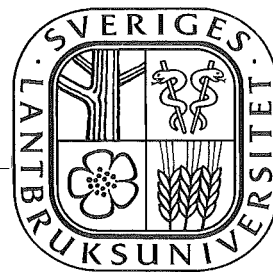


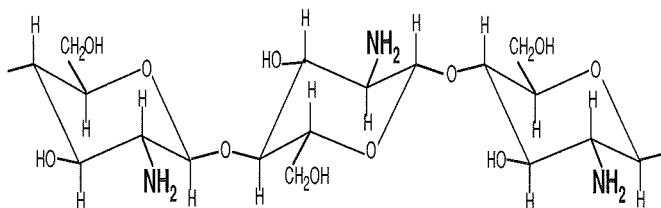
# Växt- skydds- notiser



Nr 3, 1991 — Årg. 55

## Tema

## Kitosan och dess effekt mot växtskadegörare



### INNEHÅLLSFÖRTECKNING

<i>Lars Wiik:</i> Förord .....	58
<i>Lars Wiik:</i> Kitosan och dess effekt mot växtskadegörare - en litteraturgenomgång .....	59
<i>Nils Davoust:</i> Kitosan: beskrivning, egenskaper och beredning .....	63
<i>Ingegerd Norin och Elisabeth Gustafsson:</i> Effekten av kitosan på tillväxten hos fyra olika svampar .....	65
<i>Sture Brishammar och Ulrika Meyerson:</i> Inducering av systemisk resistens med kitosan .....	68
<i>Börje Olofsson:</i> Kitosan som bekämpningsmedel mot potatisbladmögel, <i>Phytophthora infestans</i> .....	71
<i>Börje Olofsson:</i> Kitosan som bekämpningsmedel mot groddbränna, <i>Rhizoctonia solani</i> , på potatis .....	74
<i>Börje Olofsson:</i> Undersökningar av kitosan som betningsmedel mot utsädesburna skadesvampar i stråsäd .....	76
<i>Torbjörn Ewaldz:</i> Test av kitosan mot rotbrand på sockerbeta, rotträta på ärt samt klumprotsjuka på oljeväxter .....	79
<i>Gunilla Anderson och Lars Wiik:</i> Testning av kitosan mot korn- och vetemjöldagg i laboratorieförsök .....	84
<i>Hans Larsson, Jan Rundquist, Lars Wiik och Lennart Wikström:</i> Utsädesbetning och sprutning med kitosan i fältförsök i stråsäd och hösträps .....	86

## Förord

Under 1989 påbörjades ett samarbetsprojekt mellan institutionen för teknisk mikrobiologi vid Lunds universitet, institutionen för växt- och skogsskydd vid Sveriges lantbruksuniversitet, Skånska lantmännen och Ewos AB.

Avsikten var att testa olika kitosanpreparats effekt mot olika växtskadegörare. Institutionen för teknisk mikrobiologi vid Lunds universitet, som var initiativtagare till projektet, bistod med olika kitosanpreparationer framställda genom odling av svampar ur släktet *Absidia*. Institutionen för teknisk mikrobiologi försåg oss även med så stora mängder kitosan att fältförsök kunde genomföras, av såväl inst. för växt- och skogsskydd som Skånska lantmännen och Ewos AB. Även utländska handelspreparat av kitosan användes i projektet.

Försöksmän/forskare inom institutionen för växt- och skogsskydd vid Sveriges lantbruksuniversitet medverkade med laboratorie- och växt-

husundersökningar inom sina respektive områden. En relativt bred "screening" av kitosans effekter kunde således genomföras. I detta nummer av Växtskyddsnotiser redovisas framkomna resultat. Här redovisas också resultatet av en genomgång av litteraturen om kitosan och dess effekter mot växtskadegörare och dess förmodade roll i det komplicerade samspelet mellan växt och växtskadegörare.

Tack! Alla medverkande och Skånska lantmännen och Ewos AB som finansierade projektet.

Alnarp i november 1991

Lars Wiik  
Försöksledare vid försöksavdelningen för svamp- och bakteriesjukdomar  
Institutionen för växt och skogsskydd, SLU

# Kitosan och dess effekt mot växtskadegörare - en litteraturgenomgång

Lars Wiik, SLU, Inst. för växt- och skogsskydd, Box 44, 230 53 Alnarp

WIİK, L. 1991. Kitosan och dess effekt mot växtskadegörare - en litteraturgenomgång. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 59-62.

Kitosan, den deacetylerade formen av kitin, är en polymer bestående av D-glukosaminenheter. Kitosan förekommer framförallt i cellväggarna hos svampar av klassen Zygomycetes. Idag framställs kitosan genom deacetylering av kitin, men det är även möjligt att fermentativt producera kitosan genom odling av svampar ur klassen Zygomycetes. Kitosan används framförallt som flockuleringsmedel vid vattenrening men många potentiella användningsområden finns. Kitosan är biologiskt nedbrytbart och lågttoxiskt. Renhet, polymerisations-, deacetyleringsgrad och kemisk modifiering bestämmer kitosans egenskaper.

Kitosan hämmar tillväxten av många svampar *in vitro*. Kitosan aktiverar/inducerar försvarsmekanismer i växter. Enligt vissa teorier förklaras kitosans roll som resistensfaktor genom påverkan på växtens kromosomer medan andra anser att endast membranfunktionen påverkas. I fältförsök med kitosan är det framförallt betning av utsädet med kitosan som givit positiva effekter.

Som en inledning till de i detta nummer redovisade rapporterna om kitosans effekter mot växtskadegörare görs här en litteraturgenomgång av kitosans förekomst, egenskaper, framställning, effekter mot växtskadegörare och dess förmodade roll i det komplicerade samspelet mellan växt och växtskadegörare.

## Cellväggar

### cellulosa, kitin och kitosan

Cellulosa och dess användningsområden är välkända. Cellulosa är den vanligaste polysackariden i naturen, som strukturelement i växternas cellväggar. Trä består till 50 % av cellulosa och bomull till nästan 100 %. En stor del av kolet i biosfären utgörs av cellulosa. Cellulosa hydrolyseras av cellulaser till D-glukos. Kitin är en annan mycket rikligt förekommande polysackarid i naturen, den vanligaste efter cellulosa. Kitin är ett av de viktigaste strukturelementen i hårdare delar av leddjur, t.ex. kräftdjur och insekter, och i svampars cellväggar. Kitin är en polymer av aminosocker-molekyler där N-acetyl-D-glukosamin utgör molekylenheten eller den repeterande länken i kedjan. Kitosan, den deacetylerade formen av kitin, är en polymer bestående av D-glukosaminenheter. Just skillnaden i antal acetylgrupper bidrar till skillnader i egenskaper hos kitin och kitosan. Kitosan förekommer framförallt i cellväggarna hos svampar av klassen Zygomycetes.

Svampars cellväggar består i regel av polysackarider till 80-90 %, uppbyggda av någon av minst elva monosackarider. Det är framförallt D-

glukos, N-acetylglukosamin och D-mannose som finns i de flesta svampar. I många svampar utgör kitin och cellulosa den bärande eller "skelettartade" delen av cellväggen men i den i övrigt amorfa substansen finns olika ämnen. Cellväggens kemi har utnyttjats vid den taxonomiska uppdelningen av svampar. Sålunda har Bartnicki-Garcia (1968) delat upp svampar i åtta kategorier. Oomycetes tillhör kategorin med cellulosa- $\beta$ -glukan, Zygomycetes kitosan - kitin och Ascomycetes kategorin med kitin -  $\beta$ -glukan i cellväggen. Genom att cellväggen "manipuleras" kan den utnyttjas för en rad olika syften, t.ex. vid det komplicerade samspelet mellan växt och växtskadegörare. Cellväggen bör således betraktas som en mötesplats och inte en rigid struktur.

Även växtens cellvägg är naturligtvis av intresse i interaktionen patogen/icke patogen och växt. Vid detta möte sker biokemiska förändringar som ägnats uppmärksamhet av olika forskargrupper och som fortfarande är ett område där ytterligare forskning/kunskap behövs (se t.ex. Bailey & Deverall, 1983; Wiik, 1983). Kolhydraterna (bland annat fragment av polysackarider) i växtens cellvägg utgör en oerhört stor resurs av kemiska signalsubstanser som är föremål för intensiv forskning (Albersheim, Darvill, Sharp, Davis & Doares, 1986; Bacic, Harris & Stone, 1988). I detta sammanhang är det intressant att notera att växter innehåller kitinaser och kitosanaser som kan fungera i försvaret mot svampar (Toppan & Roby, 1982; Walker-Simmons & Ryan, 1984; Boller, 1986; Roby, Toppan & Esquerré-Tugayé, 1986).

## Kitin och kitosan

### Egenskaper

Kitin är svårösligt. Kitosan är däremot lösligt i svaga syror. Kitosanets positivt laddade aminosyror bidrar till dess användbarhet. Kitin, kitosan och derivat av dessa utgör ett komplex av föreningar. Bland annat renhet, polymerisations- och acetyleringsgrad samt kemisk modifiering bestämmer deras egenskaper. De är biologiskt nedbrytbara och lågttoxiska. Bland egenskaperna märks flockulerings- och koaguleringsförmåga, adhesionsförmåga, metall-, vatten- och fettabsorptionsförmåga, emulgeringsförmåga, sårhelande förmåga, och förmåga att långsamt och kontrollerat leverera ämnen. Dessa egenskaper utnyttjas redan till viss del men många potentiella möjligheter finns (se t.ex. Hansson, 1986; Skjåk-Braek, Anthonsen & Sandford, 1989 och Wilkins, 1978).

## Kitosan

### Framställning

Kitosan framställs industriellt, framförallt i Japan och USA, genom deacetylering av kitin i krabb- och räkskal. Natriumhydroxid hydrolyserar N-acetylbindningarna och efter sköljning, pH-justering och avvattning erhålls kitosan.

I Japan framställs ca 500-1 000 ton kitosan per år. Större delen används som flockuleringsmedel vid vattenrening (Hirano, 1989). I USA framställdes årligen drygt 100 ton av rester från räkfisken i slutet på 1970-talet (Muzzarelli, 1978). Vid industriell framställning sker stora strukturella förändringar av kitosanet vilket kan ge produkten olika egenskaper. Detta kan förklara avvikande resultat mellan t.ex. olika växtpatologiska undersökningar. Förbättrade metoder för framställning av kitosan har nu framtagits (Bade & Wick, 1988).

Ett annat sätt att framställa kitosan sker genom odling av svampar ur klassen Zygomycetes. Sålunda har kitosan framställts på laboratorium ur *Mucor rouxii*, en art inom ordningen Mucorales (White, Farina & Fulton, 1979). Flera andra arter inom ordningen Mucorales, bland annat 25 arter av *Absidia* spp., har testats (Shimahara, Takiguchi, Kobayashi, Uda & Sannan, 1989). I Sverige har Davoust (1991) undersökt förmågan hos *Absidia repens* och *Absidia coerulea* att producera kitosan i fermentor.

### Växtskadegörare

Betning av utsäde och sprutning med kitosan utvunnet ur krabbskal (Bioshell, Inc., Albany Oregon) utfördes under fem år i fältförsök med höst- och vårvete, ärt och linser (Hadwiger, Fris-

tensky & Riggleman, 1984). Sprutning med kitosan hade endast liten effekt på mjöldagg i ärt och effekterna på gulrost i vete, *Puccinia striiformis*, var motsägelsefulla och oförutsägbara. Under vissa förhållanden kunde dock en minskning av angreppet av gulrost iakttagas. Sprutning gav ibland en fytotoxisk effekt. Med betning erhöles däremot ofta 10-30 % skördeökningar. I det enda försöket som redovisas i uppsatsen, i höstvetesorten Daws, varierade skördeökningarna mellan 8-21 % beroende på dos. Dessa lönsamma skördeökningar förklarades med att kitosan ökade stråstyrkan och eventuellt hämmade stråknäckarsvampen, *Pseudocercospora herpotrichoides* (Hadwiger, Fristensky & Riggleman, 1984).

Kitosan hämmade tillväxten av många svampar *in vitro* dock icke sådana som redan innehåller kitosan (Allan & Hadwiger, 1979). I liknande undersökningar av Stössel & Leuba (1984) och Hirano & Nagao (1989), där även deacetylerings- och polymerisationsgradens och några andra faktorer betydelse undersöktes, bekräftades kitosans förmåga att hämma flera olika svamparter.

Kitosans roll i samspelet växt - patogen/icke patogen uppfattas ofta som en viktig resistensfaktor. För kitosans del är det troligt att den i likhet med liknande substanser utlöser en ospecifik resistens (Bacic, Harris & Stone, 1988; Keen, 1986).

Kitosan överträffar många elicitorer (signalsubstanser som framkallar försvarsmekanismer i växten) när det gäller att framkalla lignifiering i skadade blad av vete (Barber & Ride, 1988). Förmågan att framkalla lignifiering är troligen beroende av deacetyleringsgraden (Barber, Bertram & Ride, 1989). I samspelet mellan vete och gulrost har kitosanliknande substanser iakttagits (Hadwiger & Line, 1981).

Kitosan aktiverar/inducerar försvarsmekanismer i tomat. Andra polysackarider, t.ex. stärkelse, dextran samt disackariderna cellobios och sukros har däremot ingen effekt (Walker-Simmons & Ryan, 1984).

Kitosan inducerar bildningen av PAL (ett enzym som bland annat är involverat i syntesen av lignin) och påverkar bildningen av minst 20 andra proteiner i ärt, t.ex. kitinas. Kitosan liksom den inkompatibla patogenen *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* aktiverar resistensgener i ärt (se t.ex. Kendra, Christian & Hadwiger, 1989).

Kitosan ingår i cellväggarna av ett flertal svampar inklusive *Fusarium solani* (Bartnicki-Garcia, 1968; Hadwiger & Beckman, 1980). Kitosanaser (bryter ner kitosan men ej kitin), från blad av korn och tomat utsatta för stress, kunde lysa (upplösa) sporer av *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicislycopersici*, *Verticillium albo-atrum* och *Ophiostoma ulmi*. Däremot lyserades inte sporer av basidiomyceterna *Ustilago maydis* och *Sclero-*

*derma aurantium* och deuteromyceten *Trichoderma* sp. (Grenier & Asselin, 1990).

Kitosans påverkan på samspelet värdväxt - patogen/icke patogen har studerats för ärt - *Fusarium solani* f. sp. *pisi*/ *F. solani* f. sp. *phaseolis*. Hadwiger och medarbetare har föreslagit en modell hur detta samspel sker. Kitosan finns i små mängder i svampen (*F. solani*). Vid kontakt med värdväxten, ärt, bryter kitinaser ner kitosanet i fragment. Dessa kitosanfragment tillförs värdväxtcellen och kan där påverka kromosomernas struktur genom sin förmåga att bilda komplex med DNA. Vissa gener aktiveras och mRNA från dessa medför produktion av fenoliska substanser (pisatin - en fitoalexin och ligninliknande ämnen) och en ökad aktivitet av t.ex. kitinas varmed svampens cellvägg kan brytas ner. Men även i svampen anrikas kitosanfragment som medför att syntesen av RNA blockerar och cellernas livsduglighet minskar varvid tillväxten upphör (Hadwiger & Loschke, 1981; Hadwiger, Kendra, Fristensky & Wagoner, 1986; Hadwiger, Chiang, Victory & Horovitz, 1989).

Andra teorier förklarar kitosans effekter på annat sätt. Som polykatjon binds kitosan till negativt laddade makromolekyler på värdväxtens yta vilket förändrar membranfunktionerna och cellväggarnas enzymssystem (Leuba & Stössel, 1986).

Kitosan ökade genomsläppligheten i böners cellmembran och inducerade resistens (Young, Köhle & Kauss, 1982). Även i ärt ökade cellmembranens genomsläpplighet (Kendra & Hadwiger, 1987) men resistens inducerades inte på grund av läckaget från cellmembranen.

Kitosanbehandlade och obehandlade jordgubbar inokulerades med gråmögel, *Botrytis cinerea*, och klättermögel, *Rhizopus stolonifer*. Efter 20 dagars lagring var de kitosanbehandlade jordgubbarna betydligt mindre ruttna. En trolig förklaring var att kitosanet orsakade intracellulärt läckage i svamparnas celler och därmed hindrade deras tillväxt (El Ghaouth, 1990).

Kitosan framkallade celldöd liknande en hypersensitiv reaktion och produktion av lignin i celler av *Pinus elliotii* infekterade med en rostsvamp, *Cronartium quercum* f. sp. *fusiforme* (Lesney, 1989). I *Pinus contorta*, injicerad med kitosan, ökade halten av monoterpen, substanser som bidrar till tallens försvar mot skadegörare (Miller, Berryman & Ryan, 1986).

Gallkvalstret, *Eriophyes cladophthirus*, anses avge kitosan till värdväxten besöksöta, *Solanum dulcamara*, och därmed orsaka DNA-förändringar som är betydelsefulla i samspelet växt - skadedjur (Bronner, Westphal, & Dreger, 1989).

Effekten av D-glukosamin, byggnadsstenen i kitosan, har studerats med avseende på respira-

tion och jonabsorption på avklippta rötter av vete (Stenlid, 1954). En fytotoxisk effekt på veterotterna förklarades med att jonabsorptionen och upptagningen av syre hämmades.

Tillväxten av rispatogener (Rice blast) *Pyricularia oryzae* (Kamimiya & Tanaka, 1982) och *Verticillium albo-atrum* (White & Gadd, 1983) hämmades av glukosamin.

## Tack

Tack till Prof. Göran Stenlid, prof. Vilhelm Umaerus och Dr. Göran Hansson som granskade manuset.

## Litteratur

- Albersheim, P., Darvill, A. G., Sharp, J. K., Davis, K. R. & Doares, S. H. 1986. Studies on the role of carbohydrate in host-microbe interactions. In *NATO ASI Series, Vol. H4. Recognition in microbe-plant symbiotic and pathogenic interactions*, 297-309. Ed. Lugtenberg, B. Springer-Verlag, Berlin och Heidelberg.
- Allan, C. R. & Hadwiger, L. A. 1979. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Experimental mycology* 3, 285-287.
- Bacic, A., Harris, P. J. & Stone, B. A. 1988. Structure and function of plant cell walls. In *The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. Vol. 14 Carbohydrates*, 297-371. Eds. Stumpf, P. K. & Conn, E. E. New York.
- Bade, M. L. & Wick, R. L. 1988. Protecting crops and wildlife with chitin and chitosan. In *Biologically active natural products*, 450-468. American Chemical Society. Washington, D.C.
- Barber, M. S. & Ride, J. P. 1988. A quantitative assay for induced lignification in wounded wheat leaves and its use to survey potential elicitors of the response. *Physiological and molecular plant pathology* 32, 185-197.
- Barber, M. S., Bertram, R. E. & Ride, J. P. 1989. Chitin oligosaccharides elicit lignification in wounded wheat leaves. *Physiological and molecular plant pathology* 34, 3-12.
- Bartnicki-Garcia, S. 1968. Cell wall chemistry, morphogenesis, and taxonomy of fungi. *Annual review of microbiology* 22, 87-108.
- Boller, T. 1986. Chitinase: A defence of higher plants against pathogens. In *Chitin in nature and technology*, 223-230. Eds. Muzzarelli, R., Jeuniaux, C. & Gooday, G. W. Plenum press New York and London.
- Bronner, R., Westphal, E. & Dreger, F. 1989. Chitosan, a component of the compatible interaction between *Solanum dulcamara* L. and the gall mite *Eriophyes cladophthirus* Nal. *Physiological and molecular plant pathology* 34, 117-130.
- Chitin and chitosan - sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications*. 1989. Eds. Skjåk-Braek, G., Anthonsen, T. & Sandford, P. Elsevier applied science publishers Ltd. London and New York.
- Davoust, N. 1991. Fungal chitosan production by fermenter cultivation of *Absidia* spp. *Licentiate thesis*, 63 p. Department of Applied Microbiology, University of Lund.
- The dynamics of host defence*. 1983. Eds. Bailey, J. A. & Deverall, B. J. Academic press. Sidney and New York.
- El Ghaouth, A. 1990. Antifungal effect of chitosan on two fungal pathogens of strawberries in vivo and in vitro. (Abstr.) *Phytopathology*, 80:10, 1020.

- Grenier, J. & Asselin, A. 1990. Some pathogenesis-related proteins are chitosanases with lytic activity against fungal spores. *Molecular plant-Microbe interactions*, 3: 6, 401-407.
- Hadwiger, L. A. & Beckman, J. M. 1980. Chitosan as a component of pea-*Fusarium solani* interactions. *Plant Physiol.* 66, 205-211.
- Hadwiger, L. A. & Line R. F. 1981. The presence of "chitosan-like" compounds in wheat-*Puccinia striiformis* interactions. (Abstr.) *Phytopathology* 71, 222.
- Hadwiger, L. A. & Loschke, D. C. 1981. Molecular communication in host-parasite interactions: Hexosamine polymers (chitosan) as regulator compounds in race-specific and other interactions. *Phytopathology*, 71: 7, 756-762.
- Hadwiger, L. A., Fristensky, B. & Riggleman, R. C. 1984. Chitosan, a natural regulator in plant-fungal pathogen interactions, increases crop yields. In *Chitin, chitosan, and related enzymes*, 291-302. Ed. Zikakis, J. P. Academic press. London and New York.
- Hadwiger, L. A., Chiang, C., Victory, S. & Horovitz, D. 1989. The molecular biology of chitosan in plant/pathogen interaction and its application in agriculture. In *Chitin and chitosan*, 119-138. Eds. Skjåk-Braek, G., Anthonsen, T. & Sandford, P. Elsevier science publishers Ltd. London and New York.
- Hadwiger, L. A., Kendra, D. F., Fristensky, B. W. & Wagoner, W. 1986. Chitosan both activates genes in plants and inhibits RNA synthesis in fungi. In *Chitin in nature and technology*, 209-214. Eds. Muzzarelli, R., Jeuniaux, C. & Gooday, G. W. Plenum press New York and London.
- Hansson, G. 1986. Kitin och kitosan - förekomst, produktion och användningsområden. En litteratursammanställning utförd vid Teknisk mikrobiologi, Kemicentrum, Lund. Stencil.
- Hirano, S. 1989. Production and application of chitin and chitosan in Japan. In *Chitin and chitosan*, 37-43. Eds. Skjåk-Braek, G., Anthonsen, T. & Sandford, P. Elsevier science publishers Ltd. London and New York.
- Hirano, S. & Nagao, N. 1989. Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme, and chitinase on the growth of several phytopathogens. *Agricultural and biological chemistry*, 53: 11, 3065-3066.
- Kamimiya, S. & Tanaka, H. 1982. Effect of glucosamine on the growth of *Pyricularia oryzae*. *Agric. Biol. Chem.*, 46: 5, 1225-1233.
- Keen, N. T. 1986. Pathogenic strategies in fungi. In *NATO ASI Series, Vol. H4. Recognition in microbe-plant symbiotic and pathogenic interactions*, 171-188. Ed. Lugtenberg, B. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Kendra, D. F. & Hadwiger, L. A. 1987. Cell death and membrane leakage not associated with the induction of disease resistance in peas by chitosan or *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. *Phytopathology*, 77: 1, 100-106.
- Kendra, D. F., Christian, D. & Hadwiger, L. A. 1989. Chitosan oligomers from *Fusarium solani*/pea interactions, chitinase/ $\beta$ -glucanase digestion of sporelings and from fungal wall chitin actively inhibit fungal growth and enhance disease resistance. *Physiological and molecular plant pathology* 35, 215-230.
- Lesney, M. S. 1989. Growth responses and lignin production in cell suspensions of *Pinus elliotii* "elicited" by chitin, chitosan or mycelium of *Cronartium quercum* f. sp. *fusiforme*. *Plant cell, tissue and organ culture* 19, 23-31.
- Leuba, J. L. & Stössel, P. 1986. Chitosan and other polyamines: Antifungal activity and interaction with biological membranes. In *Chitin in nature and technology*, 215-222. Eds. Muzzarelli, R., Jeuniaux, C. & Gooday, G. W. Plenum press New York and London.
- Miller, R. H., Berryman, A. A. & Ryan, C. A. 1986. Biotic elicitors of defense reactions in lodgepole pine. *Phytochemistry*, 25: 3, 611-612.
- Muzzarelli, R. A. A. 1978. *Chitin*. Pergamon Press Ltd. Oxford.
- Roby, D., Toppan, A. & Esquerré-Tugayé, M. T. 1986. Chitinases: Plant defense proteins related to resistance against fungal pathogens. In *Chitin in nature and technology*, 231-233. Eds. Muzzarelli, R., Jeuniaux, C. & Gooday, G. W. Plenum press New York and London.
- Shimahara, K., Takiguchi, Y., Kobayashi, T., Uda, K. & Sannan T. 1989. Screening of Mucoraceae strains suitable for chitosan production. In *Chitin and Chitosan*, 171-178. Eds. Skjåk-Braek, G., Anthonsen, T. & Sandford, P. Elsevier Science Publishers Ltd. London and New York.
- Stenlid, G. 1954. Toxic effects of D-mannose, 2-Desoxy-D-glucose, and D-glucosamine upon respiration and ion absorption in wheat roots. *Physiologia Plantarum* 7, 173-181.
- Stössel, P. & Leuba, J. L. 1984. Effect of chitosan, chitin and some aminosugars on growth of various soilborne phytopathogenic fungi. *Phytopath. Z.*, 111, 82-90.
- Toppan, A. & Roby, D. 1982. Activité chitinasiqne de plantes de melon infectées par *Colletotrichum lagenarium* ou traite'es par l'éthylène. *Agronomie*, 2: 9, 829-834.
- Walker-Simmons, M. & Ryan, C. A. 1984. Proteinase inhibitor synthesis in tomato leaves - induction by chitosan oligomers and chemically modified chitosan and chitin. *Plant Physiol.* 76, 787-790.
- White, C. & Gadd, G. M. 1983. Effect of glucosamine on morphology of *Verticillium albo-atrum*. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 80: 3, 533-536.
- White, S. A., Farina, P. R. & Fulton, I. 1979. Production and isolation of chitosan from *Mucor rouxii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 38: 2, 323-328.
- Wiik, L. 1983. Hur växterna försvarar sig. Ett exempel - papillae. *Växtskyddsnotiser*, 46: 5-6, 117-122.
- Wilkins, R. M. 1978. The use of biodegradable polymers as formulating agents for controlled release pesticides. *Pestic. Sci.* 9, 443-444.
- Young, D. H., Köhle, H. & Kauss, H. 1982. Effect of chitosan on membrane permeability of suspension-cultured *Glycine max* and *Phaseolus vulgaris* cells. *Plant Physiol.* 70, 1449-1454.

Wiik, L. 1991. Screening the effect of chitosan on plant pathogens and pests in laboratory tests and field trials. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 59-62.

Since 1989 a joint project concerning the effects of chitosan on plant pathogens and pests has been carried out in Sweden. In this issue of *Växtskyddsnotiser* the results are presented. A short review of chitosan, its effect on pathogens and its supposed role in plant - parasite interactions is given.

## Kitosan: beskrivning, egenskaper och beredning

Nils Davoust, Livsmedels- och Miljömikrobiologi, Avd. Teknisk Mikrobiologi, Kemicentrum Box 124, 221 00 Lund

DAVOUST, N. 1991. Kitosan: beskrivning, egenskaper och beredning. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 63-64.

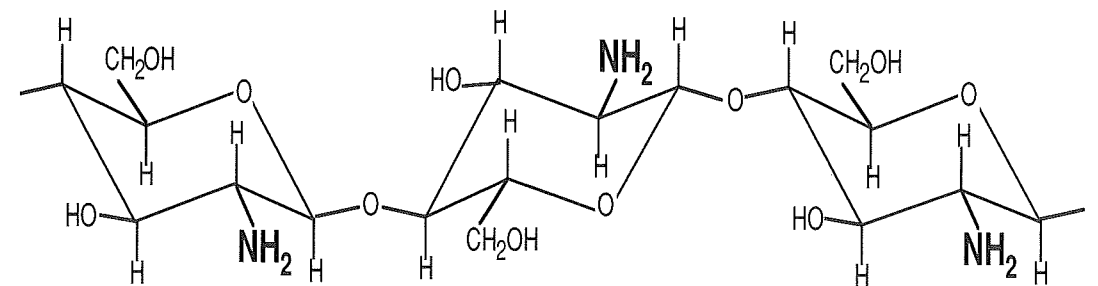
*Absidia*-svampar, vilka har kitosan naturligt förekommande i cellväggen, odlades i fermentor. Cellväggen renades fram genom behandling av cellmassan med 1,0 M NaOH vid hög värme. I flera fall extraherades kitosanet ut ur cellväggen med 2% ättiksyra. Fyra olika preparationer tillverkades för applikationsförsök. En analys gjordes på en kommersiellt tillgänglig kitosanprodukt, framställd ur kitin från krabba, med avseende på vilken syra och vilken koncentration som använts för att lösa kitosanet.

Polysackariden kitosan består av kedjor uppbyggda av sockret glukosamin. Glukosamin har samma struktur som glukos med undantag för hydroxylgruppen på kol nummer två som är ersatt med en amingrupp (Fig. 1). I N-acetyl-glukosamin, grundenheten i kitin, är denna amingrupp i sin tur acetylerad.

I naturen förekommer kitosan endast i cellväggen hos svampar, främst inom klassen Zygomycetes, medan kitin förekommer i skalens hos insekter och kräftdjur samt i cellväggen hos de flesta svampar.

Kitosan har bl. a. följande egenskaper: Det är en naturlig, icke-toxisk och biologiskt nedbrytbar polyamin som löser sig i organiska syror vid pH under 6,5 och faller ut vid basiskt pH. Den har reaktiva aminogrunder och reaktiva hydroxylgrupper (på kol nr 3 och nr 6). I joniserad, löst form, är det en polykation med hög laddningsdensitet och interagerar med negativt laddade föreningar. En uppsjö av tillämpningar finns föreslagna (Sandford, 1989).

Kitin är däremot en ganska inert förening. Den bildar strax efter syntetiseringen kristallina strukturer vilka tjänar som strukturelement hos svampar och kräftdjur.



Figur 1. Strukturformel för kitosan.

## Material och metoder

### Referensmaterial

Som referensmaterial användes YEA!<sup>TM</sup> (Yield Enhancing Agent, Bentech Laboratories Inc.), en preparation av kitosan från krabba, 2,5 % (25 g/l).

Inför beredningarna till fältförsök analyserades YEA! med avseende på använd syra och koncentration. YEA! späddes till 1 % med destillerat vatten och titrerades så att kitosanet föll ut. Supernatanten analyserades med HPLC (Aminex HPX-87H kolonn från BIO RAD). Provet testades mot bärnstenssyra, malonsyra, mjölksyra, myrsyra, propionsyra och ättiksyra. 1% YEA! visade sig vara löst i 0,3 % ättiksyra.

### Odling

*Absidia glauca* och *A. coerulea* odlades i 10 och i 75 liters fermentorer på ett medium bestående av glukos: 20 g/l, ammoniumsulfat: 11 g/l, jästextrakt: 1 g/l, kaliumdivätefosfat: 3 g/l, magnesiumsulfat: 0,6 g/l och spårämnen. Luft inblåstes med en liter luft per liter medium och minut. pH hölls konstant vid 6,0 och temperaturen vid 25 °C. Fermentorerna ympades med 2,0·10<sup>7</sup> sporer per liter.

### Extraktion

Efter ca 40 h skördades odlingarna. De hade då uppnått ca 10 g torr cellmassa per liter odlingsmedium. Cellmassan bestod av ca 20 % kitosan. Den filtrerade cellmassan upparbetades i två steg. För att avlägsna lipider och proteiner autoklaverades cellmassan i 1 M natriumhydroxid och filtrerades och tvättades med 95 % etanol och destillerat vatten. Denna fraktion kallades cellvägg. Kitosanet extraherades ut ur cellväggen genom att cellvägg blandades med 2 % ättiksyra i förhållandet 1:50 och värmdes till ca 90 °C under 3 h. Genom centrifugering separerades icke löst cellväggsmaterial ifrån. Supernatanten, med det lösta kitosanet, titrerades till pH 8,5 med natriumhydroxid varvid kitosanet föll ut. Kitosanet centrifugerades ifrån och tvättades med destillerat vatten, för att därefter frystorkas.

### Beredning av försöksmaterial.

Försöksmaterial framställdes i två omgångar. I samtliga fall rördes frystorkat material ut i destillerat vatten, varefter syran tillsattes och blandades till dess att alla klumpar löst sig. När blandningarna lösts titrerades de försiktigt till pH 6.

Till laboratorieförsöken gjordes tre preparationer: A, B och C.

**A.** Kitosan från *A. glauca* löstes i 2 % ättiksyra (0,3 M) till en koncentration av 10 g/l.

För att utröna om mjölksyra kunde påverka effekten av kitosan, gjordes två jämförbara preparationer med avseende på syrakoncentration. Till detta användes cellväggfraktion från både *A. glauca* (17 %) och *A. coerulea* (83 %). Dessa preparationer uppskattades innehålla ca 7 g kitosan/liter.

**B.** Cellvägg löstes i 2 % ättiksyra (0,3 M) till en koncentration av 10 g/l.

**C.** Cellvägg löstes i 3,3 % mjölksyra (0,3 M) till en koncentration av 10 g/l.

**D.** Till fältförsöken producerades, från *A. glauca*, 6 liter kitosanpreparation löst i 0,3 % ättiksyra.

Den färdiga preparationen kom att innehålla mycket celldebris, varför det på ett prov från preparationen gjordes en kraftig centrifugering till dess att en klar lösning erhöles. Kitosanet fälldes ut ur lösningen och analyserades gravimetriskt till 8 g/l.

### Litteratur

- Davoust, N. 1991. Fungal chitosan production by fermenter cultivation of *Absidia* spp. Licenciata thesis, Livsmedels- och Miljömikrobiologi, Teknisk Mikrobiologi, Kemicentrum, Lunds Universitet.
- McGahren, W.J., Perkinson, J.A., Growich, J.A., Leese, R.A. & Ellestad, G.A. 1984. Chitosan by fermentation. *Process Biochem.* 19: 88-90.
- Sandford, P.A. 1989. Chitosan: commercial uses and potential. In *Chitin and chitosan*, 51-69. Ed. Skjåk-Bræk, G., Anthonsen, T. & Sandford, P. Elsevier, London.
- Shimahara, K., Takiguchi, Y., Kobayashi, T., Uda, K. & Sannan, T. 1989. Screening of *Mucorace* strains suitable for chitosan production. In *Chitin and chitosan*, 171-178. Ed. Skjåk-Bræk, G., Anthonsen, T. & Sandford, P. Elsevier, London.
- White, S.A., Farina, P.R. & Fulton, I. 1979. Production and isolation of chitosan from *Mucor rouxii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2, 38: 323-328.

DAVOUST, N. 1991. Chitosan: description, qualities and preparation. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 63-64.

*Absidia*-fungi, which have native chitosan in the cell-wall, were cultivated in a fermenter. The cell-wall was purified by treating the cell-mass with 1.0 M NaOH at high temperature. In several cases the chitosan was extracted out of the cell-wall with 2% acetic acid. Four different preparations were produced for the application experiments. An analysis of a commercial chitosan product, produced from chitin from crab, was performed with regard to the type and the concentration of acid used for dissolving the chitosan.

## Effekter av kitosan på tillväxten hos fyra olika svampar

Ingegerd Norin och Elisabeth Gustafsson, SLU, Inst. för växt- och skogsskydd, Box 44, 230 53 Alnarp

NORIN, I. & GUSTAFSSON, E. 1991. Effekter av kitosan på tillväxten hos fyra olika svampar. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 65-67.

Tre kitosanpreparationer benämnda A, B och C, framställda ur svampar av släktet *Absidia*, och ett kommersiellt kitosanpreparat, YEA!, testades med avseende på deras effekt på tillväxten hos fyra svampar, *Fusarium oxysporum*, *Pythium* sp., *Trichoderma* sp. och *Mucor* sp. Försöken utfördes på laboratorium under 1989.

Kitosanpreparationerna A, B och C hade vid en kitosankoncentration på 0,07-0,1 mg/ml ingen hämmande effekt på *Fusarium oxysporum* och *Trichoderma*. Vid en ökning av koncentrationen (0,7-5 mg/ml) skedde en gradvis hämning av tillväxten hos båda svamparna, kraftigast hos *Trichoderma*. YEA! hade dock effekt redan vid lägsta koncentrationen. Tillväxten hos *Pythium* gynnades vid de lägre koncentrationerna men upphörde helt vid den högsta koncentrationen. *Mucor* hämmades redan vid de lägsta koncentrationerna och vid de högsta upphörde tillväxten. Av de fyra kitosanpreparaten var YEA! det som hade bäst effekt, genom att hämma svamparna redan vid relativt låga koncentrationer.

Kitosan har ur växtpatologisk synvinkel många intressanta egenskaper. Förutom att kitosan tycks inducera försvarsmekanismer hos växter, har det i flera undersökningar *in vitro* visat sig hämma tillväxten hos många svampar (Allan & Hadwiger, 1979; Stössel & Leuba, 1984; Hirano & Nagao, 1989; El Ghaouth, 1990). Vid försöksavdelningen för svamp- och bakteriesjukdomar, SLU, Alnarp, utfördes under 1989 ett antal laboratorieförsök för test av olika kitosanpreparationers effekt på några svampar. Kitosanpreparationerna hade framställts ur svampar av släktet *Absidia* (Zygomycetes). Dessutom testades ett kommersiellt kitosanpreparat framställt ur krabbskal.

### Material och metoder

De kitosanpreparationer som ingick i försöken var:

**Kitosan A** (kitosan från *Absidia glauca* löst i 2 % ättiksyra, kitosanhalt 1,0 %)

**Kitosan B** (cellvägg från *A. coerulea* (83 %) och *A. glauca* (17 %) löst i 2 % ättiksyra, kitosanhalt ca 0,7 %)

**Kitosan C** (cellvägg från *A. coerulea* (83 %) och *A. glauca* (17 %) löst i 3,3 % mjölksyra, kitosanhalt ca 0,7 %)

Samtliga var framställda vid Kemicentrum i Lund. I försöken ingick även ett amerikanskt kitosanpreparat framställt ur krabbskal, YEA!<sup>TM</sup> (Yield Enhancing Agent, Siegfried AG/SA), innehållande 2,5 % kitosan löst i 0,3 % ättiksyra (Davoust, 1991). Som jämförelse användes också två

fungicider, Benlate (benomyl 500 g/kg) och Aaterra (etridiazol 370 g/kg).

Svamparna som användes i försöken var *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *Pythium* sp., *Trichoderma* sp. och *Mucor* sp. Svamparna ympades i form av 5 mm mycelpluggar i 50 mm petriskålar på ett standardmedium<sup>5</sup> för svampar, till vilket de olika kitosanpreparationerna tillsatts. Ympning skedde också på obehandlat substrat som kontroll. I försöken med *Fusarium oxysporum* och *Pythium* sp. ingick även en fungicidkontroll med Benlate resp. Aaterra. Varje försöksled omfattade 10 petriskålar. De ympade petriskålarna inkuberades i bakteriologskåp vid 25 °C. Tillväxten hos svamparna bedömdes genom mätning av svampkoloniernas diameter i mm. Bedömningarna gjordes dagligen upptill 4 dygn efter ympningen.

Kitosanpreparationerna prövades i olika koncentrationer med avseende på kitosaninnehåll. De koncentrationer av kitosan som prövades var för Kitosan A och YEA! 0,1, 1 och 5 mg/ml och för Kitosan B och C 0,07, 0,7 och 3,5 mg/ml. Koncentrationerna i fungicidkontrollerna var för Benlate 0,06 % och för Aaterra 0,1 %. Försöken

\* Mediet är av okänt ursprung men användes vid Växtskyddsanstalten i Åkarp och används fortfarande vid SLU Info/Växtskydd för isolering av svampar. Det innehåller 1 l kranvatten, 20 g agar (Oxoid), 22,6 g glukos, 5 g KNO<sub>3</sub>, 2,5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> och 1,26 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O. pH 5,8.

med *Fusarium oxysporum*, *Pythium* sp. och *Trichoderma* sp. utfördes två gånger.

## Resultat

Resultaten av försöken med de olika svamparna bearbetades statistiskt med variansanalys var för sig. Resultaten av de två upprepade försöken med *Fusarium oxysporum*, *Pythium* sp. respektive *Trichoderma* sp. visade sinsemellan så god korrelation ( $r = 0,989, 0,971$  resp  $0,990$ ) att medelvärden från de två försöken användes vid analysen.

Tabell 1 visar tillväxten i % av obehandlad kontroll hos *Fusarium oxysporum* och *Trichoderma* sp. efter 2 dygn och hos de mer snabbväxande svamparna *Pythium* sp. och *Mucor* sp. efter 1 dygn.

Kitosan A, B och C hade vid de lägsta koncentrationerna (0,07-0,1 mg/ml) inte någon hämmande effekt på *Fusarium oxysporum* och *Trichoderma*. YEA! däremot hämmade tillväxten hos båda svamparna vid en koncentration på 0,1 mg/ml. Tillväxten hos *Pythium* gynnades kraftigt av samtliga kitosanpreparationer i de lägsta koncentrationerna, en tendens som också kan ses hos *Trichoderma* vid behandling med Kitosan A och B. *Mucor* var den enda svamp vars tillväxt hämmades redan vid de lägsta koncentrationerna. När koncentrationen av kitosan ökades 10 gånger (0,7-1 mg/ml) hämmade samtliga kitosanpreparationer tillväxten hos *Fusarium oxysporum*, starkast effekt hade YEA!.

*Trichoderma* hämmades kraftigt vid en ökning av koncentrationen, Kitosan B hade dock ingen effekt. Tillväxten hos *Pythium* gynnades fortfarande av Kitosan B och C, Kitosan A hämmade tillväxten något men YEA! gav starkast hämning. Hos *Mucor* gav Kitosan A och YEA! mycket stark hämning när koncentrationen ökades till 1 mg/ml. Vid den högsta kitosankoncentrationen på 3,5-5 mg/ml hämmade samtliga kitosanpreparationer tillväxten hos alla fyra svamparna. Hos *Pythium* och *Mucor* upphörde tillväxten helt och även *Trichoderma* hämmades kraftigt vid dessa koncentrationer.

## Diskussion

Allan och Hadwiger (1979) undersökte kitosans effekt på svampar med olika beståndsdelar i cellväggarna. Kitosan hämmade tillväxten hos flera växtpatogena svampar t.ex. *Pythium debaryanum* och *Phytophthora cactorum* med cellulosa/β-glukan i cellväggarna samt *Fusarium culmorum* och *Verticillium dahliae* vars cellväggar innehåller kitin/β-glukan. Kitosan hade däremot ingen hämmande effekt på svampar med kitosan

Tabell 1. Effekter av några kitosanpreparationer på tillväxten hos fyra olika svampar. Siffrorna anger tillväxten i % av kontrollen efter 2 dygn (*Fusarium* och *Trichoderma*) och efter 1 dygn (*Pythium* och *Mucor*). – *The effects of some chitosan preparations on the growth of four different fungi. The figures indicate growth in % of control after 2 days (Fusarium and Trichoderma) and after 1 day (Pythium and Mucor).*

Behandlingar kitosan mg/ml Treatments chitosan mg/ml	Tillväxt i % av kontrollen. – Growth in % of control.			
	<i>Fusarium oxysporum</i> *	<i>Pythium</i> sp.*	<i>Trichoderma</i> sp.*	<i>Mucor</i> sp.
Kontroll	100 a	100 g	100 b	100 a
Kitosan A				
0,1	105 a	200 b	108 a	42 d
1	76 c	86 h	12 f	19 e
5	33 g	0 j	4 g	0 f
Kitosan B				
0,07	105 a	186 c	108 a	50 cd
0,7	95 b	114 f	100 b	54 cd
3,5	48 f	0 j	4 g	0 f
Kitosan C				
0,07	105 a	229 a	100 b	42 d
0,7	62 e	136 e	24 d	65 c
3,5	29 g	0 j	4 g	35 d
YEA!				
0,1	71 d	150 d	88 c	81 b
1	33 g	36 i	20 e	4 f
5	33 g	0 j	8 fg	0 f
Benlate 0,06 %	0 h	-	-	-
Aaterra 0,1 %	-	0 j	-	-

\* Medelvärden baserade på två försök med vardera 10 upprepningar. – Mean values based on two trials with 10 replicates each.

Kolonidiameter i obehandlad kontroll: *Fusarium oxysporum* 21 mm, *Pythium* 14 mm, *Trichoderma* 25 mm, *Mucor* 26 mm. – Colony diameter in untreated control: *Fusarium oxysporum* 21 mm, *Pythium* 14 mm, *Trichoderma* 25 mm, *Mucor* 26 mm.

Medelvärden markerade med samma bokstav/bokstäver är ej signifikant ( $p = 0,05$ ) åtskilda, enligt Student-Newman-Keuls test. – Mean values followed by the same letter(s) are not significantly different ( $p = 0,05$ ) according to the Student-Newman-Keuls test.

i cellväggarna, däribland *Mucor* sp. och *Rhizopus nigricans* (Zygomycetes). Allan och Hadwiger använde koncentrationer av kitosan på 0,008-1 mg/ml. De flesta *Pythium*-arter som ingick i undersökningen hämmades först vid den högsta koncentrationen, medan *Fusarium*-arter hämmades redan vid en 10 gånger lägre koncentration. Även i vårt försök krävdes en hög koncentration för att hämma tillväxten hos *Pythium*. I motsats till resultatet hos Allan och Hadwiger hämmades *Mucor* av kitosan och det redan vid låga koncentrationer. Andra undersökningar tyder också på att zygomyceter hämmas av kitosan. Hirano och Nagao (1989) fick vid en kitosankoncentration på 1 mg/ml hämning av tillväxten hos *Rhizopus nigricans*. El Ghaouth (1990) fann att kitosanbehandlade jordgubbar inokulerade med *Botrytis cinerea* och *Rhizopus stolonifer* efter 20 dagars lagring hade mindre andel rötter än obehandlade jordgubbar. El Ghaouth kunde också konstatera att kitosan inducerade läckage *in vitro* av bl.a. proteiner hos de två svamparna vid koncentrationer på 3 och 6 mg/ml.

Det måste dock påpekas att direkta jämförelser mellan olika försök är mycket svåra eller omöjliga att göra. Stössel och Leuba (1984) konstaterade att den hämmande effekten på svampar av kitosan och liknande ämnen var beroende av ämnens deacetylerings- och polymerisationsgrad men också av substrat och pH. I flera av de ovan nämnda undersökningarna har olika substrat använts. I vårt försök användes ett för oss väl beprövat substrat, men som för de flesta andra torde vara okänt. Anledningen var att det funge-

rade bra tillsammans med samtliga kitosanpreparationer, vilket inte PDA gjorde, kitosanet fälldes ut.

Vid jämförelse mellan effekterna av de olika kitosanpreparationerna var YEA! det preparat som genomgående hade starkast hämmande effekt. När det gäller jämförelser mellan Kitosan A, Kitosan B och Kitosan C går det inte att dra någon sådan generell slutsats. Samtliga hämmade tillväxten hos de flesta svamparna, åtminstone vid de högre koncentrationerna, men effekten på de olika svamparna varierade. Det finns ingen uppgift om deacetylerings- och polymerisationsgrad hos de fyra kitosanpreparationerna. Kanske finns här förklaringen till den starkare effekten av YEA!.

## Litteratur

- Allan, C.R. & Hadwiger, L.A. 1979. The fungicidal effect of fungi of varying cell wall composition. *Experimental Mycology* 3, 285-287.
- El Ghaouth, A. 1990. Antifungal effect of chitosan on two fungal pathogens of strawberries in vivo and in vitro. (Abstr.) *Phytopathology* 80:10, 1020.
- Davoust, N. 1991. Kitosan: beskrivning, egenskaper och beredning. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 63-64.
- Hirano, S. & Nagao, N. 1989. Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme and chitinase on the growth of several phytopathogens. *Agricultural and biological chemistry*, 53:11, 3065-3066.
- Stössel, P. & Leuba, J.L. 1984. Effect of chitosan, chitin and some aminosugars on growth of various soilborne phytopathogenic fungi. *Phytopath. Z.* 111, 82-90.

NORIN, I. & GUSTAFSSON, E. 1991. Effects of chitosan on the growth of four different fungi. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 65-67.

Three chitosan preparations named A, B, and C derived from the fungi *Absidia glauca* and *A. coerulea* at the Chemical Center, University of Lund, and a commercial product prepared from crab shell, YEA!<sup>TM</sup> (Siegfried AG/SA) were tested in the laboratory concerning their effects on the growth of four fungi, *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *Pythium* sp., *Trichoderma* sp. and *Mucor* sp.

The chitosan preparations were added to a medium containing 1 l tap water, 20 g agar (Oxoid), 22.6 g glucose, 5 g KNO<sub>3</sub>, 2.5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> and 1.26 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (pH 5.8) and poured into 50 mm petri dishes. Chitosan A and YEA! were tested at the concentrations of 0.1, 1, and 5 mg chitosan/ml substrate and Chitosan B and C at the concentrations of 0.07, 0.7, and 3.5 mg chitosan/ml substrate. Each fungus was treated separately along with an untreated control. In the *Fusarium* and *Pythium* trials, Benlate (benomyl 500 g/kg; 0.06%) and Aaterra (etridiazole 370 g/kg; 0.1%) respectively, were also included. The petri dishes were inoculated with 5 mm mycelial plugs (10 replicates/treatment) and incubated at 25 °C in darkness. Colony diameters were measured daily up to four days after inoculation. The tests with *Fusarium oxysporum*, *Pythium* sp. and *Trichoderma* sp. were performed twice.

The chitosan preparations A, B, and C did not inhibit growth of *Fusarium oxysporum* and *Trichoderma* sp. at the lowest chitosan concentration. At higher concentration (0.7-5 mg/ml) the inhibiting effect on both fungi increased. This effect was most apparent with *Trichoderma*. YEA!, however, inhibited the growth of both fungi already at the lowest concentration. The growth of *Pythium* was promoted at low concentrations of chitosan, but ceased completely at the highest concentration. The growth of *Mucor* was inhibited already at low concentrations of chitosan and ceased at high concentrations. The best fungicidal activity was shown by YEA!, which inhibited the growth of the fungi already at relatively low concentrations.

Additional keywords: *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, *Pythium* sp., *Trichoderma* sp., *Mucor* sp.

# Inducering av systemisk resistens med kitosan

Sture Brishammar och Ulrika Meyerson, SLU, Inst. för växt- och skogsskydd, Box 7044, 750 07 Uppsala

BRISHAMMAR, S & MEYERSON, U. 1991. Inducering av systemisk resistens med kitosan. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 68-70.

Oligomerer av kitosan, som visat sig kunna fungera som elicitorer för att inducera försvarsreaktioner i växter, kan även igångsätta systemisk inducerad resistens. Kitosan från krabbskalskitin syrahydrolyserades varefter oligomer-blandningen separerades genom gelfiltrering över Sephadex G-15. Mikroförökade potatisplantor, sort Bintje, inducerades med kitosanoligomerer (hexamer till octamer) och inokulerades en vecka efteråt med zoosporer från *Phytophthora infestans*. Angreppen till följd av "utmanar"-inokuleringen var på behandlade plantor endast cirka 30 % av de angrepp som återfanns på kontrollplantor utan förbehandling. För att uppnå positiv induceringseffekt krävdes att kitosanproven injicerades direkt in i växtvävnaderna.

Kitosan har visat sig vara verksamt som elicitor för att inducera försvarsreaktioner (Hadwiger & Beckman, 1980; Kendra & Hadwiger, 1984; Köhle et al., 1985). Kitosanet är till skillnad från kitinet deacetylerat, vilket ger det katjonkaraktär och därmed hög grad av reaktivitet. För att uppnå effekt måste kitosanet dock föreligga som oligomer med ett begränsat antal subenheter (Kendra & Hadwiger, 1984). De inducerade reaktioner som hittills har studerats med kitosan som elicitor har gällt inducerat försvar, då inducering och infektion sker samtidigt. Den här genomförda undersökningen avser inducerad resistens, vilket innebär att det finns en tidsskillnad mellan inducering och den efterföljande infektionen - den s.k. "utmaningen". Plantan omställs till att inta ett beredskapsläge varigenom en kommande infektion effektivare kan motverkas, på ett sätt som inte sker hos motsvarande icke inducerade kontrollplantor. De här aktuella studierna avser dessutom systemisk inducerad resistens, varmed menas att induceringen sprider sig i hela växten.

## Material och metoder

Potatis, sort Bintje, uppförökades *in vitro* (Strömberg & Brishammar, 1991) för att kontinuerligt få jämnt utvecklat växtmaterial. Plantorna fick tillväxa i odlingskammare, i krukor (diam. 9 cm) med steril jord. Dagstemperaturen var 18-20 °C och nattetemperaturen 14 °C. Försöksplantorna hade 10-12 blad när experimenten påbörjades.

Induceringen med kitosan utfördes till en början genom att på de 4 första bladen applicera runda filtrerpapperslappar med diam. 6 mm (4 st/blad), vilka hade indränkts med kitosanfraktioner. I vissa försök tillsattes till dessa även 2 % dimetylsulfoxid (DMSO). Vid senare försök inji-

cerades provet (ca 0,1 ml per planta) direkt in i mesofyllet eller i bladnerven, i ett av de 4 första bladen. Cirka en vecka efter induceringen "utmanades" plantorna genom att spraya dem med en suspension av zoosporer (cirka 10<sup>4</sup>/ml) från *Phytophthora infestans*. Bestämningen av bladmögengreppet gjordes på varje planta 6 dygn efter "utmaningen", varvid alla uppkomna lesioner avräknades.

Kitosanet, preparerat från krabbskal, var från Sigma. 1,3 g kitosan upplöstes i 65 ml 0,1 M HCl under omrörning, samtidigt som temperaturen på den uppvärmbara magnetomröraren höjdes till 85 °C. Koncentrerad saltsyra tillsattes sedan droppvis tills HCl i lösningen blev 2 M, varefter det upplösta kitosanet hydrolyserades i 10 min under omrörning vid 85 °C. Därpå neutraliserades lösningen till pH 7,0 genom tillsats av (6 M) NaOH och centrifugerades sedan i 10 min vid 12 000 · g. Supernatanten (S1) omcentrifugerades i 20 min vid 27 000 · g, varvid en ny och helt klar supernatant (S2) kunde tillvaratagas. Prover av denna gelfiltrerades genom Sephadex G-15 (Pharmacia).

## Resultat

Kitosan såsom obehandlad polymer kan endast lösas i utspädd syra och till en koncentration av 1-2 %. Dessutom håller den sig bara i lösning vid sura pH-värden, vilket i sig kan påverka växtvävnaderna.

Hydrolysen av kitosanet anpassades med avseende på syrakoncentration, temperatur och tid så att den större delen av de erhållna oligomererna kom att innehålla sex till åtta subenheter, eftersom heptameren (med sju subenheter) förväntades vara den mest verksamma (Kendra & Hadwi-

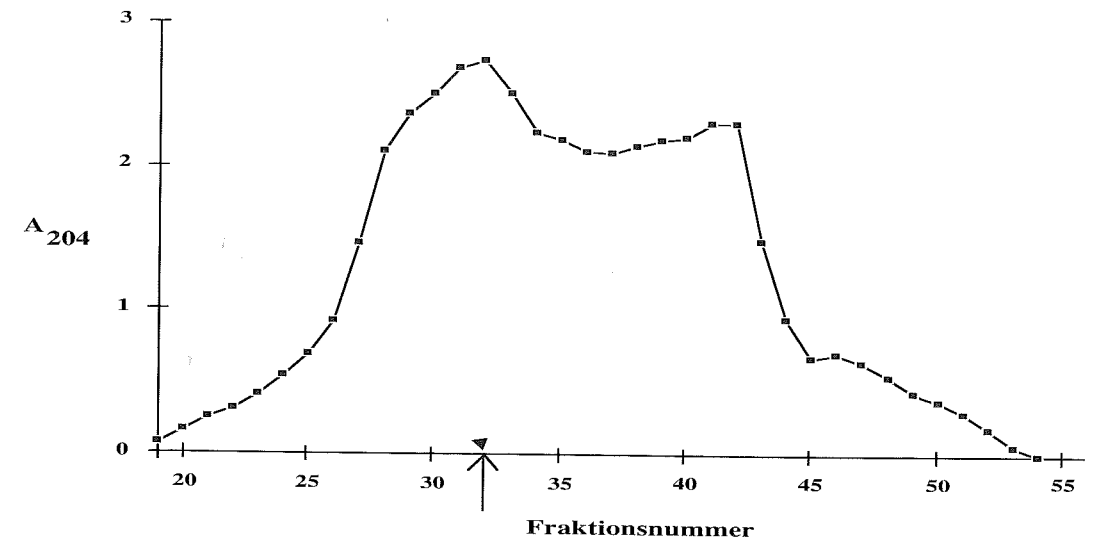


Fig. 1. Gelfiltrering av hydrolyserat kitosan (1 ml S2) på Sephadex G-15 [separationsområde (molekylstorlek): 100 - 1.500]. Kolonnen (1,4 · 52 cm) eluerades vid 20 °C med dubbeldestillerat vatten (pH 7) och med en hastighet av 30 ml/tim. Fraktionsvolym: 1 ml. Voidvolym: 26 ml. ▼ = uttaget prov (= fraktion nr. 32). A<sub>204</sub> = UV-absorptionen vid 204 nm. - Gelfiltration of hydrolyzed chitosan (1 ml of S2) on Sephadex G-15 [fractionation range (molecular weight): 100 - 1.500]. The column (1.4 · 52 cm) was eluted at 20 °C with double-distilled water (pH 7); flow rate: 30 ml/h. Fraction volume: 1 ml. Void volume: 26 ml. ▼ = selected sample (= fraction no. 32). A<sub>204</sub> = UV-absorbance at 204 nm.

ger, 1984). Oligomererna i hydrolysatet, som nu är lösliga vid neutrala pH-värden, separerades sedan genom gelfiltrering över Sephadex G-15 (Fig. 1). Kraftigare hydrolys gav oligomerer med färre subenheter samt monomerer - dvs glukosamin; molekylvikt: 179,17.

Applicering av lappar med kitosanlösning på bladens över- eller undersidor visade att kitosan, oavsett om det föreligger som poly-, oligo- eller monomer, inte kan åstadkomma någon inducering via klyvöppningarna eller direkt via kutikulan, med tillsats av 2% DMSO tillsammans med provet. Högre koncentrationer av DMSO enbart orsakar skador på bladen, men framkallar varken med eller utan kitosan någon inducering. De lågmolekylära kitosanfraktionerna ger vid tillsats på filtrerpappersbitar, utan DMSO, också upphov till nekrosor på bladen, under appliceringsytorna, men ingen inducering.

Vid insprutning av prov från gelfiltreringen av kitosanhydrolysat (Fig. 1), direkt i plantans vävnader, erhöles däremot en inducering.

Angreppen till följd av "utmanar"-inokuleringen, var på behandlade plantor, endast cirka 30 % av de angrepp som återfanns på kontrollplantor utan förbehandling. Värdet baseras på medeltalet av resultaten från tre upprepningar av provserier med försöksplantor.

De på detta sätt inducerade plantorna kunde sedan återhämta sig och tillväxa, vilket inte skedde med obehandlade plantor.

## Diskussion

Hur kitosan fungerar som inducerande substans är för närvarande inte möjligt att konstatera. Det är dock troligt att det påverkar cellmembranen och ger därmed upphov till att en eller flera signaler förmedlar en systemisk inducering i växten, så att hela plantan intar ett tillstånd av beredskap gentemot patogener.

Kitin är en linjär β(1-4)-polymer av N-acetyl-D-glukosamin och kitosan är uppbyggt på likartat sätt men i huvudsak utan acetylgrupper, vilket därmed gör den mer reaktiv. Ändå tycks även kitin kunna fungera som elicitor i vissa sammanhang (Pearce & Ride, 1982; Barber et al., 1989). Gemensamt för de två typerna synes dock vara att de inte är verksamma såsom polymerer utan måste förekomma som oligomerer, vars storlek för att ge optimal aktivitet dock kan variera något från ett fall till ett annat (Barber et al., 1989; Kendra & Hadwiger, 1984). Vanligen har det ansetts såsom nödvändigt att en kitosanfraktion, för att åstadkomma inducering, måste ha kvar en acetylgrupp (Pearce & Ride, 1982; Barber &

Ride, 1988), men t.ex. med tomat, krävs det en "ren" oligo-glukosamin för elicitor-aktivitet (Barber et al., 1989). Den eliciterande substans som lämpligen bör tillsättas externt kan således variera något från en slags växt till en annan, men trimmas kanske efter hand av enzym såsom kitinas, N-acetyl-β-D-glukosaminidas och något glukosidas så att elicitor, som slutligen reagerar med receptorn, ändå alltid har samma kemiska karaktär.

Administreringen av kitosanet innebär ett särskilt problem eftersom det uppenbarligen måste ske en påverkan på cellerna under kutikulan. Från försöken, då prov insprutas med injektionsspruta, framgår det inte vilka celler som påverkas vid positivt utslag.

Vid injiceringen var det troligen bara en viss del av provet som verkligen kom in i vävnaderna, men mycket tyder dock på att det endast behövs ytterst små mängder av den aktiva substansen för att uppnå induceringar (Hadwiger & Beckman, 1980; Bronner et al., 1989).

En viktig fråga av praktisk natur är givetvis hur man lämpligen i stor skala skall få in den verkliga kitosan-fraktionen i växterna. Ett tänkbart förfarande kan vara att den sprids ut i blandning med en icke-patogen (Cuero et al., 1991). Andra frågor gäller betydelsen av plantornas storlek vid induceringen och om behandlingen måste upprepas för att få en tillräckligt stark resistens-effekt.

Typen av kitosan som användes kan också vara av stor betydelse. När kitosan prepareras från kitin (t.ex. från krabbskal) måste detta behandlas med alkali för att acetylgrupperna skall avlägsnas och då finns samtidigt risken att glukosamin till viss del deamineras till 2,5-anhydromannos (Ride & Drysdale, 1972) så att materialet blir heterogent. Denna risk finns inte med kitosan från *Absidia*-svampen, som ju direkt producerar kitosan och avsätter det i cellväggarna (Hansson, 1986).

## Litteratur

- Barber, M.S. & Ride, J.P. 1988. A quantitative assay for induced lignification in wounded wheat and its use to survey potential elicitors of the response. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 32, 185-197.
- Barber, M.S., Bertram, R.E. & Ride, J.P. 1989. Chitin oligosaccharides elicit lignification in wounded wheat leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 34, 3-12.
- Bronner, R., Westphal, E. & Dreger, F. 1989. Chitosan, a component of the compatible interaction between *Solanum dulcamara* L. and the gall mite *Eriophyes cladophthirus* Nal. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 34, 117-130.
- Cuero, R.G., Osuji, G. & Duffus, E. 1991. Chitosan, a bioregulator: control of toxigenic and non-toxigenic fungi, aflatoxin and zearalenone in preharvest corn. *Abstracts of Papers, XII International Plant Protection Congress*, Rio de Janeiro, Brazil, 11-16 August.
- Hadwiger, L.A. & Beckman, J.M. 1980. Chitosan as a component of pea-*Fusarium solani* interactions. *Plant Physiology* 66, 205-211.
- Hansson, G. 1986. *Kitin och kitosan - förekomst, produktion och användningsområden*. Litteratursammanställning, Teknisk mikrobiologi, Kemisentrum, Lunds Universitet.
- Kendra, D.F. & Hadwiger, L.A. 1984. Characterization of the smallest chitosan oligomer that is maximally antifungal to *Fusarium solani* and elicits pisatin formation in *Pisum sativum*. *Experimental Mycology* 8, 276-281.
- Köhle, H., Jeblick, W., Poten, F., Blaschek, W. & Kauss, H. 1985. Chitosan-elicited callose synthesis in soybean cells as a Ca<sup>2+</sup>-dependent process. *Plant Physiology* 77, 544-551.
- Pearce, R.B. & Ride, J.P. 1982. Chitin and related compounds as elicitors of the lignification response in wounded wheat leaves. *Physiological Plant Pathology* 20, 119-123.
- Ride, J.P. & Drysdale, R.B. 1972. A rapid method for the chemical estimation of filamentous fungi in plant tissue. *Physiological Plant Pathology* 2, 7-15.
- Strömberg, A. & Brishammar, S. 1991. Induction of systemic resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.) plants to late blight by local treatment with *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, *Phytophthora cryptogea* Pethb. & Laff., or dipotassium phosphate. *Potato Research* 34, 219-225.

BRISHAMMAR, S & MEYERSON, U. 1991. Induction of systemic resistance with chitosan. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 68-70.

Oligomers of chitosan, known to act as elicitors for induction of defence reactions in plants, also can trigger systemic induced resistance. Chitosan from the chitin of crab shells was hydrolyzed in acid, after which the mixture of oligomers was separated by gel filtration on Sephadex G-15. Potatoes, cultivar Bintje, propagated in vitro from nodal cuttings, were induced to initiate defence reactions with oligomers of chitosan (hexamer to octamer) and were inoculated one week afterwards with zoospores of *Phytophthora infestans*. As a consequence of the "challenge"-inoculation the influence on the induced plants was only 30 % of that on the untreated ones. To obtain a positive effect of induction it was necessary to inject the specimens of chitosan directly into the tissues of the plants.

Additional key words: hydrolysis, gel filtration, *Phytophthora infestans*

# Kitosan som bekämpningsmedel mot potatisblad-mögel, *Phytophthora infestans*

Börje Olofsson, SLU, Inst. för växt- och skogsskydd, Box 7044, 750 07 Uppsala

OLOFSSON, B. 1991. Kitosan som bekämpningsmedel mot potatisbladmögel, *Phytophthora infestans*. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 71-73.

Kitosanpreparat undersöktes 1989-1990 i laboratorieförsök med avseende på deras verkan mot bladmögelsvampen, *Phytophthora infestans*. Undersökningen utfördes vid försöksavdelningen för svamp- och bakteriesjukdomar, SLU, Uppsala. Fyra preparat hade framställts ur svamparna *Absidia glauca* och *A. coerulea* vid avdelningen för teknisk mikrobiologi, Kemisentrum i Lund. De gav i två försök en effekt mot bladmögelsvampen som inte helt kan tillskrivas de syror som använts som lösningsmedel för kitosanet.

Ett fältförsök gjordes 1991 i Uppsalaområdet där potatisplantor sprutades fem gånger med utspädd Kitosan. Ingen säker skillnad mellan behandlat och obehandlat kunde noteras i detta försök.

## Material

Följande kitosanpreparat ingick i försöken:

Kitosan A. *Absidia*, 1% kitosan löst i 2% ättiksyra (0,3 M), pH 5,80.

Kitosan B. *Absidia* cellvägg, 0,7 % kitosan, löst i 2 % ättiksyra (0,3 M), pH 6,07.

Kitosan C. *Absidia* cellvägg, 0,7 % kitosan, löst i 3,3 % mjölksyra, (0,3 M) pH 5,77.

Kitosan D. *Absidia*, 0,8 % kitosan löst i 0,3 % ättiksyra.

Som jämförelse användes 1989 ett amerikanskt kitosanpreparat, här benämnt Chitosan (Sigma), framställt genom extraktion av krabbskal. Det var pulverformigt och löstes i citronsyra till koncentrationen 1 % vid pH ca 4,0. 1990 ersattes Chitosan (Sigma), av Kitosan Siegfried (YEA!), även detta extraherat ur krabbskal.

Preparaten provades i olika utspädningsgrader. Eftersom syror är bärsubstans i de olika kitosanpreparaten medtogs sådana i försöken som jämförelse jämte obehandlad kontroll.

Som testmaterial användes blad av potatissorten Bintje plockade från växthusodlade plantor. Dessa plantor var 60-70 cm höga och odlade i 20-25 °C och dagsljus kompletterat med växthusbelysning.

I experimenten användes ett bladmögelsisolat från Uppsala-området. Isolatet odlades på Bintjeblad och skördades på zoosporangier någon timme före inokulering av bladen. Sporangiekoncentrationen justerades till ca 1 x 10<sup>4</sup> per ml. Försöken utfördes i transparenta plastskålar med fuktigt filterpapper. Skålarnas diameter var 16 cm.

## Behandling och inokulering

Behandling skedde 1989 genom att bladen doppades ca 5 sek. i testlösningarna varefter de skakades av och lades i skålarna, 4 blad per skål och 4-5 skålar per försöksled. Kontrollbladen doppades i destillerat vatten. År 1990 fuktades däremot enbart bladens översidor.

Vid inokuleringen sprayades bladens översidor i skålarna med en sprayflaska, 0,9 ml per skål, (ett kolvslag), vilket gav ca 50 zoosporangier per cm<sup>2</sup>. Skålarna ställdes 1989 efter inokulering i ett klimatreglerat odlingskåp, 16 °C, ca 90 % RH och 12 tim ljus/mörker per dygn, 1990 i en termostatreglerad växthuskammare, där temperaturen var 15-20 °C.

## Utvärdering

Efter 3-4 dygn räknades antalet infektionspunkter på en utstansad cirkelyta från varje blad. Denna cirkelyta var 1,8 cm<sup>2</sup>. I ett försök bedömdes procenten bladmögelangripen bladyta 6 dagar efter inokuleringen. Sammanlagt genomfördes under de båda försöksåren 7 försök.

## Försök 1989

År 1989 gjordes fyra laboratorieförsök här benämnda försök 1-4. I försök 1 användes utspädda kitosan-preparat. På grund av preparatens viskositet fick bladytorna vid doppningen trots avskakning en relativt tjock beläggning.

Försök 2 gjordes med kitosanpreparat spädda med vatten i proportionen 1:9.

I försök 3 späddes kitosanpreparaten med de-



Tabell 1. Bladmögelbekämpning med kitosan. Resultat av lab.försök 1989. – *Late blight control with chitosan. Results of lab trials in 1989.*

Behandling <i>Treatment</i>	Antal <i>Phytophthora</i> -infektioner på cm <sup>2</sup> <i>No of Phytophthora necroses per cm<sup>2</sup></i>		
	Försök 1 <i>Trial no 1</i>	Försök 2 <i>Trial no 2</i>	Försök 3 <i>Trial no 3</i>
Obehandlat <i>Untreated</i>	6,7 A	6,3 A	4,9 A
Kitosan A	<0,1 B	3,3 B	<0,1 B
Kitosan B	0,0 B	3,5 B	0,0 B
Kitosan C	0,0 B	3,2 B	0,0 B
Chitosan (Sigma)	0,0 B	3,9 B	0,4 B
Ättiksyra <i>Acetic acid</i>	-	-	0,0 B
Utspänningsgrad <i>Dilution</i>	1:0	1:9	1:1

Siffervärden följda av olika bokstäver är säkert skiljda från varandra (Duncan-test,  $P < 0,05$ ). – *Numerical values followed by the same letter(s) are significantly different (P < 0,05) according to Duncan test.*

Tabell 2. Bladmögelbekämpning med kitosan 1989. – *Late blight control with chitosan 1989.*

Behandling <i>Treatment</i>	Angripen bladyta, % <i>Attacked leaf area, per cent</i>	
Obehandlat <i>Untreated</i>	Utspädning <i>Dilution</i>	100 A
Kitosan A	1:1	18 C
Kitosan B	"	11 C
Kitosan C	"	16 C
Kitosan A	1:3	52 B
Kitosan B	"	25 C
Kitosan C	"	48 B

Siffervärden följda av olika bokstäver är säkert skiljda från varandra (Duncan-test,  $P < 0,05$ ). – *Numerical values followed by the same letter(s) are significantly different (P < 0,05) according to Duncan test.*

stillerat vatten i proportionen 1:1. Ättiksyra i koncentrationen 1% ingick i försöket. Resultatet av försök 1-3 redovisas i tabell 1.

Kitosanpreparaten minskade i alla försöken antalet *Phytophthora*-infektioner på bladytorna.

I försök 4 testades två utspädningar av kitosanpreparat. Bedömningen av effekten gjordes 6 dagar efter inokuleringen då andelen nekrotiserad bladyta skattades. Resultatet framgår av tabell 2.

Säker skillnad föreligger mellan behandlat och obehandlat, mellan Kitosan B och övriga kitosan-

Tabell 3. Bladmögelbekämpning med kitosanpreparat 1990. – *Late blight control with chitosan compounds in 1990.*

Behandling <i>Treatment</i>	Antal <i>Phytophthora</i> -nekroser per cm <sup>2</sup> <i>No of Phytophthora necroses per cm<sup>2</sup></i>		
	Försök 1 <i>Trial no 1</i>	Försök 2 <i>Trial no 2</i>	Försök 3 <i>Trial no 3</i>
Obehandlat <i>Untreated</i>	2,8 BC	2,7 AB	3,2 A
Kitosan A	1,3 DEF	0,8 D	1,0 D
Kitosan B	0,8 EF	0,2 D	0,5 D
Kitosan C	5,4 A	3,7 A	2,3 AB
Kitosan D	1,9 CD	2,3 ABC	2,6 AB
Kitosan Siegfried	0,3 F	0,7 D	0,3 D
Ättiksyra <i>Acetic acid</i>	2,6 BC	2,4 ABC	1,2 CD
Mjölksyra <i>Lactic acid</i>	3,1 B	3,1 B	1,9 BC
Kitosan A *) 1:1	2,6 BC	2,2 BC	1,1 CD
Kitosan B *) 1:1	1,8 CDE	1,3 CD	0,9 D
Kitosan C *) 1:1	2,9 BC	2,7 AB	2,4 AB

\*) Utspätt med dest vatten 1:1  
*Desoluted with aqua dest. 1:1*

Siffervärden följda av olika bokstäver är säkert skiljda från varandra (Duncan-test,  $P < 0,05$ ). – *Numerical values followed by the same letter(s) are significantly different (P < 0,05) according to Duncan test.*

preparat i utspädningen 1:3 samt mellan utspädningar oberoende av preparat ( $P < 0,001$ ). Den skyddande effekten mot bladmögelsvampen var dock ur praktisk synpunkt otillfredsställande.

## Försök 1990

Undersökningen fortsatte 1990 med ytterligare 3 försök. I dessa testades samma typer av kitosanpreparat som föregående år i två koncentrationer samt ättiksyra och mjölksyra. Resultatet framgår av tabell 3.

I dessa försök gav mätarpreparatet Kitosan Siegfried och Kitosan B bästa effekten medan Kitosan C inte skiljde sig från obehandlat.

## Fältförsök

Under 1991 gjordes ett fältförsök i Uppsalaområdet med kitosan i potatis. Plantorna var av sorten King Edward. De sprutades 5 ggr till avrinningsgränsen med Kitosan D spädd med vatten i proportion 1:4. Intervallerna var 5-7 dagar.

Bladmögelangreppet var starkt. Kitosanlösningen hade ingen effekt mot bladmöglet och brunrötan i detta försök. Den 23 augusti var alla plantor helt nedvissnade av bladmögelsvampen medan

i ett närbeläget försök helt kunnat skyddas med ingicidsprutning.

## Diskussion

Kitosanpreparaten har i testade koncentrationer i laboratorieförsöken haft mer eller mindre god effekt mot bladmögelsvampen, *Phytophthora infestans*. Utspädda med destillerat vatten i proportionen 1:9 var dock effekten av medlen helt otillfredsställande. De syror som använts för att lösa kitosanet kan hindra sporgroning. Jämförelse mellan dessa syror och kitosanpreparaten indikerar dock att kitosanet i sig kan ha en hämmande

verkan på de groende *Phytophthora*-sporererna om inokuleringen sker medan potatisbladen ännu är fuktiga efter kitosanbehandlingen. Effekten är dock inte tillräcklig för ett praktiskt utnyttjande av kitosan. Detta kunde visas i ett fältförsök utfört i Uppsala-trakten 1991, där dock infektionstrycket var mycket starkt.

## Litteratur

Davoust, N. 1991. Kitosan: beskrivning, egenskaper och beredning. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 63-64.

OLOFSSON, B. 1991. Control of late blight, *Phytophthora infestans* with chitosan. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 71-73.

In 1989-1990 some laboratory trials were performed concerning late blight control with chitosan compounds. Four chitosan formulations named Kitosan A, B, C and D were tested. They were extracted from the fungus *Absidia glauca* and *A. coerulea* by the Dept. of Tehn. Microbiol., University of Lund, and dissolved in acetic acid (Kitosan A, B and D) or lactic acid (Kitosan C). The concentrations of chitosan were 0.7 per cent in Kitosan A, B and C and 0.8 per cent in Kitosan D.

The chitosan compounds mentioned were compared to Kitosan Siegfried (YEA!) and a chitosan product (Sigma) both extracted from crab shells, the latter dissolved in citric acid. All compounds were tested partly undiluted, partly diluted in distilled water. Potato leaves were collected from potato plants, cv Bintje, cultivated in a greenhouse chamber. The leaves were dipped for a few seconds in the chitosan solutions and immediately placed on filter papers in transparent plastic dishes. Before they dried they were inoculated with a suspension of *Phytophthora* sporangia. Approximately 50 sporangia per cm<sup>2</sup> leaf area were sprayed on the leaves. The number of *Phytophthora* necroses was determined 3-4 days after inoculation, the per cent attacked leaf area in one trial is recorded. The efficacy of chitosan compounds was better than that of the acids used as extraction media. The differences between acetic acid and Kitosan A/Kitosan B were statistically significant in two trials, indicating an effect of chitosan upon *Phytophthora*. The best performance was achieved by Kitosan Siegfried (YEA!) and Kitosan B.

In 1991 a field trial concerning control of late blight in cv King Edward, was carried out. A compound containing 0.8 per cent chitosan was diluted in tap water 1:5 and applied five times. All leaves were severely attacked by blight and no difference between treated and untreated leaves was found. The conclusion is that the efficacy of the chitosan compounds tested upon *Phytophthora infestans* is too poor to successfully control late blight in Swedish potato fields.

Additional key words: Chitosan, potatoes, *Phytophthora* control.

# Kitosan som bekämpningsmedel mot groddbränna, *Rhizoctonia solani*, på potatis

Börje Olofsson, SLU, Inst. för växt- och skogsskydd, Box 7044, 750 07 Uppsala

OLOFSSON, B. 1991. Kitosan som bekämpningsmedel mot groddbränna, *Rhizoctonia solani*, på potatis. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 74-75.

Fyra kitosanpreparat framställda vid avd. för teknisk mikrobiologi i Lund provades 1990 som bekämpningsmedel mot groddbränna, *Rhizoctonia solani*, på potatis.

Försöket, som utfördes i växthus, avsåg behandling av lackskorvmittat potatisutsäde av sorten Bintje. Knölna planterades i hinkar med enhetsjord. Kitosanpreparaten gav inte, trots hög dos, någon effekt mot groddbränna, ej heller jämförelsemedlet Kitosan "Siegfried" (YEA!).

*Rhizoctonia solani* är en polyfag svamp som kan utveckla flera typer av sjukdomssymptom på angripna potatisplantor. På groddar, underjordiska stjälkdelar och stolonier bildas t.ex. mörkbruna frätsår, groddbränna. Vid starka angrepp kan groddar dödas eller försvagas så att plantbeståndet blir luckigt. Det kan orsaka att knölskorde reduceras och kvalitén försämras. Eftersom *Rhizoctonia* kan överleva från säsong till säsong som mycel på utsädet kan bekämpning ske genom att detta behandlas med fungicider, vilket dock inte har någon effekt mot eventuell marksmitta. Under 1990 undersöktes effekten av några kitosanpreparat som betningsmedel mot groddbränna på potatisplantor i växthusförsök.

## Material och metod

I försöken testades fyra kitosanpreparat framställda ur svamparna *Absidia glauca* respektive *A. glauca* och *A. coerulea* (Kitosan B och C) vid avd. för teknisk mikrobiologi, Kemicentrum i Lund, (Davoust, 1991). Dessa ingick också i försök avseende bekämpning av potatisbladmögel och hade beteckningen Kitosan A, B, C och D.

Försöken gjordes med lackskorvangripna potatisknölar av fraktion 35-55 mm och sorten Bintje. Samtliga knölar var ogrodda och med 5-10 procent av ytan täckt av lackskorv. Försöken gjordes i 5-liters plasthinkar med sandblandad, fuktig enhetsjord, 5 hinkar per försöksled. Potatisknölarna behandlades genom skakning i plastpåsar. Dosen var 10 ml kitosanpreparat per kg potatis, en hög dos som gjorde potatisarna våta. Knölna fick ligga kvar i plastpåsar och var fortfarande våta dagen efter behandlingen, då sättningen skedde. I varje hink sattes 3 knölar, sättdjup ca 10 cm. Hinkarna täcktes med glasskivor för att hindra uttorkning och placerades i en växthuskammare med temperaturen 15-20 °C

## Utvärdering

Ingen säker skillnad i uppkomsthastighet kunde noteras mellan försöksleden. Då stjälkarna var ca 50 cm höga avbröts försöket och groddbränneangreppet samt stjäklängden bestämdes. Resultaten framgår av tabell 1.

Av tabellen framgår att inget av kitosanpreparaten, trots hög dos, hade effekt mot groddbränna orsakad av *Rhizoctonia solani*.

Tabell 1. Bekämpning av groddbränna *Rhizoctonia solani* på potatis med kitosan. – Control of stem canker, *Rhizoctonia solani* in potatoes with chitosan.

Behandling <i>Treatment</i>	Friska stjälkar per planta <i>Healthy stems per plant</i>	Angripna stjälkar per planta <i>Attacked stems per plant</i>	Stjäklängd cm <i>Stem length cm</i>
Obehandlat <i>Untreated</i>	3,3	2,9	50
Kitosan A	2,9	1,4	55
Kitosan B	3,3	2,8	56
Kitosan C	3,8	2,7	49
Kitosan D	2,3	2,8	50
Kitosan "Siegfried"	3,1	2,8	47
Ättiksyra 1% <i>Acetic acid 1%</i>	2,7	2,3	56
	N.S.	N.S.	N.S.

## Diskussion

Kitosan skall enligt litteraturuppgifter (Hansson, 1986) ha effekt mot svampar med viss cellväggsstruktur, t.ex. kitin / $\beta$ -glukan. Hit hör av allt att döma *Rhizoctonia solani*, som alltså borde påverkas av kitosan. I det utförda försöket har dock denna effekt inte varit tillräcklig för att hindra *Rhizoctonia*-svampens mycel på potatisutsädet från att aktiveras och tillväxa på potatisplantornas groddar och stjälkar. Detta trots att kitosan tillfördes i relativt hög dos. Slutsatsen av försöket

är att kitosan inte är användbart som betningsmedel mot lackskorv/groddbränna på potatis.

## Litteratur

Davoust, N. 1991. Kitosan: beskrivning, egenskaper och beredning. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 63-64.

Hansson, G. 1986. *Kitin och kitosan - förekomst, produktion och användningsområden*. En litteratursammanställning utförd vid Teknisk Mikrobiologi, Kemicentrum, Lund. Stencil.

OLOFSSON, B. 1991. Control of potato stem canker, *Rhizoctonia solani* with chitosan. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 74-75.

Chitosan produced by the fungi *Absidia glauca* and *Absidia coerulea* (Davoust, 1991) was tested as a seed dressing agent against potato stem canker. The trial was conducted using four chitosan products as well as Kitosan Siegfried and an untreated control. The trial was performed in pots with peat soil in a greenhouse chamber. The concentrations of chitosan in the tested products were between 0.7 and 1.0 per cent. Potato tubers evenly infested with black scurf were treated in a plastic bag with 10 ml of chitosan compounds per kg. The day after treatment the tubers were planted in pots and covered with a 10 cm layer of soil. The effect was assessed approximately 6 weeks after planting. Chitosan treatment did not have any effect upon either stem canker or the length of potato stems. The conclusion is that chitosan is not useful as a seed dressing agent against stem canker, *Rhizoctonia solani*.

*Additional key words:* Chitosan, potatoes, *Rhizoctonia* control.

# Undersökningar av kitosan som betningsmedel mot utsädesburna skadesvampar i stråsäd

Börje Olofsson, SLU, Inst. för växt- och skogsskydd, Box 7044, 750 07 Uppsala

OLOFSSON, B. 1991. Undersökningar av kitosan som betningsmedel mot utsädesburna skadesvampar i stråsäd. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 76-78.

Fyra kitosan-preparat, Kitosan A, B, C och D framställda ur svamparna *Absidia glauca* och *A. coerulea* vid avdelningen för teknisk mikrobiologi, Kemicentrum i Lund, undersöktes 1989-90 med avseende på effekten mot utsädesburna skadesvampar i stråsäd. I de utförda försöken gav inte kitosanpreparaten ens vid mycket hög dos någon effekt mot grodd- och broddskadande svampar som förekom hos de utsädespartier som användes.

En viss tendens till fytotoxicitet kunde noteras i korn vid höga doser av Kitosan B och C. Den slutsats man kan dra av dessa försök är att de undersökta kitosanpreparaten inte är användbara för sanering av utsäde.

## Försök med artificiellt smittat utsäde

I en försöksserie utförd 1989 med betning av smittat utsäde av höstvet och råg spädades tre formuleringar av kitosanpreparat som framställdes av avd. för teknisk mikrobiologi i Lund med destillerat vatten i förhållandet 1:1. Som mätare användes Panoctine 35 (guazatin, 350 g/l), 1 % ättiksyra samt obehandlad kontroll. Kitosanpreparaten användes i dosen 4 g per kg utsäde, ättiksyran i dosen 4 ml och Panoctine 35 i normaldosen 2 ml pr kg.

Utsädena var artificiellt, ytligt smittade med en spor/mycelsuspension av *Fusarium (Microdochium) nivale*. Uppvägda kvantiteter av utsädet behandlades med medlen genom skakning 2 minuter i plastburk. Eftersom kitosanpreparaten var

trögflytande och inte kunde pipetteras vägdes adekvata mängder upp direkt i plastburken.

Några dagar efter behandlingen såddes materialet i plastskålar med sandblandad enhetsjord, 50 kärnor per skål och 4 skålar per försöksled. Skålarna placerades i ett konstantrum där temperaturen var +6 °C. Efter 12 dagar flyttades materialet till växthus där temperaturen var 20-23 °C. Då plantorna efter ca 3 veckor passerat 2-bladsstadiet avbröts försöket och plantorna skördades och bedömdes med avseende på sundheten. Som angräpningsräknades plantor med brunaktig missfärgning på koleoptilen.

Resultatet framgår av tabell 1, där siffrorna anger procent räknat på antal sådda kärnor.

Tabell 1. Betning av höstvet- och rågpartier ytligt smittade med *Fusarium nivale*. Siffrorna anger procent. – *Desinfection of winter wheat and rye artificially infested with Fusarium nivale. The figures indicate per cent.*

Behandling Treatment	Dos g el/ ml/kg	Höstvet Winter wheat			Råg Winter rye		
		a	b	c	a	b	c
Obehandlat Untreated		63,0	26,5	10,5	57,0	36,5	6,5
Kitosan A	4	60,0	24,0	16,0	69,0	27,5	3,5
Kitosan B	4	60,5	30,0	9,5	67,0	28,5	4,5
Kitosan C	4	63,5	28,5	8,0	69,0	22,0	9,0
Ättiksyra 1% Acetic acid 1 %	4	59,5	25,5	15,0	65,0	22,5	12,5
Panoctine 35	2	91,5	3,5	5,0	81,0	11,5	7,5

a = Friska plantor. – *Healthy plants.*

b = Angräpningsplantor. – *Attacked plants.*

c = Ogrodda kärnor. – *Ungerminated kernels.*

Säker skillnad föreligger endast mellan mätarpreparatet Panoctine 35 och övriga försöksled.

Av tabellen framgår att varken Kitosan A, Kitosan B, Kitosan C eller ättiksyra har haft någon nämnvärd effekt på snömögelsvampen *Fusarium nivale*. Möjligheterna för preparaten att nå och inaktivera skadesvampen var eljest goda eftersom kärnorna var ytligt infesterade. Naturlig smitta av *Fusarium* i sädeskärnor är betydligt svårare att nå eftersom svampen normalt växer inne i kärnan. Mycket talar för att Kitosan A, B och C i den använda dosen 4 g/kg utsäde inte är användbara som betningsmedel mot snömögelsvampen *Fusarium nivale*.

## Försök med naturligt smittat utsäde

Undersökning avseende kitosanpreparatens användbarhet som betningsmedel fortsatte 1990 med försök i höstvet, havre och korn. Därvid användes utsäden med naturlig smitta, främst

*Septoria nodorum* på höstvet, *Drechslera avenae* på havre samt *Drechslera teres* och *Bipolaris sorokiniana* på korn. Metoden var i stort sett densamma som tidigare omnämns. Kitosanpreparaten användes i dosen 50 ml per kg utsäde, en extremt hög dos som gjorde sädeskärnorna mycket våta.

Som jämförelsemedel användes Panoctine 35 i standarddos samt Kitosan Siegfried (YEA!) i samma dos som övriga kitosanpreparat. I försöken ingick också ett antal syror i samma dos, nämligen ättiksyra, myrsyra, propionsyra, mjölksyra, malonsyra och succinsyra, alla i koncentrationen 2 %. Avsikten var att undersöka om dessa syror, tänkbara lösningsmedel för kitosan, i sig själva kunde vålla groningsskador. Några sådana skador kunde dock inte noteras.

Resultatet av försöket framgår av tabell 2. Kitosanpreparaten har samtliga trots den höga dosen givit otillfredsställande effekt mot skadesvamparna. I korn har två av preparaten negativt påverkat grobarheten.

Tabell 2. Betningsförsök med kitosan. Siffrorna anger procent. – *Seed dressing experiments with Chitosan. The figures indicate per cent.*

Behandling Treatment	Höstvet Winter wheat				Havre Oats				Korn Barley			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
Obetat Untreated	82	10 A	1	7	54	27 A	0	19 A	85	4	4	7 B
Kitosan A	84	4 AB	5	7	54	33 A	2	11 AB	87	4	3	6 B
Kitosan B	87	7 AB	2	4	50	37 A	2	11 AB	78	3	4	15 A
Kitosan C	86	8 AB	1	5	53	38 A	3	6 B	82	0	4	14 A
Kitosan D	87	5 AB	3	5	51	30 A	5	14 AB	88	4	1	7 B
Kitosan Siegfried	87	8 AB	2	3	58	33 A	2	7 B	86	3	2	9 B
Panoctine	92	0 C	2	6	68	13 B	0	19 A	86	3	5	6 B
		N.S.		N.S. N.S.		N.S.		N.S.		N.S.		N.S.

a = friska plantor. – *Healthy plants.*

b = angräpningsplantor. – *Attacked plants.*

c = abnormala plantor. – *Abnormal plants.*

d = ogrodda kärnor. – *Ungerminated kernels.*

Siffervärdena följda av olika bokstäver är säkert skilda från varandra (Duncan-test,  $P < 0,05$ ). – *Numerical values followed by the same letter(s) are significantly different ( $P < 0,05$ ) according to Duncan test.*

## Diskussion

Resultatet av försöken visar att kitosanpreparat inte kan ersätta konventionella betningsmedel för sanering av utsädesburna svampsjukdomar. Hansson (1986) rapporterar att kitosan och kitin enligt litteraturen visat lovande egenskaper inom biologisk bekämpning genom att hämma tillväxten av svampar med viss cellväggsstruktur. Bland växtpatogener som nämns är *Fusarium* och *Verticillium*. Kitintillsats till jorden kan också stimu-

lera växt- och antibiotikaproduktion hos aktinomycceter vilka möjligen skulle kunna påverka växtpatogener. I de här relaterade försöken har inte de nämnda egenskaperna hos kitosan kommit till uttryck i form av bekämpningseffekt mot *Fusarium nivale*. Detta förvånar måhända inte då det gäller naturlig smitta, etablerad under frukt- ämnets utveckling, eftersom sådan smitta ofta ligger inne i kärnorna. Däremot kunde man ha förväntat sig en effekt mot den ytliga, artificiellt

tillförda smitta av *Fusarium nivale* som fanns på råg och höstvetete använt i en försöksserie.

Den slutsats man kan dra av försöken är att kitosanets effekt är för svag och osäker för att motivera fortsatt utvecklingsarbete på betningsområdet.

## Litteratur

- Davoust, N. 1991. Kitosan: beskrivning, egenskaper och beredning. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 63-64.
- Hansson, G. 1986. *Kitin och kitosan - förekomst, produktion och användningsområde*. En litteratursammanställning utförd vid Teknisk Mikrobiologi, Kemicentrum, Lund. Stencil.

OLOFSSON, B. 1991. Chitosan treatment of cereal seed infested by pathogenic fungi. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 76-78.

In 1989 and 1990 four chitosan products named Kitosan A, B, C and D were tested as seed dressing agents against seed-borne diseases of cereals. The concentrations of chitosan in the compounds were 0,7- 1,0 per cent. They were diluted in distilled water 1:1 before treatment.

In 1989 rye and wheat seed lots were artificially infested by *Fusarium (Microdochium) nivale* and treated with 4 g chitosan product per kg seed. They were compared to acetic acid and a standard product, Panocline (guazatine 350 g/l). The seed kernels were sown in plastic dishes with peat soil. Four weeks after sowing the plants were assessed concerning occurrence of disease symptoms manifested as discoloration of the coleoptiles. Chitosan treatment had no visible effect against *Fusarium nivale*. In 1990 naturally infested seed lots of wheat, oats, and barley were treated with a high rate of chitosan compounds, 50 ml per kg seed. The seed lots were infested by *Septoria nodorum* (wheat), *Drechslera avenae* (oats) and *Drechslera teres* and *Bipolaris sorokiniana* (barley). The fungi mentioned were not controlled by the chitosan compounds. Kitosan B and Kitosan C increased the amount of ungerminated barley kernels, indicating phytotoxicity.

The conclusion is that the chitosan products tested in the trials are not useful as seed disinfectants.

Additional key words: Chitosan, seed dressing, seed-borne fungi.

## Test av kitosan mot rotbrand på sockerbeta, rotröta på ärt samt klumprotsjuka på oljeväxter

Torbjörn Ewaldz, SLU, Inst. för växt- och skogsskydd, Box 44, S-230 53 Alnarp

EWALDZ, T. 1991. Test av kitosan mot rotbrand på sockerbeta, rotröta på ärt samt klumprotsjuka på oljeväxter. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 79-83.

Fyra kitosanpreparat har i klimatkammare testats som betningsmedel och jordinblandning i sockerbeter, ärt och vitsenap mot *Aphanomyces cochlioides*, *A. euteiches* och *Fusarium solani* respektive *Plasmodiophora brassicae*. Preparaten har givit en försumbar minskning och i vissa fall en ökning av angreppen av *A. cochlioides* i sockerbeter och *A. euteiches* i ärt. En viss effekt mot *F. solani* i ärt har emellertid registrerats vid betning men däremot inte vid jordinblandning. En svag minskning av *P. brassicae* noterades i vitsenap.

## Material och metoder

Undersökningarna har utförts som betnings- och jordinblandningstest i klimatkammare i biotronen, Alnarp. Jordprov har inhämtats från fält som varit naturligt starkt besmittade av *Aphanomyces cochlioides* (en av svamparna som orsakar rotbrand på sockerbeta), *Aphanomyces euteiches* (ärtrotröta) respektive *Plasmodiophora brassicae* (klumprotsjuka på oljeväxter). I ärt undersöktes även effekterna av kitosan mot *Fusarium solani*. Patogenerna bestämdes med hjälp av klassiska symptom och, i tveksamma fall, genom odling på agar.

Ett obehandlat led samt vardera fem doser av fyra olika preparat testades dels som fröbetning, dels som jordinblandning. Dosbestämningen utgick ifrån preparatet YEA!<sup>TM</sup> (Yield Enhancing Agent), salufört av Siegfried AG/SA. Förutom normaldoserna testades i betningsförsöken en fjärdedels till dubbel dos. För sockerbeter undersöktes också den fröbetning som standardmässigt används i bruksodlingen, TMTD + Tachigaren (tiram respektive hymexazol, 4,8 + 8,4 g aktiv substans/100 000 frön). I jordinblandningsförsöken utgicks från en dos motsvarande 10 kg YEA!/ha, vilken jämfördes med en fjärdedels till fyrdubbel dos. De preparat som testades förutom YEA! (Y) var A: *Absidia*-kitosan i ättiksyra, B: *Absidia*-cellväggar i ättiksyra, C: *Absidia*-cellväggar i mjölksyra (se Davoust, detta nummer). Kitosaninnehållet var för de tre förstnämnda ca 1 % och för YEA! ca 2,5 %. Dosererna korrigerades så att alla preparat hade samma mängd kitosan i resp dos.

I oljeväxter, vilka representerades av vitsenap, användes endast tre preparat, A, B och Y.

Jordproven såddes i krukor och placerades i klimatkammare med följande klimat: 16 timmar dagsljus, 17-23 °C och 80 % relativ luftfuktighet. Vattning utfördes två till tre gånger i veckan. För-

söken avslutades efter fyra veckor.

För att kunna jämföra behandlingarna användes i grödorna vardera ett index. I sockerbeter (Ewaldz, 1987) utgår man från andelen angripna betor dagarna 7, 14, 21 och 28 (RB7, RB14, RB21 resp RB28). I ärt klassas plantorna i fem olika angreppsklasser, från 0 till 4, där 4 är högsta angrepp (Olofsson, 1967, Engqvist, 1986).

I vitsenap användes samma index som för ärt. Högsta värde är 100 för båda indexen.

$$\text{Rotbrandsindex} = \frac{3 \cdot \text{RB7} + 3 \cdot (\text{RB14} - \text{RB7}) + (\text{RB21} - \text{RB14}) + 0,5 \cdot (\text{RB28} - \text{RB21})}{3}$$

$$\text{Rotröteindex} = \frac{100}{4 \cdot n} \cdot \sum p_i s_i$$

där  $p_i$  = antalet plantor i resp klass  
 $s_i$  = skadeklass (0-4)  
 $n$  = totala antalet plantor.

Statistisk analys: SAS tvåfaktorförsök med SNK-test.

## Resultat

### Beter

Som framgår av tabell 1 har samspelseffekter erhållits p g a standardbetningens låga angreppsindeks (ca 70 % effekt jämfört med obehandlat). Elimineras denna betning försvinner samspelseffekterna. Betning med de olika preparaten har därvid nedbringt rotbrandsindexet i medeltal 1-10 % jämfört med obehandlat. Preparaten B och C hade något bättre effekt än A och YEA!. Generellt fanns en tendens till förhöjda angrepp ju högre dos som användes. Största minskning av indexet, 29 %, noterades för den lägsta dosen av preparat B.

Preparat C har som jordinblandning i stort sett inte haft någon effekt alls och varit signifikant sämre än övriga preparat (tab. 2). Alla doser var signifikant bättre än behandlat, men inga tendenser kunde avläsas mellan lägsta och högsta dos. Bästa enskilda behandling, halv dos av preparat B, sänkte indexet med ca 35 %.

### Ärter

Betningstestet har givit negativa resultat vad gäller ärtrottröta (tab. 3). Alla preparat tenderade att ha högre rottröteindex än obetat. Vidare erhöles sämre effekt ju högre dos som användes. Bästa led, "normaldosen" av YEA!, sänkte indexet med ca 30 %. Något bättre resultat erhöles mot *F. solani* (tab. 4). Alla preparat var något bättre än behandlat, bästa preparat gav ca 30 % lägre angrepp.

Inga entydiga resultat kunde utläsas i jordinblandningstester p.g.a samspelseffekter mellan preparat och doser. Bästa enskilda led vad gäller ärtrottröta (tab. 5) var lägsta dosen av preparat C, som inte erhöles några angrepp. Samma led hade däremot störst angrepp av *F. solani* (tab. 6). Bästa leden här var de två högsta doserna av preparat C och YEA!

### Vitsenap

Betningen har givit något lägre angrepp av klumprottsjuka (tab. 7). Den statistiska säkerheten är dessvärre låg, men vissa tendenser kan utläsas. Samtliga preparat har i genomsnitt varit något bättre än behandlat, vilket även gäller för de olika doserna. För de sistnämnda kan inga tendenser ses huruvida låg eller hög dos är bäst. Bästa led, lägsta dosen av Y, hade ca 35% lägre angrepp.

Tabell 1. Rotbrandsindex i sockerbeter för betning med olika kitosanpreparat jämfört med obetat och standardbetat (tiram + hymexazol). Normal dos=0,25 ml kitosan/kg frö. Siffror inom parentes är jämförelser med standardbetat led borttaget. – Damping-off index in sugar beets for seed coating with chitosan. Normal dosis=0.25 ml/kg of seeds. Comparisons with untreated and standard coated seeds (thiram + hymexazole). Figures in brackets apply to analyses with standard coated seeds omitted.

Andel av normaldos Prop. of normal dosis	Rotbrandsindex 0-100 – Damping-off index 0-100				Medeltal Average	Standard Standard	Obetat Untreated
	Preparat – Preparation						
	A	B	C	Y			
0,25	96,0	66,5	7,0	90,5	82,5		
0,5	85,8	88,0	75,8	94,5	86,0		
1,0	89,0	91,0	88,0	89,8	89,4		
1,5	91,2	79,5	84,8	91,5	86,8		
2,0	93,2	94,0	90,8	91,2	92,3		
Medeltal Average	91,0	83,8	83,2	91,5	87,6	28,4	92,6
	Preparat		Dos		Preparat-Dos		
p<	0,0001 (0,044)		0,0001 (n.s.)		0,0001 (n.s.)		
Variationskoefficient	13,5	(13,2)	13,5	(13,2)	13,5	(13,2)	
LSD, 5%	8,6	(8,4)	8,9	(8,9)	15,4	(16,2)	

### Diskussion

Undersökningarna har visat att kitosanet fungerat otillfredsställande vad gäller dess förmåga att nedbringa sjukdomar såsom rotbrand, rottröta och klumprottsjuka. Varken betning eller jordinblandning med kitosan har haft någon effekt på *Aphanomyces cochlioides*, en av de svampar som orsakar rotbrand. I jämförelse med den fungicidbetning som används i bruksodlingen, TMTD+ Tachigaren, har de testade kitosanpreparaten i alla doser haft sämre effekt. Detta märktes framförallt i försökets tredje vecka då alla försöksled utom bruksbetningen drabbades av våldsamma angrepp, med plantdöd som följd. Något bättre resultat erhöles i jordinblandningsförsöket, dock ej lika goda som bruksbetningen.

I ärt erhöles också ganska nedslående resultat. Både betning och jordinblandning har haft försumbar eller negativ förmåga att minska rottröta. Dessa resultat överensstämmer ganska väl med *in vitro*-försök utförda av Stössel och Leuba (1984) där *A. euteiches* konstaterades vara tämligen okänslig för kitosan. Ärt är annars den gröda där kitosan haft störst framgång i att inducera resistens mot sjukdom och där resistensmekanismerna är bäst utredda (Hadwiger och Beckman, 1980, Hadwiger et al., 1984, Kendra et al., 1987). Undersökningarna har dock i dessa fall gällt *Fusarium solani*. Denna svamp identifierades även i detta försök. Betning tycktes här ha minskat *Fusarium*-angreppet, medan jordinblandning istället verkade att ha ökat angreppet.

I oljevaxter tycks kitosanet ha haft en ytterst liten men dock positiv effekt på klumprottsjukan. Eftersom jorden var väldigt starkt smittad, samtidigt som vitsenap är mycket känslig för svampen, är det kanske för tidigt att döma ut kitosan som betningsmedel i samtliga oljevaxter.

Tabell 2. Rotbrandsindex i sockerbeter för jordinblandning med olika kitosanpreparat jämfört med obehandlat. Normaldos=0,5 mg kitosan/l jord. – Damping-off index in sugar beets for soil mixings of chitosan. Normal dosis=0.5 mg/l of soil. Comparisons with untreated seeds.

Andel av normaldos Prop. of normal dosis	Rotbrandsindex 0-100/Damping-off index 0-100				Medeltal Average	Obehandlat Untreated
	Preparat/Preparation					
	A	B	C	Y		
0,25	69,8	68,0	84,8	85,8	77,1	
0,5	73,8	55,5	89,5	66,5	71,3	
1,0	64,5	67,2	85,0	67,8	71,1	
2,0	57,5	63,8	82,0	66,8	67,5	
4,0	60,8	66,8	84,8	78,2	72,5	
Medeltal Average	65,2	64,2	85,2	73,0	71,9	87,4
	Preparat		Dos		Preparat-Dos	
p<	0,0001		0,0084		n.s.	
Variationskoefficient	16,5		16,5		16,5	
LSD, 5%	8,7		9,2		16,9	

Tabell 3. Rottröteindex (*A. euteiches*) i ärter för betning med olika kitosanpreparat jämfört med obetat. Normaldos=0,25 ml kitosan/kg frö. – Root rot index (*A. euteiches*) in peas for seed coating with chitosan. Normal dosis=0.25 ml/kg of seeds. Comparisons with untreated seeds.

Andel av normaldos Prop. of normal dosis	Rottröteindex 0-100 – Root rot index 0-100				Medeltal Average	Obehandlat Untreated
	Preparat – Preparation					
	A	B	C	Y		
0,25	45,2	33,8	53,2	38,0	42,6	
0,5	42,2	41,8	24,5	40,2	37,2	
1,0	41,8	57,5	47,5	22,0	42,2	
1,5	49,8	52,8	33,5	33,5	42,4	
2,0	56,2	48,0	38,8	47,5	47,6	
Medeltal Average	47,0	46,8	39,5	36,2	42,4	31,8
	Preparat		Dos		Preparat-Dos	
p<	0,124		0,417		n.s.	
Variationskoefficient	44,5		44,5		44,5	
LSD, 5%	13,3		14,1		25,7	

Tabell 4. Rottröteindex (*F. Solani*) i ärter för betning med olika kitosanpreparat jämfört med obetat. Normaldos=0,25 ml kitosan/kg frö. – Root rot index (*F. solani*) in peas for seed coating with chitosan. Normal dosis=0.25 ml/kg of seeds. Comparisons with untreated seeds.

Andel av normaldos Prop. of normal dosis	Rottröteindex 0-100 – Rootrot index 0-100				Medeltal Average	Obehandlat Untreated
	Preparat – Preparation					
	A	B	C	Y		
0,25	40,0	32,8	28,5	35,8	34,2	
0,5	37,2	44,0	55,8	41,2	44,6	
1,0	33,0	26,2	39,5	46,0	36,2	
1,5	33,8	23,8	47,2	31,0	33,9	
2,0	26,8	36,2	42,8	18,8	31,1	
Medeltal Average	34,2	32,6	42,8	34,6	36,9	46,1
	Preparat		Dos		Preparat-Dos	
p<	22,0		22,7		46,8	
Variationskoefficient	49,8		49,8		49,8	
LSD, 5%	13,2		14,0		26,7	

Tabell 5. Rotröteindex (*A. euteiches*) i ärter för jordblandning med olika kitosanpreparat jämfört med obehandlat. Normaldos=0,5 mg kitosan/l jord. – *Root rot index (A. euteiches) in peas for soil mixing with chitosan. Normal dosis=0.5 mg/l of soil. Comparisons with untreated soil.*

Andel av normaldos Prop. of normal dosis	Rotröteindex 0-100 – <i>Root rot index 0-100</i>				Medeltal Average	Obehandlat Untreated
	Preparat – <i>Preparation</i>		C	Y		
	A	B				
0,25	43,5	71,0	00,0	40,5	38,8	
0,5	56,2	63,0	46,8	74,0	60,0	
1,0	58,2	43,5	72,5	61,5	58,9	
2,0	69,2	-	77,5	90,2	79,0	
4,0	58,5	37,2	90,5	87,2	68,4	
Medeltal Average	57,2	53,7	57,4	70,7	59,9	58,4
	<u>Preparat</u>		<u>Dos</u>	<u>Preparat-Dos</u>		
p<	0,054		0,0001	0,0001		
Variationskoefficient	30,3		30,3	30,3		
LSD, 5%	13,3		14,2	25,3		

Tabell 6. Rotröteindex (*F. solani*) i ärter för jordblandning med olika kito sanpreparat jämfört med obetat. Normaldos=0,5 mg kitosan /l jord. – *Root rot index (F. solani) in peas for soil mixing with chitosan. Normal dosis=0.5 mg/l of soil. Comparisons with untreated seeds.*

Andel av normaldos Prop. of normal dosis	Rotröteindex 0-100 – <i>Root rot index 0-100</i>				Medeltal Average	Obehandlat Untreated
	Preparat – <i>Preparation</i>		C	Y		
	A	B				
0,25	14,2	8,0	96,5	25,0	35,9	
0,5	12,2	12,5	33,2	13,5	17,9	
1,0	17,8	36,8	8,0	21,5	21,0	
2,0	9,2	-	6,8	3,8	6,6	
4,0	14,8	40,8	4,2	3,8	15,9	
Medeltal Average	13,6	24,5	29,8	13,5	19,3	11,5
	<u>Preparat</u>		<u>Dos</u>	<u>Preparat-Dos</u>		
p<	0,0004		0,0001	0,0001		
Variationskoefficient	70,1		70,1	70,1		
LSD, 5%	9,9		10,6	18,9		

Tabell 7. Index för klumprotsjuka i vitsenap för betning med olika kitosanprepara rat jämfört med obehandlat. Normaldos=0,25 ml kitosan /kg frö. – *Club root index in mustard for seed coating with chitosan. Normal dosis 0.25 ml/kg of seeds. Comparisons with untreated seeds.*

Andel av normaldos Prop. of normal dosis	Index för klumprotsjuka 0-100 – <i>Club root index 0-100</i>				Medeltal Average	Obehandlat Untreated
	Preparat – <i>Preparation</i>		Y			
	A	B				
0,25	62,5	66,8	47,5	58,9		
0,5	53,0	55,8	62,5	57,1		
1,0	75,5	67,5	53,0	62,3		
2,0	57,8	69,5	65,0	64,1		
4,0	50,8	51,2	59,0	53,2		
Medeltal Average	59,9	62,2	57,3	61,4	72,8	
	<u>Preparat</u>		<u>Dos</u>	<u>Preparat-Dos</u>		
p<	60,0		32,7	24,8		
Variationskoefficient	25,8		25,8	25,8		
LSD, 5%	11,9		13,6	22,3		

## Litteratur

- Engqvist, G. 1986. Ärtrotträta. Faktablad om växtskydd, 42L. Sveriges Lantbruksuniversitet. Uppsala.
- Ewaldz, T. 1987. Rotbrand i sockerbeter - en pilotstudie. SLU. Inst. för växt- och skogsskydd. Examensarbeten 1987:12.
- Hadwiger, L. A. & Beckman, J. M. 1980. Chitosan as a component of pea-*Fusarium solani* interactions. *Plant. Physiol.* 66, 205-211.
- Hadwiger, L. A., Fristensky, B. & Riggelman, R. C. 1984. Chitosan, a natural regulator in plant-fungal pathogen interactions, increases crop yields. In *Chitin, chitosan, and related enzymes*, 291-302. Ed. Zikakis, J. P. Academic press.

- Kendra, D. F., Fristensky, B., Daniels, C. H. & Hadwiger, L. A. 1987. Disease resistance response genes in plants: Expression and proposed mechanisms of induction. In *Molecular Strategies for Crop Protection*, 13-24. Alan R. Liss, Inc.
- Olofsson, J. 1967. Root rot of canning and freezing peas in Sweden. *Acta Agr. Scand.* 17, 101-107.
- Stössel, P. & Leuba, J. L. 1984. Effect of chitosan, chitin and some aminosugars on growth of various soilborne phytopathogenic fungi. *Phytopath. Z.*, 111, 82-90.

EWALDZ, T. 1991. Effect of chitosan on damping-off on sugarbeets, root rot on pea and clubroot on oil seed plants. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 79-83.

Four preparations of chitosan were tested in climatic chamber trials as seed coat fungicides and soil mixing components for the control of *Aphanomyces cochlioides* in sugar beets, *A. euteiches* and *Fusarium solani* in pea, and *Plasmodiophora brassicae* in mustard. The preparations caused a negligible decrease and in some cases even an increase of *A. cochlioides* and *A. euteiches*. There was a small reduction of *F. solani* root rot when chitosan was applied as a seed coating but not as a soil mixing component. The preparations caused a slight reduction of *P. brassicae* when used as seed coatings.

# Testning av kitosan mot korn- och vetemjöldagg i laboratorieförsök

Gunilla Anderson och Lars Wiik, SLU, Inst. för växt- och skogsskydd,  
Box 44, 230 53 Alnarp.

ANDERSON, G. & WIİK, L. 1991. Testning av kitosan mot korn- och vetemjöldagg i laboratorieförsök. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 84-85.

Tre olika kitosanpreparats och YEA!<sup>TM</sup>s (Yield Enhancing Agent, 2,5 % poly-D-glucosamine, Siegfried AG/SA) effekt mot mjöldaggssvampar (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* och *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*) testades i falltornförsök (setling tower). Statistiskt säkra minskningar, men även i ett fall en ökning, av angreppet av mjöldagg erhöles för en del av de provade kitosanpreparaten. Totalt sett var dock effekterna små och osäkra, speciellt i jämförelse med betning och sprutning med fungicider (triadimenol och propikonazol).

## Metoder

Kitosans effekt mot mjöldagg, *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* och *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* undersöktes. Olika kitosanpreparationer A, B och C (se Davoust detta nummer av Växtskyddsnotiser) och YEA!<sup>TM</sup> (Yield Enhancing Agent, 2,5 % poly-D-glucosamine, Siegfried AG/SA) testades. Fyra olika metoder för applicering användes: betning av kärnor, tillsättning med näringslösning till rötterna, sprutning av blad och dopning av planter. För varje kombination av kitosan och applikationsmetod testades fyra till sju olika doser, betning 100-10 000 ppm; sprutning 1-3 000 ppm; via rötterna 0,1-1 000 ppm och dopning 1-1 000 ppm, vilka jämfördes med två obehandlade och en fungicidbehandlad kontroll (betning utfördes med triadimenol och övriga applikationsmetoder med propikonazol). Inga speciella isolat av mjöldaggssvamparna, *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* och *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*, användes utan blandisolat inhämtades med en mobil sporfälla med mottagliga fångstplanter av korn, sort Agneta, och vete, sort Kadett (Wiik, 1987). Mjöldaggskolonier som erhöles från fångstplantorna uppförökades på bladbitar av korn, sort Agneta, och vete, sort Kadett, i petriskålar med benzimidazolagar. Den erhållna mjöldaggen användes vid inokulering av testplanter (Agneta och Kadett) behandlade enligt ovan i ett falltorn (setling tower). Antalet kolonier/blad räknades efter 14 dagars inkubation i klimatkammare.

Statistisk bearbetning: ANOVA med SNK-test.

## Resultat

Flertalet testningar gav inte någon statistiskt säker skillnad mellan kitosanbehandlade försöksled och obehandlade kontroller. Statistiskt signifikanta skillnader erhöles dock i ett fåtal fall:

- vid betning av vete med den högsta koncentrationen (10 000 ppm) av kitosan B. Angreppet av mjöldagg var i detta fall 143 % större än i obetade kontroller.
- vid tillförsel med näringslösning med kitosan A, 30, 100 och 300 ppm till vete. Angreppet av mjöldagg minskade i dessa fall med 40-50 % i jämförelse med näringslösning utan kitosan.
- vid sprutning av korn och vete med kitosan B, 300 ppm. Angreppet av mjöldagg minskade med 85 respektive 70 % i jämförelse med kontrollerna.
- vid dopning av veteplanter i kitosan B, 10 och 1 000 ppm. Angreppet av mjöldagg minskade med 53 respektive 56 % i jämförelse med kontrollerna.

## Diskussion

De ovanstående resultaten följer inget bestämt mönster. Det är således svårt att dra några slutsatser av dessa försök. Möjligen kan noteras att en av preparationerna - kitosan B (cellvägg av *Absidia glauca* och *A. coerulea* löst i 2 % ättiksyra, 0,3 M, till en koncentration av 10 g/l) - givit fler statistiskt säkra resultat än de övriga kitosanpreparaten.

Inga uppgifter från litteraturen om att kitosan har någon verkan mot gräsmjöldagg har hittats. Had-

wiger, Fristensky & Riggleman (1984) testade effekten av kitosan mot mjöldagg i ärt och gulrost i vete i fältförsök. Effekterna mot mjöldagg var små och effekterna mot gulrost var motsägelsefulla och oförutsägbara även om de i vissa fall kunde iaktta en minskning av angreppet.

Det är dock inte otroligt att de effekter vi trots allt fått är orsakade av att kitosan inducerat försvarsreaktioner i växten (t.ex. Hadwiger & Beckman, 1980 och Kendra & Hadwiger, 1984).

## Litteratur

- Hadwiger, L. A. & Beckman, J. M. 1980. Chitosan as a component of pea-*Fusarium solani* interactions. *Plant Physiol.* 66, 205-211.
- Hadwiger, L. A., Fristensky, B. & Riggleman, R. C. 1984. Chitosan, a natural regulator in plant-fungal pathogen interactions, increases crop yields. In *Chitin, chitosan, and related enzymes*, 291-302. Ed. Zikakis, J. P. Academic press.
- Kendra, D. F. & Hadwiger, L. A. 1984. Characterization of the smallest chitosan oligomer that is maximally antifungal to *Fusarium solani* and elicits pisatin formation in *Pisum sativum*. *Experimental Mycology* 8, 276-281.
- Wiik, L. 1987. Cultivars of spring barley and powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) in Sweden. In *Integrated control of cereal mildews: Monitoring the pathogen*, 103-112. Eds. Wolfe & Limpert. Martinus Nijhoff publishers.

ANDERSON, G. & WIİK, L. 1991. Powdery mildew of barley and wheat: Effects of different preparations of chitosan. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 84-85.

The effects of three different preparations of chitosan (A, B, C) from *Absidia glauca* and *A. coerulea* and YEA!<sup>TM</sup> (Yield Enhancing Agent, poly-D-glucosamine, Siegfried) were tested against powdery mildew of barley (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) and wheat (*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*) in a setling tower. Chitosan was applied in four different manners by means of seed dressing, spraying, through roots or by dipping the plants. In a few tests statistically significant decreases, and in one case an increase, of the attacks of powdery mildew were obtained. The effects were, however, generally small and not statistically significant, especially in comparison with seed dressing and spraying with fungicides (triadimenol and propiconazole).

# Utsädesbetning och sprutning med kitosan i fältförsök i stråsäd och höstraps

Hans Larsson<sup>1)</sup>, Jan Rundquist<sup>2)</sup>, Lars Wiik<sup>1)</sup> och Lennart Wikström<sup>3)</sup>

1) SLU, Inst. för växt- och skogsskydd, Box 44, 230 53 Alnarp.

2) EWOS AB, Box 618, 151 27 Södertälje.

3) Skånska lantmännen, 213 01 Malmö.

LARSSON, H., RUNDQUIST, J., WIİK, L. & WIKSTRÖM, L. 1991. Utsädesbetning och sprutning med kitosan i fältförsök i stråsäd och höstraps. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 86-91.

Kitosan, framställd av krabbskal eller producerad genom fermentation av svampen *Absidia glauca*, undersöktes i tio fältförsök i stråsäd och tre i höstraps. Kitosan applicerades både som betning och sprutning. Fältförsöken utfördes av SLU, Skånska lantmännen och EWOS AB. Vissa effekter har erhållits på plantantalet i höstråg efter betning och på angreppet av brunrost, *Puccinia recondita*, i höstvete efter sprutning. Effekterna är dock betydligt sämre än de som erhålles med kemiska standardpreparat. Positiva effekter på skörden har erhållits i något försök i höstraps, dock ej statistiskt säkert, och tendenser finns även i höstsäd. Den höga dosen av kitosan har tendenser till att minska plantantalet och skörden. Kitosans fungicida och insekticida effekter är svaga och det är tveksamt om preparatet är intressant för konventionell odling.

Kitosan uppges i utländska reklambroschyrer öka skörden och stråstyrkan ("The product (YEA!<sup>TM</sup>) is a natural Plant Growth Regulator that increases yields and reduces lodging by enhanced root and stem development", Anon. 1989). I vetenskapliga undersökningar har kitosans roll i samspelet mellan växt och växtskadegörare påvisats (Se t.ex. litteraturgenomgång, i detta nummer av växtskyddsnotiser). Parallellt med de i detta nummer redovisade laboratorie- och växthusundersökningarna utlades fältförsök i odlingar hos lantbrukare för att påvisa eventuella positiva effekter av kitosan i stråsädes- och höstrapsodling. Resultaten från dessa fältförsök redovisas här.

## Metoder

### SLUs försök

Tre fältförsök lades ut hösten 1989 och våren 1990 i Skåne, ett i höstråg och två i höstvete. I försöket i höstråg betades utsädet med två doser av kitosan (preparation A och B, se Davoust i detta nummer av växtskyddsnotiser) och YEA!<sup>TM</sup> (Yield Enhancing Agent, 2,5 % poly-D-glucosamin, Siegfried AG/SA). I försöken i höstvete sprutades med fyra doser av kitosan (preparation D, se Davoust i detta nummer av växtskyddsnotiser) i början på juni (5/6 och 11/6) i utvecklings-

stadium 50-51 enligt decimalkalan (Zadok, Chang & Konzak, 1974). Försöksplanen omfattade även obehandlade och med fungicider och insekticider behandlade kontroller (Se tab. 1 och 2). Försöksutförandet genomfördes enligt gängs praxis av Hushållningssällskapetets försökspatruller och försöksteknisk personal från institutionerna för växt- och skogsskydd vid SLU. Bruttorutorn var ca. 50 m<sup>2</sup> och skörderutorna ca. 20 m<sup>2</sup>, med fyra upprepningar.

Gradering och avräkning av växtskadegörare gjordes enligt försöksavdelningarnas vanliga praxis (Olofsson & Qvarnström, 1983). Statistisk bearbetning: ANOVA med Student-Newman-Keuls test.

### Skånska lantmännens försök

Tre försök i höstvete, tre i höstråg och ett höstraps utlades på tre platser i Skåne. Vid tide för försöksutläggning fanns inte tillräckliga mängder av kitosan från fermentativt odlade svampar tillgängligt. Därför valdes en marknadsprodukt av ett krabbskitosan som betningsmedel, YEA!<sup>TM</sup> (25 g kitosan/l) från Siegfried AG/AS, Schwei

I försöken användes rekommenderad dos, 250 g/100 kg utsäde och dubbel dos, 500 g/100 kg utsäde. För att öka möjligheterna till utslag valdes två gödslingsnivåer, gårdens normalgiva och gån-

dens normalgiva plus 30 kg N/ha. Sorterna i de olika försöken var liggsädeskänsliga Folke höstvete, Petkus höstråg och Janus höstraps. Försöken lades ut med åtta försöksled (se tab. 3 och 4) och fyra upprepningar slumpvis fördelade med 0-ruta mellan varje upprepning.

### EWOS försök

Kitosan producerad genom fermentation av *Absidia glauca* (preparation D, se Davoust i detta nummer av växtskyddsnotiser) har prövats i två fältförsök i höstoljevaxter, ett i höstkorn och ett i höstvete under 1991. Som mätarpreparat har i höstraps använts Rovral (iprodione 255 g/l) i en dos av 3,0 l/ha. Mätarpreparat i höstsäden mot utvintringssvampar har varit Sportak (prokloraz 450 g/l) i en dos av 1,0 l/ha.

I höstrapsförsöken (tab. 5) sprutades två doser av kitosan, 5,0 och 10,0 l/ha, under hösten (oktober-november) 1990, under våren (mars-april) 1991 och både under höst och vår. I stråsäd (tab. 6) användes endast den högre dosen under hösten i november. Behandlingarna utfördes med en tryckluftsdreven försöksksspruta med spaltspridare och 400 liter sprutvätska/ha användes för att uppnå

god täckning. Försöken har varit förlagda till sydvästra Skåne. Försöken i höstoljevaxter lades med fyra upprepningar medan behandlingarna i stråsäden endast utfördes i två upprepningar. Statistisk bearbetning (ANOVA) har därför endast utförts i försöken med höstoljevaxter.

## Resultat

### SLUs försök

I betningsförsöket i höstråg (tab. 1) erhöles inga statistiskt säkra skillnader mellan försöksled, varken beträffande skörd, stråstyrka eller angrepp av trips, mjöldagg eller brunrost. Vissa skillnader i plantantal observerades. Försöksled betade med Panoctine och den lägre dosen av kitosanpreparaten hade något högre plantantal än obetad kontroll. De högre doseringarna av kitosan tycktes däremot påverka plantantalet negativt. Skillnaderna i stråstyrka mellan obehandlat och behandlade försöksled var obetydliga. Skadorna på flaggbladet har minskat i båda de med Panoctine betade försöksleden men inte i de som betats med kitosan.

Tabell 1. Utsädesbetning med kitosan i höstråg i Alnarp 1989/90. Siffror inom en kolumn som följs av samma bokstav är inte statistiskt säkert åtskiljda. - Seed dressing with chitosan and YEA!<sup>TM</sup> in a field trial in winter rye in southernmost Sweden 1989/90. Figures, within a column, followed by the same letters are not significantly different.

Behandling	Dos	Dc	Skörd och skördeökning	Trips antal/ bladslida	Mjöldagg % på blad nr 2	Brunrost % på blad nr 2	Vissen bladyta %, blad nr 1	Antal plantor/m <sup>2</sup>	Stråstyrka %
Treatment	Dose	Dc	Yield and yield increase kg/ha	Thrips no./leaf sheath June 9	Powdery mildew, % on leaf no. 2 April 4	Brown rust, % on leaf no. 2 June 15	Wilted leafarea %, leaf no. 1 June 9	No. of plants/m <sup>2</sup> Nov. 29	Strawstrength % Aug. 8
Obehandlad	-	-	6000a	10,8a	0,82a	12,4a	25ab	202a	35a
Panoctine	0	+ 10a	9,6a	9,6a	1,15a	14,5a	16ac	253a	34a
Panoctine + Sportak 45EC +1,0l/ha	0	+ 230a	8,1a	8,1a	0,56a	11,2a	15c	240a	41a
Cymbush 1,25kg/ha	31	49							
YEA! <sup>TM</sup> 10ml/kg	0	+ 20a	9,5a	9,5a	0,74a	11,3a	20abc	225a	43a
YEA! <sup>TM</sup> 20ml/kg	0	+330a	10,0a	10,0a	1,62a	9,9a	27a	197a	45a
Chitosan A 25ml/kg	0	-100a	11,2a	11,2a	1,16a	12,9a	27a	217a	40a
Chitosan A 50ml/kg	0	+20a	9,7a	9,7a	0,52a	13,3a	24ab	189a	43a
Chitosan B 25ml/kg	0	-50a	12,6a	12,6a	1,45a	11,2a	22abc	215a	41a
Chitosan B 50ml/kg	0	-10a	6,6a	6,6a	1,30a	11,0a	21abc	201a	39a
P			7,6	51,6	7,2	86,2	0,2	15,9	76,1
Mean variation, % of mean			1,6	18,2	25,9	17,2	9,4	7,6	11,7
LSD, 5%			280	5,2	0,78	6,0	6,0	47,7	13,6



I sprutningsförsöken i höstvet (tab. 2) gav en sprutning med Tilt Top en statistiskt säker merskörd. Denna merskörd erhöles framförallt som ett resultat av att angreppet av brunrost, *Puccinia recondita*, hämmades. Även sprutning med kitosan gav en statistiskt säker minskning av angreppet av brunrost med 38 och 48 % på blad 2 i respektive försök. Dosen hade ingen avgörande roll. Standardfungiciden hade vid detta tillfälle 89 och 91 % effekt på samma blad. En dryg vecka senare kunde inte kitosans effekt avläsas. Standardfungiciden hade då fortfarande 65 och 51 % effekt på de övre bladen i respektive försök. Inga statistiskt säkra skillnader noterades för stråknäckarsvampen, *Pseudocercospora herpotrichoides*, eller stråstyrkan mellan olika försöksled.

Mot bladlöss hade endast Metasystox R100 en statistiskt säker effekt.

### Skånska lantmännens försök

Skördenivån i höstveteförsöken (tab. 3) varierar mellan ca 6 000 och 9 000 kg/ha. Liggsäd förekom varierande i försöken. Kvaliteten, falltal och proteinhalt, på skördad kärna är varierande mellan försöksplatser. Några signifikanta skillnader mellan försöksleden kunde inte iaktas.

Av försöken har ett rågförsök (tab. 3) i nordvästra Skåne kasserats p g a markskador och extremt dålig uppkomst. Viss liggsäd i höstrågförsöken (stråstyrka 55-70) kunde noteras. Några statistiskt säkra effekter på stråstyrkan kunde trots vissa skillnader mellan försöksleden, inte iaktas. Kvaliteten på skördad kärna var god med falltal över 180 i samtliga försöksled. Proteinhalten var relativt låg och har varierat med kvävegödslingen. Vid en gradering av brunrost och icke assimilerande bladnya i ett av höstrågförsök-

Tabell 2. Sprutning i utvecklingsstadium DC 51 enligt decimalskalan med olika doser av kitosan i två höstveteförsök i södra Skåne 1990. Siffror inom en kolumn som följs av samma bokstav är inte statistiskt säkert åtskiljda. – *Spraying at DC 51, decimalcode with different dosages of chitosan in winter wheat in southernmost Sweden, average of two field trials in farmers fields. Figures, within a column, followed by the same letters are not significantly different.*

Behandling	Dos l/ha	Skörd och skördeökning	Bladlus-medeltal från tre avräkningar	Brunrost på blad nr 2, 2/7 % angrepp	Vissnade blad <sup>1</sup> nr 1-3, 10/7 0-10	Stråknäckare 23/7 index	Friska stråbaser 23/7 %	Stråstyrka %
Treatment	Dose l/ha	Yield and yield increase	Aphids average from three countings	Brown rust on leaf no. 2 % attack	Wilted leaf <sup>1</sup> no. 1-3 0-10	Eyespot index	Healthy stem bases %	Strawstrength %
		kg/ha		July 2	July 10	July 23	July 23	
Obehandlad								
Untreated	-	7550a	8,6a	33a	7,2a	41a	14a	85a
Delsene 50DF	0,5	+ 430a	6,7a	25b	6,8a	31a	18a	85a
Tilt Top	1,0	+ 1480b	5,6a	3c	3,0b	35a	9a	85a
Chitosan D	10,0	+ 270a	4,4a	21bd	7,2a	37a	14a	85a
Chitosan D	5,0	+ 340a	6,0a	18d	7,1a	35a	20a	85a
Chitosan D	2,5	+ 190a	7,9a	20d	7,4a	34a	13a	85a
Chitosan D	1,25	+ 250a	5,9a	21bd	7,3a	32a	23a	85a
Metasystox R 10	1,25	+ 590a	0,9b	20d	7,2a	-	-	85a
P		0,2	0,2	0,0	0,0	44,9	14,0	
Mean variation, % of mean		1,7	20,3	4,9	4,8	9,6	19,9	
LSD, 5%		440	3,3	10	1,1	12	11	

<sup>1</sup> Wilting, principally due to brown rust, *Puccinia recondita*, but also yellow rust, *Puccinia striiformis* and *Septoria* spp..

Tabell 3. Fältförsök med kitosanbetning i höstsäd. Siffror inom en kolumn som följs av samma bokstav är inte statistiskt säkert åtskiljda. – *Seed dressing with YEA!™ in winter cereals, yields kg/ha. Figures, within a column, followed by the same letter are not significantly different.*

Behandling	Skörd Vete Yield Wheat kg/ha	Rel. tal	Stråstyrka % Straw strength %	Skörd Råg Yield Rye kg/ha	Rel. tal	Stråstyrka % Straw strength %
Treatment		Rel. v.			Rel. v.	
Obehandlad						
Untreated	7280a	100	48a	5000a	100	38a
YEA!™ 1.0 l/100 kg utsäde/seed	7280a	100	47a	5030a	101	38a
YEA!™ 2.0 l/100 kg utsäde/seed	7250a	100	46a	5040a	101	38a
Standard	7500a	103	48a	4960a	99	33a
Antal fältförsök						
No. of field trials	3		3	2		2
LSD, 5%	270		1,6	260		12

ken påvisades inte någon skillnad mellan försöksleden.

Resultatet från höstrågförsöket (tab. 4) visar heller inga entydiga skillnader mellan försöksleden. Högre skörd och väsentligt högre rymdvikt kan noteras för standardbehandlingen.

### EWOS försök

Under vegetationsperioden kunde inga synliga skillnader mellan de olika behandlingarna och obehandlat noteras. Ej heller några fytotoxiska skador på grödan på grund av behandlingarna har noterats.

Variationen i skörden hos oljeväxterna (tab. 5) var mycket hög och i ett försök har signifikanta skillnader mellan behandlingarna kunnat visas. Dock ej mellan obehandlat och behandlat. Skördeminskningar har erhållits i höstbehandlingen vad gäller Rovral och av den högsta dosen av kitosan, behandlat både under hösten och dubbelbehandlingen höst/vår.

Skördesiffrorna för stråsad (tab. 6) visar på en merskörd av behandlingen med Sportak på ca 3 % och med kitosan på ca 1 % vid en skördenivå på ca 6 850 kg/ha. Skördeökningen i höstkorn har legat högre vad det gäller behandling med Sportak, 4 % eller 250 kg/ha, och kitosan, 3 % eller 170 kg/ha.

### Diskussion

#### SLUs försök

De lägre plantantalet i försöksled betade med högre doser av kitosan i höstrågförsöket kan eventuellt bero på fytotoxiska effekter. Stenlid

(1954) påvisade att D-glukosamin, byggnadsstenen i kitosan, hämmade respirationen och upptaget av kloridjoner i avklippta veterötter.

Effekten av en sprutning med kitosan är kortvarig mot brunrost, *Puccinia recondita*. Eventuellt skulle upprepade behandlingar kunna ge en varaktigare effekt. För övrigt erhöles inga påvisbara skillnader som ger anledning till fortsatta undersökningar. I fältförsök i USA var effekterna med kitosan mot gulrost i vete, *Puccinia striiformis* motsägelsefulla och oförutsägbara men under vissa förhållanden kunde dock en minskning av angreppet iakttagas (Hadwiger, Fristensky & Riggelman 1984). Trots relativt starka angrepp av stråknäckarsvampen, 32 respektive 51 i index i de två höstveteförsöken, påverkades inte stråstyrkan av någon behandling.

### Skånska lantmännens försök

Trots ansträngda växtföljder, mottagliga sorter och ökad kvävegödsling har inga statistiskt säkra skillnader mellan de olika behandlingarna kunnat iaktas. Det är värt att notera att obetat utsäde gett samma skördenivå som standardbetning i höstvet, vilket tyder på ringa betningsbehov. Några betningseffekter av kitosanet bör därför heller ej vara att vänta. Vissa effekter på stråstyrkan i höstråg noterades. Därför vore det intressant med ytterligare försök för att uttröna om tydliga effekter kan uppnås. Kitosan skulle då kunna utnyttjas som stråförstärkning t.ex. i alternativodling. För användning som alternativ till etablerade metoder i konventionell odling saknar det provade preparatet intresse. Det är osäkert om man med betning kan uppnå de effekter som i litteraturen tillskrivs kitosanet. Försök med annan form av

Tabell 4. Fältförsök med kitosanbetning i höstraps, skörd av råfett kg/ha. Siffror inom en kolumn som följs av samma bokstav är inte statistiskt säkert åtskiljda. – *Seed dressing with YEA!™ in winter rape, yields (oil) kg/ha. Figures, within a column, followed by the same letter are not significantly different.*

Behandling <i>Treatment</i>	Skörd olja höstraps <i>Yield (oil)</i> Winter rape kg/ha	Rel. v.
Obehandlad <i>Untreated</i>	1430a	100
YEA!™ 15 ml/kg utsäde/seed	1450a	102
YEA!™ 30 ml/kg utsäde/seed	1300a	91
Standard	1490a	104
Antal fältförsök <i>No. of field trials</i>		
	1	
LSD, 5 %		
	240	

Tabell 5. Kitosan i höstraps. Ewos försök 1990. Skörd. Rel %. – *Spraying with chitosan in winter rape, yield - relative values.*

Behandling <i>Treatment</i>	Dos l,kg/ha <i>Dose</i>	Tidpunkt <i>Spraying time</i>	5001 Svenstorp	5002 Bjällerup	Sammanställn. 5001 + 5002 <i>Total 5001+5002</i>
A Obehandlat <i>A Untreated</i>	-	-	100	100	100
B Rovral	3,0	Höst, okt/nov	94	110	103
C Kitosan	5,0	"-	131	95	111
D Kitosan	10,0	"-	92	115	105
E Rovral	3,0	Höst och vår	128	116	121
F Kitosan	5,0	"-	134	106	119
G Kitosan	10,0	"-	85	108	98
H Rovral	3,0	Vår, mars/april	131	121	125
I Kitosan	5,0	"-	115	108	109
J Kitosan	10,0	"-	110	108	109
Skörd i obehandlat 100 = <i>Yield in untreated</i>			2570	3370	2970
P			0,02*	0,91 n.s.	0,50 n.s.
LSD 5%			± 813 kg/ha	-	-

Tabell 6. Kitosan i höstsäd. Ewos försök 1990. Behandling i november. Skörd. Rel %. – *Spraying with chitosan in winter barley and winter wheat, yield - relative values.*

Behandling <i>Treatment</i>	Dos l, kg/ha <i>Dose</i>	Pugerup Höstkorn <i>Winter barley</i>	Kristineberg Höstvete <i>Winter wheat</i>	Sammanställning Höstkorn + Höstvete <i>Total, 2 field trials</i>
A Obehandlat <i>A Untreated</i>	-	100	100	100
B Sportak 45EC	1,0	104	102	103
C Kitosan	10,0	103	99	101
Skörd i obehandlat kg/ha <i>Yield in untreated kg/ha</i>		6 020	7 630	6 845

applicering, och eventuellt upprepade behandlingar med noggrann applicering av preparatet, kan ge ytterligare klarhet i lämplig tidpunkt och applicering.

#### EWOS försök

Det verkar klart att man har vissa positiva tendenser av vissa behandlingar med kitosan i höstraps. I höstsädesförsöken rör det sig om enstaka försök med endast två upprepningar, varför inga statistiska beräkningar har gjorts. Resultaten kan alltså endast ses som en indikation på positiva effekter.

#### Litteratur

*Chitosan - Natural Plant Growth Regulator, technical information.* 1989. Siegfried AG/AS. Stencil.  
Hadwiger, L. A., Fristensky, B. & Riggleman, R. C. 1984. Chitosan, a natural regulator in plant-fungal pathogen interactions, increases crop yields. In *Chitin, chitosan, and related enzymes*, 291-302 (Ed. Zikakis, J. P.). Academic press.

Stenlid, G. 1954. Toxic effects of D-mannose, 2-Desoxy-D-glucose, and D-glucosamine upon respiration and ion absorption in wheat roots. *Physiologia Plantarum* 7, 173-181.  
Utläggning, skötsel och bedömning av växtskydds-försök. 1983. (Eds. Olofsson, B. & Qvarnström, C. *Växtskyddsrapporter. Jordbruk* 25. Uppsala 1983.  
Zadoks, J. C., Chang, T. T. & Konzak, C. F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research* 14, 415-421.

LARSSON, H., RUNDQUIST, J., WIJK, L. & WIKSTRÖM, L. 1991. Seed dressing and spraying winter cereals and winter rape with chitosan in field trials in Sweden. *Växtskyddsnotiser* 55:3, 86-91.

Chitosan, produced from crabshell or from fermentation of *Absidia glauca* was investigated in ten field trials in winter cereals and three in winter oil seed rape. Chitosan was applied as seed dressing or by spraying.

The field trials were conducted by the Swedish University of Agricultural Sciences, EWOS AB and Skånska lantmännen. In winter rye a slight increase in the plant number due to seed dressing with the lower dose of chitosan was achieved in one field trial. In winter wheat a statistically significant decrease of brown rust, *Puccinia recondita*, due to spraying with chitosan was recorded in one field trial. This effect was short-lived. Yield increases given by chitosan in winter oil seed rape, although not statistically significant, were found in one trial and a smaller, likewise non-significant, yield response in winter cereals was recorded. The higher doses of chitosan had tendencies to decrease the plant number after seed dressing and yield after spraying. The effect of chitosan on pests and diseases is small and it is doubtful whether chitosan can be of interest in conventional farming.

Sveriges Lantbruksuniversitet  
SLU Info/Försäljning  
Box 7075  
750 07 Uppsala

MASSBREV

## VÄXTSKYDDSNOTISER

Utgivna av Sveriges Lantbruksuniversitet, SLU Info/Växter

Ansvarig utgivare: *Snorre Rufelt*

Redaktör: *Aagot Heidrich*

Redaktionens adress: Sv. Lantbruksuniversitet, SLU Info/Växter,  
Box 7044, 750 07 UPPSALA. Tel. 018-67 10 00

Prenumerationsavgift för 1991: 175 kronor  
Postgiro 78 81 40-0 Sv. Lantbruksuniversitet, Uppsala

*Reklam & Katalogtryck Uppsala 1992*

ISSN 0042-2169