

Afprøvning af forskellige fungiciders virkning på Ildsoet (*Erwinia amylovora*) *in vitro*

Ved Anne Fønnesbech Johansen

870. beretning fra Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur

I efteråret 1968 konstateredes bakteriesygdommen Ildsoet fremkaldt af *Erwinia amylovora* for første gang i Danmark; hvorfor det blev aktuelt at finde et effektivt baktericid.

Nærværende undersøgelser er foretaget for at undersøge, om de i frugtavlen benyttede fungicider samtidig har en baktericidvirkning. Arbejdet er udført ved Den kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles plantepatologiske afdeling og ved Statens plantepatologiske Forsøg.

Forstanderne ved Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur

Materialer og metoder

I. Måling af fremkomne bakteriefrie zoner ved forsøg med imprægnerede filtrerpapirskiver. Afprøvningen blev foretaget i petriskåle med SNA (5 pct. Sucrose-Nutrient-Agar) som næringssubstrat for bakterierne.

Det benyttede isolat blev taget i efteråret 1968 fra inficerede pæregrene på Falster.

Fremgangsmåden var: indstøbning af 1 ml 24-timer gammel bakteriesuspension MPB (Meat-Peptide-Broth) i 100 ml SNA, der på det tidspunkt var flydende og holdt en temperatur på 40-45°C. Højere temperatur er ikke at anbefale, da drabstemperaturen for *Erwinia amylovora* er meget varierende og ligger omkring 50°C.

Straks efter at blandingen var ophældt og stivnet i petriskålene, placeredes skiverne (Whatman's Antibiotic Assay discs, diameter 13 mm) hver vædet med 4 dråber kemikalieopslemning. Efter 2 døgn inkubation ved ca. 22°C måltes diameter af den bakteriefrie zone.

For at undersøge om midlerne var baktericider eller kun havde en bakteristatisk virkning, overførtes en klump agar fra de fremkomne klare zoner til bouillon. Resulterede podningen i bakterievækst, havde midlet en bakteristatisk virkning, fremkom der ingen vækst, var midlet et baktericid.

II. Måling af bakterievækst i bouillon.

Måling af bakterievækst i SNB (5 pct. Sucrose-Nutrient-Broth) blev foretaget på Nephelometer (Evans electroselenium LTD).

Rørglas indeholdende 11 ml sterilt SNB + kemikalie blev podet med en 24-timer gammel bakteriesuspension; der blev benyttet en 3 mm øsken. Rørglassene rystedes for at opblende kemikalie, bakterier og bouillon.

Glassene henstilledes ved 10, 15 og 22°C for at måle kemikaliernes indflydelse på bakterievæksten ved de forskellige temperaturer. Målingen blev foretaget efter 4 døgn inkubation.

Tabel 1. Afprøvede kemikalier

Aktivt stof%		Kemikalie	Anerkendt styrke	ppm aktivt stof
maneb	80	Dithane M 22	0,25	2000
mancozeb	80	Dithane M 45	0,2	1600
kobber	50	OB 21	0,25	1250
kviksølv	2,7	Aventa 46	0,1	27
thiram	80	Pomarsol 80	0,4	3200
zineb	65	Zineb 65	0,2	1300
ferbam	76	Fermate	0,3	2280
dichlofluamid	50	Euparen	0,5	2500

Resultater

I forsøget med de imprægnerede oblater viste de indledende forsøg med kemikalierne benyttet i to gange den anerkendte styrke, at maneb, mancozeb, kviksølv, kobber og thiram havde en hæmmende virkning på bakterievæksten, ferbam, zink og dichlofluamid havde så godt som ingen synlig væksthæmmende indflydelse. Sidstnævnte kemikalier blev ikke medtaget i de mere indgående

forsøg, hvor der afprøvedes den anerkendte sprøjtetekoncentration (tabel 2), og desuden 7500-5000-2500 ppm aktivt stof (tabel 3) for bedre at kunne sammenligne kemikalierne indbyrdes.

Det mest effektive af midlerne er maneb, hvis virkning ligger langt over de øvrige, der har nogenlunde ens virkning.

Podning fra de klare zoner til bouillon resulterede i bakterievækst for thirams vedkommende, men maneb, mancozeb, kviksølv og kobber var effektive baktericider.

Da temperaturen i blomstringstiden, hvor bekæmpelse bør finde sted for æble og pære, er ret svingende her i landet, er det tillige af stor interesse at kende kemikaliernes indflydelse på bakterievæksten ved forskellige temperaturer. Til dette forsøg blev det nødvendigt at benytte bouillonkulturer, da forsøg med imprægnerede oblater under forskellige temperaturer udelukkende ville blive et spørgsmål om bakteriernes hurtige eller langsomme udvikling i forhold til kemikaliernes diffusion i agaren.

Der udførtes prøver med 50-25-12,5 ppm aktivt stof, imidlertid var 25 ppm den bedste koncentration at bruge, og resultater fra forsøg med denne ses i tabel 4.

I den ubehandlede (÷ kemikalie) stiger bakterievæksten med højere temperatur. Ligeså stiger den ved kobber og en smule ved mancozeb, disse er åbenbart mere temperaturfølsomme kemikalier end maneb og kviksølv, der holder bakterievæksten nede på et minimum ved alle temperaturer. Bakterievæksten forandres ikke synligt ved thiram, og den er i forvejen større end de øvrige.

Tabel 2. Forsøg med imprægnerede filterpapirskiver

Kemikalier afprøvet i den anerkendte styrke (se denne i tabel 1)

Aktivt stof	ppm	Bakteriefri zone i mm
maneb	2000	37
thiram	3200	28,5
mancozeb	1600	25,5
kviksølv	27	24
kobber	1250	19

Hvert tal er et gennemsnit af 3 gentagelser.

Tabel 3. Forsøg med imprægnerede filterpapirskiver

Kemikalier afprøvet i 3 styrker

Aktivt stof	Bakteriefri zone i mm		
	7500	5000	2500 ppm
maneb	46	48,5	50
mancozeb	40	32	26
kviksølv*)	30	27,5	28,5
kobber	28	28	28
thiram	26	30,5	28,5
ferbam	25	25,5	
zineb	18	20,5	

Hvert tal ved 7500 og 5000 ppm er et gennemsnit af 3 gentagelser, hvorimod tal ved 2500 ppm er et gennemsnit af 2 gentagelser.

*) af kviksølv er kun benyttet 1/100 af de angivne koncentrationer (75-50-25 ppm).

Tabel 4. Måling af bakterievækst (*Erwinia amylovora*) i bouillon behandlet med 25 ppm kemikalie og inkuberet ved forskellige temperaturer

Aktivt stof	10°	15°	22°C
ubehandlet	16	22	427
maneb	0	1	0
mancozeb	0	2	13
kviksølv	1	0	4
kobber	8	15	125
thiram	12	8	16

Resumé

Indledende forsøg viste, at maneb, mancozeb, kviksølv, kobber og thiram havde en hæmmende virkning på væksten af *Erwinia amylovora*, medens ferbam, zineb og dichlofluandit så godt som ingen indflydelse havde.

De egentlige undersøgelser viste, at maneb, mancozeb, kviksølv og kobber var effektive baktericider, medens thiram kun havde en bakteriostatisk virkning.

Maneb og kviksølv var ikke temperaturafhængige, deres hæmning af bakterievæksten var ens ved 10, 15 og 22°C. Forsøgene viste tydeligt, at adskillige fungicider også kan være effektive baktericider, og at maneb var det bedste af de afprøvede midler.

I udlandet benyttes streptomycin til beskyttelsesprøjtning i frugtplantagerne. Midlet er imid-

lertid forbudt som plantebeskyttelsesmiddel i Danmark; men da maneb ifølge Jones (1964) ved laboratorieforsøg havde samme virkning som streptomycin og ikke ligger meget tilbage for dette i effektivitet ved den direkte sprøjtning i frugtplantagerne, kan maneb formentlig benyttes til beskyttelsessprøjtning af frugttræer i blomstrings-tiden, selv ved lave temperaturer.

Summary

In the autumn of 1968, the bacterial disease of Fire blight caused by *Erwinia amylovora* was observed for the first time in this country and, therefore, it was of importance to find an effective bactericide.

The present experiments were made to establish whether the fungicides used in fruit farming have a bactericidal effect too. The primary experiments showed that maneb, mancozeb, mercury, copper, and thiram had a hampering effect on the growth of *Erwinia amylovora*, whereas ferbam, zineb, and dichlofluanide had hardly any hampering effect.

The investigations proper showed that maneb,

mancozeb, mercury, and copper were effective bactericides, whereas thiram had a bacteristatic effect only.

The effect of maneb and mercury was not dependent on the temperature, their hampering effect on the bacterial growth being the same at 10, 15, and 22°C. The experiments plainly showed that several fungicides can be effective bactericides, too, and that maneb was the best one of the preparations tested.

In other countries, streptomycin is used for control sprayings in the orchards. However, this remedy is forbidden in Denmark, but as, according to Jones (1964), maneb used in laboratory experiments had the same effect as streptomycin and its effectivity is only slightly inferior when used for the direct spraying in the orchards, maneb may, until a better remedy is found, be used for control spraying of fruit trees in the flowering period, even at low temperatures.

Litteraturhenvisninger

Jones, A. L., 1964: Bactericidal action of several organic fungicides against *Erwinia amylovora*, and fire blight disease control. *Plant Disease Reporter* 48(3): 182-186.