

Alternaria in Zantedeschia

Voortgezet diagnostisch onderzoek 2006 - 2007

Peter Vink en Khanh Pham

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Bloembollen
april 2008
PPO nr. 3234009700-7

© 2008 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veeleelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.



Projectnummer: 12399

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Cluster Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit

Adres : Prof. van Slogterenweg 2, 2161 DW Lisse

: Postbus 85, 2160 AB Lisse

Tel. : 0252 – 46 21 21

Fax : 0252 – 46 21 00

E-mail : infobollen.ppo@wur.nl

Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING	5
1. INLEIDING.....	7
2. UITVOERING VAN HET ONDERZOEK EN KARAKTERISATIE VAN ALTERNARIA-SOORTEN UIT ZANTEDESCHIA	9
3. BESPREKING VAN DE RESULTATEN	11
4. CONCLUSIES.....	13

Samenvatting

Alternaria is een zeer algemeen voorkomende zwakteparasiet, die bij veel cultuurgewassen zoals bv. aardappel en biet een bladvlekkenziekte kan veroorzaken. Ook in het gewas Zantedeschia is de laatste jaren gebleken dat deze schimmel een aantasting kan veroorzaken waardoor veel schade kan ontstaan. Tot nu toe was er geen systematisch onderzoek naar het optreden van *Alternaria*-bladvlekkenziekte in Zantedeschia uitgevoerd en dus was ook niet bekend welke *Alternaria*-soort(en) voornamelijk verantwoordelijk zijn voor een aantasting.

In het kader van het voortgezet diagnostisch onderzoek is daarom in 2006 en 2007 uit verschillende regio's van Nederland monstermateriaal van Zantedeschia met een aantasting door de schimmel *Alternaria* verzameld. Uit de door *Alternaria* aangetaste Zantedeschia-bladeren zijn isolaties gemaakt en de gevonden *Alternaria*-schimmels zijn vervolgens op basis van visueel en microscopisch te onderscheiden kenmerken ingedeeld. Een 7-tal isolaten van *Alternaria* die op petrischaal verschilden in uitgroei en sporevorming en afkomstig waren uit verschillende regio's in Nederland zijn daarna gekarakteriseerd met behulp van DNA-technieken. Daarbij is komen vast te staan dat een drietal *Alternaria*-soorten waren geïsoleerd te weten *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima* en *Alternaria infectoria*. Alle drie soorten *Alternaria* zijn in de literatuur wel eens genoemd als veroorzaker van bladvlekkenziekte, maar voor het gewas Zantedeschia is dit gegeven nieuw.

Vanuit de literatuur is bekend geworden dat de schimmel *Alternaria alternata* zeer algemeen als secundair organisme wordt aangetroffen op plantmateriaal en alleen in staat is om beschadigd en/of verouderd blad aan te tasten. Ook is bekend dat deze schimmel moeilijk is te bestrijden. Met deze kennis is het begrijpelijk dat niet altijd goede bestrijdende effecten zijn verkregen met een breed scala aan gewasbeschermingsmiddelen die de laatste jaren in de Zantedeschiateelt zijn gebruikt. Bovendien is bekend dat *Alternaria alternata* redelijk goed werd bestreden door middelen als dithiocarbamaten (maneb, mancozeb) of chloorthalonil maar dat deze middelen in de Zantedeschiateelt op zandgronden in grondwaterbeschermingsgebieden en in de Bloembollenstreek niet meer mogen worden toegepast. Deze middelen zijn tegenwoordig grotendeels vervangen door bijv. Shirlan, welke een minder goede werking heeft tegen *Alternaria alternata*. Of dit ook geldt voor de twee andere gevonden *Alternaria*-soorten is niet bekend geworden uit literatuurstudie en onderzoek.

Het veranderde klimaat, met name de warme perioden afgewisseld met regen, welke gunstig zijn voor de schimmel, heeft wellicht ook invloed op het vaker voorkomen van *Alternaria*-bladvlekkenziekte.

Vervolgonderzoek naar de werking van een aantal in de aardappelcultuur gebruikte gewasbeschermingsmiddelen kan mogelijk ook voor de Zantedeschiateelt perspectief bieden. Een *in vitro* infectieproef kan op een eenvoudige manier meer duidelijkheid verschaffen over de pathogeniteit van alle gevonden *Alternaria*-soorten.

1 Inleiding

Sinds enkele jaren wordt *Zantedeschia* regelmatig ernstig aangetast door de schimmel *Alternaria*. Daardoor vervalt het blad vroegtijdig wat directe gevolgen heeft voor de groei van de knollen. Een aantasting door *Alternaria* leidt vaak ook tot uitval als gevolg van een daarop volgende aantasting door de bacterie *Erwinia carotovora* waardoor een gedeelte van de oogst verloren kan gaan.

Tot nu toe is de informatie over *Alternaria* voornamelijk gebaseerd op die van *Alternaria* in aardappel en bieten, waar deze bladziekte ook een probleem is. Vanuit bloembollenonderzoek is maar zeer weinig bekend over deze ziekte in *Zantedeschia*. Ook is tot nu toe niet bekend welke *Alternaria*-soort(en) een rol spelen bij de aantasting in *Zantedeschia*. Bij zoveel onbekendheid en onzekerheid wordt al snel een scala van gewasbeschermingsmiddelen ingezet zonder enige garantie op succes. Dat is de laatste jaren ook wel gebleken omdat, ondanks het aanwenden van verschillende toegelaten gewasbeschermingsmiddelen tijdens de teelt, problemen met bladvlekkenziekte door de schimmel *Alternaria* niet of nauwelijks in toom waren te houden.

Omdat basisgegevens over een aantasting van *Zantedeschia* door de schimmel *Alternaria* ontbreken is in het kader van het voorgezet diagnostisch onderzoek geprobeerd om middels monitoring na te gaan welke *Alternaria*-soort(en) in verschillende regio's van Nederland een rol spelen bij de aantasting. Tevens is wat literatuurstudie gedaan om een aantal achtergronden van de ziekte beter te leren kennen.

Symptomen van bladvlekkenziekte door *Alternaria*

Op de bladeren ontstaan onder warme en vochtige omstandigheden kleine, eerst grijsbruine en later donkerbruine tot bruinzwarte, onregelmatig over het blad verspreid liggende ronde vlekken. Deze plekken kunnen groter worden, of met elkaar vergroeien waardoor soms het gehele blad afsterft. Er zijn situaties bekend dat alleen de bladstelen van *Zantedeschia* nog overeind stonden op het veld en het blad totaal was afgestorven.

Veelal bevindt zich rond de vlekjes en vlekken een duidelijk waarneembare gele zone. In het centrum van de bladvlekken zijn vaak concentrische ringen waar te nemen van donker schimmelpluis en later lijken de vlekken "beroet" met donkere sporen.

Een ander opvallend verschijnsel van deze schimmelaantasting is dat het aangetaste bladweefsel uit het blad kan vallen waardoor er een gat in het blad ontstaat.

Foto 1: Karakteristieke bladvlekken bij *Zantedeschia* a.g.v. een aantasting door de schimmel *Alternaria*



2 Uitvoering van het onderzoek en karakterisering van *Alternaria*-soorten uit *Zantedeschia*

In 2006 en 2007 zijn uit verschillende regio's van Nederland (Noord-Holland, Zuid Holland, Drenthe en Limburg) monsters *Zantedeschia*-planten met symptomen van bladplekkenziekte door *Alternaria* met hulp van een aantal gewasbeschermingsfirma's verzameld. Uit de verschillende monsters *Zantedeschia*-planten met bladplekken zijn bij PPO in Lisse isolaties gemaakt. De uitgegroeide schimmels zijn daarna opgezuiverd en visueel en microscopisch beoordeeld op verwantschap en overeenkomsten qua groei en sporevorming. Het bleek dat de gekweekte *Alternaria*-schimmels uit *Zantedeschia*-blad vrijwel steeds identiek waren qua uitgroei en sporevorming. Op basis van verschillen in uitgroei en sporevorming zijn uiteindelijk een 7-tal *Alternaria*-isolaten volgens een vast protocol gekarakteriseerd via DNA-sequentieanalyse om na te gaan om welke *Alternaria*-soort(en) het ging. De identiteit van *Alternaria*-isolaten is verkregen via BLAST search analyse. Daarbij is het volgende vastgesteld:

- De *Alternaria*-isolaten met code ALT1, ALT2 en ALT6 scoorden het hoogst met *Alternaria citri*, echter via verwantschapsanalyse zitten ze in de cluster ***Alternaria tenuissima***.
- De *Alternaria*-isolaat met code ALT3 is duidelijk ***Alternaria infectoria***, tegenwoordig *Lewia infectoria* genoemd.
- De *Alternaria*-isolaten met code ALT4, ALT5 en ALT7 scoorden even hoog als bij verschillende *Alternaria*-soorten, maar via verwantschapsanalyse zitten ze samen in de cluster van ***Alternaria alternata (complex)***.

Tabel 1: Gevonden schimmels in bladplekken op *Zantedeschia*-bladeren in verschillende regio's.

Regio	Gevonden schimmels in bladplekken
Zuid Holland (Lisse, Noordwijkerhout e.d.)	<i>Alternaria</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Fusarium</i> (rood mycelium) en soms <i>Trichoderma</i>
Noord Holland (Noordelijk zandgebied)	<i>Botrytis</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Fusarium</i> (rood mycelium) en <i>Cladosporium</i>
Drenthe (dekzandgrond)	<i>Alternaria</i> , <i>Fusarium</i> (rood mycelium) en <i>Cladosporium</i>
Limburg (dekzandgrond)	<i>Alternaria</i> , <i>Fusarium</i> (rood mycelium) en <i>Cladosporium</i>

Tabel 2: Geanalyseerde *Alternaria*-isolaten

Code	Isolaatnummer	Geïsoleerd uit	<i>Alternaria</i> -soort
ALT1	36314	Zantedeschia Zuid Holland (Lisse)	<i>Alternaria tenuissima</i>
ALT2	36979	Zantedeschia (Limburg-dekzandgrond)	<i>Alternaria tenuissima</i>
ALT3	40125	Zantedeschia Zuid Holland (Noordwijkerhout)	<i>Alternaria infectoria</i>
ALT4	40260	Zantedeschia Noord Holland (Breezand)	<i>Alternaria alternata</i>
ALT5	40365	Zantedeschia Zuid Holland (Voorhout)	<i>Alternaria alternata</i>
ALT6	40377A	Zantedeschia Zuid Holland (Lisse)	<i>Alternaria tenuissima</i>
ALT7	40377B	Zantedeschia Zuid Holland (Lisse)	<i>Alternaria alternata</i>

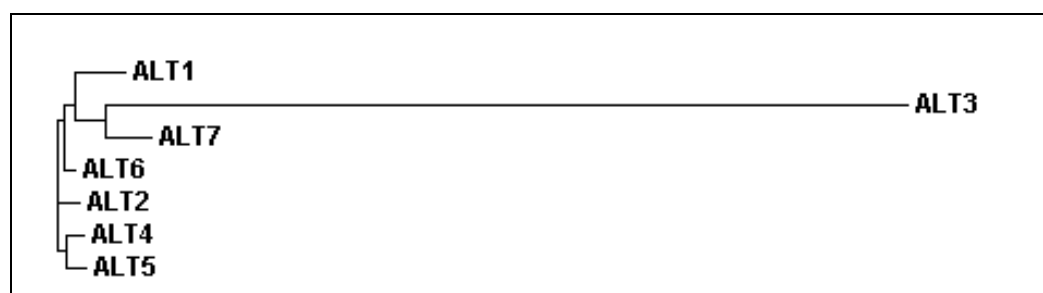


Fig. 1: Verwantschapsanalyse toonde de aanwezigheid van verschillende *Alternaria*-soorten aan. Isolaat ALT3 is duidelijk anders.

3 Bespreking van de resultaten

Uit bladvlekken op Zantedeschia-bladeren afkomstig uit verschillende regio's in Nederland werd vrijwel steeds de schimmel *Alternaria* geïsoleerd. Daarnaast werden vaak ook een aantal andere schimmels gevonden zoals *Botrytis*, *Fusarium* (met rood gekleurd mycelium) en *Cladosporium*.

De meeste gevonden *Alternaria*-isolaten waren qua uitgroei en sporevorming identiek en er was ten aanzien daarvan ook geen duidelijk verschil in regio-herkomst te vinden. Toch is geprobeerd op kleine verschillen qua groei en sporevorming onderscheid te maken tussen de vele gekweekte *Alternaria*-isolaten.

Een 7-tal isolaten is daarom gekarakteriseerd waarbij is vastgesteld dat sprake was van een drietal soorten te weten *Alternaria tenuissima*, *Alternaria infectoria* en *Alternaria alternata* (complex).

Het blijkt dus dat uit bladvlekken bij Zantedeschia verschillende *Alternaria*-soorten zijn te isoleren. Het is echter niet bekend of de gekarakteriseerde *Alternaria*-soorten ook primair in verband kunnen worden gebracht met bladvlekkenziekte in Zantedeschia. Dit is alleen mogelijk middels infectieproeven en was in het bestek van dit onderzoek niet uit te voeren.

Uit literatuurstudie is gebleken dat van alle gevonden *Alternaria*-soorten bekend is dat ze bij uiteenlopende gewassen een bladvlekkenziekte kunnen veroorzaken. Bij *Alternaria alternata* wordt echter ook vaak verondersteld dat het alleen een aantasting kan veroorzaken op beschadigd en verouderd blad. Of dit ook opgaat voor de beide andere gevonden *Alternaria*-soorten is niet bekend vanuit de literatuur of onderzoek. Het feit dat ook *Alternaria alternata* is gevonden kan wel een verklaring zijn voor het feit dat de bestrijding van bladvlekkenziekte in Zantedeschia de afgelopen jaren niet altijd succesvol is geweest, want het is bekend dat deze soort moeilijk is te bestrijden met de huidige toegestane en dus toegepaste gewasbeschermingsmiddelen. Toepassing van dithiocarbamaten is op zandgronden in grondwater-beschermingsgebieden en bijv. de Bloembollenstreek niet meer toegestaan terwijl bekend is uit onderzoek bij het gewas aardappel dat deze middelen beter werken tegen o.a. *Alternaria alternata* dan de huidige toegepaste gewasbeschermingsmiddelen.

Het veranderde klimaat, met name de warme perioden in de afgelopen jaren afgewisseld met regen, welke gunstig zijn voor de schimmel, heeft wellicht ook invloed gehad op het vaker voorkomen van de ziekte.

Bij de teelt van aardappel, prei en enkele andere landbouwgewassen wordt bij de bestrijding van *Alternaria* gebruik gemaakt van zogenaamde infectietabellen om een goed spuitmoment te vinden en waarop een spuitschema wordt gebaseerd. Een dergelijke methode moet ook toepasbaar kunnen zijn voor de teelt van Zantedeschia maar daarvoor is nader onderzoek nodig. Ook is nader onderzoek nodig om een aantal in de langbouw succesvol toegepaste gewasbeschermingsmiddelen tegen *Alternaria* te testen op het gewas Zantedeschia.

4 Conclusies

Uit een groot aantal *Alternaria*-isolaten konden in dit onderzoek met behulp van ITS sequentie analyse en een verwantschapsanalyse *Alternaria infectoria*, *Alternaria tenuissima* en *Alternaria alternata*-complex worden gekarakteriseerd.

Het lijkt er dus op dat meerdere *Alternaria*-soorten bladplekkenziekte bij *Zantedeschia* kan veroorzaken. Vervolgonderzoek naar de werking van een aantal in de aardappelcultuur gebruikte gewasbeschermingsmiddelen lijkt zinvol omdat deze volgens onderzoek in andere gewassen (literatuurstudie) perspectief bieden.

Een *in vitro* infectieproef kan in vervolgonderzoek op een eenvoudige manier meer duidelijkheid verschaffen over de pathogeniteit van alle gevonden *Alternaria*-soorten.