

Infektionsforsøg med gråskimmel (*Botrytis cinerea*) i tomatplanter

Infection experiments with grey mould (Botrytis cinerea) on tomato plants

H. Mygind

Resumé

Der er udført 2 serier infektionsforsøg med sporer af gråskimmel (*Botrytis cinerea*) på bladstamme af tomatplanter. Den ene forsøgsrække viste, at der var forskel på 4 *Botrytis*-isolaters virulens (angrebs-evne). Ét isolat fra et tomatgartneri med relativt få og svage angreb viste en betydelig kraftigere virulens sammenlignet med et isolat fra et nabogartneri med stærkere og meget udbredte angreb samt isolater fra 2 andre gartnerier. Den anden forsøgsserie omfattede stabtørring i 48, 24 og 0 timer efter afknibning af bladstilke. Resultaterne viste, at den formodede betydning af stabsårenes tørring ikke blev entydigt bekræftet. Der opnåedes infektion af stabbene, som var inokuleret med sporer straks efter afknibningen.

Planternes ernæringstilstand synes at have betydning for bladstammens senescens (aldring) og modtagelighed.

Infektionsmetoden har vist sig egnet ved afprøvning af fungiciders forebyggende virkning mod gråskimmel på tomatplanter.

Nøgleord: Gråskimmel, *Botrytis cinerea*, isolater, sporeinokulation, virulens, stabtørring, senescens.

Summary

Two series of infection experiments have been carried out with spores of grey mould (*Botrytis cinerea*) on leaf stumps of tomato plants. The first series demonstrated a difference between the virulence of four *Botrytis* isolates.

One isolate from a tomato nursery with relatively few and weak attacks showed a stronger virulence compared with an isolate from a neighbouring nursery having heavier and very frequent attacks and also isolates from a further two nurseries.

The second series involved the drying of leaf stumps for 48, 24 and 0 hours after abscission of the petioles. The results indicated that the relevance of stump drying was not unambiguously confirmed. Infection also succeeded well in the freshly pinched leaf stumps. The state of nutrition of the plants seemed to be of importance for the senescence of the stumps and their susceptibility.

The infection method has proved to be very suitable for testing experiments with fungicides and their prophylactic effect against grey mould on tomato plants.

Key words: Grey mould, *Botrytis cinerea*, isolates, spore inoculation, virulence, stump drying senescence.

Indledning

I 1978 meldtes der om meget udbredte og stærke angreb af gråskimmel (*Botrytis cinerea*) på hovedstænglen af tomatplanter i mange tomatgartnerier. Årsagen var ændrede klimaforhold i forbindelse med en sparsommere drivhusopvarmning og dermed mindre udluftning.

Der var således grundlag for i forsøg at undersøge dels, om der fandtes forskelle på *Botrytis*-isolaters virulens eller angrebsevne, dels om man ved tørring af sårene på efterladte stabbe efter fjernelse af de nedre blade kunne nedsætte hyppigheden af infektioner. De store sår, som efterlades ved rutinemæssige afbladninger, synes ikke primært at give infektionsproblemer forudsat, at sårfladen tørrer, og der ikke efterlades en stab, hvilket ikke altid kan undgås.

Hollandske undersøgelser har vist, at efterladte bladstamme gav op til 10 gange så mange stængelangreb end f.eks. afskæring af bladstilk med kniv helt ind til stænglen (Buitelaar, 1980). Når blad og bladstilk er fjernet, og der efterlades en stab, vil der dannes såkaldt senilt plantevæv. Processens forløb vil dog afhænge af bladenes alder og plantens ernæringstilstand, hvilket nærværende forsøg synes at vise.

Gråskimmelsvampen er en udpræget fakultativ (lejlighedsvis) parasit, som angriber sårede plantedele og senilt plantevæv, f.eks. ældre blade, stabbe og visnende blomster. Der kræves dog relativ høj luftfugtighed, for at sporerne kan spire. Det kunne derfor godt formodes, at de stabbe, som tørrer ind eller skrumper, vanskeligere angribes af gråskimmel.

Forsøgene omfattede 2 grupper. Den første række forsøg tjente til at belyse metodens anvendelighed. Samtidig ønskedes en testning af 4 *Botrytis*-isolater stammende fra 4 forskellige tomatgartnerier. Herved blev det muligt at belyse forskelle i isolaternes virulens.

Den anden forsøgsrække omfattede infektionsforsøg med forskellige antal timer stab-sårtørring. Betydningen af bladenes alder kunne samtidig bedømmes.

Materiale og metoder

Infektionsforsøgene blev udført i væksthuse med pottede tomatplanter ca. 8 uger gamle og 100–125 cm høje. Planternes ernæring var holdt på et relativt lavt N-niveau, fordi kraftigt N-gødte planter som hovedregel er mere modstandsdygtige mod gråskimmelangreb (Verhoef, 1968; Király, 1976). Endvidere har man påvist, at høj sukkerkoncentration og samtidig lavt N-niveau ligeledes disponerer for *Botrytis*-angreb (Kamoen, 1966). Til forsøgene med stabinfektioner anvendtes sporeopslemninger af et *Botrytis*-isolat udvalgt efter forudgående virulensforsøg med 4 isolater, udtaget i 4 forskellige tomatkulturer.

Forsøgenes gennemførelse

I alle forsøg blev der først afknebet 4–6 blade på hver plante. Dette blev udført med en ikke særlig skarp knibtang, hvorved der blev efterladt en stab med lidt flosset ende og af ca. 1 cm længde, hvilket i gennemsnit svarer til, hvad der ofte sker i praksis i gartnerierne, når blade afbrækkes. Mellem afknibning af hvert blad blev tangen dypet i sprit og flamberet (afkøling). Den efterfølgende påsprøjtning af sporeopslemning med kendt koncentration (antal/ml) undtagen i forsøg 1 (pensling) blev foretaget i henhold til forsøgsplanen. Som sprøjte anvendtes en »Bosch Spritzpistolenset PSP 250« (eldrevet) med indstillelig forstøvningegrad.

Planterne sprøjtedes fra 2 sider, for at ramme alle stabbe bedst muligt, og der anvendtes stopur til sikring af en passende og reproducerbar mængde sporer.

Efter sporepåsprøjtning blev planterne stillet ind i dertil indrettede kabiner af hvid plasticfolie med forhæng, der blev lukket med klemmer. For at der ikke skulle blive for varmt i kabinerne i solskin, var der ventilationshuller i plasticoverdækningen. Temperaturen tilstøbtes at være 20–25°C, men den kunne i kortere perioder ikke undgå at blive omkring 30°C på grund af solindstråling, selv om drivhusglasset var påsprøjtet skyggemiddel. Det gjaldt primært om at holde høj luftfugtighed specielt i inokulationsperioden i de første døgn. Perioder med relativt høje tempe-

raturer måtte altså tolereres fremfor at sætte luft på drivhusrummet og derved nedsætte fugtighedsgraden. Denne opretholdtes ved at sprøjte indersider, loft og bund i kabinerne med vand morgen og aften.

Opgørelsen af forsøgene blev udført 2 gange; en foreløbig opgørelse 6–7 dage efter sporepåsprøjtning og inokulation, dvs. når angrebene kunne ses på stabbene i de fleste af planterne. Anden opgørelse foretoges efter 10–12 dages forløb, hvor angrebet fra stabbene havde bredt sig så meget ind i hovedstænglerne, at nekroserne kunne måles. Da denne anden opgørelse gav det tilstræbte og væsentlige resultat, er der kun gjort rede for denne. Desuden blev stabbenes fysiologiske tilstand noteret, og opgørelsen af angrebne stabbe blev foretaget i rækkefølgen fra neden og opetter på stænglen; herved kunne man observere, om forskelle på stabbenes alder spillede en rolle.

Gråskimmelangrebet i stænglerne breder sig hurtigt hele vejen rundt. Det var derfor vigtigt at opgøre forsøget på det tidspunkt, hvor nekroserne ikke var blevet for store, hvorved forskelle mellem virulensen i så fald ville udviskes. Endelig blev det ved opgørelsen noteret, om stabbene var: angrebne; ikke angrebne; gullige; gule og løse; indtørrede; faldet af. Optælling af angrebne småblade blev foretaget i virulensforsøgene. I stabtørringsforsøgene kom der næsten ingen bladangreb.

I. Infektionsforsøg med forskellige isolater

Resultater

3 forsøg viste dels, at metoden var egnet, dels at der var forskel på isolaterne. Isolat »A.L.« stammede fra et gartneri, som gennem flere år havde et meget lavt angrebsniveau og uden økonomisk betydning, det udviste en betydelig større angrebsevne end isolat »V.B.C.«, som stammede fra et større gartneri med overordentligt voldsomme angreb og stor tabgivende plantedødelighed, især i 1979. Denne konstatering var det modsatte af det forventede. Forskellen mellem alle 4 isolater fremgår af virulensforsøg 1, 2 og 3 vist i tabel 1, 2 og 3.

Konklusion

I 3 forsøg med 4 forskellige isolater var isolat »A.L.« og »M.B.« de kraftigste. Isolat »V.B.S.« og »P.A.« var relativt svagere både med hensyn til angrebne stabbe og mm nekrose på trods af meget stærke og udbredte angreb netop i de 2 gartnerier, hvorfra sidstnævnte isolater stammede. Dette må siges at være bemærkelsesværdigt.

Ved den endelige udvælgelse af det bedst egnede isolat til de efterfølgende »stab-tørringsforsøg« måtte valget falde på isolat »A.L.«, fordi det udviste de relativt højeste angrebsfrekvenser. Ved denne bedømmelse blev der også lagt vægt på størrelsen af nekrosen på stænglen, og den lå gennemsnitligt højest for »A.L.«-isolatet.

Tabel 1. Virulensforsøg 1. Inokulation d. 10. juni af 4 stabbe; sporeconc. 30.600/ml. Opgørelse d. 21. juni 1980.
Virulence experiment 1. Spore inoculation 10 June of 4 leaf stumps; spore conc. 30,600 per ml. Assessment 21 June 1980.

Antal planter	Botrytis-isolat	Angreb på småblade antal	Angreb på bladstamme antal	%	Gns. mm nekrose pr. plante
<i>Number of plants</i>	<i>Botrytis isolate</i>	<i>Attacks on sec. leaves number</i>	<i>Attacks on stumps number</i>	<i>%</i>	<i>Mean mm necrosis per plant</i>
4	kontrolpl. controls	0	0	–	0
4	V.B.C.	6	15	93,8	30
4	P.A.	0	7	43,8	20
4	M.B.	3	16	100,0	67
4	A.L.	5	16	100,0	56

Tabel 2. Virulensforsøg 2. Inokulation d. 2. juli af 4 stubbe; sporekonc. 30.000/ml.
Opgørelse d. 14. juli 1980.
*Virulence experiment 2. Spore inoculation 2 July of 4 leaf stumps; spore conc. 30,000 per ml.
Assessment 14 July 1980.*

Antal planter	Botrytis-isolat	Angreb på småblade antal	Angreb på bladstubbe		Gns. mm nekrose pr. plante
<i>Number of plants</i>	<i>Botrytis isolate</i>	<i>Attacks on sec. leaves number</i>	antal	%	<i>Mean mm necrosis per plant</i>
			<i>Attacks on stumps</i>		
			number	%	
4	kontrolpl. * controls	19	6	37,5	12
4	V.B.C.	13	5	31,3	19
4	P.A.	36	13	81,3	22
4	M.B.	36	15	93,8	8
4	A.L.	34	15	93,8	23

* Spontane infektioner før indsætning i kabine.
Spontaneous infection before inserting plants in the cabin.

II. Stab-tørningsforsøg

Til at belyse, hvorvidt tørring af sårfladen på efterladte stubbe kunne hæmme *Botrytis*-angreb, blev der udført 1 forsøg i 1980 og 2 i 1981.

Metodik

Forsøgsleddene var:

1. ubehandlet eller kontrolplanter.
2. 48 timers tørring før påsprøjtning af sporeop-slemning.

3. 24 timers tørring før påsprøjtning af sporeop-slemning.

4. 0 timers tørring før påsprøjtning af sporeop-slemning.

Fremgangsmåden var i det væsentlige den samme som for virulensforsøgene.

Der anvendtes 5 planter pr. forsøgsled. Spore-påsprøjtningen blev foretaget samtidigt i forsøgs-leddene 2, 3 og 4 på det tidspunkt, hvor planterne efter afknibning af bladene havde stået i henholds-

Tabel 3. Virulensforsøg 3. Inokulation d. 4. juli af 10 stubbe; sporekonc. 10.000/ml.
Opgørelse d. 14. juli 1980.
*Virulence experiment 3. Spore inoculation 4 July of 10 leaf stumps; spore conc. 10,000 per ml.
Assessment 14 July 1980.*

Antal planter	Botrytis-isolat	Angreb på småblade antal	Angreb på bladstubbe		Gns. mm nekrose pr. plante
<i>Number of plants</i>	<i>Botrytis isolate</i>	<i>Attacks on sec. leaves number</i>	antal	%	<i>Mean mm necrosis per plant</i>
			<i>Attacks on stumps</i>		
			number	%	
4	V.B.C.	13	26	65,0	13
4	P.A.	11	22	55,0	17
4	M.B.	23	30	75,0	23
4	A.L.	13	39	97,5	23

Bemærkning til forsøgene:

Pottede planter i forsøg 1 og 2; afknibning af 4 stubbe pr. plante.

Planter i spande i forsøg 3; afknibning af 10 bladstilke pr. plante. Større kabiner; ingen plads til kontrolplanter.

Comments on the experiments:

Potted plants 100–125 cm in experiment 1 and 2; pinching off 4 leaves, remaining 4 one cm stumps per plant.

Plants (about 175 cm) in buckets in experiment 3; pinching off 10 leaves, remaining 10 stumps per plant. Larger cabins (no space for controls).

vis 48, 24 og 0 timer. I led 4 havde sporerne således chance for at spire i de friske sår. De 3 kontrolplanter (usprøjtede) blev efter afknibning af blade placeret for sig i egen kabine. I nogle tilfælde blev kontrolplanterne imidlertid inficerede i lettere grad på grund af »spontan infektion« formentlig af luftbårne sporer i drivhuset inden indsætning i kabinerne. I forsøg 2 og 3 blev dog kun én stab på 1 kontrolplante inficeret spontan.

Resultater

I forsøg 1, tabel 4, blev de fleste stæbber angrebet 48 timer efter afknibning, derefter fulgte 24 timer og 0 timer med angrebsfrekvens på omtrent samme niveau.

I forsøg 3, tabel 6, fik 48 timer igen det relativt højeste antal angreb, mens 24 og 0 timer igen fik næsten ens antal angrebne stæbber. Svampeangrebet i stænglen blev målt i nekrosens lodrette retning. I alle 3 forsøg blev nekrosen størst i forsøgsleddet 0 timer, og størrelsen aftog i led 3 og 2. Det tyder på, at infektionen i led 4 har haft et lille forspring i forhold til den i led 2 og 3 ved, at *Botrytis*-sporerne har spiret i de friske stabsår, og angrebet er derfor trængt videre ind i hovedstænglen med lidt større nekroser til følge.

Diskussion

Af 3 forsøg har der i forsøg 1 og 3 været relativt

flest stæbber angrebet 48 timer inden sporepåsprøjtning. 24 og 0 timer lå omtrent på samme angrebsniveau.

Forsøg 2, tabel 5, viste den modsatte stigning i angrebsfrekvensen. Forklaringen kan søges i planternes ernæringstilstand og den deraf følgende senilitet (senescens) hos bladene, som i dette forsøg har været mere fremskredet. Der tilstræbtes som allerede omtalt et relativt lavt N-indhold i planterne, men det kunne af praktiske årsager ikke styres helt ens for de 3 hold forsøgsplanter.

Efter afknibningen af bladene vil senescensen stige med bladernes alder. Stæbberne gulner hurtigt og tørrer ind, men samtidig dannes der løsningsvæv; herved opstår der en lille åben spalte mellem stæbber og plantens stængel. Stæbberne kan da meget let falde af, og der er desuden dannet et beskyttende lag celler i bladarrret. Svampens chancer for at angribe er herved ofte forpasset. Det er derfor næppe tørringen af stæbberne i dette forsøg, som var årsag til det laveste angreb, men formentlig plantens »fysiologiske tilstand«, hvilket influerer på bladstæbberne.

En registrering af stæbbernes fysiologiske tilstand blev foretaget samtidig med opgørelsen af de enkelte forsøg.

Omtalte senescens kom til udtryk i form af visse forskelle mellem forsøgene. Som kriterium

Tabel 4. Infektionsforsøg 1 med gråskimmel på tomatplanter, 1980.

Inokulation af 6 stæbber pr. plante d. 20. august, 22.500 *Botrytis*-sporer/ml. Opgørelse af angreb d. 29. august.

Infection experiment 1 with grey mould (Botrytis cinerea) in tomato plants, 1980.

Spore inoculation of 6 leafstumps per plant 20 August; 22,500 Botrytis spores per ml. Assessment of attacks 29 August.

Stæbber	Antal planter <i>Number of plants</i>	Antal angrebne stæbber i alt <i>Total number of attacked stumps</i>	%	Gns. mm nekrose på stænglen <i>Mean mm necrosis</i>
<i>Stump drying</i>			%	
1. Kontrolplanter <i>Controls</i>				
48 timer, <i>hours</i>	1	2	33,3	30
24 » »	1	5	83,3	20
0 » »	1	3	50,0	21
2. 48 timer	5	25	83,3	18
3. 24 timer	5	20	66,7	14
4. 0 timer	5	18	60,0	25

Tabel 5. Infektionsforsøg 2 med gråskimmel på tomatplanter, 1981.Inokulation af 8 stabbe pr. plante d. 27. marts, 30.000 *Botrytis*-sporer/ml. Opgørelse af angreb d. 8. april.*Infection experiment 2 with grey mould (Botrytis cinerea) in tomato plants, 1981.**Spore inoculation of 8 leaf stumps per plant 27 March; 30,000 Botrytis spores per ml. Assessment of attacks 8 April.*

Stabtørring	Antal planter	Antal angrebne stabbe i alt	%	Gns. mm nekrose på stænglen
<i>Stump drying</i>	<i>Number of plants</i>	<i>Total number of attacked stumps</i>	<i>%</i>	<i>Mean mm necrosis</i>
1. Kontrolplanter				
<i>Controls</i>				
48 timer, hours	1	1	12,5	8
24 » »	1	0	0	0
0 » »	1	0	0	0
2. 48 timer	5	10	25,0	47,4
3. 24 timer	5	18	45,0	72,4
4. 0 timer	5	26	65,0	79,1

for senescensgraden hos stabbene anvendtes betegnelserne »g,l« (gullig og løsningsvæv dannet samt spalte) og »f« (faldet af efter at have været gullig og løs).

Som det fremgår af tabel 7, er der en rimelig korrelation mellem antallet af »g,l« og de i tabelerne 4, 5 og 6 viste angrebsfrekvenser.

Hvis man betragter tallene for stabbenes tilstand i forsøg 2, tabel 7, er der efter 48 timer 37,5% stabbe i gruppen »g,l«; 25,0% efter 24 timer og kun 2,5% efter 0 timer. Det vil sige, at % stabbe med senescenssymptomer i et vist omfang

er omvendt proportional med % stabbe med angreb, som var henholdsvis 25,0%, 45,0% og 65,0%. Selv om spredningen ikke er helt den samme, synes stabbenes senescens at spille en rolle i forsøget. Senescensen blev altså for fremskreden, så at svampen ikke fandt fodfæste. I forsøg 1 og 3 synes der at være en vis korrelation mellem angrebsfrekvensen og senescensen, om end den fremtræder klarere for disse 2 forsøgs vedkommende, hvis man lægger gruppen »f« sammen med gruppen »g,l« (se 3. kolonne).

Tabel 6. Infektionsforsøg 3 med gråskimmel på tomatplanter, 1981.Inokulation af 8 stabbe pr. plante d. 15. april, 30.000 *Botrytis*-sporer/ml. Opgørelse af angreb d. 24. april.*Infection experiment 3 with grey mould (Botrytis cinerea) in tomato plants, 1981.**Spore inoculation of 8 leaf stumps per plant 15 April; 30,000 Botrytis spores per ml. Assessment of attacks 24 April.*

Stabtørring	Antal planter	Antal angrebne stabbe i alt	%	Gns. mm nekrose på stænglen
<i>Stump drying</i>	<i>Number of plants</i>	<i>Total number of attacked stumps</i>	<i>%</i>	<i>Mean mm necrosis</i>
1. Kontrolplanter				
<i>Controls</i>				
48 timer, hours	1	1	12,5	23,0
24 » »	1	0	0	0
0 » »	1	0	0	0
2. 48 timer	5	27	67,5	21,6
3. 24 timer	5	23	57,5	31,6
4. 0 timer	5	24	60,0	38,8

Tabel 7. Bedømmelse af bladstabbenes fysiologiske tilstand ved opgørelsen af 3 forsøg (tabel 4, 5 og 6).
Notes concerning the physiological condition of the leaf stumps at the assessment time of 3 experiments.

Forsøgsled <i>Experiment plot</i>	Forsøg 1, 29/8-80 %			Forsøg 2, 8/4-81 %			Forsøg 3, 24/4-81 %		
	<i>Experiment 1,</i> 29 August %			<i>Experiment 2,</i> 8 April %			<i>Experiment 3,</i> 24 April %		
	g,l	f	i alt total	g,l	f	i alt total	g,l	f	i alt total
48 timer, <i>hours</i>	13,3	3,3	16,6	37,5	0	37,5	17,5	10,0	27,5
24 timer	23,3	3,3	26,6	25,0	0	25,0	15,0	20,0	35,0
0 timer	33,3	13,3	46,6	2,5	0	2,5	17,5	20,0	37,5

g,l = gullig, løs

yellowish, loose

f = faldet af

dropped off

Bemærkning: de stabe, som ikke udviste senescens-symptomer, var grønne og ikke angrebne. Dette gjaldt i reglen de øverste fra de yngste blade.

Comments: those stumps which did not show any symptoms of senescence were green and free from attack and normally those from the top leaves.

Konklusion

Formodningen om, at indtørring af stabsårene skulle have betydning, er ikke entydigt blevet bekræftet. Planternes fysiologiske tilstand, som har relation til deres ernæring, synes at spille en rolle for angrebsfrekvensen.

Forsøgsplanterne er holdt på et relativt lavt ernæringsniveau, særligt mht. kvælstof, men den tiltagende senescens, som følger bladernes alder, kunne under opvæksten ikke blive helt ens for de 3 hold planter til forsøgene. Planternes ernæringstilstand før inokulationen med sporer indgik ikke ved planlægningen af infektionsforsøgene med undtagelse af kvælstof, som tilstræbtes at være på et relativt lavt niveau.

Forsøgsmetoden har vist sig meget anvendelig i bekæmpelsesforsøg i 1981 og 1982 med forskellige midler mod gråskimmel, udført af Institut for Pesticider i samarbejde med Botanisk Afdeling.

Der opnåedes tilfredsstillende resultater i forsøg med større planter i spande sat på jorden. Stabene blev alle inokuleret med sporeopslemninger lige efter afknibning.

Litteratur

- Buitelaar, K.* (1980): Bladplukken en stengelbotrytis. *Groenten en fruit*, 35 (32), 37 og 39.
- Kamoen, O.* (1966): Ontwikkeling van een *Botrytis cinerea* op hogere suikerconcentraties. *Medd. Rijksfakulteit van de Landbouwwetenschap te Gent* 31 (3), 895-906.
- Király, Z.* (1976): Plant disease resistance as influenced by biochemical effects of nutrients in fertilizers. Reprint from: *Proceedings of the 12th IPI-Colloquium in Izmir*, 33-45.
- Verhoeff, K.* (1968): Studies on *Botrytis cinerea* in tomatoes. effect of soil nitrogen level and of deleafing upon the occurrence of *B. cinerea* under commercial conditions. *Neth. J. Pl. Path.* 74, 184-192.

Manuskript modtaget den 6. juli 1984.