

Kirsebærbladpletsyge Undersøgelser af overvintringsform og primær smitte i surkirsebær

Cherry leaf spot disease

Danish investigations of perennation state and primary infection in sour cherries

Hanne Jakobsen og Karen Jørgensen

Resumé

Kirsebærbladpletsyge gennemgås med hensyn til patogenets morfologi og livscyklus samt sygdommens epidemiologi, som angivet i litteraturen.

Der redegøres for 2 års undersøgelser af kirsebærbladpletsygens overvintringstilstand, det primære smitstofs art og tidspunkt for afgivelse.

Overvintringstilstanden blev fulgt ved jævnligt at udtage og mikroskopere symptombærende blade fra et udendørs overvintringsdepot. Svampen overvintrer i apothecieforstadier, hvori der i løbet af forårsmånederne dannes kønnede sporer (ascosporer) og konidier (apotheciekonidier), der tilsammen udgør det primære smitstof. Udviklingen af ascosporer hæmmes af streng frost og tørke.

Smitstofafgivelsen blev registreret ved brug af sporefælder opsat i overvintringsdepotet og korreleret med klimadata fra en nærliggende klimastation. Der fandtes en nøje sammenhæng mellem nedbør og sporeafgivelse. Den største sporeafgivelse fandt sted fra midten af maj til midten af juni.

Nøgleord: Kirsebærbladpletsyge, *Blumeriella jaapii*, overvintringsform, primær smitte, surkirsebær, *Prunus cerasus*.

Summary

Cherry leaf spot disease is reviewed according to the morphology and life cycle of the pathogen and the epidemiology of the disease, as described in the literature.

A description is given of two years' investigations concerning the perennation state, the nature of the primary inoculum and the time of spore ejection of the cherry leaf spot disease.

The perennation state was watched by frequent microscopical examinations of samples of diseased leaves taken from a wintering deposit. The fungus winters in apothecia. During the spring, ascospores and apothecial conidia are developed. They constitute the primary inoculum. The development of ascospores is inhibited by severe frosts and drought.

The ejection of spores was recorded on spore traps placed over the wintering deposit and correlated to the weather recorded at a nearby weather station. A very close correlation between precipitation and ejection of spores was found. Abundant ejection of spores was seen from mid-May to mid-June.

Key words: Cherry leaf spot disease, *Blumeriella jaapii*, perennation state, primary infection, sour cherries, *Prunus cerasus*.

Indledning

De senere års angreb af kirsebærbladpletsyge i Danmark har øget behovet for at vide mere om denne sygdom og dens bekæmpelse. Skal man kunne sætte ind med relevante behandlinger, er det nødvendigt at kende sygdommens biologi.

Denne beretning omfatter 2 dele. Første del er en litteraturgennemgang af svampens biologi. Anden del omhandler 2 års undersøgelser af kirsebærbladpletsvampens overvintringstilstand og smittespredning under danske forhold.

Undersøgelsen er en del af *Karen Jørgensens* projekt vedrørende kirsebærsygdomme. Første års undersøgelser indgik i en hovedopgave ved Landbohøjskolen af *Hanne Jakobsen* (13).

Sygdommens udbredelse

Kirsebærbladpletsyge blev beskrevet første gang i 1878, fundet på sildig hæg i USA, og i 1880 var den almindeligt kendt som skadegører på kirsebær og blomme.

De første beretninger om angreb på kulturplanter i Europa kom i 1925 og 1935, hvor sygdommen blev fundet på sødkirsebær (*Prunus avium*) i DDR. Senere har den bredt sig til hele Europa undtagen De britiske øer (3). I Danmark blev sygdommen fundet første gang i 1946 på sød- og surkirsebær samt på kirsebærgrundstammer (*P. avium*, *P. cerasus* og *P. avium* var. *silvestris*) (18).

Værtplanter

Kirsebærbladpletsyge kan angribe alle kendte arter af *Prunus*-slægten, undtagen fersken, *P. persica*. laurbærkirsebær, *P. laurocerasus*, og kinesisk kirsebær, *P. tomentosa* (3, 5, 14, 19).

Inden for de modtagelige arter varierer sorterne i modtagelighed.

Surkirsebær af sorten Kellers 16 har vist sig meget modtagelig i Sverige, og i Vesttyskland er Skyggemorel særlig følsom (18).

Af surkirsebær dyrkes i USA næsten udelukkende sorten Montmorency, som er særdeles modtagelig for angreb (17).

Iagttagelser i danske plantager har vist, at sorterne Skyggemorel, Kellers 16 og Fanal ofte er

mere angrebet end Stevnsbær, men undersøgelser af modtagelighedsforholdene i usprøjtede parceller er ikke udført. Angrebsgraden afhænger desuden af klimaforholdene i den enkelte plantage.

Nomenklatur

Kirsebærbladpletsyge skyldes en sæksporesvamp, der foruden sin kønnede sæksporeform – ascosporeformen – har en ukønnet, imperfekt form – konidieformen. Svampen har følgende 2 navne:

Ascosporeform: *Blumeriella jappii*
(Rehm) v. Arx
syn. *Coccomyces hiemalis*
Higg.

Konidieform: *Phloeosporrella padi*
(Lib.) v. Arx
syn. *Cylindrosporium padi*
(Lib.) Karsten

Den danske betegnelse er *kirsebærbladpletsyge*, men for at lette læsningen anvendes her det forkortede navn *bladpletsyge*.

Morfologi

Myceliet

Myceliet består af flercellede hyfer, der udvikler sig mellem bladcellerne, især i det porøse mesofylvæv (svampevæv) (fig. 1 a).

Unge hyfer er farveløse, men senere antager myceliet en brunlig farve, der især er tydelig i det saprofytiske stroma (vintertilstanden).

I levende blade er myceliet *parasitisk*. Hyferne danner haustorier i mesofyl- og epidermisceller og undertiden også i karstrengene (3).

Haustoriet er myceliets næringsoptagelsesorgan. Det dannes ved at en hyfe trænger ind i værtcellevæggen og udvider sig til en udposning omgivet af værtcellens cellulosevæg. Herefter sker der en overførsel af næringsstoffer fra cellen til haustoriet, og værtcellen tørrer ud og dør (11).

I døde blade er myceliet *saprofytisk*. Det bre-

der sig gennem bladet i form af tætte hyfebundter og danner stromatisk væv omkring acervulus = stroma (3).

Acervulus

Af det parasitiske mycelium opstår et acervulus (knopcelleleje), der er en stromatisk, tallerkenformet dannelse, som findes lige over bladundersidens epidermis (fig. 1 b).

Acervulus er 170-320 μm i diameter og 7-17 μm tykt. Det omkranses af sprængt epidermis og bærer konidioforer (knopcellebærere) i stort antal. Dannelsen af disse starter i midten af acervulus og breder sig radiært i takt med acervulus' vækst (1, 11).

I løbet af en sæson findes 3 typer af *konidioforer* på acervulus:

Den første type afgiver makrokonidier om sommeren. Konidioforerne er korte, kegleformede og oprette. De er 5-12 μm høje.

Ved løvfald forgrener disse konidioforer sig og bliver op til 25 μm høje. Omdannelsen starter midt i acervulus og breder sig radiært. Fra hver forgreningsspids afgives mikrokonidier (fig. 1 f).

Den tredje type konidiofor, som bærer apotheciekonidier (vinterkonidier), er ikke udførligt beskrevet i litteraturen. Iagttagelse vanskeliggøres af en kraftig parenchymatisk omkransning af acervulus, som opstår om vinteren. Man ved dog, at når apotheciekonidier dannes i udtømte apothecier, bæres de af grenede hyfer (parafyser) (1, 2, 3).

Konidier

Fra primær- og sommerinfektioner afgives *makrokonidier*, som er farveløse, 2,5×40-68 μm , nærmest seglformede. De er encellede, men ofte ses 1-2 utydelige, falske skillevægge (1, 3) (fig. 1 c).

I august/september ophører makrokonidiedannelsen til fordel for *mikrokonidier*. De er encellede, farveløse og 1,5-2×4-6 μm store (fig. 1 f). De formodes at optræde som *spermatier* dvs. hanlige kønsceller (2, 3, 11).

I milde perioder om vinteren og i det tidlige forår afgives *apotheciekonidier* eller vinterkoni-

dier. De er encellede, farveløse 2-3×50-80 μm , aflangt seglformede med lang spids (3) (fig. 1 e).

Trichogyn

I det stroma, der dannes omkring acervulus ved løvfald, opstår 6-8 eller op til 12 spoleformede hyfer med 2-3 vindinger. De strækker sig ud gennem masserne af mikrokonidier og beklædes herved med disse (fig. 1 g). Spidsen af hyferne er fladt udbredt og kaldes en *trichogyn* (fig. 1 f). Trichogynhyfen betragtes som et hunligt kønsorgan og dermed forstadiet til apotheciet. Efter løvfald indlejres hyferne i det udifferentierede stroma (11).

Apothecium

I foråret sker der en differentiering af stroma, og der opstår et apothecium, hvorpå der dannes asci (sporesække) og parafyser.

Apotheciet er brunligt, skålføremet, 170-350 μm i diameter. Ved modenhed bryder det gennem stroma, og oftest vil munden findes på den opadvendende bladside (5) (fig. 1 h).

Det enkelte *ascus* er en kølleformet sæk, 12-15×72-105 μm , der indeholder 8 ascosporer. Sporerne afgives gennem en perforation i *ascus*' brede, koniske spids (5) (fig. 1 i).

Ascosporer er oftest tocellede, farveløse, 3-4×28-53 μm store og mindre krumme end makrokonidierne. Ved modenhed er de lejret i et knippe på langs i *ascus* (2) (fig. 1 j).

Imellem *asci* dannes parafyser, der er hyfer uden betydning for ascosporedannelsen. De er farveløse, trådformede med en let udbredt spids og ofte forgrenede. De har samme længde som *asci*, 72-105 μm (2) (fig. 1 h). Ved svigtende ascosporedannelse/afgivelse kan parafyserne fungere som apotheciekonidiebærere.

Livsforløb

Bladpletsvampens livsforløb kan deles i en vegetativ, parasitisk fase – konidieformen – og en generativ, saprofytisk fase – ascosporeformen. Forløbet af disse faser er afbildet i fig. 1 og skal her omtales nærmere:

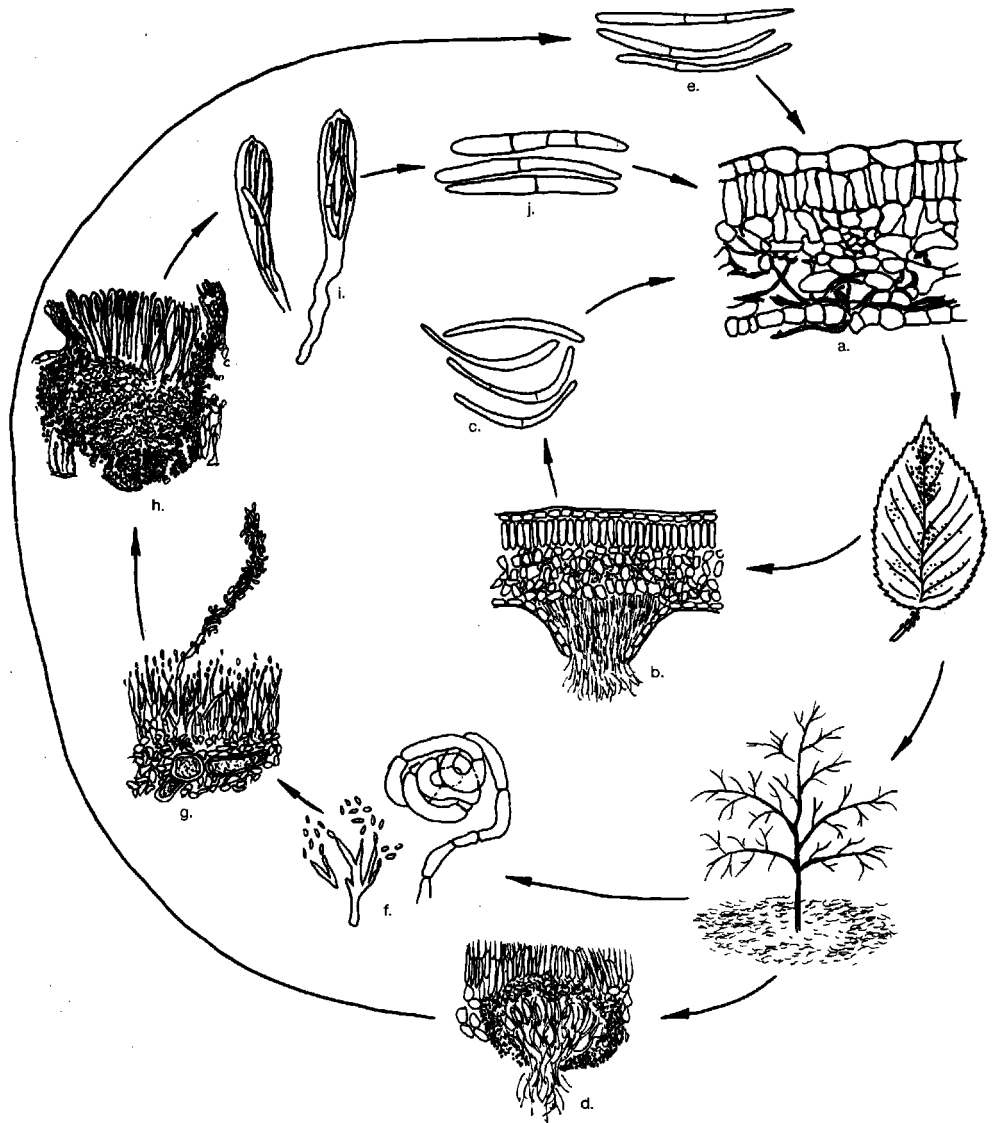


Fig. 1: Kirsebærbladpletsygens livscyklus. (Efter 2 og 11).

- a. Mycelium imellem mesofylceller i angrebet blad
- b. Acervulus på bladunderside
- c. Makrokonidier
- d. Apothecieforstadie
- e. Apotheciekonidier
- f. Mikrokonidiofor og trichogynhyfe
- g. Trichogyn beklædt med mikrokonidier i apothecieforstadie
- h. Apothecium med asci og parafyser
- i. Asci
- j. Ascosporer

- a. Mycelia between mesophyll cells in infected leaf*
- b. Acervulus at the lower side of a leaf*
- c. Macroconidia*
- d. Premature apothecia*
- e. Apothecial conidia*
- f. Microconidiophore and trichogyne*
- g. Trichogyne covered with microconidia in a premature apothecia*
- h. Apothecium containing asci and paraphyses*
- i. Asci*
- j. Ascospores*

Konidieformens livscyklus

Konidieformen har flere årlige cykler og udgør det egentlige epidemiske apparat.

Når et konidie eller en ascospore lander på et blad, vil det/den danne et appressorium og en spirehyfe, hvis fugt- og temperaturforholdene er passende. Infektion kan antagelig kun ske ved at spirehyfen trænger ind gennem en spalteåbning, dvs. det er særligt bladundersiden, hvorpå der findes flest spalteåbninger, der er modtagelig (2, 11).

Hyfen udvikler sig til intercellulært mycelium radiært ud fra infektionsstedet. Efterhånden dannes en synlig plet, der består dels af udtørrede, døde bladceller og dels af den stromadannelse, der udvikler sig til acervulus.

På acervulus dannes makrokonidier, og når vejret er fugtigt, sprænges epidermis og kutikula, og makrokonidiemasserne afgives som en hvidrosa belægning eller hornformet dannelse på bladundersiden.

Makrokonidierne spredes med regndråber til andre blade, hvor de spirer og inficerer, når de ydre betingelser gør det muligt.

Denne cyklus gentager sig herefter et antal gange, der afhænger af klimaet, indtil slutningen af august, eller indtil inficerede blade gulner og fældes (2, 3).

Herefter dannes mikrokonidier, der ikke er infektionsdygtige.

Hele acervulus med konidioforer, mikrokonidier og trichogynhyfer desintegrerer, når bladene fældes. Sammen med epidermisrester og stroma danner det en beskyttende, gelatiniseret kappe (3, 11).

Ascosporeformens livsforløb

Den generative fase påbegyndes i efteråret, når der opstår spoleformede trichogynhyfer fra acervulus' bund. Hyferne beklædes med mikrokonidier (spermatier) under fremvæksten, og det menes, at der sker en fusion mellem trichogynceller og mikrokonidier, dvs. en befrugtning (2, 11).

Straks herefter desintegrerer hyferne og indgår som en del af det udifferentierede stroma, der er

overvintringsorganet. Samtidig dannes tykvægede, mørkfarvede celler omkring stroma, og myceliet starter nyvækst mellem de døde bladceller som saprofyt. Denne vækst indstilles, når vinterkulden sætter ind.

De første lune dage i marts starter videreudviklingen af apothecieforstadierne: fra stroma vokser der hyfer mod den bladside, der vender opad, og her starter dannelsen af apotheciebunden. Nogle af disse hyfer opstår antagelig af trichogynhyferne og bærer derfor de kønnede celler, der er forstadier til ascosporerne.

Ascusdannelsen starter, når apotheciebunden er dannet, dvs. i april. Af en flercellet hyfe dannes en sækformet ascusmodercelle. Efter 1 meiose- og 2 mitosedelinger indeholder ascusmodercellen 8 kerner, der hver udvikler sig til en aflang ascospore. Sækken udvider sig i takt med ascosporenes vækst. Umiddelbart inden ascosporeafgivelsen sker der en septering af hver ascospore, der derfor er tocellet ved modenhed.

Når ascosporerne er modne, sprænges den beskyttende kappe omkring apotheciet. De modne asci står da i en lys krans, der kan ses med det blotte øje (fig. 2). Under og efter nedbør vil sporerne slynges ud af asci (2, 11).

Samtidig med ascusdannelsen opstår grenede parafyser fra apotheciebunden. Når asci er tømte for ascosporer, dannes der undertiden apotheciekonidier som afsnøringer fra parafyserne (2, 3).

Udviklingen af apothecier er stærkt afhængig af fugtighed og temperatur fra efterår til forår. Pludselig frost i efteråret eller i det sene forår kan standse udviklingen, ligesom tørke i foråret forhindrer modningen af asci (15).

Swampen reagerer på dette ved at danne apotheciekonidier fra de ufuldstændige apothecier, og disse kan i mangel af ascosporer give den primære infektion.

Det har hidtil været opfattelsen, at bladplet-syge i Europa kun overvintrede i pyknidieagtige dannelser (ukønnede sporehuse), der afgav vinterkonidier (3, 12). Det ser nu ud til, at disse pyknidier i virkeligheden er ufuldstændige apothecier, og at vinterkonidierne er identiske med apotheciekonidierne.

Symptomer og følgevirkninger

Symptomer på bladpletsyge er ens, hvad enten de skyldes infektion med ascosporer eller med konidier (11).

Symptomer

De første synlige tegn på angreb er *bladpletter*, der optræder fra slutningen af juni. Pletterne ses først på fuldt udviklede blade ved basis af årsskud. De er brunlilla, 1-2 mm i diameter og kan optræde over hele bladfladen. Ofte er de størst i antal langs hovednerverne, hvor de kan flyde sammen og danne store plamager (fig. 3).

På bladundersiden er pletterne let hævede, og i fugtigt vejr ser de blæreagtige ud med en hvidlig-rosa belægning, der består af makrokonidier. Undertiden dannes så mange konidier, at der opstår hornformede toppe af konidieslim (3, 6).

Det mest iøjnefaldende symptom er den tidlige *gulfarvning af bladene*, som kan ses på afstand (fig. 4). Gulfarvningen starter midt i juli på blade ved basis af årsskud og efterfølges af løvfald. Kraftige angreb kan resultere i en næsten fuldstændig afløvning af træerne allerede i august/ september. Kun årsskuddenes yngste blade er da tilbage (3).

På de gule blade fremtræder pletterne tydeligt og er undertiden omgivet af en grøn ring (3).

Følgevirkninger

Gulfarvning af blade og tidlig afløvning bevirker en dårlig afmodning af årsskuddene som følge af underforsyning med assimilater. Dette kan ses det følgende forår, hvor angrebne skud i højere grad vil være frostskaadede end sunde skud (4, 7).

I den særdeles modtagelige sort Montmorency, har *Dutton* (7) fundet følgende følgevirkninger af et alvorligt angreb, idet han sammenlignede med en ikke angrebet parcel:

- 1) Blomstringen blev forsinket 2-4 dage
- 2) 18% af frugtsporerne var døde, og de resterende var formindskede og indeholdt kun halvt så mange blomster som sunde sporer.
- 3) blomsterne var reduceret i størrelse
- 4) stort frugtfald inden høst
- 5) formindsket gennemsnitlig bærstørrelse

6) høsten blev reduceret til 35% af udbyttet i en sund plantage

7) bladareal og årsskudtilvækst var nedsat, hvilket bevirkede et reduceret antal knopper andet år efter angrebet.

Spredningsbetingelser

Afgivelse af ascosporer (fig. 5) og apotheciekonidier som primært smitstof sker i en relativ kort periode i foråret. Resten af sæsonen sker sygdoms-spredningen med makrokonidier, der afgives fra de primære og sekundære infektioner. Forskellige faktorer indvirker på smitstofafgivelsen:

Ascosporer

Modning

Udslyngning af ascosporer starter, når de første asci er modne. Det vil som regel være ved blomstringsperiodens slutning, hvor bladene netop er så udsprungne, at de har modne spalteåbninger, og svampen derfor kan etablere sig. Tidspunktet kan dog forsinkes af køligt vejr og/eller tørke, eller det kan fremskyndes af varmt, fugtigt vejr (15).

Apothecierne på et blad modner ikke samtidigt, og inden for et apothecie modner de enkelte asci på forskellige tidspunkter. Dette giver anledning til en serie af sporeafgivelser fra samme blad. I det enkelte ascus vil alle 8 ascosporer dog være modne samtidig og afgives fra ascus i løbet af ganske kort tid (15).

Modenhed hos et apothecie ses derved, at det beskyttende lag af celler sprænges, og de lyse asci og parafyser står som en synlig krans i kanten af pletten. Sprængningen sker kun under fugtige forhold (15).

Hvis der inden sporeudslyngningen indtræder tørke i kortere eller længere tid, vil asci trække sig tilbage i apotheciet. De er dog rede til straks at svulme, når tilstrækkelig fugt atter er til stede, og ascosporerne har bevaret deres spiredygtighed (15).

Mekanisme

Når et ascus er modnet og opfugtet, vil de 8 ascosporer straks afgives gennem en perforation i as-

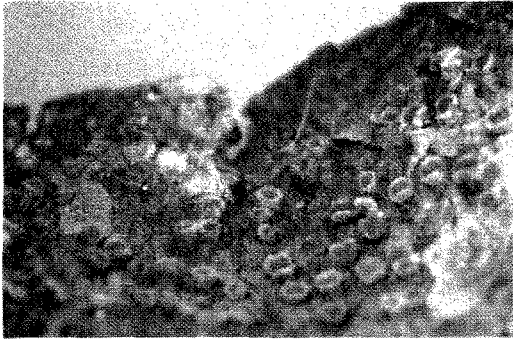


Fig. 2. Apothecier på bladunderside med krans af modne asci og parafyser. Foto HJ, maj 1984.
Apothecia at the lower side of a leaf holding mature asci and paraphyses. Photo by HJ, May 1984.

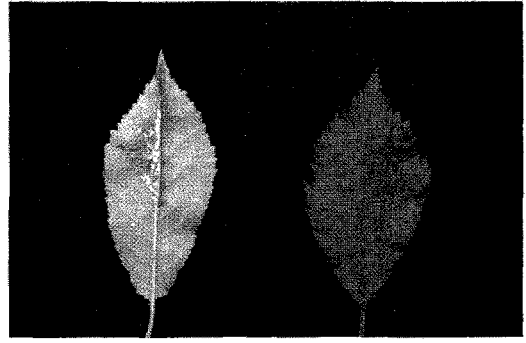


Fig. 3. Tidlige symptomer på angreb af kirsebærbladpletsyge. Til venstre bladunderside med hvidlig belægning af makrokonidier. Til højre sammenflydende bladpletter på bladoversiden. Foto KJ, juli 1985.
Early symptoms of cherry leaf spot disease. Left: lower side of the leaf with macroconidia. Right: cherry leaf spot symptoms on the upper side of the leaf. Photo by KJ, July 1985.

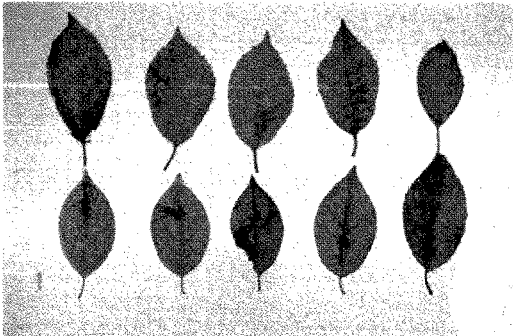


Fig. 4. Sene symptomer på angreb af kirsebærbladpletsyge. Foto HJ, september 1984.
Late symptoms of cherry leaf spot disease. Photo by HJ, September 1984.

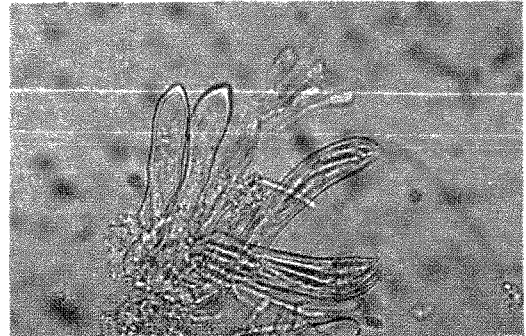


Fig. 5. Fire asci med ascosporer samt parafyser. Foto HJ.
Four asci containing ascospores and paraphyses. Photo by HJ.

cus' spids. Sporerne slynges ud og op gennem det lag af ikke-turbulent luft, der befinder sig over bladoverfladen. Derefter transporteres de videre med opadgående luftstrømme til de nyudsprungne blade (12, 15).

Klima

Udslyngning af modne ascosporer starter, når ascus er tilstrækkelig fugtigt, dvs. oftest i regnvejr,

men den største afgivelse pr. tidsenhed optræder ved faldende luftfugtighed efter regnen.

Keitt (15) fandt således, at optimum for ascosporeafgivelse var efter en regnperiode, når den relative luftfugtighed var 60%.

Den mindste nedbørsmængde, der kan udløse en ascosporeafgivelse er 1 mm regn (17).

Det største primære smittetryk vil derfor opstå i perioder med relativt tørt vejr med regnbyger.

I hele *temperaturintervallet* 1-36°C kan modne asci afgive ascosporer. Intensitet og varighed af afgivelsen fra gennemfugtede blade varierer med temperaturen (15):

1-8°C	svag afgivelse	i mere end 12 dage
8-12°C	middel afgivelse	i mere end 9 dage
12-16°C	rigelig afgivelse	i mere end 5 dage
16-24°C	særdeles stor afgivelse	i mindst 1 døgn
24-36°C	eksplosiv afgivelse	i højst 1 døgn

Ascosporeafgivelsen er således størst i lunt vejr ved begyndelsen af en tørvejrperiode, og da findes der ofte kraftige, opadgående varme luftstrømme, der kan bære ascosporerne højt op i trækronerne. Spredningsradius kan være stor, hvis det samtidig blæser, men der findes ingen opgørelser over målte spredningsafstande.

Apotheciekonidier

Der findes ingen eksakte oplysninger om fugtigheds- og temperaturforhold for apotheciekonidiernes afgivelse.

Det angives kun, at der kræves en rigelig opfugtning af bladene for initiering af afgivelsen (15).

Apotheciekonidier kan øjensynligt afgives på alle tidspunkter efter vinterens ophør eller i en mild periode i vinterens løb. Afgivelsen sker fra endnu umodne apothecier, fra tømte apothecier og fra apothecier, der er hindret i dannelse/afgivelse af ascosporer f.eks. pga. frost eller tørke (3, 12, 15).

Konidier

Afgivelsen af makrokonidier sker fra de primære og sekundære infektioner, og kan starte endnu før disse er synlige med det blotte øje, dvs. få dage efter infektionen. Afgivelserne sker gennem hele sæsonen og ophører først i midten af august, når acervuli skifter over til mikrokonidieproduktionen. Derfor opstår undertiden hornformede dannelser af konidieslim.

Makrokonidier dannes kun, når klimaet er fugtigt i temperaturintervallet 1-28°C med optimum ved 12°C (15).

Det enkelte acervulus bevarer evnen til sporu-

lering, uanset om vejret har været ugunstigt i en kortere eller længere periode, og konidierne bevarer spire- og infektionsevnen i lang tid efter dannelsen. Der dannes derfor efterhånden en meget stor potentiel smitstofmængde i løbet af en sæson (15).

Spredning af konidier sker kun passivt med dråber eller insekter. Vind alene kan ikke føre konidierne bort.

Spredningsradius er forholdsvis lille. Det er kun de nærmeste træer, der inficeres i måleligt omfang, og det vil som regel være på laversidende blade (15).

Iagttagelser i danske plantager viser dog, at angreb ofte breder sig opad i trækronerne af gamle, høje træer. Den alvorligste afløvning ses ofte i toppen af træerne. Dette kan have sammenhæng med utilstrækkelig effektivitet af sprøjtning øverst i trækronerne.

Infektionsbetingelser

Temperatur og luftfugtighed

For både konidier og ascosporer gælder det, at konstant fugtighed på bladoverfladen er nødvendig for at spiring og infektion kan ske. Findes der en vandhinde, vil spirings- og infektionshastigheden kun afhænge af temperaturen (15) (fig. 6).

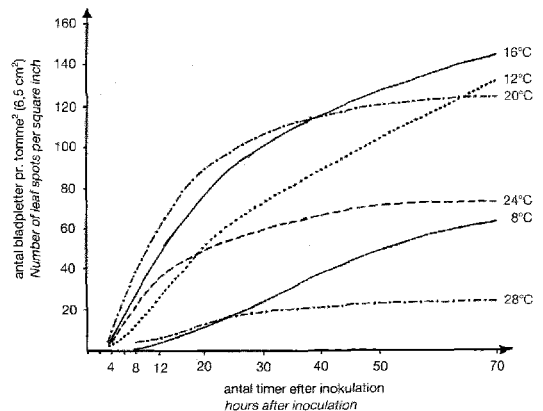


Fig. 6. Infektionsgrad, målt i antal bladpletter pr. kvadratomme, opnået ved inokulering ved 6 forskellige temperaturer. (Efter 15).

Degree of infection measured as numbers of leaf spots per square inch obtained by inoculation at six different temperatures (After 15).

Ascosporer og konidier spirer i temperaturintervallet 4-32°C. Ascosporer har optimal spiring i intervallet 12-26°C, mens konidier er mindre temperaturløstolerante – de spirer optimalt ved 20-24°C (15) (fig. 7).

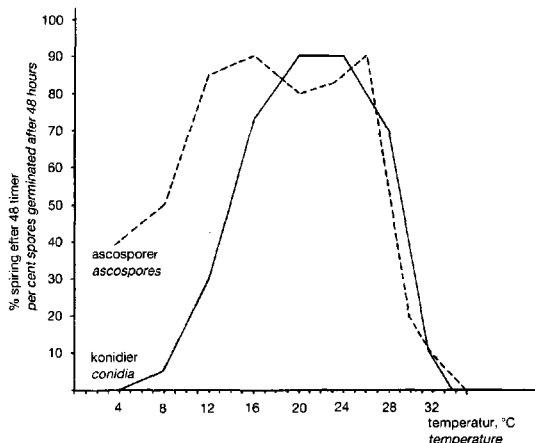


Fig. 7. Procent spirede makrokonidier og ascosporer ved forskellige temperaturer in vitro. (Efter 15).

Per cent of macroconidia and ascospores germinating at different temperatures in vitro. (After 15).

På grundlag af Keitt's resultater (15) opstillede Eisensmith og Jones (8) en regressionsmodel for temperatur- og fugtighedsforholds indvirkning på infektionsforløbet. Undersøgelserne omfattede kun makrokonidiernes spiring og infektion, da disse kan dyrkes og iagttages in vitro.

Eisensmith og Jones dannede en parameter, EFI = environmental favorability index, der er et udtryk for infektionsrisikoen. EFI kan beregnes, når temperatur og antal timer med vandhinde på bladoverfladen er kendt:

$$EFI = (-11,0 + 0,2858W + 1,4639T - 0,019 W^2 - 0,0389T^2 + 0,0030 WT)^2,$$

hvor W = timer med vandhinde incl. tørvejr < 8 timer og incl. tørvejr med RH% > 90, og hvor T = gennemsnitstemperatur i °C i perioden W.

EFI kan variere mellem 0 og 100, hvor EFI = 100 udtrykker maksimal infektionssandsynlig-

hed. EFI = 14 er minimumsbetingelse for, at infektion kan ske, EFI = 28 giver anledning til moderat infektionsrisiko, og EFI = 42 og EFI = 56 angives at svare til henholdsvis kraftig og meget svær infektion. De 4 niveauer er afbildet i fig. 8.

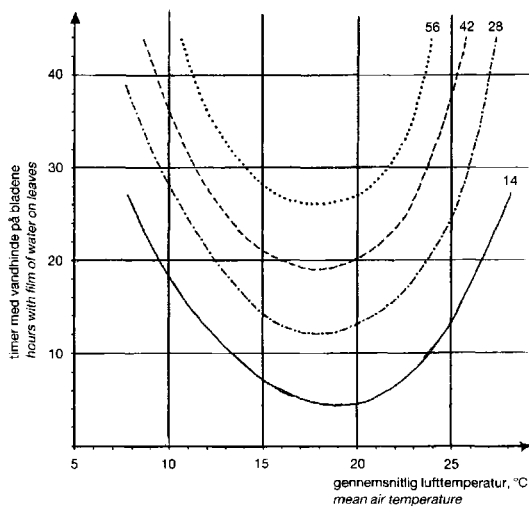


Fig. 8. Infektionsdiagram for sekundære infektioner (makrokonidier). EFI = 14, 28, 42 og 56 angiver henholdsvis begyndende, moderat, kraftig og meget svær infektion. (Efter 8).

Diagram of secondary infection (macroconidia). EFI = 14, 28, 42 and 56 respectively showing beginning, moderate, heavy and severe infection. (After 8).

Diagrammet svarer til Mills' skurvtabel for æbleskurvinfektionsrisiko, hvor kurven for begyndende risiko senere er blevet omskrevet til Mills' skurvtabel (16). På samme måde kan EFI = 14 omskrives til en bladpletsygetabel.

Table 1. Mills' skurvtabel. (Efter Mills (16)). Minimumsbetingelser for infektionsrisiko for æbleskurv.

°C	5	6	7	8	9	10	12	14	16	25
timer	48	25	20	17	15	14	11	10	11	9
hours										

Tabel 2. Minimumsbetingelser for infektion med bladpletsyge. (Efter Eisensmith & Jones (8)).

°C: gennemsnitstemperatur i perioden.
 Timer: antal timer med vandhinde på bladene.
Minimum conditions of infection with cherry leaf spot disease (after Eisensmith & Jones (8)).
 °C: Mean temperature in the period.
 Hours: Number of hours with film of water on leaves.

°C	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26
timer	26	18	12	8	6	4	5	7	11	16
hours										

En af vanskelighederne ved at benytte bladplet-sygetabellen er usikkerheden ved bedømmelse af bladenes fugtighedstilstand i tørvejrperioder, der varer mere end 8 timer. Det gælder særlig, hvis tørvejret indtræder efter en meget kortvarig nedbørsperiode.

Det er vist, at en uafbrudt våd periode bevirker flere infektioner end en afbrudt våd periode, når det samlede antal timer med vandhinde i øvrigt er ens. Når afbrydelsen sker tidligt i nedbørsperioden, er styrken af infektionen reduceret mere, end når afbrydelsen sker senere.

Disse forhold omkring varigheden af bladenes vandhinde er ikke indregnet i EFI-modellen, men skal tages i betragtning, når aflæsning af diagrammet og tabellen sker (10). Det skal i øvrigt understreges, at tabellen endnu ikke er afprøvet under danske forhold, men at den kan anvendes med tilfredsstillende resultat i sorten Montmoureny i Michigan, USA.

Bladalders

Mikroskopiske iagttagelser har vist, at infektion antagelig kun sker gennem spalteåbninger. En betingelse for infektion er derfor, at bladene har udviklet modne spalteåbninger. Det sker på det tidspunkt under udspringet, hvor de på langs foldede bladhalvdele lukker sig op (15).

I perioden derefter og indtil fuldstændig udfoldelse har bladene den største modtagelighed, dvs. der opstår det største antal bladpletter pr. bladarealenhed ved en given konidiekoncentration (9).

Efter bladenes fuldstændige udfoldelse aftager

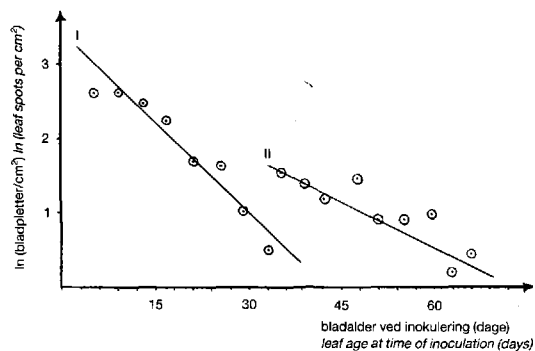


Fig. 9. Lineær regression af \ln (antal bladpletter/cm²) opgjort 11 dage efter inokulering af blade af forskellig alder. Resultater af to forsøg, I og II. (Efter 9).

Linear regression of \ln (number of leaf spots/cm²) counted 11 days after inoculation of leaves of different age. Results of two experiments, I and II. (After 9).

modtageligheden eksponentielt, hvilket fremgår af fig. 9 (9).

Egne undersøgelser 1983/84 & 1984/85

Vore undersøgelser af bladpletsygen har omfattet følgende områder:

- 1) Svampens overvintringstilstand
- 2) Spredning af primært smitstof
- 3) Rendyrkning in vitro.

Materialer

Forsøgsmaterialet bestod i begge forsøgsår af symptombærende blade fra surkirsebærarterne Skyggemørel og Stevnsbær. Undersøgelserne omfattede dog ikke en skelnen mellem sorterne.

Bladene blev plukket i september og oktober og blev derefter placeret i et overvintringsdepot, hvorfra det var muligt at udtage blade til undersøgelse gennem hele vinteren.

Depotet var 1m² stort og bestod af et finmasket plasticnet, hvorpå bladene blev anbragt så vidt muligt i et enkelt lag. Nettet blev lagt mellem 2 kyllingenet af samme størrelse. For at beskytte bladene mod regnorme og andre jordboende dyr, blev nettet anbragt på en opfugtet vatex-matte og derefter gjort fast på jorden under en samling kirsebærtræer på Planteværnscentret i Lyngby.

1) Svampens overvintringstilstand

Svampens udvikling fra efterår til forår blev iagttaget ved jævnligt at udtage 3-8 blade fra depotet – nogle med oversiden opad og nogle med undersiden opad.

Bladpletternes udvikling blev begge år undersøgt under mikroskop straks efter udtagelsen.

I 83/84 blev bladene derefter opbevaret ved -18°C indtil maj 1984, hvor de blev optøet i fugtkammer og mikroskopert.

I 84/85 blev bladene anbragt i en petriskål foret med fugtigt filterpapir (= fugtkammer) ved

stuetemperatur i ca. en uge indtil næste mikroskopering. Denne »drivning« fremskynder udviklingen af apothecier (1, 3, 11, 15). Ca. 2-4 mm over bladene anbragtes et vaselinesmurt objektglas til opfangning af ascosporer.

Resultater 1983/84

Iagttagelser af svampens udvikling i løbet af vinteren og foråret 1983/84 fremgår af tabel 3. På blade opbevaret ved -18°C i 1 uge–6 måneder inden optøning fandtes apotheciekonidier på alle bladpletter, men ingen ascosporer.

Tabel 3. Resultater 1983/84

Blade udtaget	10–40 × forstørret	100–400 × forstørret
dec./jan.	– ingen ændring i forhold til november	–
febr./marts	– stroma hævet	–
10. april	– stroma hævet og revnet – hvidlige konidiemasser	– på bladoversiden findes apotheciekonidier – på undersiden ses makrokonidier
5. maj	– modne apothecier med synlig krans af asci og parafyser – hvidlige konidiemasser i centrum af apotheciet	– asci indeholder modne ascosporer eller er tømt for disse – apotheciekonidier afgives fra centrum af apotheciet
10. juni	– tømte, kraterformede apothecier – hvidlige konidiemasser fra centrum af apotheciet	– der findes kun tømte, indsunkne asci – apotheciekonidier findes stadig

Resultater 1984/85

Iagttagelser af svampens udvikling i løbet af vinteren og foråret 1984/85 fremgår af tabel 4.

2) Primær smittespredning

Til registrering af primært smitstof anvendtes 2 sporefælder placeret henholdsvis 12 og 2,5 cm over bladdepotet. Fælderne består af en vindfløj, hvorunder der hænger et vaselinesmurt objektglas. Glasset blev skiftet en gang om dagen (kl. 8 morgen) og undersøgt for tilstedeværelse af sporer.

Opgørelsen foregik under mikroskop ved 100 × forstørrelse. Der blev optalt det antal sporer, der træffes i synsfeltet ved at passere en gang på

den lange led og 5 gange på den korte led over glasset.

Sideløbende med sporefangsten registreredes nedbørsmængde, relativ luftfugtighed og lufttemperatur ved en klimastation tæt ved overvintringsdepotet.

Samtlige registreringer blev foretaget i perioden 15. april til 15. juli 1985.

Resultater

I fig. 10 er sporetællinger, nedbør og temperatur afbildet for perioden 1. juni–15. juli 1985.

I tidsrummet indtil 1. juni fangedes ingen ascosporer, og der blev kun registreret nedbør > 1 mm i dagene 23. april–1. maj samt 9. maj.

Tabel 4. Resultater 1984/85

Blade udtaget	10-40 × forstørret	100-400 × forstørret
15. april	<ul style="list-style-type: none"> - stroma hævet - <i>stroma revnet</i> - <i>konidiemasser fra centrum af stroma</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - parafyser og små, umodne asci (fig. 5) - <i>apotheciekonidier fra centrum</i>
22. april	<ul style="list-style-type: none"> - stroma revnet - <i>tømte apothecier og enkelte med asci og parafyser i lys krans</i> - <i>konidiemasser i »horn«</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - tydelige apothecier, men asci endnu umodne - <i>asci er tømte, men stadig ses små, umodne asci</i> - <i>apotheciekonidier</i>
29. april	<ul style="list-style-type: none"> - stroma revnet - 3-4 timer i fugtkammer fremkalder modne, åbne apothecier - <i>tømte, kraterformede apothecier m. konidiemasser</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - tydelige apothecier med modne asci og ascosporer - <i>få ascosporer fanget på objektglas</i>
6. maj og 13. maj	<ul style="list-style-type: none"> - tørre apothecier - 2 timer i fugt giver opsvulmning - <i>tømte apothecier med konidiemasser i »horn«</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - helt modne apothecier - <i>mange ascosporer fanget på objektglas</i>
20. maj, 28. maj og 3. juni	<ul style="list-style-type: none"> - tørre apothecier - opsvulmning straks efter opfugtning - <i>tømte apothecier</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - helt modne apothecier - <i>stort antal ascosporer fanget</i>
10. juni	<ul style="list-style-type: none"> - våde, opsvulmede apothecier - få med konidiemasser 	<ul style="list-style-type: none"> - helt modne apothecier - en del tømte asci
17. juni	<ul style="list-style-type: none"> - tørre apothecier og mange tømte apothecier 	<ul style="list-style-type: none"> - helt modne apothecier - en del tømte asci

Iagttagelser i kursiv: udvikling efter 1 uge i fugtkammer v. 20°C.

Figuren viser en tydelig sammenhæng mellem nedbør og ascosporeafgivelse.

3) Rendyrkning *in vitro*

Kartoffeldextroseagar (KDA) med tilsætning af næringssalte ifølge Blumer (3) og et bakterie-hæmmende stof, Novobiocin, viste sig at være bedst egnede substrat for *in-vitro*-dyrkning af bladpletsygesvampen (13).

Som podemateriale anvendtes konidier fra blade, der var skyllet grundigt med vand og lagt med undersiden opad i fugtkammer til næste dag. De afgivne konidiemasser kunne derefter forsigtigt fjernes med en nål og afsættes direkte på substratet i sterile petriskåle. Denne fremgangsmåde forhindrer kontamination af kulturerne med saprophytter fra bladoverfladen.

Efter podning blev petriskålene anbragt mørkt ved 20-21°C.

Ca. 3 uger senere blev kolonierne ompodet til friske substrater med samme næringssammensætning.

Et antal podninger blev udført ca. hver 3. uge fra september 1984 til januar 1985, idet der anvendtes konidier fra blade udtaget af overvintringsdepotet.

Resultater

Det var kun podninger foretaget indtil 1. november 1984, der slog an. Svampens vækst var særdeles langsom. De første synlige kolonier dannedes 8-10 dage efter podning.

3-4 uger efter podning var kolonierne 2-3 mm i diameter, hvælvede, lysebrune med en hvid belægning af myceliefilt.

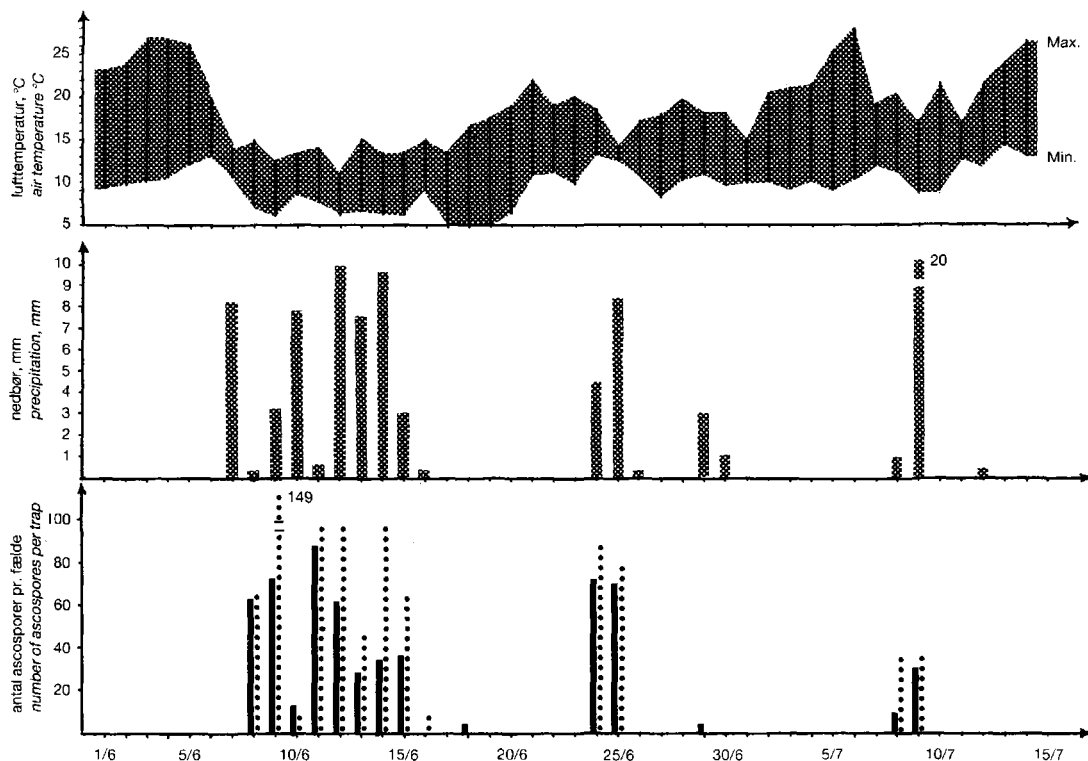


Fig. 10. Ascosporefangst og klimaregistrering i perioden 1/6–15/7 1985. Optælling af 2 sporefælder placeret henholdsvis 12 cm (—) og 2,5 cm (· · · ·) over overvintringsdepot med symptombærende blade. Diagrammet viser nedbør, minimum- og maximumværdi af lufttemperatur for hvert døgn.

Capture of ascospores and weather recordings from 1 June to 15 July 1985. Counts taken from 2 sporetraps placed respectively 12 cm (—) and 2.5 (· · · ·) above a overwintering deposit of diseased leaves. The diagram shows precipitation, minimum- and maximum values of airtemperature during each day and night.

2 mdr. efter podning skiftede kolonierne udseende til nærmest sorte, kulagtige med lysebrun rand og stadig dækket af hvid myceliefilt. De var da 10-15 mm i diameter, hvælvede med furer og kamme i overfladen.

Efter 1 år var kolonierne 20-30 mm i diameter. Væksten kunne ikke stimuleres ved ompodning til frisk substrat.

Ved jævnlige udtagelse af prøver af kolonierne og mikroskopere disse, kunne det konstateres, at farveskiftet indtrådte samtidig med, at svampen begyndte at danne makrokonidier.

Disse konidiers karakteristiske udseende bekræftede bladsymptomernes årsag og kulturens identitet: *Phloeosporella padi*.

Diskussion

1) Overvintringstilstand

Bladpletsvampens overvintringsform har været kendt i USA siden Higgins i 1914 afklarede apotheciedannelse m.m. (11). I Europa var den kønede form ikke fundet før Burkowicz i 1964 fandt organer, hun mente var apothecier (5). Indtil da regnede man med, at svampen overvintrede i pyknidielignende dannelser, der afgav konidier det følgende forår (3). 2 vintres iagttagelser af danske symptombærende kirsebærblade har imidlertid bekræftet Burkowicz' antagelser mht. svampens overvintringstilstand.

Ved at udtage blade til observation og »driving« i fugtkammer kunne vi konstatere, at der

sker en apothecieudvikling, som starter i det sene efterår og fortsætter, når foråret sætter ind. Tilsvarende iagttagelse gjorde *Higgins* (11), der yderligere så, at en betingelse for apotheciedannelsen er, at parafyser og trichogynhyfer er dannet fra acervulus' bund ved vinterens begyndelse.

Hvis der indtræffer en periode i efteråret med streng frost, vil apotheciedannelsen udeblive, og der afgives i stedet apotheciekonidier det følgende forår, eller når bladene »drives« (15). Dette stemmer overens med effekten af nedfrysning af blade udtaget i løbet af vinteren.

Vore resultater tyder yderligere på, at frost i slutningen af vinteren har en tilsvarende apotheciehæmmende virkning, idet blade, der blev udtaget 5. maj 1984, frosset (-18°C) og optøet, kun dannede apotheciekonidier ved »drivning«. Ubehandlede blade udviklede apothecier og ascosporer. Apotheciekonidier har således en funktion som reservesmitstof, når apothecieudviklingen svigter.

Apotheciemandingens placering afhænger til en vis grad af bladens orientering, idet de oftest findes på den bladside, der vender opad.

Hvis undersiden vender opad, findes flere modne apothecier, end hvis oversiden vender opad. På den bladside, der vender nedad, fandt vi ofte apothecier, der ikke færdigudvikledes, men i stedet afgav apotheciekonidier. *Higgins* (11) og *Keitt* (15) viste samstemmende hermed, at ascosporer afgives fra den opadvendende bladside. I en tæt pakket bunke af blade vil der således kun dannes apothecier på det øverste lag, og blade, der er foldet bærer ingen apothecier på den nederste fold (11). Dette var begrundelsen for, at bladene i overvintringsdepotet så vidt muligt blev lagt i et lag.

2) Sporeafgivelse

Sammenholdes vore iagttagelser af svampens overvintringstilstand med temperaturforholdene fra 23. april til 1. maj, kan det forklares, at sporeafgivelsen udeblev i en periode, hvor nedbør > 1 mm normalt ville føre til ascosporeafgivelse:

Dels fandt vi ingen modne apothecier før den 29. april (tabel 4), og da var der kun få i forhold

til det samlede antal apothecier. Dels var temperaturen for lav til, at sporeafgivelsen kunne ske i måleligt omfang ($0-7^{\circ}\text{C}$).

Det lange, kolde forår i 1985 havde i øvrigt forsinket kirsebærtræernes knopbrydning, således at der ikke fandtes modtagelige blade før ca. 20. maj.

Keitt (15) og *Eisensmith* og *Jones* (10) fandt, at apotheciemandingen var korreleret til kirsebærknoppens udvikling og brydning. Vi kunne derfor ikke forvente en ascosporeafgivelse allerede i slutningen af april, når knopbrydning først indtraf i begyndelsen af maj.

3) Rendyrkning in vitro

Higgins (11) og *Backus* (2) kunne ikke bringe mikrokonidier til spiring på kunstigt substrat. *Higgins* mente at have føjet et vægtigt argument til diskussionen om mikrokonidiernes rolle for svampen ved at kunne påvise deres manglende spiredygtighed. De har herved et væsentligt træk til fælles med spermatier, der bl.a. defineres ved ikke at kunne spire *in vitro* (2).

Vore undersøgelser viste samstemmende, at de podninger, der blev foretaget efter 1. november, kun meget sjældent slog an. En mikroskopering af konidiemasserne før podning afslørede, at antallet af makrokonidier aftog stærkt i løbet af efteråret, mens mikrokonidier fandtes i tiltagende mængde.

De fejlslagne podninger i november-januar skyldtes således et stort indhold af ikke-spiredygtige mikrokonidier i podematerialet.

Konklusion

- Undersøgelserne har vist, at overvintring sker i apothecieform i Danmark, og at primær smitstof består dels af ascosporer og dels af apotheciekonidier.
- Overvintringstilstanden påvirkedes af frost især i begyndelsen og slutningen af vinteren. Pludselig streng frost (-18°C) blokerer for apotheciedannelsen, og primær smitstoffet består derefter kun af apotheciekonidier.
- Ascosporer afgives i maj-juni måned, når de

- rette klimaforhold er til stede, dvs. lunt vejr med vedvarende regn eller tætliggende byger.
- Makrokonidier dannes fra de primære og sekundære infektioner. De afgives i regnfulde perioder i løbet af sommeren og udgør sygdommens epidemiske cyklus.
 - Mikrokonidier dannes i efteråret i acervuli. De er ikke spiredygtige *in vitro*, men menes at optræde som spermatier, dvs. hanlige kønsceller og deltager i øvrigt i beskyttelsen af overvintringsorganerne.
 - Svampen kan isoleres og re dyrkes på substrat bestående af KDA med tilsætning af nærings-salte og antibiotikum, Novobiocin. Vækst og sporulering har optimum ved 16–21°C, men væksten er generelt meget langsom.
 - Podning og infektionsforsøg kan kun foretages med suspensioner af makrokonidier isoleret enten fra *in vitro*-dyrkede kolonier eller fra acervuli inden udgangen af september.

Litteratur

1. Arx, J. A. von 1961. Über *Cylindrosporium padi*. Phytopath. Z. 42, 161–166.
2. Backus, M. P. 1934. Initiation of the ascocarp and associated phenomena in *Coccomyces hiemalis*. Cont. Boyce Thompson Inst. 6, 339–379.
3. Blumer, S. 1958. Beiträge zur Kenntnis von »*Cylindrosporium padi*«. Phytopath. Z. 33, 263–290.
4. Bömeke, N. 1965. Über die Sprühfleckenkrankheit bei Kirschen. Mitt. Obstbauversuchsring Altes Landes 20, 409–412.
5. Burkowicz, A. 1964. *Blumeriella jaapii* (Rehm) v. Arx on cultivated stone fruits in Poland. Phytopath. Z. 51, 419–423.
6. Dansk Erhvervsfrugtavl: Sprøjtevejledning 1985, 88 pp.
7. Dutton, W. C. & Wells, H. M. 1925. Cherry leaf spot. Residual effects and control. Spec. Bull. Michigan Agr. Exp. Stn., No. 147, 16 pp.
8. Eisensmith, S. P. & Jones, A. L. 1981. A model for detecting infection periods of *Coccomyces hiemalis* on sour cherry. Phytopathology 71, 728–732.
9. Eisensmith, S. P., Sjulín, T. M., Jones, A. L. & Cress, C. C. 1982. Effects of leaf age and inoculum concentration on infection of sour cherry by *Coccomyces hiemalis*. Phytopathology 72, 574–577.
10. Eisensmith, S. P., Jones, A. L. & Cress, C. C. 1982. Effects of interrupted wet periods on infection of sour cherry by *Coccomyces hiemalis*. Phytopathology 72, 680–682.
11. Higgins, B. B. 1914. Contribution to the life history and physiology of *Cylindrosporium* on stone fruits. Am. J. Bot. 4, 145–173.
12. Hochapfel, H. 1952. Die *Cylindrosporium*-Krankheit an Süß- und Sauerkirschen in Europa und Nordamerika. Phytopath. Z. 19, 389–402.
13. Jakobsen, H. 1985. Kirsebærbladpletsyge og æbleskurv med særligt henblik på overvintring – herunder egne undersøgelser. Hovedopgave, Planterpatologisk Afdeling, Den kongelige Veterinær- og Landbohøjskole, 146 pp.
14. Keitt, G. W. 1918. Inoculation experiments with species of *Coccomyces* from stone fruits. J. Agr. Res. 13, 539–569.
15. Keitt, G. W. 1937. The epidemiology and control of cherry leaf spot. Wisconsin Res. Bull. No. 132, 118 pp.
16. Mills, W. D. 1944. Efficient use of sulphur dusts and sprays during rain to control apple scab. Extension Bull. Cornell Agr. Exp. Stn. No. 630, 4 pp.
17. Myalowa, L. A. 1983. Development of the ascus stage of *Coccomyces*-blight causal agent *Coccomyces hiemalis* Higgins, on sweet cherry. Mikologia i Fitopatologia 17, 140–143.
18. Neergaard, P. 1949. Kirsebærbladpletsyge (*Higginsia hiemalis*) – en for Danmark ny, alvorlig kirsebær-sygdom. Gartner Tidende 46, 487–489.
19. Pettersson, M. L. 1981. Starka angrepp av bladfläcksjuka, *Phloeosporella padi* (Lib.) v. Arx, på surkörsbär, *Prunus cerasus*, under 1981. Växt-skyddsnotiser 45, 218–222.

Manuskript modtaget den 12. maj 1986.