

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT



(11) 158439 B

(21) Patentansøgning nr.: 4254/84

(51) Int.Cl.⁵ A 01 N 63/04

(22) Indleveringsdag: 06 sep 1984

(41) Alm. tilgængelig: 08 mar 1985

(44) Fremlagt: 21 maj 1990

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 07 sep 1983 DK 4059/83

(71) Ansøger: *NOVO INDUSTRI A/S; Patent- og Varemærkeafdelingen; Novo Alle; 2880 Bagsværd, DK

(72) Opfinder: Vibeke *Leth; DK

(74) Fuldmægtig: -

(54) **Herbicidt middel indeholdende et smittemateriale, fremgangsmåde til bekæmpelse af ukrudt tilhørende familien tribus Cardueae og anvendelse af et smittemateriale til ukrudtsbekæmpelse**

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

4254-84

Smittemateriale, der kan fås ved dyrkning af
Phomopsis cirsii eller Septoria cirsii, kan bruges til bekæmpelse af ukrudt såsom Compositae.

DK 158439 B

Denne opfindelse angår et herbicid middel til bekæmpelse af planter tilhørende familien tribus Cardueae, hvilket middel som aktiv bestanddel indeholder et smittemateriale, som fås ved dyrkning af svampen *Phomopsis cirsi* eller *Septoria*
5 *cirsi*. Dette herbicide middel indeholder en effektiv mængde af smittematerialet og eventuelt andre aktive stoffer og et agromisk foreneligt fortyndingsmiddel eller bærestof. Opfindelsen angår endvidere en fremgangsmåde til bekæmpelse af ukrudt tilhørende familien tribus Cardueae ved hvilken det område,
10 skal beskyttes, behandles med en effektiv mængde af et smittemateriale, som fås ved dyrkning af svampen *Phomopsis cirsi* eller *Septoria cirsi*. Som smittemateriale bruges fortrinsvis opformeret *Phomopsis cirsi*.

Svampene opformerer på næringssubstrater, hvorefter
15 det vundne, friske eller preservede smittemateriale i passende mængde spredes ud over ukrudtsplanterne i marken.

Der kendes andre, kunstigt opformede svampearter, som anvendes på lignende måde mod andre ukrudtsarter (jfr. *Weed Science* 21 (1973), 303 ff, *Ann.Rev.Phytopathol.* 17 (1979), 301
20 ff, og *Plant Disease Reporter* 58 (1974), 355 ff), og disse såkaldte mycoherbicer forhandles i dag under varemærkerne *Devine*TM og *Collego*TM (*Phytopathology* 73 (1983), 774).

Kurvblomstrede ukrudtsarter bekæmpes i dag med kemiske herbicer. Disse har ofte ingen effekt på ukrudtet,
25 hvilket kan skyldes ugunstige klimatiske forhold på udsprøjtnings tidspunktet, eller at længere tids anvendelse af de kendte herbicer selekterer for herbicidresistente ukrudtstyper. Disse faktorer samt ikke mindst miljømæssige hensyn gør det ønskeligt at anvende biologiske herbicer.

30 Svampen *Phomopsis cirsi* Grove blev første gang beskrevet af Grove i *British Stem- and Leaf-fungi* (*Coelomycetes*) 1 (1935), 177, og svampen *Septoria cirsi* Niessl blev beskrevet af Saccardo i *Sylloge Fungorum* 3 (1884), 550.

I 1983 blev en stamme af *Phomopsis cirsi* deponeret hos Commonwealth Mycological Institute Culture Collection (CMI), Ferry Lane, Kew, England, under herbarium-nr. 278.416. I 1983 blev en stamme af *Septoria cirsi* deponeret hos CMI under 5 nr. 280.201. Den 17. juli 1984 blev yderligere 4 stammer af *Phomopsis cirsi* deponeret hos CMI under numrene 287.566 til og med 287.569, og den 27. juli 1984 blev yderligere 2 stammer af *Septoria cirsi* deponeret hos CMI under numrene 287.750 og 287.751.

10 Den patogene effekt af *Phomopsis cirsi* og af *Septoria cirsi* på planter er hidtil ukendt. Det har nu overraskende vist sig, at *Phomopsis cirsi* angriber værtsplanternes bladnerver og stængler, der efterhånden som sygdommen skrider frem skrumper ind og forkuller. Symptomer af denne art kan hen- 15 føres til toxindannelse i planten. Udskillelsen af specifikke phytotoxiske stoffer fra svampene eller fra reaktion mellem planten og svampene kan også ses derved, at smittede plantedele, der ikke viser tegn på svampeinvasion, bliver gule og visner tidligere, end de normalt ville have gjort. Dette bety- 20 der, at de phytotoxiske produkter også har en bekæmpende effekt på værtsplanterne.

Planter kan bekæmpes ved at udsprøjte et smittemateriale, der fås ved dyrkning af *Phomopsis cirsi*, såsom mycelfragmenter, sclerotier, pyknider, konidier og phytotoxiske 25 stoffer derfra.

Planter kan smittes ved at udsprøjte et smittemateriale, der fås ved dyrkning af *Septoria cirsi*, såsom pyknider, konidier og phytotoxiske stoffer derfra.

Hver af disse svampestrukturer kan som smittemateriale 30 le anvendes alene eller i forening. Smittematerialet kan også fås fra forskellige stammer af svampene.

Smittematerialet i det herbicide middel ifølge denne opfindelse, der fås ved dyrkning enten af *Phomopsis cirsi* eller af *Septoria cirsi*, kan anvendes hver for sig, men hvis 35 der bruges smittemateriale fra begge svampe, opnås et større

værtsregister og en større økologisk amplitude. Dette vil alt efter forholdene give den mest hensigtsmæssige bekæmpelses-effekt.

Det har ikke tidligere været kendt, at det er muligt
5 ved dyrkning af *Phomopsis cirsii* eller *Septoria cirsii* at lave smittemateriale, der kan anvendes som væksthæmmende middel over for planter eller som herbicid. Yderligere er det heri beskrevne smittematerialers specificitet mod forskellige plantearter overraskende.

10 Umodne pyknider fra *Phomopsis cirsii* er glatte, linseformede og dækkede af epidermis. Senere, under fugtige betingelser, danner pykniderne lange, fremstående halse, som gennem-bryder epidermis. Modne pyknider er pæreformede, énrummede, med bred, ofte flad og tyndvægget basis. Vægtykkelsen forøges mod
15 halsen. Hulrummet er for det meste enkelt, men nogen gange (fortrinsvis i tørt materiale) delt af intrusioner fra den indre væg.

Der er nogen uoverensstemmelse mellem *Phomopsis cirsii*-pyknidiernes morfologi på planten og i renkultur, men
20 den konidietypesuccession, der forekommer på planten, og konidierne karakteristika er identiske med svampens karakteristika i renkultur (beskrevet i det følgende).

Kolonier af *Phomopsis cirsii*, der er dyrket fra mycelium, som er isoleret fra smittede planter af *Cirsium arvense*,
25 gror hurtigt på 2% kartoffeldextroseagar (i det følgende: PDA) og når ca. 9 cm i diameter efter 3 døgn ved 20°C. På PDA, der er tilsat 1 g Novobiocin pr. liter substrat, er væksten stærkt hæmmet og standser ved en diameter på ca. 2 cm, efterladende en citrongul zone (halo) af misfarvet medium.

30 Almindeligvis (på 2% PDA) viser kolonier på PDA en vis variation i farven, efterhånden som kulturen bliver ældre. I begyndelsen er de nærmest hvide, en overgang ofte med grøngul mycelium i pletter eller i en zone, der strækker sig op til 2 cm fra periferien mod centeret af kolonien. Senere bliver

kolonierne gråbrune. Overfladen er tattet eller vatagtig. Yderkanten i begyndelsen med meget luftmycelium, som med alderen bliver tiltrykt. Gamle kulturer kan danne løftede cirkulære puder af tæt hvidt mycelium, ca. 3 til 5 mm i diameter.

5 Undersiden er i begyndelsen farveløs eller beige, en overgang med brune pletter. Til sidst er kulturen lysebrun, kastaniebrun eller sort.

 I kulturer, der stammer fra mycelstykker, dannes pyknider nedsænket i PDA efter ca. 35 til 40 døgn ved stuetempera-
10 tur.

 I de tidlige stadier er pykniderne solitære, relativt små, tyndvægede og mørkebrune til sorte. Med alderen udvikler der sig større og mere tykvægede pyknider, enten i klynger eller i komplekser med gensidigt forbundne vægge, og som ofte
15 kun deler én munding.

 Under fugtige betingelser bliver der dannet overvejende tydelige langstrakte enkle eller forgrenede halse med apicale munding, hvorfra konidierne udstødes i uigennemsig-
20 lignede på PDA-plader dem fra mycelium. Ved at bruge konidier dannedes der pyknider efter ca. 14 til 20 døgn.

 Som de fleste *Phomopsis* arter er *Phomopsis cirsii* i stand til at danne tre slags konidier. På planterne såvel som i kultur varierer konidietypen som et resultat af pyknidens alder
25 (jfr. fig. 1, der viser A-, B-, og C-konidier). B-konidier er typisk de første konidier, der dannes. Senere dannes der i de samme pyknider A-konidier, der gradvist bliver mere talrige. Når A-konidier dannes, kan der i små mængder findes C-konidier, som er en overgangstype mellem A- og B-konidier. Konidiernes
30 dimensioner synes at afhænge af det substrat, hvorpå svampen har været dyrket. De følgende beskrivelser af konidier er imidlertid baseret på observationer af og målinger på konidier, der er indsamlet fra planter og fra kulturer på PDA, på V8-agar og på havremelsagar.

A-konidierne er glasklare, éncellede, guttulate og ellipsoide, ofte svagt indsnøret i midterregionen; de måler ca. 7 - 10 x 2 - 3 μm . B-konidierne er glasklare, sædvanligvis krummede i den ene ende eller bugtede; de måler ca. 18 - 35 x 0,5 - 1 μm . C-konidierne er glasklare, svagt krummede med runde eller spidse ender, undertiden ellipsoide, lignende lange A-konidier, men for det meste er de multiguttulate; de måler ca. 14 - 30 x 2,5 - 3 μm .

På PDA-plader ved stuetemperatur udviste forskellige stammer af *Phomopsis cirsii* forskelle i vækstkarakter, i tilbøjelighed til at danne pyknider og i den rækkefølge, hvori A- og B-konidier dannes.

To ud af 15 stammer af *Phomopsis cirsii* dannede grynet, tæt tiltrykt, hvidt mycelium med meget få solitære pyknider. En anden stamme dannede A-konidier før B-konidier, selv om den udviste typiske kolonikarakteristika.

Adskillige arter af *Phomopsis* udgør det ukønnede stadium af slægten *Diaporthe* Nits. i klassen af *Pyrenomycetes* i *Ascomycotina*. Der er ikke observeret ascocarpe eller andre kønnede strukturer på kulturer af *Phomopsis cirsii*, selv når de var opbevaret i ét år ved stuetemperatur, ved 4°C eller under skiftende betingelser i laboratorium eller i naturen.

Pyknider fra *Septoria cirsii* er enkelte og indlejrede, kugleformede eller fladtrykt kugleformede med en diameter på ca. 40 - 100 μm , uden papil eller hals. Det konidieproducerende lag dækker hele den indre overflade af hulrummet. Pyknidevæggen er stromatisk, sammensat af adskillige lag af stærkt pigmenterede og relativt tykvæggede celler.

Konidier (ca. 20 - 80 x 2 - 3 μm) er cylindriske, let bugtede og normalt med 6 - 12 skille vægge. Den ene ende er stump til afrundet, den anden ende smallere og mere spids. Undertiden er konidierne uden tegn på tværdeling eller med kun fem eller færre tydelige tværvægge, alle dog inden for samme pyknide (jfr. fig. 2, der viser konidier af *Septoria cirsii* fra kultur på PDA).

Septoria cirsii gror godt på flydende såvel som på fast PDA, men ikke på Czapek Dox-næringssubstrat (Difco Laboratories, Detroit, USA). På PDA-plader gror kolonier, der stammer fra mycelium, meget langsomt og danner hvide, undertiden sølv-
5 farvede, hævede, behårede kolonier med glatte rande, og efter 1 måneds inkubation ved stuetemperatur med eller uden NUV-lys når de en diameter på ca. 4 cm. I denne kolonitype dannes der kun meget få eller slet ingen pyknider. Kolonier, der stammer fra konidier, producerer straks pyknider nedsænket i mediet med et
10 minimalt mycelium. Efter inkubation i ca. 7 døgn ved stuetemperatur dannes modne pyknider med konidier udstødt i uigennemsigtige eller meget sjældent i rosa dråber fra mundingerne.

Formen af pykniderne og konidierne og deres dimensioner i kultur er i overensstemmelse med svampens karakteristika
15 på *Cirsium arvense*.

Ifølge Oudemans: *Enumeratio Systematica Fungorum* 4 (1923), 1073 ff, er der tidligere fundet *Septoria cirsii* på *Cirsium* sp., på *Cirsium arvense* (L.) Scop., på *Carthamus lanatus* L. (*Kentrophyllum lanatum* D.C.) og på *Serratula glauca*
20 Ledeb. Ifølge side 43 i Bulletin 414 fra Ohio Agricultural Experimental Station 1927 forårsager *Septoria cirsii* ikke alvorlig skade på *Cirsium arvense*, og derfor er anvendeligheden af svampen som herbicid middel overraskende.

Phomopsis cirsii og *Septoria cirsii* kan dyrkes ved
25 overfladedyrkning eller ved submers dyrkning.

Overfladedyrkning foregår på et flydende medium indeholdende en assimilerbar nitrogen- og kulstofkilde og nødvendige næringsstoffer.

Submers dyrkning foregår under aerobe betingelser i
30 et gæringsmedium indeholdende en assimilerbar nitrogen- og kulstofkilde og nødvendige næringsstoffer, hvorefter smittematerialet isoleres. Yderligere detaljer såsom pH-værdi, temperatur, lufttilsætning og omrøring kan let udvælges af fagmanden, f.eks. som i nedenstående eksempel 1.

Det heri beskrevne smittemateriale anvendes på et område, der skal behandles, ved at anvende det direkte på jorden ved behandling før fremspiring eller efter fremspiring af løvskud, eller det kan blandes godt med jorden. Den fore-
5 trukne behandling er efter at løvskuddene er kommet frem, og det heri beskrevne smittemateriale kan f.eks. anvendes på jorden eller på løvskuddene i mængder på fra ca. 100 g til 100 kg pr. hektar.

Et herbicidt middel ifølge denne opfindelse, der har
10 det heri beskrevne smittemateriale som dets aktive bestanddel, kan formuleres ved at blande det med passende, inaktive bærestoffer for at opnå et produkt, som almindeligvis bruges i landbruget, såsom et befugteligt pulver, et emulgerbart koncentrat, et granulært produkt, et vandopløseligt pulver, et
15 alginat, en xantangummi og et aerosolprodukt. Som faste bærere kan der bruges bentonit, diatoméjord, apatit, gips, talkum, pyrophyllit, vermiculit og ler. Der kan også tilsættes et overfladeaktivt stof for at give en homogen og stabil formulering.

Det heri beskrevne smittemateriale kan også blandes
20 med andre aktive materialer, der bruges inden for jordbruget, og som er kompatible hermed. Sådanne aktive materialer kan være plantenæringsstoffer, gødningsmidler, insekticider, acaricider, fungicider, herbicider og nematocider.

Koncentrationen af det heri beskrevne smittemateriale
25 i det herbicide middel ifølge denne opfindelse kan variere afhængigt af formuleringstypen, og koncentrationen er f.eks. i området fra ca. 5 til 80 vægtprocent, fortrinsvis fra ca. 10 til 60 vægtprocent, i et befugteligt pulver; og fra ca. 5 til 70 vægtprocent, fortrinsvis fra ca. 20 til 60 vægtprocent, i en
30 granulær formulering.

Et således fremstillet befugteligt pulver eller emulgerbart koncentrat kan "fortyndes" med vand til en specificeret koncentration og kan bruges som en flydende suspension eller en flydende emulsion til behandling af jordbund eller planteløv.
35 En granulær formulering kan yderligere bruges direkte til behandling af jorden eller planteløv.

PDA, havremelsagar og Czapek Dox-næringssubstrat sælges af Difco Laboratories, Detroit, USA. V8-agar fremstilles fra V8-juice, der sælges af mange supermarkeder.

Væksthuseksperimenter

- 5 Tidselplanter, der blev dyrket i væksthus ved temperaturer mellem 14°C og 35°C, blev inficeret ved inokulering med en suspension af enten rent mycelium, mycelium sammen med mikrosclerotier (eksempel 1) eller sammen med pyknider og konidier fra *Phomopsis cirsi*.

10 Eksempel 1

 Ungt mycelium fra 6 - 10 døgn gamle kulturer af *Phomopsis cirsi* (CMI nr. 287.569) eller mycelium indeholdende mikrosclerotier fra indtil 42 døgn gamle kulturer af *Phomopsis cirsi*, der var dyrket i Roux-flasker som overfladekulturer på 15 Czapek Dox-næringssubstrat tilsat 1,0 g Difco bacto-agar (Difco Laboratories) pr. liter substrat, blev skyllet under rindende vand for at fjerne substratrester.

- Myceliet blev aftørret og blandet med destilleret vand ved høj hastighed i to minutter i en Waring-blender.
20 Suspensionen blev justeret med destilleret vand, så den indeholdt 80 g mycelium pr. liter suspension.

- Ved hjælp af en trykluftssprøjtepistol (arbejdstryk: 2 kg/cm²) blev inokulum sprøjtet på tidselplanter i forskellige udviklingsstadier, idet der blev brugt så meget, at det løb af.
25 Planterne blev inkuberet i 24 timer i et fugtigkammer. Fem til syv dage efter inokulering fremkom tegn på infektioner. Det var typisk sorte pletter eller striber på de unge blades nerver. Svampen invaderede stænglen systemisk fra bladene. Efter at have ringet stænglen groede den nedad til rødderne
30 og forårsagede en gradvis visnen af skuddet.

En skala over sygdomsgraden med 13 trin fra immunitet til fuldstændig plantedød blev udarbejdet (jfr. tabel I nedenfor).

Når *Phomopsis cirsii* inficerede ved bladbasis, tog 5 det normalt ca. 10 døgn fra de første sorte pletter kunne ses, indtil det inficerede skud døde (flerårige planter) eller hele planten døde (étårige planter).

Når infektionerne viste sig på mere distale bladdele, varede det fra ca. 14 til 17 døgn før det samme resultat var 10 opnået.

Phomopsis cirsii var også i stand til at invadere stænglen via kurvsvøbblade på knopper eller blomsterhoveder og derved hindre plantens yderligere blomstring.

Sygdomsgraden varierede mellem og inden for plante- 15 arter. (jvf. tabel II og III, nedenfor, omhandlende specificiteten af *Phomopsis cirsii*).

Tabel I

Skala over sygdomsgraden

- 0: ingen symptomer (immun),
- 20 1: afgrænsede bladpletter,
- 2: bladpletter sammen med nogen nekrotisering af bladnerver,
- 3: bladsideribbe nekrotiseret,
- 4: bladsideribbe og nogle midtribber nekrotiseret,
- 5: midtribbe sort indtil bladbasis,
- 25 6: hele bladet dødt,
- 7: invasion af stængel direkte eller via bladnerver,
- 8: nekrotisering af stængelcortex i længdeakse,
- 9: ringning af stængel, hjerteråd hos rosetplanter,
- 10: nekrotisering fra ringningstedet mod skudbasis,
- 30 11: skud dødt eller hele planten død (henholdsvis for fler-
årige og étårige planter),
- 12: nye skud dør hen,
- 13: hele planten død (kun for flerårige planter).

Eksempel 2

Inokulering i marken med *Phomopsis cirsii* resulterede i anthracnosesymptomer på *Cirsium arvense*. Talrig sporedannelse skete fra enkelte pyknider spredt over blegede, strågule pletter i de udstrakte, sorte læsioner på stængler og undertiden på bladnerver. På modne planters stængler var disse læsioner, der ofte udviklede sig fra bladakslen, i størrelsesordenen fra 1 til 15 cm, sommetider sammenflydende. I regelen resulterede dette i, at unge og undertiden fuldt udviklede planter visnede.

10 Eksempel 3Specificitetstest på *Phomopsis cirsii*

Den samme inokuleringsmetode og stamme af *Phomopsis cirsii*, som er beskrevet i eksempel 1, blev brugt til at undersøge specificiteten af svampen i væksthuss på en samling af 147 forskellige arter udvalgt fra de følgende fire grupper: Vilde planter (ukrudt og vild flora), landbrugsplanter, havebrugs- og gartneriplanter og planter til teknisk brug.

Udvælgelseskriterier for plantearter var deres slægtskab med *Cirsium arvense* og deres forekomst som kulturplante, som vilde planter eller som ukrudt.

18 planter fra hver art blev inokuleret i deres 6. til 8. løvbladsstadium. Som kontrol blev 6 planter fra hver art kun sprøjtet med destilleret vand. Planterne blev til sidst inkuberet i 48 timer i et fugtigkammer.

25 Modtageligheden af planter fra tribus Cardueae blev vurderet én måned efter inokuleringen, idet skalaen fra tabel I, ovenfor, som varierer fra 0 (immun) til 11 (død af hele den étårige plante) eller 13 (død af hele den flerårige plante), blev brugt. Resultaterne fremgår af tabel II, nedenfor.

Tabel II

	Cardueae-arter	Sygdomsgrad
	<i>Carduus acanthoides</i> L.	1 - 13
	<i>Carduus crispus</i> L.	2 - 3
5	<i>Carduus crispus</i> L. f. <i>alba</i>	2 - 3
	<i>Carduus pycnocephalus</i> L.	9 - 13
	<i>Carduus thoermeri</i> Weinm.	5
	<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	3 - 12
	<i>Cirsium carlinoides</i> Fisch.	2 - 3
10	<i>Cirsium eriophorum</i> (L.) Scop.	6 - 13
	<i>Cirsium vulgare</i> (Savi.) Ten.	2 - 3
	<i>Cnicus benedictus</i> L.	9 - 13
	<i>Cynara scolymus</i> L. cv. <i>Green globe</i>	2 - 6
	<i>Galactites tomentosa</i> (L.) Moensch.	9 - 13
15	<i>Notobasis syriaca</i> (L.) Cass.	9 - 13
	<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	9 - 13
	<i>Tyrimnus leucographus</i> (L.) Cass.	9 - 13

Som det fremgår af tabel II, blev planterne fra tribus Cardueae inficeret med svampen. Den eneste kulturplante af betydning, som tilhører denne gruppe, og som havde en vis modtagelighed over for *Phomopsis cirsii*, var artiskok (*Cynara scolymus*). Denne modtagelighed synes dog at være relateret til sorten.

Analogt hermed undersøgtes modtageligheden af planter, der ikke tilhører tribus Cardueae. Resultatet af disse tests var, at alle de testede planter var immune (0 på skalaen for sygdomsgrad i tabel I, ovenfor). Gruppen af planter og antallet af arter i hver gruppe af undersøgte planter fremgår af tabel III, nedenfor.

Tabel III

<u>Plantegruppe</u>		<u>Antal undersøgte arter</u>
COMPOSITAE		
Tubuliflorae		
5	Heliantheae	6
	Anthemideae	9
	Astereae	5
	Calenduleae	1
	Helenieae	1
10	Inuleae	2
	Senecioneae	6
	Liguliflorae	13
	CAMPANULACEAE	1
	CANABACEAE	1
15	CHENOPODIACEAE	5
	CONVOLVULACEAE	1
	CRUCIFERAE	22
	CUCURBITACEAE	1
	DIPSACACEAE	2
20	EUPHORBIACEAE	1
	GRAMINEAE	9
	LILIACEAE	1
	LINACEAE	2
	PAPILIONACEAE (LEGUMINOSAE)	18
25	POLYGONACEAE	1
	SOLANACEAE	3
	UMBELLIFERAE	2

Eksempel 4

Inokulering i marken med *Septoria cirsii* fremkaldte 30 grålige, nekrotiske bladpletter med en diameter på fra ca. 0,3 til 1,0 cm. Pletterne var normalt kantede, men under fugtige betingelser blev de runde. Sporedannelse på planten blev aldrig

observeret, men forsøg viste, at når tørre, inficerede blade blev inkuberet fugtigt ved ca. 5°C i et par uger, blev der i bladpletterne dannet nogle få, spredte pyknider med talrige konidier.

5 Eksempel 5

Specificitetsundersøgelse for Septoria cirsi

Septoria cirsiis (CMI nr. 287.751) patogene egenskaber blev undersøgt ved at inokulere planter af Cirsium arvense med en suspension af konidier og knuste pyknider (koncentration: 10^6 spore pr. ml), der stammede fra kulturer dyrket på PDA-plader. Destilleret vand blev sat til pladerne, hvorefter konidierne og pykniderne blev skilt fra mediet ved forsigtigt at skrabe substratoverfladen.

Inokuleringer blev udført ved hjælp af en trykluftssprøjtepistol (arbejdstryk: 2 kg pr. cm^2). Hver plante blev sprøjtet, indtil bladafløb.

Planterne blev inkuberet i 48 timer i et fugtigkammer.

Virkningerne af infektionen fremgår af tabel IV, nedenfor:

Tabel IV

<u>Dage efter infektion</u>	<u>Symptomer</u>
5	Små, nekrotiske pletter omgivet af kloroser (klorotisk halo).
25 7	Kloroser sammenflydende. Nekroser vokset til en diameter på ca. 0,5 cm; distinkte og kantede.
12	Alle blade, med undtagelse af de yngste, stærkt klorotiserede.
30 14 - 16	Inficerede blade visnet.

Under anvendelse af inokulationsmaterialet, som var fremstillet og behandlet som beskrevet ovenfor, blev *Septoria cirsiis* specificitet undersøgt i væksthush på en samling af 56 forskellige plantearter.

- 5 Arternes modtagelighed blev opgjort som fremkomst af infektioner eller ingen infektioner i en periode på én måned fra inokuleringen. Isolering af *Septoria cirsi* fra bladpletter bekræftede opgørelserne.

- Resultaterne af undersøgelserne på planter fra tribus
10 Cardueae fremgår af tabel V, nedenfor, hvor "-" angiver, at der ikke var tegn på infektion, og "+" angiver infektion. Som det fremgår af tabellen, er *Septoria cirsi* specialiseret inden for slægten *Cirsium*, selv om infektioner også blev fundet på *Cynara scolymus* og *Notobasis syriaca*. *Centaurea macrocephala* udviste
15 typiske symptomer, men *Septoria cirsi* kunne ikke isoleres herfra.

Tabel V

<u>Cardueaearter</u>		<u>Infektioner</u>
	Arctium tomentosa Mill.	-
	Carduus crispus L. f. alba	-
5	Carduus macrocephalus Desf.	-
	Carduus nutans L.	-
	Carduus pycnocephalus L.	-
	Carduus squarrosus (Ds.) Lowe.	-
	Carduus tenuiflorus Curt.	-
10	Carthamus lanatus L.	-
	Carthamus tinctorus L.	-
	Centaurea cyanus L.	-
	Centaurea jacea L.	-
	Centaurea macrocephalus Willd.	(+)
15	Cirsium acoule Scop.	-
	Cirsium altissimum (L.) Spreng.	+
	Cirsium andersonii Jeps.	-
	Cirsium arvense (L.) Scop.	+
	Cirsium flodmanii (Rydb.) Arthur	+
20	Cirsium japonicum DC.	+
	Cirsium oleraceum (L.) Scop.	-
	Cirsium vulgare (Savi.) Ten.	-
	Cnicus benedictus L.	-
	Cynara cardunculus L. (Cardoon)	-
25	Cynara scolymus L. cv. Grobe Van Loan	+
	Galactites tomentosa (L.) Moensch.	-
	Notobasis syriaca (L.) Cass.	+
	Onopordon algeriense (Monby) Pomel	-
	Onopordon illyricum L.	-
30	Onopordon tauricum Willd.	-
	Silybum marianum (L.) Gaertn.	-
	Tyrimnus leucographus (L.) Cass.	-

Derudover blev modtageligheden af planter, der ikke tilhører tribus Cardueae, vurderet. Der blev ikke fundet tegn på infektioner på nogen af de undersøgte plantearter. Gruppen af planter og antallet af arter i hver gruppe undersøgte planter fremgår af nedenstående tabel VI.

Tabel VI

<u>Plantegruppe</u>		<u>Antal undersøgte arter</u>
COMPOSITAE		
	Tubuliflorae	
10	Heliantheae	4
	Anthemideae	2
	Helenieae	1
	Inuleae	2
	Senecioneae	3
15	Liguliflorae	10
	CHENOPODIACEAE	2
	PAPILIONACEAE (LECUMINOSAE)	1
	UMBELLIFERAE	1

Eksempler på herbicide præparater ifølge denne opfindelse er anført nedenfor:

Eksempel 6

Befugteligt pulver

<u>Bestanddele</u>		<u>vægtdele</u>
	Smittemateriale	30
25	Hvidt carbon	30
	Diatoméjord	32
	Natriumalkylsulfat	8

Disse blandes homogent og findeles til fine partikler for at få et befugteligt pulver. Ved brug fortyndes dette med vand til en ønsket koncentration, og det udsprøjtes som en suspension.

5 Eksempel 7

Granulær formulering

<u>Bestanddele</u>		<u>vægtdele</u>
Smittemateriale		7
Talkum		38
10	Bentonit	10
	Ler	38
	Natriumalkylsulfat	7

Disse blandes homogent og findeles til fine partikler. De fine partikler laves til granuler, der hver har en diameter i området ca. 0,5 - 1,0 mm, for at opnå en granulær formulering. Ved brug anvendes det direkte.

PATENTKRAV

1. Herbicidt middel til bekæmpelse af planter tilhørende familien tribus Cardueae, **kendetegnet ved**, at det som aktiv bestanddel indeholder et smittemateriale, som fås ved
5 dyrkning af svampen *Phomopsis circii* eller *Septoria circii*.

2. Herbicidt middel ifølge krav 1, **kendetegnet ved**, at indholdet af smittemateriale er 5 - 80%.

3. Herbicidt middel ifølge krav 2, **kendetegnet ved**, at indholdet af smittemateriale er 10 - 60%.

10 4. Herbicidt middel ifølge et hvilket som helst af kravene 1 - 3, **kendetegnet ved**, at svampen er *Phomopsis circii*.

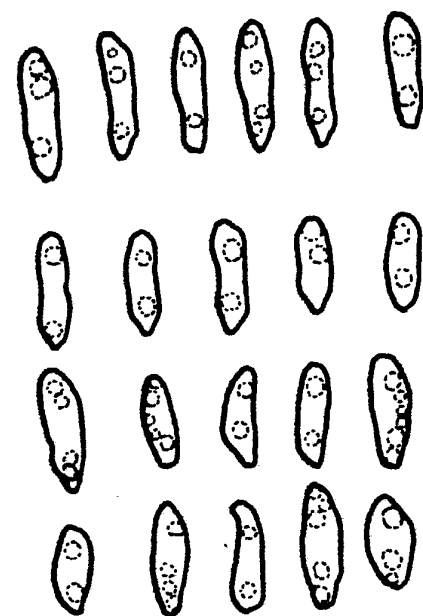
5. Fremgangsmåde til bekæmpelse af ukrudt tilhørende familien tribus Cardueae, **kendetegnet ved**, at det område, der skal beskyttes, behandles med en effektiv mængde af et smitte-
15 materiale, som fås ved dyrkning af svampen *Phomopsis circii* eller *Septoria circii*.

6. Fremgangsmåde til bekæmpelse af ukrudt tilhørende familien tribus Cardueae, **kendetegnet ved**, at det område, der skal beskyttes, behandles med et herbicidt middel ifølge et
20 hvilket som helst af kravene 1 - 3, i en mængde svarende til mellem 100 g og 100 kg smittemateriale pr. hektar.

7. Fremgangsmåde ifølge krav 5 eller 6, **kendetegnet ved**, at det ukrudt, der skal bekæmpes, er *Carduus acanthoides* L., *Carduus crispus* L., *Carduus crispus* L. f. *alba*, *Carduus*
25 *pycnocephalus* L., *Carduus thoermeri* Weinm., *Cirsium arvense* (L.) Scop., *Cirsium carlinoides* Fisch., *Cirsium eriophorum* (L.) Scop., *Cirsium vulgare* (Savi.) Ten., *Cnicus benedictus* L., *Cynara scolymus* L. cv. *Green globe*, *Galactites tomentosa* (L.) Moensch., *Notobasis syriaca* (L.) Cass., *Silybum marianum* (L.)
30 Gaertn. eller *Tyrimnus leucographus* (L.) Cass.

8. Anvendelse af et smittemateriale, som fås ved dyrkning af svampen *Phomopsis circii* eller *Septoria circii* til bekæmpelse af ukrudt tilhørende familien tribus Cardueae.

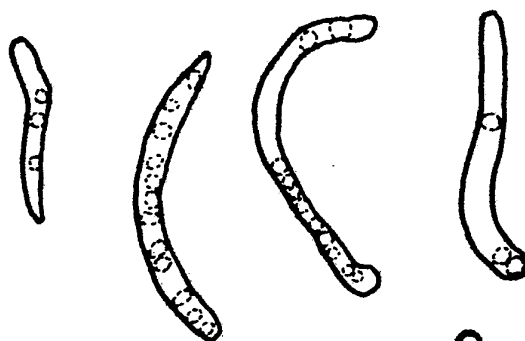
fig. 1



A



B



C

10 μm

