system will evaluate tolerance of mycorrhizal associations to growth reduction caused by mildew infection and further examine interactions between arbuscular mycorrhiza and mildew in terms of biomass using signature fatty acids.

Indledning

De fleste planter lever i symbiose med såvel mutualistiske som parasitiske biotrofe mikroorganismer. Mange bladpatogene svampe hører til denne kategori f.eks. meldug, rust og de fleste bladskimmelsvampe. Disse patogener har ofte alvorlige konsekvenser for værtplanten. Planterødders symbiose med arbuskulære mykorrhizasvampe er et eksempel på det modsatte forhold, hvor symbiosen i de fleste tilfælde er gavnlig for værtplanten. Således kan mykorrhiza øge værtplantens vækst og stresstolerance, og hæmme plantepatogener og de sygdomme de forårsager (Linderman, 1994). Til trods for meget forskellig effekt på værtplanten er der en vis lighed mellem disse biotrofe symbionter. Såvel meldug som arbuskulære mykorrhizasvampe danner efter indtrængen i plantens væv organer til optagelse

af sukkerstoffer fra værplanten. Disse organer, som er stærkt forgrenede strukturer med store overflader, kaldes haustorier og arbuskler hos henholdsvis meldug og arbuskulære mykorrhizasvampe. Til dato er der kun udført få forsøg om samspil mellem arbuskulær mykorrhiza og bladpatogene svampe (West, 1995b). Forsøg med meldug hos hør (Dugassa *et al.*, 1996) og rust hos brandbæger (West, 1995a) viser begge, at arbuskulær mykorrhiza øger udviklingen af disse bladpatogener men øger samtidig værplantens tolerance mod det pågældende patogen. Formålet med denne undersøgelse er at undersøge samspillet mellem arbuskulær mykorrhiza og meldug hos agurk.

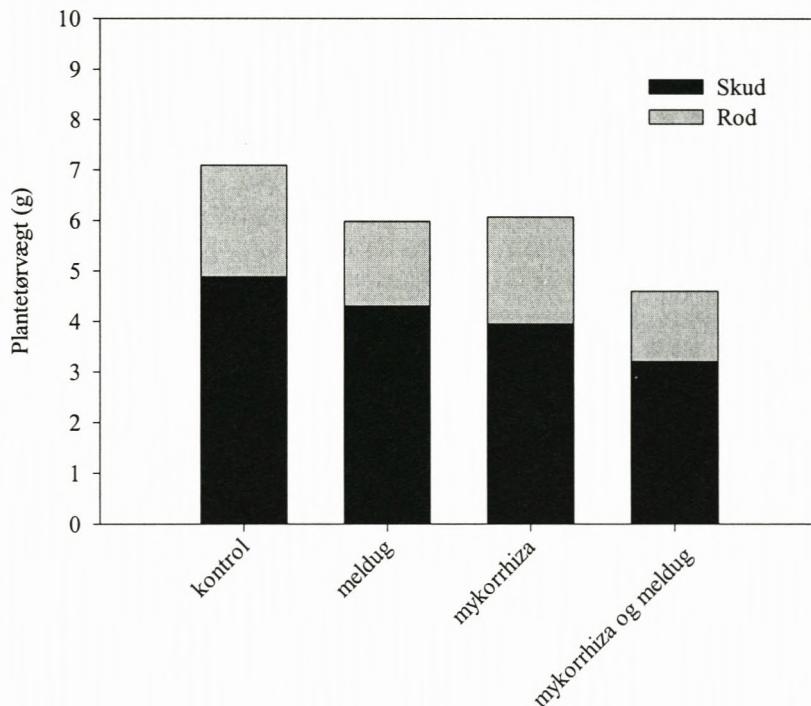
Metodebeskrivelse

To potteforsøg blev udført i væksthus. I begge tilfælde blev agurk *Cucumis sativus* L. (cv Langelands kæmpe) dyrket i semi-steril jord/sand blanding (1:2, vægt/vægt) bestrålet med 10 kGy. Voksemidiet blev fuldgødet, men fosfor blev udeladt for ikke at hæmme etableringen af mykorrhiza. Inokulum af mykorrhizasvampen *Glomus intraradices* Schenck & Smith (BEG 87) bestående af jord med rødder og sporer fra pottekultur med *Trifolium subterraneum* L. blev iblandet jorden til mykorrhizabehandlingen i forholdet 1:3 vægt/vægt. Potterne blev vandet dagligt til vægt svarende til 65% af markkapaciteten. Planterne blev dyrket i drivhus, hvor minimum dag- og nattemperatur var henholdsvis 21 °C og 16 °C. Minimum lysintensitet i forsøgsperioden var 150 $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Der blev sået to frø af agurk pr. potte, som blev tyndet til et frø pr. potte efter fremspiring. To uger efter fremspiring blev der inokuleret med meldug oidier af *Sphaerotheca fuliginea* (Sclecht.:Fr) Poll. fra en løbende kultur på agurk. I forsøg 1 blev en plante fra hver behandling med og uden mykorrhiza inokuleret med meldug parvis i sprøjtetårn (25 cm i diameter og 100 cm højt) ved at holde et melduginficeret agurkeblad ovenover planterne og ryste bladet. Forsøg 1 havde fire behandlinger (med og uden mykorrhiza og med og uden meldug) med hver 5 gentagelser. I forsøg 2 blev nydannede oidier fra to fuldt udviklede og fuldt inficerede agurkeblade opsamlet og blandet med 1 liter vand. Dette inokulum blev fortyndet med fire tiganges fortydninger under konstant omrystning af opløsningen. De to første ægte blade på hver plante blev inokuleret med cirka 20 μl demineraliseret vand med de forskellige meldugfortyndinger eller vand alene med forstøver. I både forsøg 1 og 2 blev alle planter overdækket med plast i 24 timer ved 100% luftfugtighed efter inokulering med meldug. Forsøg 1 havde ti behandlinger med 5 niveauer af meldug (kontrol, fuld styrke, $10^1, 10^2, 10^3$) og 2 niveauer af mykorrhiza (med og uden). Hver behandling havde 4 gentagelser. Forsøg 1 blev stoppet 3 uger efter melduginokulering, og forsøg 2 blev stoppet to uger efter melduginokulering. Planterne blev analyseret for tørvægt af skud og rod. Rødderne blev klaret og farvet med trypanblå til bestemmelse af graden af kolonisering med mykorrhiza. Antal af meldugkolonier på de to første ægte blade på alle planter blev opgjort gennem tælling af kolonier på et bestemt område af bladene svarende til 45 cm^{-2} .

Resultater

Forsøg 1

Skudtørvægten var signifikant påvirket af begge symbionter. Planter med mykorrhiza havde 19% og 25% mindre skudvægt uden og med meldug sammenlignet med tilsvarende behandlinger uden mykorrhiza. Ligeledes havde planter med meldug 12% og 18% mindre skudtørvægt uden og med mykorrhiza end tilsvarende planter uden meldug (figur 1).



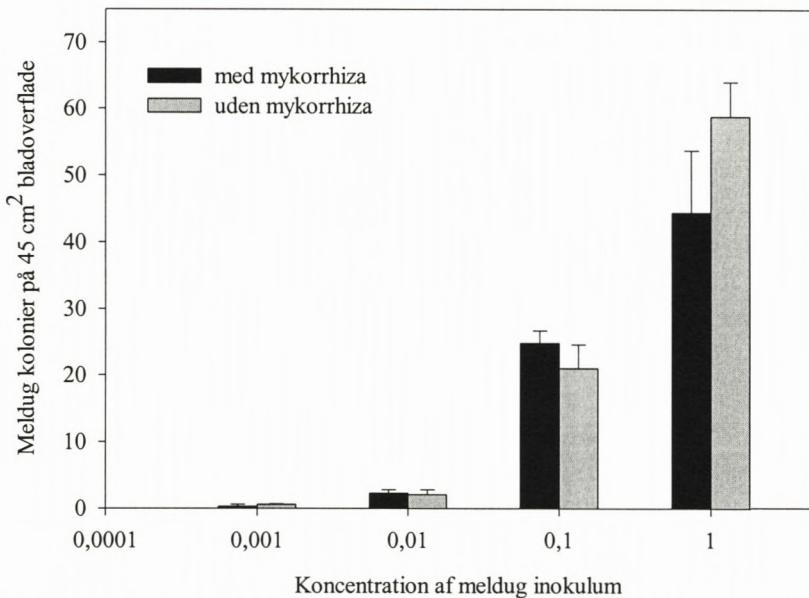
Figur 1. Effekter af mykorrhiza og meldug på skud og rodtørvægt hos 5 uger gamle agurkeplanter. Effects of mycorrhiza and mildew on shoot and root dry weight of five weeks old cucumber plants.

Rodtørvægten var upåvirket af mykorrhiza, men var gennemsnitlig 29% mindre hos planter inoculeret med meldug (figur 1). Planter, der blev inoculeret med mykorrhiza, havde i gennemsnit 87% af rodsystemet koloniseret med mykorrhiza. Meldug havde ingen effekt på mykorrhizaetableringen. Planter, som ikke blev inoculeret med mykorrhiza, dannede ikke mykorrhiza. Efter ca. 10 dage sås første meldugkolonier, og efter 14 dage var de to første blade fuldt dækket af meldug. Mykorrhiza havde ingen effekt på udvikling af meldug. Efter

21 dage registreredes de første kolonier af meldug på planter, som ikke var blevet inoculeret med meldug.

Forsøg 2

Skudtørvægten var upåvirket af inoculeringen med meldug, mens inoculering med mykorrhiza resulterede i en gennemsnitlig reduktion i skudtørvægt på 21% sammenlignet med planter uden mykorrhiza. Ingen af symbionterne påvirkede rodtørvægten. Rodsystemet hos planter fra behandlinger med mykorrhizainoculering havde udviklet mykorrhiza, mens der ikke var dannet mykorrhiza i rodsistemmet hos planter uden mykorrhizainoculering. Planter inoculeret med meldug viste de første kolonier 7 dage efter inoculering. Der var en positiv sammenhæng mellem antal meldug kolonier og koncentrationen af inoculummet. Mykorrhiza påvirkede ikke meldugudviklingen (figur 2).



Figur 2. Gennemsnitlige antal meldugkolonier på 45 cm² bladareal på de to første ægte blade fra fire uger gamle agurkeplanter med og uden mykorrhiza to uger efter inoculering med meldug. Average number of mildew colonies on 45 cm² leaf area of the first two true leaves of four weeks old cucumber plants with and without arbuscular mycorrhiza two weeks after mildew inoculation.

Diskussion og konklusion

Udvikling af meldug hos agurk opgjort som antal kolonier pr. enhed bladareal var upåvirket af arbuskulær mykorrhiza, hvilket blev bekræftet i to uafhængige potteforsøg. Disse resultater er i modstrid med forsøg med andre kombinationer af værtplante-mykorrhiza-bladpatogen interaktioner, som har vist at udviklingen af bladpatogener hos planter med mykorrhiza er større end hos planter uden mykorrhiza (West, 1995a; Dugassa *et al.*, 1996). I disse forsøg fandt man endvidere, at trods en øget udvikling af bladsvampe var udbyttereduktionen forårsaget af bladsvampene mindre hos planter med mykorrhiza end uden mykorrhiza, hvilket anføres som induceret tolerance (Dugassa *et al.*, 1996). I vores forsøg fandt vi ikke en sådan induktion af tolerance hos planter med mykorrhiza. Tværtimod viste det sig, at agurk-*Glomus intraradices* symbiosen gav vækstdepressioner hos værtplanten, og planter med både meldug og mykorrhiza havde de største vækstdepressioner. Vores forsøg dækkede dog kun en interaktionsperiode på 2-3 uger, hvorfor vi ikke kan udelukke, at mykorrhizaen på længere sigt ville kunne inducere tolerance mod infektionen af meldug. Der er således behov for uddybende forsøg som følges til frugtsætning og efterfølgende opgørelse af høstudbytte. Overordnet er der behov for yderligere forskning indenfor dette område, før det er muligt at danne et generelt billede af betydningen af arbuskulær mykorrhiza for udvikling af sygdomme forårsaget af bladsvampe.

Den almindelige opfattelse af arbuskulær mykorrhiza er, at begge parter såvel plante som svamp nyder godt af samlivet, men som det fremgår af vores forsøg er det ikke altid tilfældet. Hos planter med et veludbygget rodssystem som f.eks. agurk kan der forekomme vækstdepressioner (Pearson & Jakobsen, 1995; Ravnskov & Jakobsen, 1995; Larsen *et al.*, 1996). I disse tilfælde viser planten ingen fysiske symptomer på symbiontens tilstedevarsel ved at være end omtalte vækstdepression. Årsagen til vækstdepressionen skyldes sandsynligvis, at symbiosen pådrager planten større udgifter end indtægter. Undersøgelser af agurk-*Glomus fasciculatum* symbiosen viste, at ca. 20% af det kulstof, som assimileres gennem fotosyntesen translokeres til symbionten (Jakobsen & Rosendahl, 1990). I omtalte forsøg var symbiosen neutral hvad angår plantevækst. Der er imidlertid kun undersøgt få plante-svampe kombinationer, så det kan ikke afgøres, at kulstofdrenet fra plante til svamp kan være væsentlig større i situationer med vækstdepressioner.

Konklusionen på dette arbejde er, at arbuskulær mykorrhiza tilsyneladende ingen indvirkning har på udvikling af meldug hos agurk under de forhold, hvorunder forsøgene blev udført. Agurk- *Glomus intraradices* symbiosen forårsagede vækstdepressioner hos værtplanten, som var større end vækstdepressionen forårsaget af melduginfektionen. Fremtidige forsøg vil afsløre, om agurkplanters udgifter til mykorrhizasymbiosen alligevel er gavnlig for deres sundhed gennem induktion af tolerance over for vækstreduktioner forårsaget af melduginfektion. Endvidere vil specifikke fedtsyrer blive anvendt til en mere præcis kvantificering af svampenes biomasse og oplagsnæring for en nærmere undersøgelse af disse biotrofe svampes konkurrence om værtplantens fotosynteseskuker.

Sammendrag

Arbuskulær mykorrhiza er en vigtig komponent i naturlige jordøkosystemer for planters vækst og sundhed. Således har arbuskulær mykorrhiza i nogle tilfælde vist at kunne hæmme rodtpogener og de sygdomme, som de forårsager. Derimod er samspillet mellem arbuskulær mykorrhiza og bladpatogene svampe mangelfuld belyst. For videre at kunne studere betydningen af arbuskulær mykorrhiza for planters sundhed udførte vi to potteforsøg, hvor vi undersøgte mulige interaktioner mellem den arbuskulære mykorrhizasvamp *Glomus intraradices* og meldug hos agurk. I begge forsøg blev planter inokuleret med meldug to uger efter fremspiring af frø, således at mykorrhizaen var etableret før meldug inokuleringen i behandlinger med mykorrhiza. Forsøget blev høstet to uger efter inokulering med meldug. Resultater fra forsøgene viste, at agurk - *G. intraradices* symbiosen ingen indflydelse havde på udvikling af meldug hos agurk opgjort som kolonier pr. enhed bladareal. Planterøddernes kolonisering med mykorrhiza var ligeledes upåvirket af inokulering med meldug. Uafhængig af mykorrhiza forårsagede inokulering med meldug reduktion i værtplantens vækst. Agurk - *G. intraradices* symbiosen forårsagede reduktion i værtplantens vækst, som var større end ved inokulering med meldug. I fremtidige forsøg med dette system vil vi undersøge betydningen af arbuskulær mykorrhiza for tolerance mod meldug i relation til udbytte i forsøg med plantekulturer til modenhed. Derudover vil vi benytte specifikke fedtsyrer til at estimere disse biotrofe svampes biomasse for at studere deres interaktioner nærmere.

Litteratur

- Dugassa G.D., von Alten H. & Schonbeck F. 1996. Effects of arbuscular mycorrhiza (AM) on health of *Linum usitatissimum* L infected by fungal pathogens, Plant and Soil 185, 173-182.
- Jakobsen I. & Rosendahl L. 1990. Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants, New Phytologist 115, 77-83.
- Larsen J. 2000. Biologisk bekämpelse af plantepatogene svampe med arbuskulær mykorrhiza, DJF rapport nr. 12.
- Larsen J., Thingstrup I., Jakobsen I. & Rosendahl S. 1996. Benomyl inhibits phosphorus transport but not fungal alkaline phosphatase activity in a *Glomus* - cucumber symbiosis, New Phytologist 132, 127-133.
- Linderman R.G. 1994. Role of VAM fungi in biocontrol. In: Mycorrhizae and Plant Health (F.L. Pfleger R.G. Linderman, eds.), APS Press, St. Paul. 1-25.
- Pearson J.N. & Jakobsen I. 1993. Symbiotic exchange of carbon and phosphorus between cucumber and three arbuscular mycorrhizal fungi, New phytologist 124, 481-488.
- Ravnskov S. & Jakobsen I. 1995. Functional compatibility in arbuscular mycorrhizas measured as hyphal P transport to the plant, New Phytologist 129, 611-618.
- West H.M. 1995a. Soil phosphate status modifies response of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Senecio vulgaris* L. to infection by the rust *Puccinia lagenophorae* Cooke, New Phytologist 129, 107-116.

West H.M. 1995b. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and foliar pathogens: consequences for host and pathogen, Multitrophic interactions in terrestrial systems: the 36th symposium of the British Ecological Society, Royal Holloway, ed. V.K. Brown. 79-86.

Microbial management of early establishment of grey mould in pot roses

Mikrobiologisk bekæmpelse af gråskimmel i potteroser

David S. Yohalem

**Afdeling for Plantebeskyttelse
Danmarks JordbrugsForskning
Forskningscenter Flakkebjerg
DK-4200 Slagelse**

Summary

Results from experiments on the management of grey mould in pot roses suggest that several filamentous fungi can be applied and successfully suppress sporulation of the pathogen during the establishment of the plants. Most successful of those fungi tested were isolates of *Ulocladium atrum*. Isolates of *Clonostachys rosea* also inhibited disease better than the fungicide iprodione. Commercial *Trichoderma harzianum* preparations failed to inhibit disease under the conditions of the experiments.

Introduction

Grey mould, caused by *Botrytis cinerea* Pers. Fr., is a constant threat to commercial pot rose (*Rosa hybrida* L.) production. Severe losses may be experienced during vegetative propagation when inoculum may be either carried with cuttings or introduced from the air. Lesser losses are experienced during vegetative growth, but may become severe again at flowering and during transhipment of finished plants. Conventional disease management practice involves the application of sound cultural practices, sanitation and the use of fungicides (Nielsen & Starkey, 1999). However, due to the development of resistance in the pathogen populations and to public concerns about the safety of agrochemicals, the development of alternative methods for managing the disease has become necessary.

Isolates of filamentous fungi, bacteria and yeasts have been variously applied to plants, to soils and to litter for control of *B. cinerea*-incited diseases. An isolate of *Trichoderma harzianum* has effectively controlled grey mould in grapes (Elad, 1994), in tomatoes and in cucumbers (Dik *et al.*, 1999). Several isolates are currently marketed as plant growth promoters and/or as disease control agents. Isolates of *Clonostachys rosea* (Link:Fr.)Schroers, Samuels, Seifert and W.Gams (=*Gliocladium roseum* Banier) have been shown effective as a control of grey mould in strawberry (Sutton *et al.*, 1997) and in cut roses (da Silva *et al.*, 1998). Other isolates have been commercialised for biological control of several soilborne diseases. An isolate of *Ulocladium atrum* Preuss has been used to suppress *B. cinerea* sporulation with considerable success, even in comparison to their fungicide treatment, in experiments on pot rose performed in the Netherlands (Köhl & Gerlach, 1999).

Reported here are results from experiments in which isolates of *Trichoderma*, *Clonostachys* and *Ulocladium* were applied to foliage in order to evaluate and compare their efficacy for control of grey mould in pot roses.

Materials and methods

Isolates of *U. atrum* were cultivated on autoclaved organically grown oats as described by Köhl *et al.*, (1988) and prepared for use immediately prior to application. Inocula of *C. rosea* were grown in a moist, sterilized peat-bran mixture at room temperature for 21 days, air-dried, ground and stored at 4 C until use. Isolate T39 of *T. harzianum* was recovered from the Trichodex preparation and cultivated on oatmeal agar for 7 days at 25 C. T39 was harvested the day of use. Trichodex and Supresivit were applied at manufacturer's recommended rates.

Tabel 1. Behandlinger, kilder og dosis. Treatments, sources and rates of application.

Behandling Treatment	Kilde Source	Dosis eksperiment 1 Rate experiment 1	Dosis eksperiment 2 Rate experiment 2
Rovral (iprodione)	Agro Norden A/S	0.5 g/L	0.5 g/L
Trichodex	Cucumber, Mahkteshim Chemical	2 g/L + 5 x 10 ⁶ spores/ml +0.1% Tween 80	2 g/L
Supresivit	unknown, Borregaard Bio Plant	2 g/L	2g/L
<i>Clonostachys rosea</i> 726	Soil, D. Funck Jensen, KVL ¹⁾	10 ⁷ spores/ml	10 ⁷ spores/ml
<i>Clonostachys rosea</i> DJF	Campanula, DJF ²⁾	10 ⁷ spores/ml	10 ⁷ spores/ml
<i>Ulocladium atrum</i> 385	J. Köhl, IPO/DLO Netherlands	10 ⁶ spores/ml + Tween 80	5 x 10 ⁶ spores/ml + Tween 80
<i>Ulocladium atrum</i> DJF	Carrot seed, DJF ³⁾	10 ⁶ spores/ml + Tween 80	5 x 10 ⁶ spores/ml + Tween 80
<i>T. harzianum</i> T39	Cucumber (Trichodex)	10 ⁷ spores/ml	N.D.
Water	N.A.	Run-off	Run-off
Tween 80	Merck, Tyskland	0.1%	0.1%

¹⁾Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark, ²⁺³⁾Danish Institute of Agricultural Sciences.

Experiments were performed on the highly susceptible cultivar 'Mistral'. Four stem cuttings rooted in potting soil, a mixture of sphagnum peat and perlite. Pots were placed under plastic and maintained in mist chambers and inoculated with a suspension of approximately 5 x 10⁵ colony forming units of *B. cinerea* from 10 days cultures grown on oatmeal agar at 17°C

under cycles of 12 hours dark and 12 hours UV-B irradiation. After 24 hours, biological controls, negative (water and Tween 80) and positive controls (Rovral 50 WP, 50% iprodione active ingredient, Agro Norden A/S, Søborg, Denmark) were applied by hand sprayer to runoff, at the rates indicated in table 1. Experiments were completely randomised blocks with ten pots per block comprising an experimental unit. Disease incidence data were subjected to angular transformation and analysed by ANOVA. Disease severity data (cumulative sporulation) was analysed by ANOVA. Pairwise comparisons of means were calculated by the Waller-Duncan Bayesian *k*-ratio.

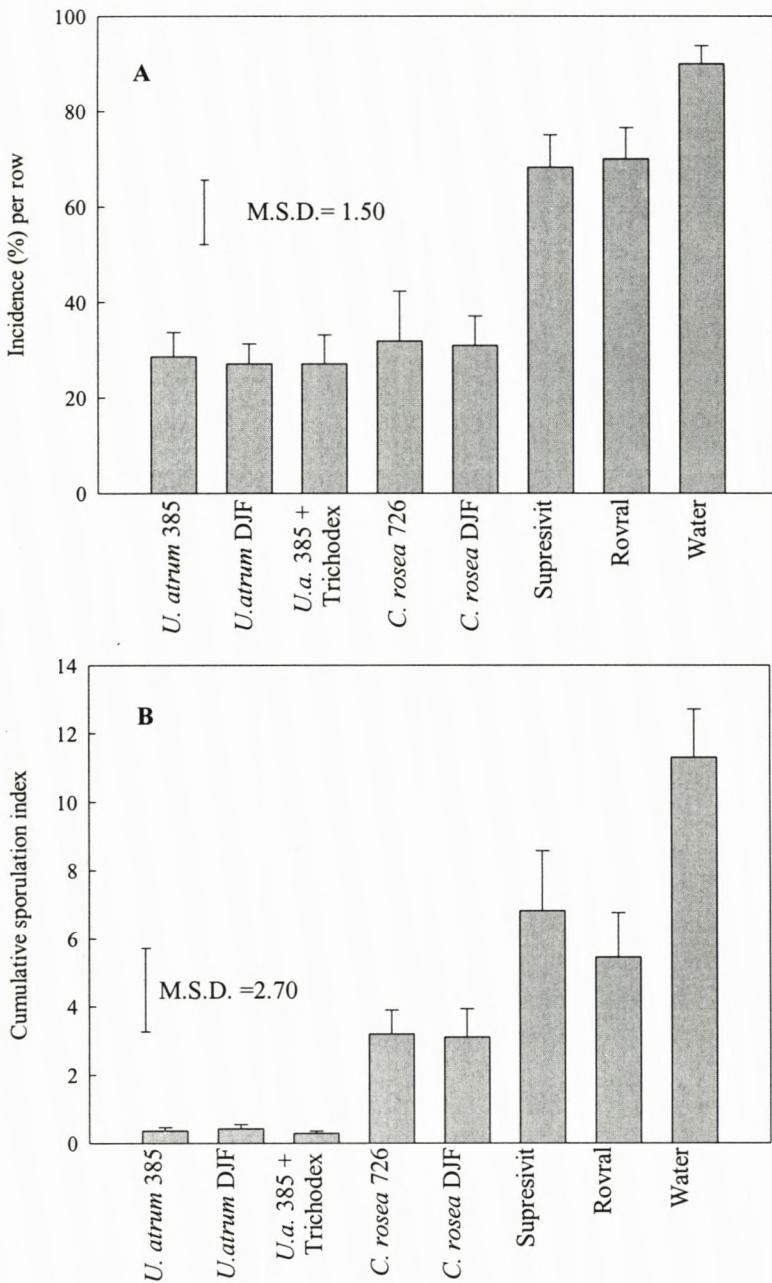
Plants were maintained under mist for two weeks, after which the humidity was lowered to approximately 90%. The number of disease foci within a row of ten pots was counted. Treatments were applied for a second time and vegetative growth continued for two weeks. Plants were then evaluated for incidence (the number of pots per row showing symptoms of grey mould) and severity of grey mould. An index was constructed that combines two parameters where each distinct infection was assigned an estimate of sporulation (0-1.0 by increments of 0.1) and the indices were summed over each row of ten pots to give a cumulative sporulation index for each experimental unit.

Results

For ease of presentation, the described results were not performed in the chronology presented. No treatment differences could be detected in experiment 1 ($P < 0.357$); disease incidence among water and Tween 80 controls was 42.5% on a per block basis. However, when disease incidence was below saturation but extremely high, statistically significant reductions in both incidence ($P < 0.0001$) and severity ($P < 0.0001$) attributable to the filamentous fungi could be detected (Fig. 1). Combined analysis of those treatments present in both trials suggests that a minimum disease pressure of approximately 60% of controls infected is necessary for detection of treatment differences under the conditions of these experiments.

Disease incidence was lowest where *U. atrum* was applied, higher with the isolates of *C. rosea* and no different from water where *Supresivit* was applied in the absence of *U. atrum*. Neither Rovral nor Tween 80 had an effect on the incidence or severity of the disease.

Disease severity as assessed by cumulative sporulation per row followed a similar pattern of differences (figure 1B). Due to an error in experimental protocol both *U. atrum* 385 and Trichodex were applied during the second application of biological controls in this experiment. Those experimental units were not different from those that received two applications of *U. atrum* 385 in the number of pots per row showing symptoms of infection or signs of the pathogen.



Figur 1.A. Sygdomsfrekvens pr. række i potterose (sort Mistral). Disease incidence per row on potted roses (cv. Mistral). Vertical lines are standard errors based on seven blocks. M.S.D. = minimum significant difference for the Waller-Duncan *k*-ration T-test. **B. Angræbsgrad pr. række i potterosser (sort Mistral).** Disease severity per row on potted roses (cv. Mistral). Vertical lines are standard errors bases on 7 blocks.

Discussion

In the present study, when disease pressure as reflected by both incidence and sporulation among controls was high, both isolates of *U. atrum* inhibited disease caused by *B. cinerea* to a greater extent than did applications of *C. rosea*. Both isolates of *C. rosea* performed better than did isolates of commercial *Trichoderma* products, which were not statistically significantly different from either the positive (fungicide) or the negative (water and Tween 80) controls. Whether the failure of the fungicide in these experiments was due to resistance within the pathogen population, too high a disease pressure or inactivity on senesced plant tissue was not determined.

U. atrum is a highly melanised and relatively large-spored fungus. The darkness of the spores, while attractive from the perspective of the pathologist (Andrews, 1991), can be unsightly to the grower and consumer. Therefore, we used Tween 80 as a dispersant and are conducting experiments to minimise dosage. Köhl *et al.* (1998) have demonstrated survival and retention of activity for *U. atrum* 385 under conditions of intermittent drought. As noted, a single application of *U. atrum* 385 after establishment of the pot rose culture (following application of Trichodex) was as effective in inhibiting sporulation of the pathogen as was applying the same isolate two times. The possibility of delaying first application and still inhibiting disease will be further explored. Spores of *C. rosea* are sticky; use of a dispersant such as Tween 80 was not considered useful. The spores are much smaller than those of *U. atrum* and are unmelanised, which renders them invisible to the naked eye but more susceptible to desiccation and UV radiation. Neither isolate of *T. harzianum* was particularly effective in inhibiting grey mould under the conditions of our experiments. Germination on *Trichoderma* selective medium was orders of magnitude lower than label indications (data not shown). However, fresh conidia of the Trichodex isolate that were highly germinable were no more effective in inhibiting disease than was the commercial preparation. Both of the commercial *Trichoderma* preparations leave cosmetically unappealing residues.

Whether the inhibition of sporulation during vegetative growth of pot rose will result in the production of healthier flowers is undetermined. Because conidia cannot be restricted from passing from one treatment to another under the conditions of the described experiments, a different set of experiments with strict physical separation of treatments will be needed to make meaningful epidemiological inferences. While expensive in both time and material, these experiments are essential for a more complete evaluation of the candidate antagonists.

The ability to inhibit spore production in infected tissues is a very different property from the inhibition of infection processes (*e.g.* germination, infection, *in planta* ramification). Moreover, floral tissues have a different susceptibility to infection than do leaves and stems. Hence, a different agent may be needed to protect flowers from grey mould.

Dansk Sammendrag

Resultater fra forsøg med biologiske bekæmpelse af gråskimmel i potteroser indikerer, at sporer fra antagonistiske svampe kan hæmme sporulering af gråskimmel, hvis de tilføres i forbindelse med planteetablering. Der var størst effekt af isolater af *Ulocladium atrum*.

Isolater af *Clonostachys rosea* havde mindre effekt end *U. atrum*, men stadig bedre end en behandling med et kemisk fungicid (iprodione). Der var ingen virkning af to forskellige *Trichoderma harzianum* præparer over for gråskimmel.

Literature

- Andrews J.H. 1991. Biological control in the phyllosphere: Realistic goal or false hope. Can. J. of Plant Pathol. 12: 300-307.
- da Silva Tatagiba J., Maffia L.A., Barreto R.W., Alfenas A.C. & Sutton J.C. 1998. Biological control of *Botrytis cinerea* in residues and flowers of rose (*Rosa hybrida*). Phytoparasitica 26: 8-19.
- Dik A.J., Koning G. & Jöh J. 1999. Evaluation of microbial antagonists for biological control of *Botrytis cinerea* stem infection in cucumber and tomato. Eur. J. Plant Pathol. 105:115-122.
- Elad Y. 1994. Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. Crop Protection 13: 35-38.
- Köhl J., Gerlagh M., De Haas B.H. & Krijger M.C. 1998. Biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* under commercial growing conditions. Phytopathology 88: 568-575.
- Köhl J. & Gerlagh M. in press. Biological control of *Botrytis cinerea* in roses by the antagonist *Ulocladium atrum*. Med. Fac. Landbouww. Rijks-Univ. Gent. (In press).
- Nielsen B. & Starkey K.R. 1999. Influence of production factors on postharvest life of potted roses. Postharvest Biol. Technol. 16:157-167.
- Sutton J.C., Li D.-W., Peng G., Yu H., Zhang P.G. & Valdebenito-Sanhueza R.M. 1997. *Gliocladium roseum*: a versatile antagonist of *Botrytis cinerea* in crops. Plant Dis. 81:316-328.

Dannelsen af bioaerosoler under udbringning af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler og ved efterfølgende arbejdsprocesser i potteplanter

The formation of bioaerosols in greenhouses in relation to microbiological control of pests and working activities

Bent Løschekohl

Danmarks JordbrugsForskning

Afdeling for Plantebeskyttelse

Forskningscenter Flakkebjerg

DK-4200 Slagelse

Summary

The formation of bioaerosols in relation to microbiological control of pests in Chrysanthemum by spraying with *Verticillium lecanii* and working processes was investigated. Weighing of the dry spore mass and spraying liberated many spores to the air, but only very few spores were found after mowing, spacing, pinching, and shipping of the plants.

Analysis of 7 commercial microbiological products showed up to 10^3 more CFU per g than expected.

Indledning

En bioaerosol er en aerosol bestående af partikler af biologisk oprindelse eller aktivitet, som påvirker levende væsner gennem infektivitet, allergi, toxicitet, pharmacologisk eller andre processer. Partikelstørrelsen svarer til en aerodynamisk diameter på 0,5 – 100 µm. (Hirst, 1995).

Normalt er bioaerosoler luftens naturlige indhold af mikroorganismer og opstår ved vindens ophvirving af støv, ved aktiv frigivelse af svampesporer til luften og ved indtørring af regnstænk. Indholdet af svampesporer varierer med døgnet og årstiden og naturen i det omgivende landskab.

Svampesporer i bioaerosoler i væksthuse kan stamme fra den naturlige frigørelse af svampesporer, fra svampesporer frigjort ved arbejdsprocesser og fra sprøjtning med mikrobiologiske bekæmpelsesmidler. Naturlige kilder til svampesporer er døde blade nederst på planterne, hvor der ofte er sporulering af *Penicillium*, *Cladosporium*, *Botrytis cinerea* og andre svampe afhængig af planteart. Den naturlige frigørelse af svampesporer er forholdsvis lav og drives af luftbevægelser fra opvarmning og ventilation. Frigørelsen ved arbejdsprocesser kan være stor specielt i forbindelse med anvendelsen af robotter.

Fortyndingen af bioaerosoler i væksthuse er langsom om natten og om vinteren, hvor luftvinduerne er lukket. På varme dage, hvor der luftes, kan fortyndingen være hurtig.

Mikrobiologisk bekæmpelse af skadevoldere er forholdsvis nyt, og i Danmark er den kommersielle anvendelse begrænset til væksthuse. Der anvendes præparater med sporer af *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Verticillium* og *Paecilomyces* til bekæmpelse af svampesygdomme og insekter. Udbringningen af præparaterne har ændret sig fra opblanding i vækstmediet til udsprøjtning.

Ved sprøjtning rammer hovedparten af sprøjtevæsken planter og inventar, men det kan ikke undgås, at de finere dråber forbliver luftbårne, tørrer ind, og indholdet af sporer danner bioaerosoler. En vis fraktion af små sprøjtedråber er tilstræbt, idet de ved luftens turbulens under sprøjtningen kan ramme plantedele, der ikke direkte er tilgængelige. Ved efterfølgende håndtering af planterne kan der være mulighed for en frigørelse af sporerne med fornyet dannelse af bioaerosoler typisk et andet sted i gartneriet og under arbejdsforhold, hvor der ikke anvendes personligt værn.

Der findes ikke undersøgelser af, hvorvidt de tilførte sporer vokser og danner nye sporer, der kan bidrage til nye bioaerosoler. Hvis det sker, kan den allergene påvirkning med hensyn til mycotoxiner være anderledes end under udsprøjtning, da vækstforholdene for mikroorganismerne er anderledes end ved den oprindelige formering i fabrik.

Bioaerosoler kan måles med forskelligt apparatur efter forskellige principper. Ingen af metoderne er fuldkomne, og ved valg af metode må der tages hensyn til frekvensen af målinger, det målte luftvolumen, metodens fleksibilitet over for varierende koncentrationer, og ikke mindst hvor arbejdskrævende prøveudtagningen og den efterfølgende tælling og identifikation af mikroorganismerne er. Ved mange af metoderne, som er rettet mod bakterier og svampe, indgår en dyrkning på agar, herved måles kun den levende del af mikrofloraen, medens eventuelle døde organismer også kan være allergene. Specielt for bioaerosoler dannet efter sprøjtning vil mange af de indtørrede dråber rumme mere end én spore, og der dannes klumper af sporer. Ved direkte måling på agar vil en sporeklump blive registreret som én CFU, medens målemetoder, hvori indgår en oplosning i vand, vil registrere de enkelte sporer i en sporeklump. Begge resultater er utilfredsstillende, da en sporeklump sedimenterer hurtigere ud i lungerne og ved naturlig gravitation end enkeltsporer, og det højere tal for opløste sporeklumper giver en forkert værdi.

Ved målinger af bioaerosoler i forbindelse med mikrobiologisk bekæmpelse er målorganismen kendt, og efter indledende målinger også hvilken koncentration den kan forventes at optræde i. Da bekæmpelsen bygger på en tilførsel af levende sporer, kan der i det mindste under sprøjtningerne anvendes en målemetode, der bygger på en dyrkning af organismerne på substrat. De svampe, der anvendes i dag, kan ikke identificeres på sporer ved direkte mikroskopi, og målemetoder, der bygger på efterfølgende mikroskopi af en klæbrig flade, kan altså ikke anvendes.

Et vigtigt aspekt i måling af bioaerosoler i væksthuse er fortyndingen af den dannede bioaerosol. Sprøjtning med mikrobiologiske bekæmpelsesmidler kan ske med en sprøjtebom, der dækker hele husets bredde, og sprøjtning sker da, når der ikke er personer i væksthuset. Af økonomiske årsager sprøjtes dog ofte mindre områder med håndsprøje, og den dannede bioaerosol fortyndes ved luftstrømme i væksthuset og mellem væksthuse i gartneriet. Når

ventilationsvinduerne i toppen af væksthuset, er åbne er der normalt et stærkt luftskifte men en tilsvarende hurtig fortynding af bioaerosoler.

Formålet med undersøgelsene har været, at måle dannelsen af bioaerosoler i forbindelse med relevante arbejdsprocesser i forbindelse med udbringning af mikrobiologiske bekämpelsesmidler og efterfølgende dyrkning af potteplanter. Af pladshensyn bringes kun resultater fra én gentagelse, og beskrivelser af aktiviteter under målingerne udelades.

Materialer og metoder

Sporefangst

En sporefælde af egen konstruktion bestod af en brødkasse af plast, hvor luften blev suget gennem en kort dyse over hver af de 3 petriskåle. I disse målinger opererede sporefælden i 310 sekunder ad gangen. Luftmængden målt samlet over de 3 luftindtag var 97 liter i minutet. Der blev anvendt 9 cm petriskåle med kartoffel dextrose agar, KDA, tilsat 25 ppm Novobiocin. Efter eksponering blev petriskålene inkuberet i 3 dage ved laboratorietemperatur. Ved høje kimtal, over 100 pr. petriskål, blev kolonier derefter afmærket med en speedmarker på petriskålens bund, og kolonierne opgjort efter yderligere 3 dages inkubation. Kolonier blev bestemt til *Verticillium lecanii* *Botrytis cinerea*, *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp. og restgruppen andre.

De fundne værdier for sporekoncentrationer skal opfattes som relative.

Lufthastighed i væksthuse blev målt med et Airflow TA-5 varmetrådsanemometer, retning blev vurderet ud fra en løst hængende sytråd eller flammen på en gaslighter.

Under målinger blev meteorologiske forhold noteret samt forhold af betydning i væksthusene.

Målinger af bioaerosoler på gartneriet Fuglebjerglund

På gartneriet Fuglebjerglund blev der målt sporekoncentration i luften efter sprøjtning med *Verticillium lecanii* og efter alle arbejdsprocesser under kulturen af pottechrysanthemum.

Chrysanthemum stikkes i salgspotten, 3 stiklinger pr. potte, sprøjtes med *Verticillium lecanii* mod insekter og dækkes med plast. Efter en uge har stiklingerne dannet rod, plasten tages af, der sprøjtes igen med *Verticillium lecanii*, og et befugtningsanlæg oversprøjter planterne med en kort vandtåge afhængig af indstråling. Efter yderligere 3 dage flyttes planterne fra formeringshuset, sættes på afstand og knibes. Efter 4 uger fra stikning kortdagsbehandles planterne for at gå i blomst, de pakkes og sælges 8-10 uger fra stikning.

Produktionen omfatter følgende arbejdsprocesser af relevans for nærværende undersøgelser: Afvejning, sprøjtning ved stikning, aftagning af plast, sprøjtning efter rodning, flytning af planter, planter på afstand, knibning og pakning.

Afvejning skete i et væksthus, hvor et mindre kemikalierum var afgrænset af 240 cm høje vægge, kemikalierummet havde åben forbindelse over væggene til resten af væksthuset. Væksthuset fungerede som værksted og forbindelse mellem de øvrige væksthuse og mandskabsfaciliteter. Ved afvejning blev der benyttet gummiforklæde, gummihandsker og maske. Der blev afvejet 1 gram Mycotal og 2 gram Vertalec fra plastbøtter med låg til en skål, derefter blev midlerne rørt op i vandude i væksthuset ca. 8 meter fra afvejningen og fyldt på

en sprøjte. Begge de anvendte midler består af sporer af *Verticillium lecanii* fortyndet med kaolin. Sporefælden var placeret på samme bord som vægten i ca. 50 cm's afstand.

Sprøjtning ved stikning skete efterhånden, som der var stukket 2-3 borde, og blev foretaget med en lille sprøjte, hvor sprøjtevæsken var under trykluft. Der blev anvendt en kort sprøjtebom med 2 stk. dyser og 4-6 bar. Under sprøjtningen blev der udtaget prøver af sprøjtevæsken ved sprøjtning direkte i en steril flaske, desuden blev der placeret enkelte åbne petriskåle på de sprøjtede borde. Sprøjteføreren var iført gummiforklæde, gummihandsker og maske. Under sprøjningen fortsatte arbejdet med stikning ved nabobordene, hvor 2-4 personer var beskæftiget uden personligt værn. Sporefælden var placeret på et nabobord så tæt ved sprøjtningen som praktisk muligt i en afstand af 2-12 meter.

Aftagning af plast skete ved at to personer i hver sin ende af bordet, på ca. 9 meter, løftede plasten af, rystede vandet af undersiden og pakkede plasten i gangen mellem bordene. Personerne bar ikke værn under dette arbejde. Sporefælden var placeret på et nabobord i en afstand af 2-12 meter.

Sprøjtning efter rodning blev foretaget umiddelbart efter aftagning af plast og omfattede 20-30 borde. Sprøjtningen blev foretaget med en Hardy pumpesprøjte. Der blev anvendt en kort sprøjtebom med 2 stk. dyser. Under sprøjtningen blev der udtaget prøver af sprøjtevæsken ved sprøjtning direkte i en steril flaske, desuden blev der placeret enkelte åbne petriskåle på de sprøjtede borde. Sprøjteføreren var iført gummiforklæde, gummihandsker og maske. Normalt var der ikke andre personer beskæftiget i væksthuset under denne sprøjtning. Sporefælden var placeret på et nabobord så tæt ved sprøjtningen som praktisk muligt i en afstand af 2-12 meter.

Flytning af planter skete ved, at 1-2 personer satte bakker med 12 Potter på reolvogne, de nærmeste bakker blev løftet, de fjernehste på bordet blev skubbet hen til reolvognen. Reolvognene blev kørt til et andet væksthus, og den modsatte arbejdsgang anvendt ved aflæsning. Der blev ikke anvendt personligt værn. Sporefælden var placeret på naboborde i en afstand af 2-12 meter og flyttet med arbejdet, efterhånden som det var praktisk muligt.

Planter på afstand skete ved, at 1-2 personer tog potterne op af bakkerne og fordelte dem jævnt på bordet. Der blev ikke anvendt personligt værn. Sporefælden var placeret på samme bord eller naboborde i en afstand af 1-12 meter og flyttet med arbejdet, efterhånden som det var praktisk muligt.

Knibning skete 3-4 dage efter afstand og skete, ved at 1-4 personer brækkede toppen af nyvæksten for at fremme forgrening. Der blev ikke anvendt personligt værn. Sporefælden var placeret på samme bord eller naboborde i en afstand af 1-12 meter og flyttet med arbejdet, efterhånden som det var praktisk muligt.

Pakning skete ved, at 1-3 personer bar et bælte med et bundt kegleformede plastposer på maven. Med den ene hånd blev en pose åbnet, og med den anden blev en plante sat i posen, hvor den falde det sidste lille stykke. Posen blev derefter revet fri, planten i posen blev sat i styroporbakker med plads til 12 og båret eller skubbet til bordenden, hvor de blev sat på reolvogn. Der blev ikke anvendt personligt værn. Sporefælden var placeret på samme bord eller naboborde i en afstand af 1-12 meter og flyttet med arbejdet, efterhånden som det var praktisk muligt.

Analyse af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler

I tidligere undersøgelser i projektet var der store svingninger i koncentrationen af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler. I begyndelsen af oktober 1999 blev markedsførte mikrobiologiske bekæmpelsesmidler derfor analyseret for koncentration og renhed. Ca. 1 gram blev afvejet med 3 decimaler, opløst og fortyndet med steril vand til en koncentration på 25-50 CFU pr. ml, hvorefter der blev udført pladespredning på KDA for svampe og PCA for *Bacillus* præparater. For svampe blev antallet af kolonier opgjort og bestemt til slægt, for *Bacillus* præparater blev der udført fatty acid analyse.

Resultater

Analyse af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler

De undersøgte præparater og resultaterne ses i tabel 1. Alle præparater indeholdt de mikroorganismer, der var opgivet, for Preferal var der dog to typer af svampen *Paecilomyces*. Vectobac-12 indeholdt 10^4 flere CFU, og Dipel og Binap 10^3 flere CFU end opgivet. Koncentrationen af Bactimos var opgivet i enheder, der ikke umiddelbart kunne omregnes til CFU.

Tabel 1. Analyse af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler. Analysis of commercial products.

Handelsnavn	Opgivet CFU	Fundet CFU	Bemærkninger
Supresivit	$1,4 \cdot 10^{10}$	$3,8 \cdot 10^{10}$	Renkultur af <i>Trichoderma</i> sp.
Preferal	$1 \cdot 10^9$	$8,2 \cdot 10^8$	Renkultur af <i>Paecilomyces</i> , men to typer
Vectobac-12	$1,2 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^{10}$	Renkultur af <i>Bacillus</i> sp.
Mycotal	$10 \cdot 10^{10}$	$3,8 \cdot 10^9$	Renkultur af <i>Verticillium</i> sp.
Dipel	$1,6 \cdot 10^7$	$2,2 \cdot 10^{10}$	Renkultur af <i>Bacillus</i> sp.
Binap	$1 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^7$	Renkultur af <i>Trichoderma</i> sp.
Bactimos	-	$2,6 \cdot 10^8$	Renkultur af <i>Bacillus</i> sp.

Tabel 2. Sporemålinger i relation til arbejdsprocesser, relative tal. Relatively sporecatches in relation to work activities.

Dato og tid Date and time	<i>Verticillium lecanii</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Cladosporium sp.</i>	Andre svampe Other fungi	Arbejds- proces Activity
23NOV98:08:46	0	0	6	2	5	afvej
23NOV98:08:52	6144	0	0	5	1	afvej
23NOV98:08:58	748	2	1	8	8	afvej
23NOV98:09:04	359	0	2	9	7	afvej
23NOV98:09:10	135	1	7	4	12	afvej
04NOV98:11:40	258	7	13	2	0	stikspt
04NOV98:11:46	647	5	10	8	2	stikspt
04NOV98:11:53	112	4	1	2	6	stikspt

Tabel 2. Sporemålinger i relation til arbejdsprocesser, relative tal, fortsat. Relatively sporecatches in relation to work activities, continued.

Dato og tid Date and time	<i>Verticillium lecanii</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Cladosporium sp.</i>	Andre svampe Other fungi	Arbejdsproces Activity
04NOV98:11:58	19	1	6	0	4	stikspt
04NOV98:12:06	4	10	0	1	2	stikspt
02NOV98:08:40	1	16	83	5	3	plastaf
02NOV98:08:46	0	11	77	1	1	plastaf
02NOV98:08:52	0	12	50	0	6	plastaf
02NOV98:08:59	0	16	39	1	2	plastaf
02NOV98:09:05	0	6	38	2	3	plastaf
02NOV98:09:11	0	3	40	4	2	plastaf
02NOV98:09:17	0	8	125	0	0	plastaf
02NOV98:09:23	0	36	202	2	3	plastaf
02NOV98:09:28	0	42	382	5	3	plastaf
02NOV98:09:34	0	45	1200	3	0	plastaf
02NOV98:09:40	0	51	1368	3	0	plastaf
02NOV98:09:45	0	36	1536	0	0	plastaf
02NOV98:09:52	0	27	572	15	0	plastaf
02NOV98:09:52	0	27	572	15	0	plastspt
02NOV98:09:57	2072	220	976	19	10	plastspt
02NOV98:10:03	2624	162	760	16	14	plastspt
02NOV98:10:09	2064	84	648	10	6	plastspt
02NOV98:10:17	1128	69	502	8	5	plastspt
02NOV98:10:23	788	41	336	5	2	plastspt
04NOV98:08:40	2	0	16	1	1	flyt
04NOV98:08:47	0	1	24	6	1	flyt
04NOV98:08:52	0	0	83	3	1	flyt
04NOV98:08:58	0	5	77	2	4	flyt
04NOV98:09:03	0	2	93	4	0	flyt
04NOV98:09:15	0	2	26	3	0	flyt
04NOV98:09:21	1	0	15	5	1	flyt
04NOV98:09:27	1	3	10	2	2	flyt
04NOV98:09:32	2	4	20	2	3	flyt
04NOV98:09:38	0	1	23	2	3	flyt
04NOV98:09:50	0	7	108	1	0	flyt
04NOV98:09:58	1	1	307	2	1	flyt
04NOV98:10:06	2	4	188	1	2	flyt
04NOV98:10:09	0	7	250	1	1	flyt
04NOV98:10:15	5	8	195	9	1	flyt
04NOV98:10:20	4	6	172	2	7	flyt
04NOV98:10:26	4	2	104	3	3	flyt
04NOV98:10:37	2	4	47	2	5	flyt
04NOV98:10:54	0	27	266	3	0	afst

Tabel 2. Sporemålinger i relation til arbejdsprocesser, fortsat. Relatively sporecatches in relation to work activities, continued.

Dato og tid Date and time	<i>Verticillium lecanii</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Botrytis</i> <i>cinerea</i>	<i>Cladosporium</i> sp.	Andre svampe Other fungi	Arbejdsproces Activity
04NOV98:10:59	0	24	574	5	1	afst
04NOV98:11:05	0	11	348	3	1	afst
04NOV98:11:11	0	17	287	1	0	afst
04NOV98:11:17	0	8	258	3	0	afst
18NOV98:10:33	4	4	3	3	6	knib
18NOV98:10:38	6	2	4	1	3	knib
18NOV98:10:44	5	3	1	2	3	knib
18NOV98:10:50	4	1	0	5	9	knib
18NOV98:10:56	4	4	0	2	4	knib
18NOV98:11:02	6	0	1	4	3	knib
18NOV98:11:07	3	2	1	0	1	knib
18NOV98:11:13	0	0	2	1	2	knib
18NOV98:11:19	5	1	0	1	5	knib
18NOV98:11:25	3	1	1	15	9	knib
18NOV98:11:31	5	2	2	6	10	knib
18NOV98:11:36	4	6	1	10	16	knib
18NOV98:11:42	4	7	2	9	11	knib
18NOV98:11:48	4	9	4	10	18	knib
28DEC98:08:03	0	22	22	6	6	pak
28DEC98:08:09	2	24	23	9	5	pak
28DEC98:08:16	5	19	27	13	9	pak
28DEC98:08:21	1	7	25	8	5	pak
28DEC98:08:27	2	11	24	7	6	pak
28DEC98:08:33	2	40	18	12	12	pak
28DEC98:08:38	3	27	33	6	4	pak
28DEC98:08:45	3	95	26	6	1	pak
28DEC98:08:50	3	8	10	5	4	pak
28DEC98:08:55	0	7	14	1	1	pak
28DEC98:09:02	0	6	11	3	0	pak
28DEC98:09:08	0	4	8	2	3	pak
28DEC98:09:14	0	9	8	4	2	pak
28DEC98:09:20	0	5	6	5	1	pak
28DEC98:09:28	0	5	5	0	2	pak
28DEC98:09:34	0	5	6	1	0	pak
28DEC98:09:40	0	4	11	3	1	pak
28DEC98:09:46	0	3	7	3	2	pak
28DEC98:09:58	1	3	10	1	4	pak
28DEC98:10:04	1	5	7	1	2	pak
28DEC98:10:10	1	4	4	1	1	pak
28DEC98:10:17	1	3	5	1	2	pak

Tabel 2. Sporemålinger i relation til arbejdsprocesser, fortsat. Relatively sporecatches in relation to work activities, continued.

Dato og tid Date and time	<i>Verticillium lecanii</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Cladosporium sp.</i>	Andre svampe Other fungi	Arbejdsproces Activity
28DEC98:10:22	0	5	6	2	3	pak
28DEC98:10:28	0	2	2	1	2	pak
28DEC98:10:34	0	12	4	5	3	pak
28DEC98:10:40	3	77	41	78	6	pak
28DEC98:10:46	2	18	17	12	6	pak
28DEC98:10:52	1	26	86	12	3	pak
28DEC98:10:59	3	95	76	18	6	pak

Forkortelser i tabel 2

Abbreviations in table 2

Afvej	Afvejning	Weighing of biological agent
Stikspt	Sprøjtning ved stikning	Spraying before rooting
Plastaf	Aftagning af plast	Taking plastic away after rooting
Plastspt	Sprøjtning efter rodning	Spraying after rooting
Flyt	Flytning af planter	Moving plants
Afst	Planter på afstand	Spacing
Knib	Knibning	Pinching
Pak	Pakning	Shipping

De fundne koncentrationer for *Verticillium lecanii*, *Penicillium* sp., *Botrytis cinerea*, *Cladosporium* sp. Og andre svampe i relation til arbejdsprocesser ses i tabel 2. De største tal for *Verticillium lecanii* ses efter afvejning og sprojtning, medens der kun frigøres få sporer ved de efterfølgende arbejdsprocesser. *Botrytis cinerea* optræder med store tal, når plastik tages af og ved den efterfølgende sprojtning, ved flytning og afstand er der stadig en del sporer, og ved pakning er der forholdsvis lave tal. *Cladosporium* ses under sprojtning efter formering og i perioder under pakning.

Diskussion

De høje tal for *Verticillium lecanii* under afvejning og sprojtning skyldes naturligvis arbejdsprocesserne. De højeste tal fandtes under afvejning og skyldes støvning, denne personpåvirkning kan undgås ved udsugning og ved en forenkling af processen, så der måles et rumfang i stedet for at veje. Den bedste løsning var afmålte portioner i vandopløselige plastposer.

Ud over afvejning og sprojtning blev kun fundet få sporer af *Verticillium lecanii*, hvilket viser, at der ikke frigøres sporer, og at der ikke sker en saprofytsk opformering af svampen på planterne eller jordoverfladen.

Koncentrationen af *Botrytis cinerea* var lille indtil de sidste faser af aftagning af plastik. Ved dækning med plastik sker der en infektion og sporedannelse på modtagelige sorter, og det er denne sporedannelse, der frigøres til luften, når plastik tages af. Også ved den

eftersølgende sprojtning frigøres der mange sporer sandsynligvis ved luftbevægelsen foran sprøjtevæsken. Også aktiviteterne under flytning og afstand frigør sporer, medens der kun er få under pakningen. Det kan tolkes derhen, at *Botrytis cinerea* inficerer under rodningen, men at der ikke sker yderligere sygdomsudvikling, efter at plastikken er taget af, og at mængden af sporer derfor falder gennem kulturperioden.

Ved kontinuerlige undersøgelser af sporekoncentrationer under naturlige forhold, skal den anvendte sporefælde være let at betjene, hurtig at opgøre resultaterne, upåvirket af temperatur og luftfugtighed og kunne måle inden for ret korte tidsintervaller. Den udviklede sporefælde opfyldte disse betingelser, og ved anvendelse af 3 forskellige substrater på fangpladerne er den yderligere fleksibel. Det er dog kun en del af luftens sporer, der afsættes på petriskålen. Sammenlignende målinger med en Sartorius MD 3 viste, at der kun fanges ca. 4% af luftens sporeindhold. Sartorius MD 3 suger luft gennem gelatinefiltre og er upraktisk i brug, ligesom det er vanskeligt at indstille den rette luftmængde, da ændrede hastighed efterhånden som den blev varm, og der var en tydelig forskel på modstanden gennem gelatinefiltrene ved 95% RH sammenlignet med 70% RH. Hertil kommer, at der kun er et begrænset antal målinger til rådighed, og at den er dyr i anvendelse og arbejdskrævende, idet gelatinefiltrene skal oploses i vand, og der skal laves pladespredninger.

Måling af sporekoncentrationer skal ske, hvor personer indånder, for at skabe det mest realistiske resultat. Det har ikke været praktisk muligt, men målinger af luftbevægelse og – retning (resultater ikke angivet her) viste, at selv når vinduerne er lukkede, og luften opfattes som stillesstående, er der en luftbevægelse på $0,2\text{--}0,4 \text{ ms}^{-1}$. Det betyder, at i en 5 minutters måleperiode bevæger luften sig 60-120 m. Det betyder dels, at i måleperioden måles der et gennemsnit af en temmelig stor luftmængde, men også at personer langt fra stedet for bioaerosoldannelsen kan eksponeres.

Undersøgelserne viser, at der dannes bioaerosoler af *Verticillium lecanii* sporer ved afvejning og udsprøjtning, men at der ikke dannes sekundære bioaerosoler ved videre håndtering af planterne, og at der ikke sker en sekundær opformering af *Verticillium lecanii* under kulturen.

Sammendrag

Dannelsen af bioaerosoler, sporekoncentrationen i luft, efter behandling med *Verticillium lecanii* mod skadedyr i Chrysanthemum, er undersøgt. Afvejning og sprøjtning frigav mange sporer i luften, medens andre arbejdsprocesser som flytning, afstandsgivning og pakning ikke frigjorde sporer til luften.

En kvantitativ analyse af 6 mikrobiologiske bekæmpelsesmidler viste op til 10^3 flere CFU pr. gram end opgivet af fabrikanten.

Litteratur

Hirst J.M. 1995. Bioaerosols:Introduction, Retrospect and Prospect. Bioaerosol Handbook, Lewis Publishers, Boca Raton.

Livscyklusforhold for spindemidegalmyggen *Feltiella acarisuga*

Life table characteristics of the predatory gall midge *Feltiella acarisuga*

Annie Enkegaard & Henrik F. Brødsgaard

Danmarks JordbrugsForskning

Afdeling for Plantebeskyttelse

Forskningscenter Flakkebjerg

DK-4200 Slagelse

Stig Jacobsen

Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole

Institut for Økologi

Thorvaldsensvej 40

DK-1871 Frederiksberg C

Summary

Life table characteristics of the predatory gall midge *Feltiella acarisuga* were investigated at $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 80-90% r.h., L:D 16:8, with cucumber as host plant, spider mites as prey and honeydew either present or absent as food source for adults. Juvenile development time was approximately 20 days and the juveniles suffered a mortality rate of 22,1%. *F. acarisuga*'s fecundity and innate capacity of increase was significantly increased with a continuous availability of fresh honeydew, as compared to water: the fecundity increased to 24,4 eggs per female (2,4 times) and r_m to 0,1128 day $^{-1}$ (1,6 times).

Indledning

Spindemidegalmyggen *Feltiella acarisuga* Vallot (Diptera: Cecidomyiidae), hvis larver æder spindemider (*Tetranychus* spp., Acari: Tetranychidae) (Roberti, 1954; Vacante, 1985; Gillespie *et al.*, 1994; Gillespie & Quiring, 1995), er en relativ ny tilføjelse til udvalget af nyttedyr til biologisk bekämpelse af skadedyr i væksthuse. Der er i udlandet udført lovende forsøg med biologisk bekämpelse af spindemider i roser (Vacante, 1985), peber (Bennison, unpubl.), tomater (Wardlow & Tobin, 1990) og aubergine (Bennison *et al.*, 1996) og flere nyttedyrsproducenter og -forhandlere markedsfører *F. acarisuga* som et nyttigt supplement til spindemide-rovmiden *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) til bekämpelse af væksthusspindemiden, *Tetranychus urticae* Koch og den røde spindemide, *T. cinnabarinus* Boisduval.

Selv om galmyggen er kommersielt tilgængelig, er der kun få undersøgelser af dens biologi og indvirken på spindemiders populationsudvikling (Gillespie *et al.*, 1994; Gillespie & Quiring, 1995; Opit *et al.*, 1997; Enkegaard *et al.*, 2000). Kendskabet til et nyttedyrs biologi og samspil med byttedyret og med andre organismer i væksthusmiljøet er en

nødvendig forudsætning for en optimal anvendelse af dyret og for forståelse for varierende resultater af en biologisk bekämpelse.

Som et bidrag til en øget viden om *F. acarisuga*'s biologi blev følgende undersøgelser gennemført.

Materialer og metoder

Opdræt

Spindemidegalmygen blev opdrættet i plexiglas bure (45×45×58 cm) i et klimarum ved $22\pm2^{\circ}\text{C}$, 80-90% r.h., L:D 16:8 med agurk (*Cucumis sativa* L. cv. Danora F.1) som værtplante, spindemider (*T. urticae*) som bytte og ferskenbladlus (*Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae)) som forsyningskilde af honningdug til de voksne galmyg.

Æg- og larveudvikling og mortalitet

I 4 plexiglas bure (45×45×58 cm) blev der i hver indsats 20-60 voksne *F. acarisuga* (kønsfordeling (&/(&+)) ~ 0,6) med en alder på 1-3 dage til æglægning. Burene indeholdt hver en lille spindemide-inficeret agurkeplante med 1-3 blade og en peberplante med bladlus. De voksne galmyg blev fjernet efter 5-24 timer. Burene var placeret i et klimarum ved $22\pm2^{\circ}\text{C}$, 80-90% r.h., L:D 16:8.

En del af bladene blev fjernet til bestemte tider, placeret i klimarummet under fugtige forhold (90-98% r.h.) og observeret dagligt i 3-5 dage. Blade, der blev fjernet dag 1 og 3 efter de voksnes introduktion, blev således optalt dagligt for æg og larver på henholdsvis dag 1-3 og 3-7; blade, der blev fjernet på dag 7, blev optalt dagligt for larver og pupper mellem dag 7-10; og de resterende blade blev optalt *in situ* for tilstedevarsel af larver og pupper mellem dag 10-14. Mortaliteten blev beregnet for hver periode og efterfølgende adderet for at give den samlede mortalitet i æg- og larvestadierne. Desuden blev der foretaget daglige observationer for at bestemme den samlede udviklingstid fra æg til puppe.

Puppeudvikling, puppemortalitet og kønsfordeling

Omkring 60 voksne *F. acarisuga* (kønsfordeling ~ 0,6 hunner) i en alder af 1-3 dage blev indsats til æglægning i et plexiglas bur, som beskrevet ovenfor. Buret blev placeret i klimarummet i 5 timer, hvorefter de voksne blev fjernet. Mellem dag 7-13 efter de voksnes introduktion blev bladene dagligt inspicteret *in situ* og larver og pupper optalt. Dag 14 blev bladene skåret i små stykker hver med 1-5 pupper på. Disse bladstykker placeredes i Petriskåle (5 cm Ø) under fugtige forhold (90-98% r.h.) i klimarummet. Antallet af klækkeerde galmyg blev dagligt optalt og kønsbestemt, indtil klækningen stoppede. Antallet af uklækkeerde pupper blev optalt.

Fekunditet og honningdugs indflydelse

Galmyggens æg er vanskelige at se uden at skade planten og derfor meget tidskrævende at optælle. Som følge heraf blev fekunditeten opgjort som antallet af larver og pupper produceret 9 dage efter æglægningens begyndelse. Otte eller 12 hanner og 12 hunner af *F. acarisuga* (max. 24 timer gamle), som var klækket under forhold, hvor de kun havde adgang til vand,

blev indsat i hver af 6 plexiglas bure med en lille spindemide-inficeret agurkeplante med 2 blade. Alle voksne havde adgang til vand. I 3 af burene var der desuden en peberplante med bladlus. Burene blev placeret i klimarummet under forhold som beskrevet ovenfor. På den 9. dag efter de voksnes introduktion blev bladene fjernet og larver og pupper optalt.

Resultater

Æg- og larveudvikling og mortalitet

Ægstadiet og larvestadierne hos *F. acarisuga* varede tilsammen lidt over en uge med et gennemsnit ($\pm s.e.$) på $8,6 \pm 0,05$ dage ($n=846$). Udviklingen af puppen tog i gennemsnit ($\pm s.e.$) $11,7 \pm 0,1$ dage ($n=282$). Mortalitetsraterne i de sekventielle perioder af æg- og larveudvikling var: 4,3% (dag 1-3), 4,4% (dag 3-7), 3,4% (dag 7-10), og 4% (dag 10-14). Den samlede mortalitet ($\pm s.e.$) i æg- og larvestadierne var således $16,1 \pm 0,94\%$ ($n=1.525$). Mortaliteten ($\pm s.e.$) i puppestadiet var $6,0 \pm 1,5\%$ ($n=250$).

Kønsfordeling

Kønsfordelingen blandt galmyggens afkom var forskudt mod en overvægt af hunner, der fandtes i et antal af 220 ud af 282 voksne, hvilket gav en fordeling (&/(&+%)) ($\pm s.e.$) på $0,78 \pm 0,03$.

Fekunditet og honningdugs indflydelse

En kontinuert forsyning af honningdug til de æglæggende galmyg-hunner havde en signifikant positiv indflydelse (Chi^2 analyse, $P < 0,001$) på antallet af larver og pupper, der blev produceret. Når honningdug var tilstede, blev der i gennemsnit ($\pm s.e.$) produceret $21,7 \pm 5,4$ larver og pupper pr. hun, mens kun $8,9 \pm 5,2$ larver og pupper pr. hun blev produceret, når honningdug ikke var tilstede. Fra resultaterne i mortalitetsforsøget kan en mortalitetsrate på 11% antages for larve- og puppeudviklingen i den 9 dage lange forsøgsperiode i dette forsøg. På baggrund af dette kan galmyggens fekunditet ($\pm s.e.$) estimeres til $24,4 \pm 6,1$ og $10,0 \pm 5,8$ æg pr. hun henholdsvis med og uden adgang til honningdug.

Livscyklus parametre

Med antagelse af en levetid for voksne galmyg på $3\frac{1}{2}$ dag under vores forsøgsbetegnelser, (Stig Jacobsen, pers. obs.; Gillespie *et al.*, 1994; Gillespie & Quiring, 1995) og en fekunditet, der er ligeligt fordelt over hunnens levetid, blev der lavet life tables for *F. acarisuga* med agurk som værtplante, spindemider som bytte og honningdug enten tilstede eller fraværende (Birch, 1948). Galmyggen havde en gennemsnitlig generationstid (G) på 21,5 dage. Når der var adgang til honningdug, var netto reproduktionsraten (R_0) og den iboende vækstrate (r_m) henholdsvis 11,3 og $0,1128 \text{ dag}^{-1}$, mens disse parametre var henholdsvis 4,6 og $0,0711 \text{ dag}^{-1}$, når de voksne galmyg ikke havde adgang til honningdug. Honningdug øgede således den iboende vækstrate 1,6 gange.

Diskussion

Wardlow & Tobin (1990) observerede, at udviklingen af *F. acarisuga* på tomat ved 21°C varede omkring en uge for larver og 7-10 dage for pupper. Disse værdier er overensstemmende med vores men højere end dem, som Gillespie *et al.* (1994) har fundet. Disse forfattere fandt en samlet udviklingstid på omkring 13,6 dage (interpoleret fra deres data). Værtplanten og andre detaljer i den anvendte metode er imidlertid ikke specifiseret, og det er derfor ikke muligt at give en nærmere forklaring på den hurtigere udviklingstid.

Der foreligger ingen rapporter om udviklingsmortaliteten hos *F. acarisuga* i litteraturen.

Vi fandt, at galmyggens kønsfordeling (&/(&+%)) var 0,78, hvilket er højere end kønsfordelinger hos felt-indsamlede *F. acarisuga*, som varierede mellem 0,63-0,71 med et gennemsnit på 0,69 (Robert, 1954).

Gillespie & Quiring (1995) fandt en fekunditet hos galmyggen på tomat på omkring 14,9 larver (4 dage gamle) pr. hun (interpoleret fra deres data), hvilket svarer til 15,8 æg pr. hun (under antagelse – fra vores mortalitetsforsøg – af en mortalitet på 5,4% over den 4 dage lange forsøgsperiode). De eksperimentelle forhold lignede vores bortset fra, at hunnerne lagde æg på blade sprøjtet med en sukkeropløsning som energikilde for de voksne galmyg. Fekunditeten er omkring 35% lavere end i vores forsøg, hvor galmyggen havde adgang til frisk honningdug, men omkring 60% højere end den fekunditet vi observerede, når galmyggen kun havde adgang til vand. Adgang til sukker synes således at øge galmyggens fekunditet og hunnernes levetid (Gillespie *et al.*, 1994) i forhold til, når galmyggen alene har adgang til vand. Men sammenlignet med sukker synes honningdug at have en endnu større effekt på fekunditeten og dermed også på netto reproduktionsraten og den iboende vækstrate. Formodentlig har galmyg-hunnerne fordel ikke blot af sukkerstofferne men også af andre af de substanser, der er i honningdug, f.eks. aminosyrer (Maltais & Auclair, 1952; Hussain *et al.*, 1974).

På basis af disse forsøg er det vores opfattelse, at biologisk bekæmpelse af spindemider med *F. acarisuga* kan forbedres, hvis de voksne galmyg har adgang til honningdug og vand og samtidig gives plads og tid til parring, før de slippes løs i afgrøden.

Sammendrag

Livscyklusforhold for spindemide-galmyggen *Feltiella acarisuga* blev undersøgt ved 22±2°C, 80-90% r.h., L:D 16:8 med agurk som værtplante, spindemider som byttedyr og honningdug enten fraværende eller tilstede som fødekilde for de voksne. Den juvenile udviklingstid var cirka 20 dage, og den samlede mortalitet i æg-, larve- og puppestadierne var 22,1%. Galmyggens fekunditet og iboende vækstrate blev signifikant forøget, når galmyggen havde adgang til frisk honningdug sammenlignet med vand: fekunditeten øgedes til 24,4 æg pr. hun (2,4 gange) og r_m til 0,1128 dag⁻¹ (1,6 gange).

Litteratur

Birch L.C. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. J. Anim. Ecol. 17, 15-26.

- Bennison J.A., Sampson C., Vautier A. & Challinor P.F. 1996. Development of IPM on protected aubergine. IOBC/WPRS Bull., 19, 7-10.
- Enkegaard A., Svendsen M.S. & Brødsgaard H.F. 2000. Fugtighedens indflydelse på prædationskapaciteten overfor spindemide-æg hos larver af spindemidegalmyggen (*Feltiella acarisuga*). 17. Danske Planteværnskonference 2000, DJF-rapport nr. 12.
- Gillespie D.R. & Quiring D.J.M. 1995. Rearing the predatory gall midge, *Feltiella acarisuga* (Vallot) (Diptera: Cecidomyiidae). Pacific Agricultural Research Station, Technical Report # 118.
- Gillespie D.R., Quiring D.M.J., Opit G. & Greenwood M. 1994. Biological control of twospotted spider mites on greenhouse tomatoes. Pacific Agricultural Research Station, Technical Report # 105.
- Hussain A., Forrest J.M.S. & Dixon A.F.G. 1974. Sugar, organic acid, phenolic acid and plant growth regulator content of extracts of honeydew of the aphid *Myzus persicae* and of its host plant *Raphanus sativus*. Ann. Appl. Biol. 78, 65-73.
- Maltais J.B. & Auclair J.L. 1952. Occurrence of amino acids in the honeydew of the crescent-marked lily aphid *Myzus circumflexus* (Buck.). Can. J. Zool. 30, 191-193.
- Opit G.P., Roitberg B. & Gillespie D.R. 1997. The functional response and prey preference of *Feltiella acarisuga* (Vallot) (Diptera: Cecidomyiidae) for two of its prey: male and female twospotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Can. Entomol. 129, 221-227.
- Roberti D. 1954. I simbionti degli acari fitofagi. I *Therodiplosis persicae* Kieffer. Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria "Filippo Silvestri" 13, 285-302.
- Vacante V. 1985. The current state of control of phytophagous mites in protected crops in Sicily. IOBC/WPRS Bull. 8, 43-50.
- Wardlow L.R. & Tobin A. 1990. Potential new addition to the armoury of natural enemies for protected crops. IOBC/WPRS Bull. 1990/XIII/5, 225-227.

Fugtighedens indflydelse på prædationskapaciteten over for spindemide-æg hos larver af spindemidegalmyggen (*Feltiella acarisuga*)

Influence of humidity on the functional response of larvae of the gall midge (*Feltiella acarisuga*) feeding on spider mite eggs

Annie Enkegaard & Henrik F. Brødsgaard

Danmarks JordbrugsForskning

Afdeling for Plantebeskyttelse

Forskningscenter Flakkebjerg

DK-4200 Slagelse

Mette Skovly Svendsen

Københavns Universitet

Afdeling for Populationsøkologi

Universitetsparken 15

DK-2100 København Ø

Summary

The functional response of the larvae of the gall midge *Feltiella acarisuga* preying upon spider mite eggs on *Hedera* was examined at 45% and 80% r.h. The larvae had a high predation rate with 23,4 and 27,3 eggs being eaten at high densities at 45% and 80%, respectively. The functional response was significantly higher at 80% r.h., than at 45% r.h. at two of the higher densities (16 and 32 eggs/leaf). At 80% r.h. the response could be described by both type II and type III models with the maximal predation rate estimated to between 8-13 eggs/hour.

Indledning

Væksthusspindemiden (*Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)) er et alvorligt skadedyr i mange væksthusafgrøder. Rovmiden *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) er i mange tilfælde effektiv til biologisk bekæmpelse af spindemiden, men utilstrækkelig bekæmpelse kan forekomme i visse afgrøder eller dele af afgrøder, hvor temperaturen er høj og fugtigheden lav. Nyttedyr, som kan overleve og fungere ved lave fugtigheder, vil derfor være et nyttigt supplement til rovmiden. Spindemidegalmyggen *Feltiella acarisuga* Vallot (Diptera: Cecidomyiidae) er en sådan mulighed.

Fugtigheden påvirker galmyggens biologi. Fekunditeten og klækningen af de voksne galmyg er således størst ved fugtigheder omkring 85-90% (Gillespie & Quiring, 1995). Desuden er det blevet vist, at 3 dage gamle galmyglarvers prædation på spindemider på tomat stiger eksponentielt med fugtigheder mellem 40-90% (Gillespie *et al.*, 1994).

Kendskab til fugtighedens indflydelse på spindemidegalmyglarvers prædationskapacitet er af betydning for vurderingen af galmyggens potentiale som nyttedyr mod spindemider. Denne artikel beskriver foreløbige resultater for galmyglarvers funktionelle respons over for spindemide-æg ved lav og høj fugtighed med *Hedera* som modelplante.

Materialer & Metoder

Opdræt

Spindemider blev opdrættet på bønner (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Montano) i netdækkede bure (61×66×75 cm) i et væksthus ved $25\pm2^{\circ}\text{C}$, $70\pm10\%$ r.h., L:D 16:8. Spindemidegalmyggen blev opdrættet på spindemide-inficerede agurkeplanter (*Cucumis sativus* L., cv. Danora F1) i tilsvarende bure og under tilsvarende forhold med forsyning af honningdug fra bladlus (*Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae)) på peberplanter (*Capsicum annuum* L., cv. California Wonder). Honningdug er fødekilde for de voksne galmyg (Enkegaard *et al.*, 2000).

Forsøg

Spindemide-hunner blev overført til *Hedera*-blade (2-4 cm²) (*Hedera helix* L., cv. Nena), som blev placeret i Petriskåle (8,5 cm Ø) på fugtet vat. Skålene blev placeret i et klimaskab ved høj luftfugtighed (80-90%), $25\pm1^{\circ}\text{C}$ and L:D 16:8. Spindemiderne lagde æg i 1-2 dage, hvorefter de blev fjernet. Spindemide-æg blev derefter fjernet, så tætheder på 2, 4, 8, 16, 32 eller 64 æg/blad blev opnået.

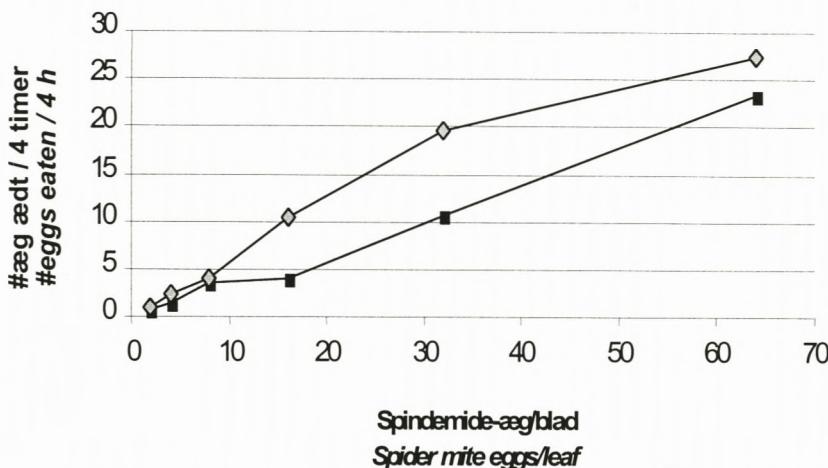
Store galmyglarver, 6-9 dage gamle, blev indsamlet fra opdrættet og placeret i Petriskåle med små stykker fugtet køkkenrulle for at sikre en høj fugtighed. Efter 2 timers sultning blev larverne overført til skålene med *Hedera*-blade (1 larve pr. blad). Skålene placeredes på en platform i et akvarium (37×21×28 cm) ved enten 45% eller 80% r.h. Disse fugtigheder blev opnået ved hjælp af saltopløsninger af henholdsvis K_2CO_3 og KCL. Petriskålene blev efterladt åbne, således at galmyglarverne frit kunne forlade opsætningen som reaktion på tætheden af spindemide-æg.

Efter 4 timer blev antallet af tilbageværende spindemide-æg optalt og galmyglarvens tilstand observeret. Det funktionelle respons (antallet af spindemider ædt som funktion af tætheden) blev kun bestemt for larver, der stadig var i live efter 4 timer, og som ikke havde forpuppet sig.

Resultater

Spindemidegalmyggens larver havde en høj prædationsrate af spindemide-æg og åd op til 42 æg (=10,5 æg/time) eller 46 æg (=11,5 æg/time) ved høje tætheder ved henholdsvis 45% og 80% r.h. Det gennemsnitlige ($\pm\text{s.e.}$) antal æg, der blev ædt ved spindemidetætheder på 2, 4, 8, 16, 32 og 64 æg/blad, var ved 45% r.h. 0,63 ($\pm0,18$); 1,50 ($\pm0,33$); 3,62 ($\pm0,47$), 4,00 ($\pm0,43$); 10,74 ($\pm1,36$) og 23,44 ($\pm4,20$) og ved 80% r.h.: 1,00 ($\pm0,23$); 2,4 ($\pm0,43$); 4,00 ($\pm0,67$); 10,42 ($\pm0,61$); 19,63 ($\pm1,73$) og 27,33 ($\pm9,70$) æg.

Der var ingen signifikante forskelle mellem de to fugtigheder i antallet af spindemideæg ædt af galmyglarverne ved spindemidetæthed på 2, 4 og 8 æg/blad (Kolmogorov-Smirnov test, $P>0,33$). Der var imidlertid signifikante forskelle ved tæthed på 16 og 32 æg/blad ($p<0,001$), hvor omkring 2-2,5 gange flere spindemideæg blev ædt ved 80% r.h. sammenlignet med ved 45% r.h. Ved en tæthed på 64 æg/blad var der ingen signifikant forskel mellem de to fugtigheder sandsynligvis som følge af, at der endnu kun er lavet få replikater ($n=3$) ved den høje luftfugtighed.



Figur 1. Funktionelt respons for spindemidegalmyggens larver over for spindemide-æg ved 45% (■) og 80% r.h. (◆) ved 25°C. Functional response of *F. acarisuga* larvae preying upon spider mite eggs at 45% (■) and 80% r.h. (◆) at 25°C.

Data blev fittet til modeller for funktionelt respons henholdsvis Type II og Type III (Hassell, 1978), hvor Type II angiver en tæthedsuafhængig prædation, og Type III angiver, at der ved visse tæthed er en tæthedsafhængig prædation.

Galmyglarvernes funktionelle respons ved 80% r.h. kunne beskrives med modeller både for type II ($R^2=0,976$) og type III ($R^2=0,996$). Fra modellerne kan den maksimale prædation ved høje tæthed af spindemide-æg beregnes til at være mellem 8-13 æg pr. time. Det funktionelle respons ved 45% r.h. kunne ikke fittes til modellerne.

Galmyglarverne forsvandt (eller i få tilfælde (5,4%) døde) fra forsøgsopstillingen i en tæthedsafhængig respons på tæheten af spindemide-æg, således at andelen af larver, der forsvandt, aftog eksponentielt med tæheten (tabel 1). Ved de to laveste tæthed valgte mellem 14 og 24% af larverne således at forlade bladende tilsyneladende som respons på den lave tilgængelighed af bytte. Der var ingen signifikante forskelle i andelen af forsvundne eller døde larver mellem de to luftfugtigheder ved nogen af tæthederne (χ^2 -test, $p>0,10$).

Diskussion

Roberti (1954) observerede, at spindemidegalmyggens larver kan æde op til 30 byttedyr (*Tetranychus* sp. æg, nymfer og voksne) pr. dag. Forsøgsbetingelserne var imidlertid ikke specificerede. For *Feltiella* sp. larver med spindemiden *T. kanzawai* Kishida som byttedyr fandt Nakagawa (1986) en prædationsrate på op til 80 æg/dag ved 15-20°C, hvilket svarer til en gennemsnitlig prædation på 3,3 æg/time.

Tabel 1. Andelen af galmyglarver som forsvandt eller døde i forsøget med funktionelt respons. n er antallet af observationer. The proportion (\pm s.e.) of *F. acarisuga* larvae disappearing or dying in the experiment on functional response. n is the number of observations.

Tæthed (Æg/blad)	Fugtighed 45% r.h.		Fugtighed 80% r.h.	
	Humidity 45% r.h.		Humidity 80% r.h.	
	% forsvundne (\pm s.e.)	n	% forsvundne (\pm s.e.)	n
Density (Eggs/leaf)	% missing (\pm s.e.)	n	% missing (\pm s.e.)	n
2	15,8 ± 0,7	19	17,7 ± 0,8	17
4	24,1 ± 0,9	29	14,3 ± 0,6	21
8	12,9 ± 0,4	31	25,0 ± 0,7	28
16	10,8 ± 0,3	37	3,6 ± 0,1	55
32	4,2 ± 0,2	24	3,6 ± 0,1	28
64	10,0 ± 0,9	10	0	3

Spindemidegalmyggens prædation på spindemider er vist at stige eksponentielt med fugtigheder mellem 40-90% (Gillespie *et al.*, 1994). Dette støtter den tendens, som vi har set til en højere prædation ved høj fugtighed.

Spindemidegalmyggens funktionelle respons over for spindemide-æg ved 80% r.h. kunne beskrives både med type II og III modeller, hvorimod responset ved 45% r.h. ikke kunne beskrives med modellerne. Det kan således ikke på det nuværende grundlag afgøres, om galmyggen ved visse tætheder kan opvise en tæthedsaftængig prædation. Yderligere forsøg kan gøre disse resultater mere entydige. Opit *et al.* (1997) fandt, at *F. acarisuga* larver havde et type II funktionelt respons over for både spindemide-hanner og -hunner ved 27°C og 90% r.h. De fandt en maksimal prædationsrate på 2,2 hanner/time og 0,7 hunner/time. Disse prædationsrater er ikke overraskende betydeligt lavere end den prædationsrate, som vi har set over for de meget mindre spindemide-æg.

Spindemidegalmyggens prædationsrate ved 80% r.h. var mellem 7-12 gange højere end for spindemide-rovmiden, *P. persimilis* (Sabelis, 1985; omkring 1,1 æg/time ved 70% fugtighed, 20°C (estimeret fra hans data)). Ved de forsøgsbetingelser, som vi har anvendt, ville rovmiden sandsynligvis have en højere prædationsrate end dette, men det synes klart, at galmyggens larver er rovmiden overlegen, når det drejer sig om prædation på spindemide-æg ved høje fugtigheder. Selv om spindemidegalmyggens maksimale prædationsrate ved lave

fugtigheder sandsynligvis er lavere, så er den stadig højere end rovmidens. Det er imidlertid nødvendigt at inddrage andre aspekter af de to nyttedyrs biologi herunder prædationen i hele deres levetid, når deres anvendelighed til biologisk bekämpelse over for spindemider skal bedømmes.

Sammendrag

Det funktionelle respons hos spindemidegalmyggens larver overfor spindemide-æg på *Hedera* blev undersøgt ved 45% og 80% r.h. Larverne havde en høj prædationsrate og åd henholdsvis 23,4 og 27,3 æg ved høje tætheder ved 45% og 80% r.h. Det funktionelle respons var signifikant højere ved 80% r.h. end ved 45% r.h. ved to af de højere tætheder (16 og 32 æg/blad). Ved 80% r.h. kunne responset beskrives både med type II og type III modeller, hvorfra den maksimale prædationsrate kunne estimeres til at være mellem 8-13 æg/time.

Litteratur

- Enkegaard A., Brødsgaard H.F. & Jacobsen S.* 2000. Livscyklusforhold for spindemidegalmyggen *Feltiella acarisuga*. 17. Danske Planteværnskonference 2000. DJF Rapport, nr. 12, 2000.
- Gillespie D.R. & Quiring D.J.M.* 1995. Rearing the predatory gall midge, *Feltiella acarisuga* (Vallot) (Diptera: Cecidomyiidae). Pac. Agric. Res. Stat., Tech. Rep. #118.
- Gillespie D.R., Quiring D.M.J., Opit G. & Greenwood M.* 1994: Biological control of twospotted spider mites on greenhouse tomatoes. Pac. Agric. Res. Stat., Tech. Rep. #105.
- Hassell M.P.* 1978. The dynamics of arthropod predator-prey systems. Princeton Univ. Press.
- Opit G.P., Roitberg B. & Gillespie D.R.* 1997: The functional response and prey preference of *Feltiella acarisuga* (Vallot) (Diptera: Cecidomyiidae) for two of its prey: male and female twospotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychiidae). Can. Entomol. 129, 221-227.
- Nakagawa T.* 1986. Effect of temperature on the prey consumption of *Feltiella* sp. As a predator of *Tetranychus kanzawai* Kishida. Proceedings of the Plant Protection Association of Kyushu 32: 214-217.
- Roberti D.* 1954. I simbionti degli acari fitofagi. I *Therodiplosis persicae* Kieffer. Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria "Filippo Silvestri" 13, 285-302.
- Sabelis M.W.* 1985. Predation on spider mites. In Helle, W. & Sabelis, M.W. (eds). Spider Mites. Their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier, Amsterdam. 103-129.

Pythium-skulderråd i kinakål og muligheder for biologisk bekæmpelse
Pythium leaf and head rot in Chinese cabbage and possibilities of biocontrol

Kaare Møller, John Hockenhull og Birgit Jensen

Institut for Plantebiologi

Sektion for Plantepatologi

Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole

Thorvaldsensvej 40

DK-1871 Frederiksberg C

Summary

In 1989 a new disease problem appeared in field grown Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*) in Denmark. At first the problem was assumed to be caused by *Phytophthora porri* since this pathogen at the time was a recurrent problem, causing storage rot in cold stored Chinese cabbage, and the field and storage rot problems showed symptom similarities. However, in 1994 it became clear that *Pythium tracheiphilum* Matta, otherwise a wilt and stunt pathogen of lettuce, was the causal organism in the field disease. The name *Pythium* leaf and head rot of Chinese cabbage has been proposed for this disease. So far, it has only been reported from Denmark.

Since no chemical with a known capacity to control the leaf and head rot pathogen was available, an experiment was launched at the Royal Veterinary and Agricultural University of Copenhagen (RVAU) in 1995, with the objective of screening antagonistic micro-organisms for possible biocontrol potential against *P. tracheiphilum* under field conditions on naturally infested land. A chemical fungicide was included as a reference. One of the antagonists studied (*Gliocladium roseum*, strain IK726) significantly reduced the leaf and head rot disease level, and also significantly improved the crop yield. The field trial was repeated in 1996 and in 1999, including only *G. roseum* (IK726) and a commercial formulation of *Trichoderma harzianum* (Supresivit), which in 1995 came interestingly close to significance in respect of disease control, showing a significantly positive effect on the yield. The very dry summer of 1996 limited leaf and head rot development to a minimum, rendering the results of the trial that year uninteresting. Disease development in 1999 allowed the selected antagonists to be tested, which showed that the 1995 results in terms of biocontrol capacity and harvest improvement related to IK726 treatment could be reproduced. However, the 1999 result did not confirm the 1995 finding of a positive effect of Supresivit on the yield. The yield improvement effect obtained in Supresivit treatments in 1995 was also obtained in treatments with a Danish strain of *T. harzianum* (T3), which, however, showed no effect in terms of biocontrol.

The results obtained, add more realism to future perspectives of using antagonistic micro-organisms in biocontrol of plant pathogens under field conditions.

Indledning

***Pythium*-skulderråd i hovedtræk**

Det følgende er baseret på arbejde udført af Møller & Hockenhull, 1997 (diagnosering og beskrivelse af sygdomsproblemet) samt af Møller *et al.* (In prep.) (resultater af forsøg med biologisk bekämpelse).

Symptomer og sygdomsudvikling

Pythium tracheiphilum Matta, der forårsager *Pythium*-skulderråd i kinakål (*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*), volder erfaringsmæssigt ikke problemer ved kulturens etablering. Typiske angreb ses først, når planterne når frem til hovedsætning (Møller & Hockenhull, 1997). Det er i væksthusforsøg vist, at kinakålplanten er relativt resistent mod angreb indtil 3-4 uger efter såning (juvenile resistens), hvor modtageligheden stiger drastisk (Møller, 1999). Planter, der forbliver juvenile, det vil sige, planter, der ikke indleder hovedsætning, angribes ikke. Ulig mange andre plantepatogene *Pythium*-arter angriber *P. tracheiphilum* bladene men ikke rodsystemet, og patogenet er i stand til at leve saprofytisk på døde plantedele og overleve i jorden formodentlig i mange år uden tilstedeværelse af værter.

Det er i væksthus vist, at tidlige angreb (perioden fra ca. 4. uge til hovedsætning) arter sig som et visnesymptom i det angrebne blad, der kan forveksles med den senescens af yderblade, der hyppigt ses i marken, men det vides ikke, om eller i hvilket omfang sådanne angreb forekommer på markniveau (Møller, 1999). De mere karakteristiske symptomer består i bladpletter, der opstår på midtribben af yderblade nær bladgrundens. Inokulum i infesteret jord eller i stumper af henfaldende yderblade, der ved kontakt med jorden er blevet koloniserede af patogenet, spredes med regn, vind og vandingsvand til bladgrundens, hvor de primære angreb finder sted (Møller, 1999). Disse bladpletter er først næsten farveløse - gråtonede, og bladvævet kollaberer i pletten, der som regel er halv-elliptisk bredest mod bladgrundens. Efterhånden som angrebet skrider frem, øges vævskollapset, og pletten bliver lyst brun, senere vandrucken, og bliver takket være især invaderende bakterier sidst mørkt brun og blødradden. Angrebet kan udvikle sig til at omfatte hele bladet og spredes til naboblade primært ved kontaktmitte og muligvis via karsystemet i stokken, der i angrebne, lodret gennemskårne planter ofte fremviser nekrotiske bladspor. Angrebne blade løsnes på grund af råd ved grunden, og er forholdene gunstige (høj, vedvarende fugtighed, megen nedbør, pletter med stående vand), kan angrebet hurtigt nå frem til dæk- og hovedblade. Henfaldende, afrådnede, angrebne blade må antages at tjene til inokulum til yderligere spredning af patogenet fra plante til plante (Møller, 1999). Selv om der kan ses omfattende angreb i tidlige kulturer, er det ofte i de senere såede kulturer, angreb får størst betydning, da disse kulturer generelt har en længere vækstperiode, hvilket giver patogenet tid til at arbejde sig ind fra yderbladene, til etablering af hovedangreb.

Epidemiologiske forhold

Jordens dræningstilstand og fugtighed har stor betydning for sygdommens skadevirkning, hvilket kan illustreres ved følgende eksempel. I første del af 90erne var det ikke ualmindeligt at finde angreb i mere end 50% af de etablerede planter. I en observation fra Sydsjælland,

1994 fandtes på et vandlidende område, at 62% af alle planter var angrebne, 30% af alle havde udviklet hovedangreb (ikke salgbare), og skæreprocenten var reduceret til 53% af de etablerede planter. Til sammenligning var 34% planter angrebne (planter med hovedangreb 14%) i et mindre vådt, tilgrænsende område, og skæreprocenten var her 79%.

Det er oplagt at antage, at den store patogenbærende biomasse, der typisk efterlades i marken efter et større angreb, vil øge smittetrykket betragteligt. Imidlertid er der set voldsomme angreb i marker, trods der i disse ikke tidligere havde været dyrket kinakål. Således sås i 1994 i Sydsjælland en mark, i hvilken 74% af planterne havde angreb (hovedangrebne planter: 36%), og skæreprocenten var her reduceret til 32%. Der er ingen eksisterende viden om, hvilken indflydelse andre afgrøder har på vedligeholdelse af patogenet i jorden, men da *P. tracheiphilum* er et vaskulært patogen i salat, der forårsager vækststandsning og visnen (Matta, 1965), er det muligt, at i al fald denne kultur kan medvirke til opretholdelse af smittetrykket. Der er dog endnu ikke rapporteret *P. tracheiphilum*-angreb i salat i Danmark. På baggrund af *Pythium*-skulderråds almindelige geografiske udbredelse i Danmark er det nok rimeligt at antage, at patogenet er almindeligt forekommende i Danmark, og på baggrund af erfaringer med sygdommen at patogenet er i stand til at etablere omfattende angreb i kinakål under de rette vejr- og jordbundsforhold trods et forventet ret lavt initialt smittetryk.

P. tracheiphilum er i sammenligning med mange andre jordboende saprofytter hurtig til at kolonisere tilgængelige substrater (dødt plantemateriale). Der er således grund til at tro, at den biomasse, der frigøres fra kinakålkulturen i form af senescerende blade (hvorfra patogenet har kunnet isoleres) udgør et ”springbræt” for patogenet til dettes opformering, inden angreb sætter ind, og at dette er af større epidemiologisk betydning end det initiale smittetryk ved kulturens start (Møller, 1999). Da patogenet i lighed med mange andre *Pythium*-arter grundlæggende er saprofytisk og i øvrigt producerer hvilestrukturer (sporangier og oosporer), kan det antages, at patogenet overlever og trives mange år uden potentielle værtpflanters tilstedeværelse.

Forebyggelse

God dræningstilstand og brug af sorter med en kort vækstperiode er vigtige faktorer for forebyggelse/begrænsning af angreb. Endvidere er det formodentlig af betydning, at der ikke er for megen frisk biomasse deponeret i marken (nedharvet, frisk plantemateriale) kort inden iværksættelse af kulturen.

Biologisk bekæmpelse af *Pythium*-skulderråd

Der blev i 1995, 1996 og 1999 gennemført forsøg med biologisk bekæmpelse af *Pythium*-skulderråd i kinakål ved KVL, idet de enkelte forsøg udlagdes hos en avler som en integreret del af et konventionelt dyrket kinakålareal. De valgte arealer var naturligt infesterede arealer, hvor skulderråd-problemet havde været et tilbagevendende og alvorligt fænomen de foregående år.

Forsøgsstrategi 1995

Den indtil 1995 indsamlede viden om sygdommens natur dannede baggrunden for den anvendte strategi i dette års forsøg. Således blev der taget hensyn til, at patogenet ikke angriber kinakål ved fremspiring eller på småplantestadiet, men at primære angreb først var observeret ved begyndende hovedlukning. Ugerne inden begyndende hovedlukning blev derfor anset for at være det optimale tidsrum for iværksættelse af biologisk bekæmpelse. Det var et mål at søge at opnå bekæmpelseseffekt ved at søge at etablere antagonisterne som en barriere i det øverste jordlag mod patogenets spredning til planterne. En sådan barriere kunne fungere, dels via en direkte antagonistisk effekt over for patogenet, dels via en svækkelse af patogenet ved etablering af et konkurrenceforhold mellem antagonister og patogen om den til rådighed stående biomasse på (blandt andet senescerende kinakålblade)/i jorden. De udvalgte antagonister (tabel 1) var derfor alle organismer, der evner at leve saprofytisk i jord. I betragtning af at angreb kan etableres fra begyndende hovedlukning frem til høst, og der derfor er behov for langtidsbeskyttelse, blev det også anset for væsentligt, at de udbragte mikroorganismer fik de bedste chancer for langtidsoverlevelse. Af den grund ansås det for hensigtsmæssigt at benytte antagonisterne til jordbehandling men næppe til behandling af planterne/fylloplanet, der tilbyder mindre næring og et mere ustabilt mikroklima, end jordbunden. De benyttede præparater / antagonister blev derfor udbragt to gange, med 7-8 dages interval ved hjælp af rygsprøjte med refleksdyse (Hardi-syntal, nr. 4598-14, ref. 370764), der gav en ensartet dækning af jordoverfladen mellem planterne.

Præparater/antagonister blev udvalgt ud fra indikationer fra litteraturen på, at disse havde en effekt over for en eller flere *Pythium*-arter, idet der ikke foreligger relevant viden vedrørende kemisk eller biologisk bekæmpelse af *P. tracheiphilum*. Ud fra konventionel tankegang udvalgtes også et enkelt kemisk præparat som en art reference (tabel 1). Det valgte middel angives at have virkning mod *Pythium*- og *Phytophthora*-arter og var på det tidspunkt det eneste af den art, der kunne have en realistisk chance for at finde praktisk anvendelse i kinakål. Imidlertid skal det anføres, at midlet på grund af sin korte nedbrydningstid på forhånd næppe kunne ventes at give det ønskede resultat ved jordbehandling. De udvalgte antagonister udgjordes af en serie danske isolater, der opformeredes i laboratoriet samt af en række markedsførte antagonist-præparater. Alle midler udbragtes i vandig suspension, og dosering af biologiske midler justeredes så vidt muligt efter den dosering, der anbefaledes for markedsførte præparater (tabel 1). Det skal dog nævnes, at det ikke blev tilstræbt at opnå en "antagonist spore-for-spore effektsammenligning" men blot at screene for en mulig effekt af et eller flere midler. Dosering af det kemiske præparat justeredes efter anbefalinger for brug i grønsagskulturer, hvor dette er godkendt til brug.

Tabel 1. Benyttede antagonister og midler, deres dosering og oprindelse, forsøg 1995.
Properties and rates of application of tested agents, 1995 trial.

Isolatbeteg-nelse/præpa-ratnavn/Name	Aktivt indholdsstof Active ingredient of product	Dosering, a.i./m ²		Oprindelse Origin
		Dose	1. behandling 2. behandling	
Aliette	80 % fosetyl-Al	0.24 g fosetyl-Al	0.24 g fosetyl-Al	Rhône-Poulenc
Binab T	10^4 c.f.u./g <i>Trichoderma harzianum</i> and <i>T. polysporum</i>	10^4 c.f.u.	10^4 c.f.u.	Bio-Innovation
Mycostop	10^8 c.f.u./g <i>Streptomyces griseoviridis</i>	6.7×10^7 c.f.u.	6.7×10^7 c.f.u.	Kemira Agro Oy
Polyversum	7×10^5 spiredyggtige oosporer/g <i>Pythium oligandrum</i>	7×10^5 spiredyggtige oosporer	7×10^5 spiredyggtige oosporer	Remeslo
Supresivit	7×10^9 c.f.u./g <i>Trichoderma harzianum</i>	7×10^9 c.f.u.	7×10^9 c.f.u.	Fytovita
G2	<i>Gliocladium virens</i>	7×10^9 sporer	5×10^9 sporer	H. Wolffhechel
IK726	<i>Gliocladium roseum</i>	1×10^8 sporer	8×10^8 sporer	I.M.B. Knudsen
MM1	<i>Pythium oligandrum</i>	3×10^5 propaguler	1×10^7 propaguler	A.M. Madsen
MM2	<i>Pythium oligandrum</i>	9×10^5 propaguler	1×10^7 propaguler	A.M. Madsen
T3	<i>Trichoderma harzianum</i>	5×10^9 sporer	10×10^9 sporer	H. Wolffhechel

Gennemførelse af forsøg 1995

Sorten Storido blev sået 19. juli i bede á 10 rækker (4 + 2 + 4). Forsøget blev gennemført som et fuldt randomiseret blokforsøg med fire gentagelser, med to ubehandlede parceller indlagt i hver blok og med en parcelstørrelse på 38 m² (ca. 200 planter pr. parcel). Hver parcel bestod af 8 rækker (4 x 2 rækker fra nabobede) med 2 værnerækker i bedretning og 1 meter værn i tværretning. De to udbringninger fandt sted henholdsvis 7 og 8 uger efter såning.

Forsøget blev opgjort ved høst 14 uger efter såning, idet hver plante undersøges for angreb, der opgjordes efter et 4-trins indeks, som følger: Indeks 0: intet angreb, indeks 1: 1-2 yderblade angrebne, indeks 2: > 2 yderblade angrebne, indeks 3: 1-flere hovedblade angrebne. Høstegnethed/salgbarhed bedømtes ved vurdering af hovedfasthed, hovedstørrelse og angrebsgrad. Høstresultat opgjordes således efter et 8-trins indeks, idet indeks 0 - 3 udgjordes af salgbare planter med stigende angrebsindeks (nogle få planter falder i kategori 3, fordi de kan "reddes" ved afpudsning), mens indeks 4-7 udgjordes af ikke-salgbare planter, igen med stigende angrebsindeks (0-3). Forsøgsresultaterne analyseredes i 1995 ved hjælp af logistisk regression i SAS 6.12 og gen-analyseredes ved en random effects model i MLwiN i 1999.

Gennemførelse af forsøg 1996

På baggrund af 1995-forsøget shortlistedes to antagonister som interessante: IK726 (*Gliocladium roseum*) og det markedsførte *Trichoderma harzianum*-præparat Supresivit. Forsøget blev gennemført efter samme plan som forsøget i 1995, men de meget tørre forhold det år resulterede i en minimal sygdomsudvikling, hvorfor en effekt af de benyttede midler ikke kunne påvises.

Forsøgsstrategi og gennemførelse af forsøg 1999

IK726 (*Gliocladium roseum*) og Supresivit blev på baggrund af 1995-forsøget anvendt i 1999-forsøget, og forsøgsstrategi, forsøgsareal og dyrkningsbetingelser var i store træk de samme, som i 1995. Dog blev også planterne behandlede i erkendelse af, at materiale deponeret af vind og vand ved yderbladenes grund, dels kan tilbyde en fordelagtig niche for etablering af antagonisterne, dels at dette materiale allerede ved behandlingstidspunktet kan rumme patogen-inokulum. Hvor IK726 i 1995 blev udvasket til brugssuspension direkte fra opformeringssubstratet, blev der i 1999 benyttet en tørret formulering af isolatet, udviklet og optimeret til en standardiseret form af Birgit Jensen, KVL (Jensen *et al.*, 1996). Dette lettede dosering og håndtering.

Sorten "Yuki" blev udsået 5. juli, og forsøget anlagt som i 1995, men med en parcelstørrelse på 21 m². Midlerne blev udsporet noget tidligere i vækstperioden end i 1995 med 14 dages interval, nemlig i uge 5 og 7 efter såning. Forsøget blev opgjort 12 uger efter såning. Der benyttedes to doseringer - fuld dosis svarende til niveauet i 1995 og 0.1 x fuld dosis. Der anvendtes igen to ubehandlede parceller i hver af fire, fuldt randomiserede blokke. Statistisk analyse foretages ved hjælp af en random effects model i programmet MLwiN.

Resultater og diskussion

Markforsøget i 1995 viste, at behandling med det danske isolat af *Gliocladium roseum*, IK726 signifikant reducerede skulderråd og forbedrede høstresultatet (tabel 2), idet den estimerede angrebsprocent ved behandling med IK726 var 7,0% mod 16,6% i de ubehandlede parceller, og procenten af salgbare planter hævedes til 68,2%, mod 57,4% i ubehandlede parceller. P-værdien for effekt af IK726 på høstudbyttet var 0,0056 (tabel 2), og idet signifikansniveauet er sænket til 0,005 mod normalt 0,05 (Bonferroni-korrektion for multiple sammenligninger), er der tale om en lille overskridelse af signifikansniveauet. Vi mener dog, det kan forsvares at

betragte resultatet som et udtryk for effekt på høstudbyttet, set i lyset af såvel bekæmpelseseffekt som af resultaterne af 1999-forsøget (tabel 3), der overbevisende bekræftede 1995-resultatet i henseende til såvel bekæmpelseseffekt som til effekt på forbedring af høstresultatet, når anvendt i en dosis, svarende til den i 1995 anvendte. I begge forsøgsår fandtes angrebsniveauet reduceret til under det halve af niveauet i ubehandlede parceller, og høstresultatet forbedret med ca. 10 % (tabel 2 og 3). Den reducerede dosering af IK726 (x 0,1) havde ingen effekt.

Såvel det kommersielle præparat Supresivit som det danske isolat T3 af *T. harzianum* havde i 1995 signifikant positiv effekt på høstresultatet, dog uden der forelå en korresponderende effekt i form af sygdomsbekæmpelse (tabel 2). Mens Supresivit i 1995 blev shortlistet til videre forsøg, fordi analyse ved hjælp af logistisk regression viste signifikant bekæmpelseseffekt, kunne random effects model analyse foretaget i 1999 ikke bekræfte et signifikant udslag af 1995-forsøget, men effekten af præparatet var dog stadig i nærheden af signifikansgrænsen (tabel 2), og tendensen var den samme i 1999 for dette præparat (tabel 3).

Tabel 2. Behandlingseffekt i 1995 - forsøg på sygdomsniveau og høstresultat.
Estimerede procenter af angrebne og salgbare planter, odds-ratios for sammenligning af behandlinger med ubehandlede parceller (pooled data) og korresponderende P-værdier. * angiver signifikans på 5%-niveau efter Bonferroni-korrektion for multiple sammenligninger. Treatment effects in 1995 trial on disease levels and harvest results. Estimated percentages of attacked and marketable plants and odds-ratios for the comparison of treated to untreated and corresponding P-values. * indicates significance at the 5%-level after Bonferroni correction.

Behandling/Treatment	Bekæmpelseseffekt			Effekt på høstresultat		
	Treatment effect			Effect on harvest result		
	Angrebne planter, %	Odds ratios	P-værdier	Salgbare planter, %	Odds ratios	P-værdier
Fosetyl-Al (Aliette)	17.1	0.96	0.89	57.3	1.00	0.99
<i>G. roseum</i> IK726	7.0	2.67	0.001*	68.2	1.59	0.0056*
<i>G. virens</i> G2	12.3	1.42	0.21	63.8	1.31	0.11
<i>P. oligandrum</i> (Polyversum)	13.5	1.28	0.39	54.6	0.89	0.48
<i>P. oligandrum</i> MM1	13.1	1.32	0.32	67.1	1.51	0.014
<i>P. oligandrum</i> MM2	17.6	0.93	0.80	60.0	1.11	0.51
<i>S. griseoviridis</i> (Mycostop)	14.8	1.15	0.61	60.4	1.13	0.45
<i>T. harzianum</i> +						
<i>T. polysporum</i> (Binab T)	20.2	0.78	0.37	52.8	0.83	0.26
<i>T. harzianum</i> T3	12.7	1.37	0.26	70.0	1.73	0.0013*
<i>T. harzianum</i> (Supresivit)	9.2	1.97	0.019	70.2	1.75	0.0010*
Ubehandlet	16.6	1	!	57.4	1	!

Det er imidlertid interessant, at de to rene *Trichoderma harzianum*-præparater begge havde effekt på høstudbyttet i 1995, idet der foreligger en del iagttagelser på flere afgrødetyper, der

knytter en vækststimulerende effekt til denne antagonist (Møller, 1999). At *T. harzianum*/*T. polysporum* blandingspræparatet Binab T ikke i 1995 udviste en lignende effekt kan skyldes, at sporekoncentrationen i dette præparat var ca. en faktor 10^5 lavere end i de to andre benyttede *T. harzianum* formuleringer (tabel 1).

Tabel 3. Behandlingseffekt i 1999 - forsøg på sygdomsniveau og høstresultat.
Estimerede procenter af angrebne og salgbare planter, odds-ratios for sammenligning af behandlinger med ubehandlede parceller (pooled data) og korresponderende P-værdier. * angiver signifikans på 5%-niveau efter Bonferroni-korrektion for multiple sammenligninger. Treatment effects in 1999 trial on disease levels and harvest results. Estimated percentages of attacked and marketable plants and odds-ratios for the comparison of treated to untreated and corresponding P-values. * indicates significance at the 5%-level after Bonferroni correction.

Behandling Treatment	Bekämpelseseffekt Treatment effect			Effekt på høstresultat Effect on harvest result		
	Angrebne planter, %	Odds ratios	P- værdier	Salgbare planter, %	Odds ratios	P- værdier
<i>G. roseum</i>						
IK726, lav ¹	48.2	0.97	0.94	85.0	1.02	0.95
<i>G. roseum</i>						
IK726, høj ²	19.9	3.76	0.0012*	93.8	2.72	0.0007*
<i>T. harzianum</i>						
(Supresivit), lav ¹	35.9	1.64	0.21	88.3	1.36	0.29
<i>T. harzianum</i>						
(Supresivit), høj ²	29.4	2.22	0.045	89.3	1.51	0.16
Ubehandlet	47.6	1	!	84.8	1	!

¹0.1 x fuld dosis, ²fuld dosis

I en situation, hvor mulighederne for kemisk bekämpelse stadigt indsnævres, er det opmuntrende at kunne konstatere, at der kan opnås reproducerbare resultater med biologisk bekämpelse under markforhold, idet der ikke foreligger et effektivt kemisk alternativ. Samtidig skal det påpeges, at der i disse forsøg har været tale om en ret vellykket biologisk bekämpelse af et jordbårent patogen, hvilket generelt er vanskeligt at opnå også ved brug af kemiske bekämpelsesmidler.

Et videre perspektiv for de ovenfor refererede forsøg kunne være en optimering af udbringningsmåder og -tider samt en integration af biologisk bekämpelse med kulturtekniske foranstaltninger, der i tilfældet *Pythium*-skulderråd eksempelvis kunne bestå i udlæg af halmdække eller lignende, hvilket kunne tænkes at dæmpe inokulum-spredning fra jord til plante, og man kunne overveje, om et sådant halmdække med fordel kunne forbehandles med en antagonist inden udbringning.

Sammendrag

I 1989 konstateredes et nyt sygdomsfænomen i danske kinakålmarker. Sygdommen blev i første omgang tillagt *Phytophthora porri*, idet dette patogen på det tidspunkt ofte var årsag til omfattende tab i kølelagret kinakål (*Phytophthora* lagerråd). Imidlertid viste nærmere undersøgelser i 1994, at *Pythium tracheiphilum* Matta, der i øvrigt er patogen i salat, var sygdommens årsag. Sygdomsfænomenet er endnu ikke rapporteret uden for Danmarks grænser.

Da der ikke foreligger godkendte midler med en kendt virkning mod *P. tracheiphilum*, iværksattes i 1995 ved KVL et screeningsforsøg med biologisk bekæmpelse af *Pythium*-skulderråd under markforhold, i hvilket bekæmpelseseffekten af en serie mikroorganismer, der i anden sammenhæng er rapporteret antagonistiske over for en eller flere *Pythium*-arter, blev undersøgt. Endvidere blev et enkelt kemisk præparat inddraget i undersøgelsen. Kun én af de anvendte antagonister (*Gliocladium roseum*, isolat IK726) viste en signifikant bekæmpelseseffekt og havde endvidere signifikant positiv effekt på høstudbyttet. I 1996 og 1999 gentoges forsøget nu kun med IK726 samt med et kommersielt præparat af *Trichoderma harzianum* (Supresivit), der i 1995 tenderede mod at give bekæmpelseseffekt, og som havde positiv effekt på høstudbyttet. Mens den meget tørre sensommer i 1996 begrænsede udvikling af *Pythium*-skulderråd til et minimum, var der i 1999 en sygdomsudvikling på infesterede arealer. Markforsøg i dette år bekræftede resultatet fra 1995 med hensyn til virkningerne af IK726, mens resultatet for Supresivit ikke lod sig reproducere. Et dansk isolat af *T. harzianum* (T3) havde i lighed med Supresivit signifikant positiv effekt på høstudbyttet i 1995, uden der dog fandtes en effekt mod *Pythium*-skulderråd. De opnåede resultater indikerer, at biologisk bekæmpelse af plantepatogener har en fremtid, også under markforhold.

Erkendtlighed

Afslutningsvis skal der her rettes en varm tak til avler Rolf Buhmann, Svinningegaard for at have lagt jord, dyrkningsmidler og arbejdskraft til den oven for beskrevne forsøgsrækkes gennemførelse. Endvidere tak til Uffe Schiøt og Klaus Paaske, DJF Flakkebjerg for assistance ved markbehandling i 1999.

Litteratur

- Jensen B., Knudsen I.M.B., Jensen D.F. & Hockenhull J. 1996. Development of a formulation of *Gliocladium roseum* for biological seed treatment. *IOBC wprs Bulletin* **19**, 164-169.
- Matta A. 1965. Una malattia della lattuga prodotta da una nuova specie di *Pythium*. *Phytopathologia Mediterranea* **4**: 48-53.
- Møller K. 1999. Studies of the infection biology and biocontrol of leaf and head rot of Chinese cabbage (causal agent: *Pythium tracheiphilum*) and of some taxonomical aspects of the genus *Pythium*. Ph.D. thesis. Section for Plant Pathology, the Royal Veterinary and Agricultural University of Copenhagen: 1-125.

Møller K. & Hockenhull J. 1997. Leaf and head rot of Chinese cabbage, - a new field disease caused by *Pythium tracheiphilum* Matta. *European Journal of Plant Pathology* 3, 245-249.

Møller K., Jensen B., Andersen H. P., Stryhn H. & Hockenhull J. In prep. Field control of leaf and head rot of Chinese cabbage (causal agent: *Pythium tracheiphilum*) by *Gliocladium roseum*.

Teldor® WG 50 - nyt effektivt svampemiddel til frugt- og bæravl

Teldor® WG 50 - new High-Efficacy Fungicide for Fruit-Growing

Klaus Heltbech, Jørgen Jensen, Jens Husby & Peter Højer

Bayer A/S

Nørgaardsvej 32

DK-2800 Lyngby

Summary

Teldor will be launched on the Danish market in year 2000 for strawberry, black- and redcurrant as well as cherry crops. The product has proved to offer a remarkably efficient protection against grey mould (*Botrytis cinerea*) and blossom wilt (*Monilia laxa*) resulting in considerable yield increases. Furthermore, trials have demonstrated that application of Teldor during flowering can postpone post harvest *Botrytis* infections on strawberries and blackcurrant. Teldor acts as a contact fungicide and should be used protectively. Bayer A/S recommends an anti-resistance strategy when treating the crop for a number of times against the same disease. The strategy involves spraying in alternation with another efficient fungicide having a different mode of action.

Indledning

Teldor er et nyt svampemiddel fra Bayer. Produktet fik i november 1999 en foreløbig godkendelse for 3 år i Danmark i henhold til EU-bestemmelser. Ved aktivstoffets optagelse på Annex I vil Teldor få en egentlig godkendelse gældende for 10 år. Teldor er godkendt til bekämpelse af svampesygdomme på jordbær, solbær, ribs og kirsebær. Desuden er produktet anerkendt af Danmarks Jordbrugsforskning til bekämpelse af gråskimmel (*Botrytis cinerea*) på jordbær og grå monilia (*Monilia laxa*) på kirsebær med 1,5 kg pr. ha.

Teldor indeholder det aktive stof fenhexamid, som tilhører en ny virkstofgruppe med en virkemekanisme, der er forskellig fra hidtil kendte midler. Midlet udviser ingen krydsresistens til fungicider fra andre grupper, og det kan således anvendes i forbindelse med en resistensstrategi.

Teldor er et kontaktmiddel, der hæmmer vækst af svampens spirehyfer og mycelium. Anvendelsen af Teldor kan give frugtavleren 3 væsentlige fordele: En høj bekæmpelseseffekt, højere udbytte samt bedre holdbarhed efter plukning af bærrene.

Under danske forhold er Teldor afprøvet i forsøg i perioden 1995-98 ved Danmarks JordbrugsForskning (1995-96) og ved Bayer A/S's GEP-forsøgsenhed (1995-98).

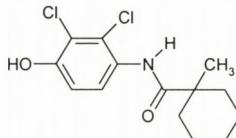
Forhold vedrørende fenhexamids egenskaber behandles i artiklen, efterfulgt af en gennemgang af Teldors biologiske effektivitet belyst ved hjælp af resultater fra danske og

udenlandske forsøg. Ligeledes beskrives forholdsregler til at modvirke udvikling af resistens mod Teldor.

Tekniske data

Aktivstof

Navn	Fenhexamid
Kemisk klasse	Hydroxyanilid
Strukturformel	



Damptryk	4×10^{-7} Pa ved 20°C
Vandopløselighed	0,02 g/l ved 20°C (pH 5-7)

Fenhexamid er den første repræsentant for den nye kemiske gruppe af hydroxyanilider (Suty *et al.*, 1997). Fenhexamid blev opdaget og patenteret af Bayer i 1989 (Kuck *et al.*, 1997), og er siden blevet markedsført hovedsageligt som et fungicid mod gråskimmel (*Botrytis cinerea*) på en række afgrøder i flere lande.

Produkt

Navn	Teldor WG 50
Indhold	50% fenhexamid
Formulering	WG = Vanddispergerbart granulat
Gns. kornstørrelse	0,2 mm
Emballagestørrelse	1 kg (10x1 kg)
Godkendelsens varighed	Indtil 1. december 2002
Godkendt område	Svampesygdomme på jordbær, ribs, solbær og kirsebær
Anerkendelse	



Anerkendt af Danmarks Jordbrugsforskning til bekæmpelse af gråskimmel på jordbær og grå monilia på kirsebær med 1,5 kg pr. ha

Effekt	Danmarks Jordbrugsforskning accepterer desuden anvendelse af Teldor til bekæmpelse af gråskimmel på ribs og solbær med 1,5 kg pr. ha
Sprøjtefrist	Jordbær: 10 dage Solbær, ribs og kirsebær: 42 dage

Virkningsmekanisme

Fenhexamid er et ikke-systemisk fungicid med forebyggende effekt (Suty *et al.*, 1997). Fenhexamids effekt på gråskimmel (*Botrytis cinerea*) ses som en væksthæmning af både konidiens spirehyfe og mycelium. Under laboratorieforhold er fenhexamid ved en koncentration under 0,1 ppm tilstrækkeligt til at bevirke 50% væksthæmning af såvel spirehyfe som mycelium (Suty *et al.*, 1997). For at opnå en tilsvarende reduktion af konidiespiring kræves højere koncentrationer, se tabel 1.

Tabel 1. Fenhexamids effekt på forskellige udviklingstrin af gråskimmel (*Botrytis cinerea*) under laboratorieforhold. ED₅₀ angiver den koncentration i ppm der kræves for at reducere væksten med 50% (Suty *et al.*, 1997). In vitro effect of fenhexamid on various developmental stages of *Botrytis cinerea*. ED₅₀ is the concentration in ppm at which the growth is reduced by 50%.

	ED ₅₀ (ppm)		
	sporespiring conidia germination	spirehyfevækst germ tube elongation	mycelievækst mycelia growth
Fenhexamid	>10	0,07	0,05

Virkningen er undersøgt ved at behandle konidier i agar med fenhexamid i koncentrationer mellem 0,1 og 1 ppm, og herefter observere udviklingen i mikroskop (Bayer AG 1999). Efter 8 timer observeredes ingen forskelle på ubehandlede og behandlede konidier. Andelen af spirede konidier var ens og spirehyferne havde samme længde. Ved undersøgelse af konidierne efter 16 timer kunne det konstateres, at væksten af spirehyfer var ophørt ved behandling med fenhexamid. I modsætning hertil fortsatte væksten hos de ubehandlede konidier, der efter 24 timer begyndte at danne mycelium.

Undersøgelser ved hjælp af elektronmikroskopi har demonstreret forskelle mellem gråskimmelsporer på behandlede og ubehandlede vinblade (Bayer AG 1999). På de ubehandlede blade trængte svampen ind efter dannelse af en kort spirehyfe. 48 timer efter undersøgelsens begyndelse var konidium og hyfe fortsat fuldt saftspændte. På blade behandlet med 100 ppm fenhexamid spirede hyfen, men den blev standset inden den nåede at gennembryde bladoverfladen. Såvel hyfe som konidium kollapsede, efter 8 timer bedømt på hyfens længde, hvorved infektionen blev forhindret, se figur 1.

Fenhexamids virkemekanisme på det biokemiske plan er endnu ikke bestemt. Dog er det slået fast, at der ikke er fundet krydsresistens til gråskimmelmanidler fra andre kemiske grupper. Der er derfor tale om en ny biokemisk virkemekanisme (Suty *et al.*, 1997). Undersøgelser har vist, at fenhexamid ikke hæmmer svampens respirationscyklus eller elektrontransporten i mitochondrierne. Der er heller ikke påvist antagonistisk virkning på en lang række biokemiske forbindelser produceret af svampen, herunder aminosyrer, coenzymer og lipider. Der arbejdes videre med at klarlægge virkemåden.



Ubehandlet (Untreated)

Foto: D. Lorenz / Neustadt



100 ppm fenhexamid

Foto: D. Lorenz / Neustadt

Figur 1. Elektronmikrograf af gråskimmelkonidium og spirehyfe på vinblade 48 timer efter undersøgelsens begyndelse. Til venstre: Gråskimmelhyfe, spiret fra konidium, vokser ned mod højre og gennembryder overfladen på et ubehandlet vinblad (forstørrelse 4.800x). Til højre: Gråskimmelkonidium og spirehyfe kollapsede på vinblad behandlet med 100 ppm fenhexamid (forstørrelse 2.100x). (Bayer 1999).
Electronmicrograph showing conidium and germ tube of *Botrytis cinerea* on vine leaves 48 hours after the start of the study. Left: *Botrytis* germ tube penetration into untreated vine leaf (magnification 4,800x). Right: Collapsed conidium and germ tube on vine leaf treated with 100 ppm fenhexamid (magnification 2,100x).

Fordeling i planten

Teldor er et kontaktmiddel, der danner et beskyttende lag på plantens overflade. For at opnå en så stabil beskyttelse som muligt, bør der tilstræbes 2 timers tørvejr efter udsprøjtingen (Bayer A/S 1999). Det beskyttende lag kan derefter vedblive at være effektiv i en uge. Transporten af Teldor ind i planten er begrænset. Der finder dog en vis translaminær bevægelse sted (Bayer AG 1999), det vil sige en fordeling mellem celler i det pågældende organ, for eksempel en fordeling fra overside mod underside af kronblade.

Teldors effektivitet

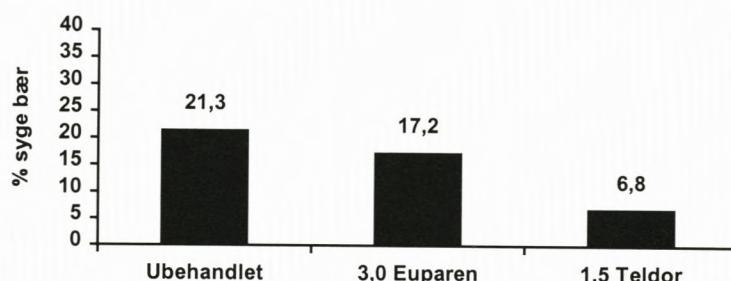
Teldor har været afprøvet i Danmark i perioden 1995-98. Afprøvningerne er udført af både Danmarks JordbrugsForskning (DJF) i 1995-96 og Bayer A/S's egen GEP-forsøgsenhed i årene 1995-98. Der er udført forsøg i såvel jordbær som kirsebær. Fra England kommer forsøgsresultater i solbær.

Jordbær

Forsøg hos såvel DJF (i alt 4 forsøg) som Bayer A/S (i alt 6 forsøg) har belyst Teldors effekt mod gråskimmel (*Botrytis cinerea*) i jordbær. I forsøgene indgår Euparen® M WG 50/ Euparen® Multi (tolylfluanid 50%) som standard. De afprøvede produkter er udsprøjtet 4

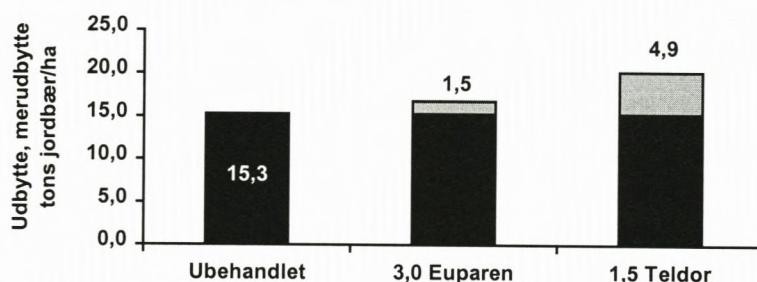
gange i perioden på følgende vækststadier: Stor knop/begyndende blomstring, 10% blomstring, 50% blomstring og 80-90% blomstring.

I figur 2 og 3 er gengivet resultater fra DJFs effektivitetsforsøg, hvoraf 3 er anlagt i sorten Korona og ét i Dania. Udbytteet er en summering af 4 plukninger og angrebsgraden er beregnet på basis af forholdet mellem syge og sunde bær. Teldor gav en betydelig mindre andel af syge bær sammenlignet med standardmidlet Euparen i de 4 effektivitetsforsøg.



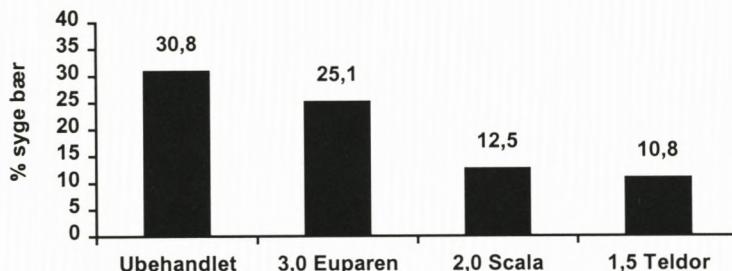
Figur 2. Angreb af gråskimmel (*Botrytis cinerea*) på jordbær. 4 behandlinger. 4 forsøg i uddrag (DJF, 1995, 1996a). Percentage of strawberries attacked by *Botrytis cinerea*. 4 treatments. 4 trials.

Det opnåede merudbytte ved anvendelse af Teldor blev 4,9 tons/ha højere end ubehandlet.

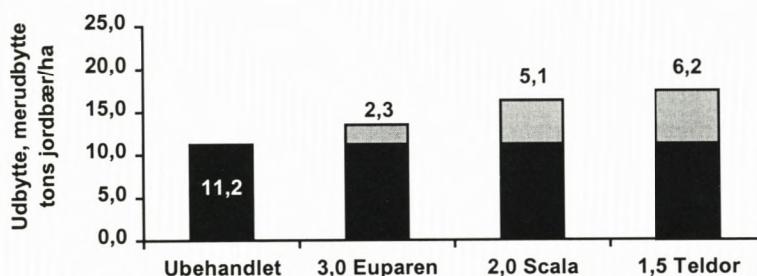


Figur 3. Udbytte og merudbytte målt i tons jordbær/ha. 4 behandlinger. 4 forsøg i uddrag (DJF, 1995, 1996a). Yield and yield increase in tons strawberries/ha. 4 treatments. 4 trials.

I 1996 indgik tillige Scala® SE 400 (pyrimethanil) med en dosering på 2,0 l/ha, figur 4 og 5. Produktet er ansøgt men, pr. 13.12.99, ikke godkendt til brug i jordbær. I disse to forsøg har angrebsniveauet som gennemsnit været højere end gennemsnittet af alle 4 forsøg (henholdsvis 30,8% syge bær i figur 4 og 21,3% syge bær i figur 2). Teldor har også her givet det bedste resultat både med hensyn til reduktion af andelen af syge bær og forøgelse af udbyttet.



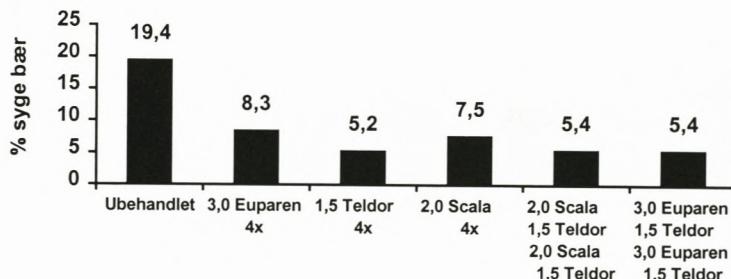
Figur 4. Angreb af gråskimmel (*Botrytis cinerea*) på jordbær. 4 behandlinger. 2 forsøg i uddrag (DJF, 1996a). Percentage of strawberries attacked by *Botrytis cinerea*. 4 treatments. 2 trials.



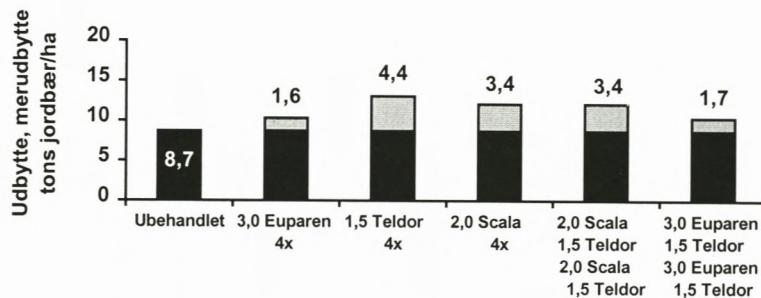
Figur 5. Udbytte og merudbytte målt i tons jordbær/ha. 4 behandlinger. 2 forsøg i uddrag (DJF, 1996a). Yield and yield increase in tons strawberries/ha. 4 treatments. 2 trials.

I Danmark har Bayer A/S udført forsøg, der bekræfter tendensen, at Teldor anvendt alene, giver den bedste sygdomsbekämpelse og det største merudbytte. I Bayers afprøvning i 1998 er desuden belyst spørgsmål vedrørende skiftevis anvendelse af forskellige produkter i sprojesterestrategier.

Teldor bidrog i forsøget til de laveste værdier for % syge bær i sorten Senga Sengana, figur 6. Det gælder både, hvor Teldor blev anvendt alene og alterneret med andre midler. Med hensyn til udbytte fremgår det af figur 7, at Teldor i en sprojterækkefølge med et andet produkt gav samme udbytte som opnået med det pågældende produkt alene. Behovet for at veksle mellem forskellige midler behandles under afsnittet Anti-resistensstrategi.



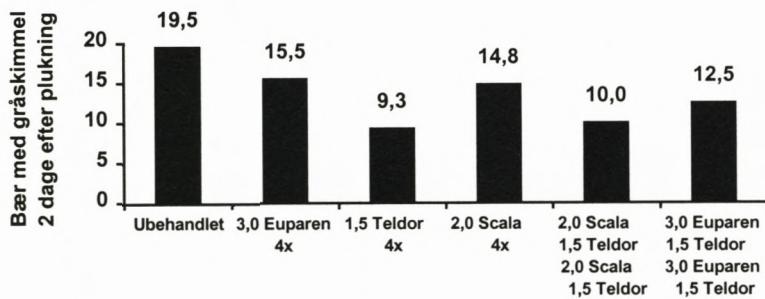
Figur 6. Angreb af gråskimmel (*Botrytis cinerea*) på jordbær. 4 behandlinger. 1 forsøg (Bayer A/S, 1998). Percentage of strawberries attacked by *Botrytis cinerea*. 4 treatments. 1 trial.



Figur 7. Udbytte og merudbytte målt i tons jordbær/ha. 4 behandlinger. 1 forsøg (Bayer A/S, 1998). Yield and yield increase in tons strawberries/ha. 4 treatments. 1 trial.

Øget holdbarhed af jordbær

Som en del af jordbærforsøget udført af Bayer A/S i 1998 indgik undersøgelser af Teldors påvirkning af gråskimmel (*Botrytis cinerea*) under lagring. Fra 2. til og med 5. plukning, hvoraf nogle plukninger blev udført i regnvejr, blev der udtaget en prøve af sunde bær fra hver parcel. Prøverne blev opbevaret i en jordbærbakke under butiks lignende forhold. 2 og 4 dage efter plukning blev antallet af angrebne bær optalt i hver bakke. Efter 2 dage var der en tydelig tendens til færrest skimlede bær fra led behandlet med Teldor 30-46 dage tidligere. 4 dage efter plukning blev forskellene mellem behandlingerne udlignet.

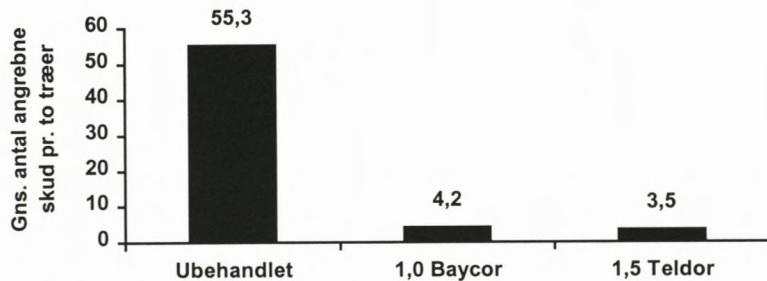


Figur 8. Holdbarhed af jordbær. Antal bær med gråskimmel (*Botrytis cinerea*) 2 dage efter høst. Gennemsnit af 4 plukninger. 4 behandlinger. 1 forsøg (Bayer A/S, 1998). Post harvest rot of strawberries 2 days after harvest. Number of strawberries attacked by *Botrytis cinerea*. Average of 4 pickings. 4 treatments. 1 trial.

At Teldor på denne måde kan forbedre jordbærrenes holdbarhed er ligeledes påvist i udenlandske undersøgelser bl.a. fra Storbritannien (Adam & Birch, 1998).

Kirsebær

Mod grå monilia (*Monilia laxa*) i kirsebær er der i alt udført 4 forsøg ved DJF i perioden 1995-96. Det anvendte standardmiddel er Baycor® WP 25. I 1995 blev Baycor anvendt med henholdsvis 2 og 3 kg/ha. For bedre at kunne sammenligne med den godkendte Baycor dosering, er det valgt at gengive de 2 forsøg fra 1996, hvor Baycor indgår i et led med 1,0 kg/ha. Sorterne er Kelleris og Stevnsbær. I figur 9 ses, at Teldor har ydet en overbevisende bekæmpelse af grå monilia.

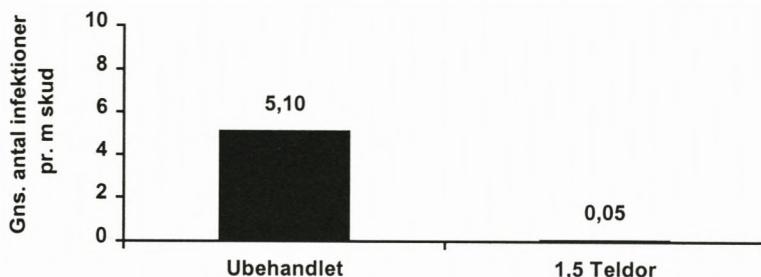


Figur 9. Angreb af grå monilia (*Monilia laxa*) på surkirsebær. 3 behandlinger. 2 forsøg i uddrag (DJF, 1996b). (*Monilia laxa*) on sour cherry. Average number of shoots attacked per 2 trees. 3 treatments. 2 trials.

Solbær

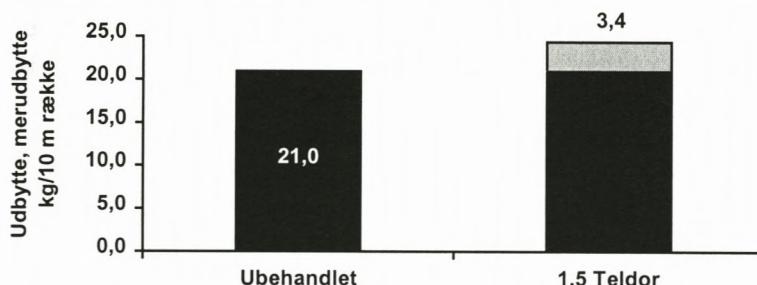
Forsøg til belysning af Teldors effektivitet mod gråskimmel (*Botrytis cinerea*) i solbær er blevet udført i England. I figurerne 10 og 11 er gengivet de to engelske forsøg i sorterne Ben

Lomond og Ben Adler med tilstrækkeligt gråskimmelangreb til at foretage bedømmelse af produktet. Under blomstringen blev udført 3 behandlinger, hvorefter antallet af infektionssteder pr. meter skud blev opgjort på 4 buske pr. parcel. Der blev foretaget flere bedømmelser i perioden 20-74 dage efter sidste sprøjtning. Her vises resultaterne af første bedømmelse 20-29 dage efter sidste sprøjtning, hvor antallet af gråskimmelinfectioner var størst.



Figur 10. Angreb af gråskimmel (*Botrytis cinerea*) på solbær. 3 behandlinger. 2 forsøg i uddrag (ADAS, 1996, 1997). Number of *Botrytis cinerea* infection sites per m shoot of blackcurrant. 3 treatments. 2 trials.

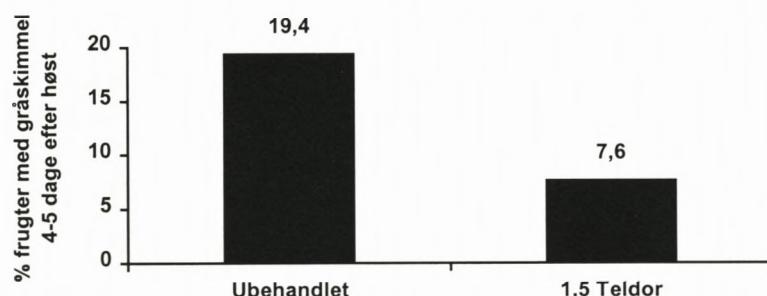
Den effektive bekæmpelse af gråskimmel resulterede også i et betydeligt merudbytte.



Figur 11. Udbytte og merudbytte målt i kg solbær pr. 10 m række. 3 behandlinger. 2 forsøg i uddrag. (ADAS, 1996, 1997). Yield and yield increase in kg blackcurrants per 10 m row. 3 treatments. 2 trials.

Øget holdbarhed af solbær

I de to engelske forsøg blev desuden undersøgt Teldors betydning for udviklingen af gråskimmel (*Botrytis cinerea*) efter høst. 50 solbær fra hver parcel blev tilfældigt udvalgt og lagret 4-5 dage under fugtige forhold, hvorefter angrebet af gråskimmel blev bedømt. I de to forsøg forløb henholdsvis 62 og 84 dage fra sidste sprøjtning til bedømmelsen. Anvendelsen af Teldor reducerede angrebet med 61%.



Figur 12. Angreb af gråskimmel (*Botrytis cinerea*) på solbær 4-5 dage efter høst. 3 behandlinger. 2 forsøg i uddrag (ADAS, 1996, 1997). Post harvest *Botrytis* rots of blackcurrant. 4-5 days after harvest. 3 treatments. 2 trials.

Anti-resistensstrategi

Gråskimmelsvampen (*Botrytis cinerea*) betegnes som et højrisikopatogen med hensyn til udvikling af resistens over for fungicider. Der er ikke påvist resistens over for Teldorf under markforhold. Under laboratorieforhold er der imidlertid konstateret nedsat følsomhed over for enkelte naturligt forekommende stammer af gråskimmelsvampen (Suty *et al.*, 1997). For at inaktivere fenhexamid krævede disse svampestammer optimale vækstforhold i en lang periode i laboratoriet. Disse forhold har ikke været tilstede i praksis, idet ingen opformering af mindre følsomme svampe kunne konstateres efter flere års anvendelse af Teldorf på samme lokalitet.

Selv om Teldorf således har opretholdt en høj effekt, er det vigtigt at være opmærksom på risikoen for resistens. Hvis det viser sig, at Teldorf virker som en single site inhibitor, vil en uhensigtsmæssig anvendelse af produktet kunne medvirke til at forstærke resistensrisikoen. Det er væsentligt at have for øje, at Teldorf er et kontaktmiddel, der bør anvendes forebyggende. Bayers anti-resistensstrategi anbefaler, at produktet højest må anvendes to gange pr. sæson under danske forhold. Ved flere behandlinger mod samme svampesygdom bør der alterneres med et andet effektivt middel, men med en anden virkningsmekanisme.

For at opnå de fordele der er forbundet med en bedre lagerfasthed af jordbær, bør der anvendes Teldorf ved den sidste behandling inden plukning i et typisk behandlingsprogram bestående af 4 sprøjtninger. Der kan for eksempel veksles med Euparen Multi, anvendt i forbindelse med off-label godkendelsen, ifølge hvilken der kræves afskærmet sprøjtning:

Tidspunkt	Beg. blomstring	20% blomstring	50% blomstring	80% blomstring
Produkt	Euparen Multi	Teldorf WG 50	Euparen Multi	Teldorf WG 50
kg/ha	3,0	1,5	3,0	1,5

For at fastholde en høj og sikker effekt af Teldorf er det af stor betydning, at alle der anvender og rådgiver i brugen af produktet, efterlever disse forholdsregler.

Nye anvendelsesområder

Der foreligger viden om Teldors virkning over for andre sygdomme end de på den danske etiket angivne. Palm (1999) har rapporteret om effekt mod gul monilia (*Monilia fructigena*) og gråskimmel (*Botrytis cinerea*) på sødkirsebær. Bekämpelse af disse sygdomme er i høj grad relevant under danske forhold og Bayer A/S undersøger mulighederne for fremskaffe den nødvendige dokumentation til at opnå en godkendelse i kirsebær.

Konklusion

Teldorf bliver markedsført i Danmark i år 2000 til anvendelse i jordbær, solbær, ribs og kirsebær. Produktet har udmaerket sig ved at yde en effektiv beskyttelse mod gråskimmel (*Botrytis cinerea*) og grå monilia (*Monilia laxa*) samt givet betragtelige merudbytter. Desuden har forsøg demonstreret, at anvendelse af Teldorf i blomstringsfasen kan udsætte angreb af gråskimmel efter høst af jordbær og solbær. Teldorf er et kontaktmiddel, der bør anvendes forebyggende. Bayer A/S anbefaler anvendelsen af en anti-resistensstrategi, som indebærer at der ved flere behandlinger mod samme svampesygdom, bør veksles med et andet effektivt middel med en anden virkningsmekanisme.

Teldorf® = reg. af Bayer Leverkusen

Euparen® = reg. af Bayer Leverkusen

Scala® = reg. af Hoechst Schering AgrEvo GmbH

Baycor® = reg. af Bayer Leverkusen

Litteratur

Adam N.M. & Birch P.A. 1998. The development of fenhexamid 50 WG for the control of *Botrytis cinerea* (grey mould) on soft, cane and fruit crops in Great Britain, Brighton Conference, Pest & Diseases, November 16-19 1998, vol. 3, 849-856.

ADAS 1996. ADAS 133 Trial Report. Evaluation of fungicides for the control of Botrytis on blackcurrants.

ADAS 1997. ADAS 143 Trial Report. To evaluate Elvaron WG, Elvaron M, UK633 and UK596 for the control of Botrytis on blackcurrants.

Bayer A/S 1998. Forsøgsberetning 1998. Forsøgnr. DAE 8111/98.

Bayer A/S 1999. Forslag til dansk etikette for Teldorf® WG 50.

Bayer AG 1999. Teldorf. Active ingredient: Fenhexamid. Product Dossier.

DJF 1995. Resultater af forsøg. Bekämpelse af skadedyr og svampesygdomme i frugtræer, frugtbuske, jordbær, væksthus- og planteskolekulturer. Forsøgnr. 95162.1-2.

DJF 1996a. Resultater af forsøg. Bekämpelse af skadedyr og svampesygdomme i frugtræer, frugtbuske, jordbær, væksthus- og planteskolekulturer. Forsøgnr. 96162.1, 96166.1.

DJF 1996b. Resultater af forsøg. Bekämpelse af skadedyr og svampesygdomme i frugtræer, frugtbuske, jordbær, væksthus- og planteskolekulturer. Forsøgnr. 961660.1-2.

- Kuck K.H., Krüger B.W., Rosslenbroich H.J. & Brandes W.* 1997. KBR 2738 – Nouveau fongicide de la famille des hydroxyanilides actif sur *B.cinerea* et *Monilia* spp. *ANPP-Cinquième conférence internationale sur les maladies des plantes*, Tours 3-5 Décembre 1997, **II**, 1055-1062.
- Palm G.* 1999. Bekämpfung von Fruchtfäulnis an Süßkirschen mit neuen Fungiziden. *Mitt. OVR*, **54**, 213-216.
- Suty A., Pontzen R. & Stenzel K.* 1997. KBR 2738 : Mode d'action et sensibilité de *B.cinerea*. *ANPP-Cinquième conférence internationale sur les maladies des plantes*, Tours 3-5 Décembre 1997, **I**, 561-568.

Sygdomme og skadedyr i dansk gartneri, 1999

Some major pests in nurseries in Denmark in 1999

Lene Petersen

Dansk Erhvervsgartnerforening

Blomstervej 1

Tilst

DK-8381 Mundelstrup

Summary

The Danish Association of Horticultural Producers has made diagnoses for the growers in Denmark the last nine years. In 1999 the major pests are *Septoria spp.* in crisphead lettuce, *Fusarium spp.* in potted plants and *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in sustainable grown cabbage.

Indledning

De sidste 9 år har Dansk Erhvervsgartnerforening's Laboratorium udført plantepatologiske undersøgelser. Prøverne sendes via konsulenterne eller gartneriet selv til laboratoriet til nærmere diagnosticering. Langt hovedparten af prøverne kommer fra Danmark, men en mindre del kommer fra Sverige, Norge og Finland. Omkring 80% af prøverne kommer fra væksthusarealet.

I 1999 blev der indsendt 1478 prøver. Af disse var knapt 200 vandprøver til undersøgelse for eventuel forekomst af zoosporer af *Pythium* og *Phytophthora*. Antallet af indsendte prøver har gennem årene været støt stigende, hvilket betød, at vi i 1999 ansatte endnu en laborant, således at laboratoriet nu betjenes af 2 fuldtidslaboranter samt undertegnede.

Ud over de normale indsendte prøver, arbejdes der i øjeblikket med et større projekt med undersøgelse af patogener i *Gerbera jamsonii*, i et samarbejde med Danmarks JordbrugsForskning, Flakkebjerg ved seniorforsker Bent Løschekohl. Projektet er finansieret via nogle gartnerere og Strukturdirektoratet.

Frilandsgrøntsager

Der blev i år konstateret angreb af *Septoria lactuca* i icebergsalat(*Lactuca sativa* var.) i sorterne Brandon, Claudette og Iglo. Angrebet startede omkring 1. juli og var værst i Vestjylland. Bekæmpelse med Iprodion (Rovral) dæmpede angrebet noget, men kunne ikke forhindre smitten i at brede sig i marken. *Septoria lactuca* har frøsmitte, men efterfølgende undersøgelser ved NAG-G i Holland viste ingen angreb af *Septoria lactuca* i det frøparti, hvorfra man formodede at smitten startede. *Septoria lactuca* smitter også via planterester, der overlever fra år til år i jorden. *Septoria lactuca* på issalat er nævnt at være et problem under amerikanske forhold.

Der er i år konstateret angreb af brunbakteriose, *Xanthomonas carportes* pv. *campestris* i hvidkål under økologisk dyrkning. Angrebet startede tilsyneladende i sorten Lion, men bredte sig til to andre prøvesorter af økologisk oprindelse. Brunbakteriose er ikke set som et problem under danske forhold i mange år, men efterhånden som dyrkningspraksis ændrer sig, og der dækkes med dug for at undgå angreb af insekter, kan man frygte, at der vil være større partier med angreb af brunbakteriose, dersom frøproducenterne ikke tager problemet alvorligt. I Ruccola til afskæring er der set angreb af *Cercospora longissima*.

Planteskoler

I *Juniperus spp.* er der konstateret enkelte planter med angreb af visnesyge (*Verticillium albo-atrum*). I *Pinus spp.* blev der gennem dele af sensommeren konstateret angreb af fyrrsprækkesvamp, *Lopodermium spp.* En del roser i planteskolerne har haft store problemer med angreb af rosenstråleplet, *Diplocarpon spp.*, der er vanskelig at forebygge/bekæmpe.

I *Querqus spp.* blev der gennem hele sommeren set store angreb af meldug, *Erysiphe spp.*

I *Prunus avium* blev der i et læhegn konstateret store angreb af frugttrækraeft, *Pseudomonas mors-pronorum*.

I *Thuja spp.* blev der konstateret visnesyge, forårsaget af svampen *Pestalotiopsis spp.*. Ligeledes er der sendt en del blade ind fra Liguster (*Ligustrum vulgare*), der er angrebet af *Colletotrichum spp.* i bladene, der ses som en brun/sort plet med en lysere zone omkring.

Vækshusgrøntsager

Der er i agurk og tomat konstateret angreb af *Pythium spp.* specielt i de perioder, hvor planternes frugtbelastning er størst (april/maj måned).

Blandt krydderurter er der stadigvæk en del planter, der går til efter angreb af *Pythium spp.* umiddelbart efter fremspiring. Ved brug af sphagnumpartier med forholdsvis lille iltindhold synes angrebene at være værst.

Frugt og bær

I jordbær er der konstateret enkelte angreb af læderråd, (*Phytophthora cactorum*) samt *Rhizoctonia solani* og *Rhizoctonia spp.* På selve frugten af jordbær er der i sommeren konstateret angreb af *Cladosporium spp.* Der er undersøgt grene af solbær med visne, brune knopper, hvor der ikke kunne konstateres forekomst/angreb af svampe eller insekter/mider.

Potteplanter

I *Kalanchoë blossfeldiana* er der konstateret angreb af *Rhizopus stolonifer* samt *Mucor spp.* der giver et blødt, brunligt råd i stiklinger med efterfølgende ødelæggelse af planterne. Der blev ikke konstateret angreb af andre patogener i de undersøgte planter.

I *Belopérone spp.*, *Campanula carpatica* samt i *Hedera helix* er der konstateret angreb af *Myrothecium spp.* i bladene.

I *Cyclamen persica* er der konstateret angreb af *Phytophthora spp.*, i knolden. Sidste år blev der for første gang meldt om fund af *Phytophthora spp.*, i *Cyclamen persica* i Holland og de fund, vi har konstateret i Danmark i år, stammer alle fra hollandske småplanter.

Der er i samarbejde med Danmarks JordbrugsForskning, Flakkebjerg, ved forsker Mogens Nikolajsen undersøgt en del planter med symptomer på angreb af virus. I et enkelt tilfælde blev der konstateret angreb af tomatbroncetovirus, *TSWV* i *Begonia elatior*. Planterne var tilsendt fra udlandet. I *Euphorbia pulcherrima* er der konstateret angreb af *Poinsettia mosaik virus*. Der er ligeledes konstateret forekomst af en virusart i *Gentiana spp.* ved inokulering til indikatorplanter. Virusarten er endnu ikke bestemt til art.

Kvalitetskontrol af nyttedyr

I 1999 blev der via stikprøver udtaget forskellige partier af nyttedyr til kvalitetskontrol. Ud af 44 prøver blev der konstateret 5 partier, hvor kvaliteten af produktet ikke var i orden. Det drejer sig om 3 partier af tripsrovmidlen, *Amblyseius cucumeris*, 2 partier af spinderovmidlen, *Phytoseiulus persimilis* samt et parti Mariehøns, *Hippodamia spp.*

Blad 7401 HRC (50866) 695
Danmarks JordbrugsForskning, Flakkebjerg
Flakkebjerg Afd. for Plantebiologi
4200 Slagelse

DJF Foulum

Postboks 50, 8830 Tjele
Tlf. 89 99 19 00. Fax 89 99 19 19

Direktion
Direktionssekretariat, Økonomisekretariat

Afdeling for Animalske Fødevarer
Afdeling for Husdyravl og Genetik
Afdeling for Husdyrnæring og Fysiologi
Afdeling for Husdrysundhed og Velfærd
Afdeling for Jordbrugssystemer
Afdeling for Plantevækst og Jord

Afdeling for Markdrift
Afdeling for Stalddrift
Centrallaboratoriet
Informationsenhed
IT-funktion
Biblioteksfunktion
International Enhed

DJF Årslev

Kirstinebjergvej 10, 5792 Årslev
Tlf. 63 90 43 43. Fax 63 90 43 90

Afdeling for Prydplanter
Afdeling for Vegetabiliske Fødevarer
Afdeling for Infrastruktur

DJF Flakkebjerg

Flakkebjerg, 4200 Slagelse
Tlf. 58 11 33 00. Fax 58 11 33 01

Afdeling for Plantebiologi
Afdeling for Plantebeskyttelse
Afdeling for Infrastruktur

DJF Bygholm

Postboks 536, 8700 Horsens
Tlf. 76 29 60 00. Fax 76 29 61 00

Afdeling for Jordbrugsteknik
Driftsfunktion

Enheder på andre lokaliteter

Afdeling for Sortsafprøvning
Teglværksvej 10, Tystofte
4239 Skælskør

Tlf. 58 16 06 00. Fax 58 16 06 06

Askov Forsøgsstation
Vejenvej 55, 6600 Vejen
Tlf. 75 36 02 77. Fax 75 36 62 77

Bioteknologigruppen
(Afd. f. Plantebiologi)
Thorvaldsensvej 40, 1.
1871 Frederiksberg C
Tlf. 35 28 25 88. Fax 35 28 25 89

Borris Forsøgsstation
Vestergade 46, 6900 Skjern
Tlf. 97 36 62 33. Fax 97 36 65 43

Den Økologiske Forsøgsstation
Rugballegård
Postboks 536, 8700 Horsens
Tlf. 75 60 22 11. Fax 75 62 48 80

Foulumgård, Postboks 50
8830 Tjele
Tlf. 89 99 19 00. Fax 89 99 19 19

Jyndevad Forsøgsstation
Flensborgvej 22, 6360 Tinglev
Tlf. 74 64 83 16. Fax 74 64 84 89

Rønhave Forsøgsstation
Hestehave 20, 6400 Sønderborg
Tlf. 74 42 38 97. Fax 74 42 38 94

Silstrup Forsøgsstation
Højmarken 12, 7700 Thisted
Tlf. 97 92 15 88. Fax 97 91 16 96

Tylstrup Forsøgsstation
Forsøgsvej 30, 9382 Tylstrup
Tlf. 98 26 13 99. Fax 98 26 02 11