

Bladval in Prunus - Consultancy



In opdracht van

Productschap Tuinbouw
Postbus 280
2700 AG Zoetermeer

Uitgevoerd door:

Cultus Agro Advies
Zandterweg 5
5973 RB Lottum

DiagnostiekService

Praktijkonderzoek Plant en Omgeving B.V.
Sector Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit
Prof. v. Slogterenweg 2
2161 DW Lisse

Projectleider:

Hans Pijpers (Cultus)

Contact persoon:

Margareth van der Horst

Inhoudsopgave

Samenvatting	3
1. Omschrijving Consultancy opdracht	
1.1 Probleemstelling	4
1.2 Doel van de opdracht	4
2. Onderzoek	
2.1 Uitvoering van het onderzoek	5
2.2 Overzicht van alle onderzochte monsters	6
2.3 Afbeeldingen	7
3. Resultaten en conclusies	
3.1 Resultaten en discussie	9
3.2 Conclusies	9

© 2009 Lottum, Cultus Agro Advies B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, 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 Cultus Agro Advies

Samenvatting

Samenvatting

In de teelt van *Prunus laurocerasus* komt de laatste jaren een nieuwe aantasting voor. Op bladeren verschijnen bladvlekken, die snel kunnen samensmelten en uitgroeien tot grote vlekken. Tevens kan bladval optreden.

Deze aantasting moet niet verward worden met hagelschot. Bij hagelschot hebben aangetaste bladeren relatief kleine gaatjes. Daar blijft het vaak bij. Bij deze nieuwe ziekte begint het vaak wel met bladvlekken, maar in tegenstelling tot hagelschot groeien de bladvlekken door.

In mei 2009 heeft Cultus Agro Advies een consultancyproject opgestart in opdracht van Productschap Tuinbouw. Doel was om te achterhalen met welke ziekte we te maken hebben en of de schimmel *Phyllosticta* mogelijk een rol speelde. Door Cultus Agro Advies zijn daarom verschillende aangetaste bladeren van *Prunus* verzameld die bij DiagnostiekService van PPO zijn onderzocht. Per monster is het blad visueel beoordeeld en zijn de symptomen omschreven. Uit de bladvlekken zijn aansluitend isolaties gemaakt op voornamelijk schimmelvoedingsbodem. Bij bacteriële aantasting zijn vervolgens monsters op bacterievoedingsbodem geplaatst.

Bij alle monsters werd een reeks aan schimmels gevonden, waaronder zeer regelmatig de schimmels *Phoma*, *Alternaria* en *Cladosporium* maar nooit *Phyllosticta*.

Uit enkele monsters is bacteriegroei geconstateerd die verder door PPO zijn gekarakteriseerd met behulp van een moleculaire PCR-techniek. Bij dit onderzoek werd uitgroeï van twee bacteriesoorten geconstateerd namelijk *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* en *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. *Pseudomonas* wordt vaker aangetroffen bij hagelschot maar *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* is gekenmerkt als quarantaine organisme. De Plantenziektenkundige Dienst en Naktuinbouw zijn over deze resultaten ingelicht en daarmee is deze Consultancy opdracht beëindigd, omdat deze diensten bezig waren met een survey van alle bladhoudende *Prunussen* in Nederland. Vervolgens is in overleg met de NBvB een voorlichtingsplan opgezet en is een projectvoorstel m.b.t. achtergronden bij de bacterieziekte *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* gestart.

Uit deze consultancy blijkt dat diverse schimmels in *Prunus* aanwezig kunnen zijn, maar dat twee bacteriesoorten namelijk *Pseudomonas* en *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* verantwoordelijk zijn voor de nieuwe bladvlekkenziekte in *Prunus*. *Phyllosticta* is niet aangetroffen en is dus niet de veroorzaker van de nieuwe ziekte in *Prunus*.

Vooralsnog wordt geadviseerd om preventiemaatregelen te nemen om infectie van *Xanthomonas* te voorkomen. NBvB heeft in samenwerking met diverse organisaties en adviseurs een factsheet uigegeven. Deze is te downloaden op <http://www.nbv.nl/downloads/news/D2XUbXidavGKVAJv.pdf>

Gezien de diversiteit van schimmels en het voorkomen van bacteriën is het verstandig om veel aandacht te schenken aan bedrijfshygiënische maatregelen en in overleg met bedrijfsadviseurs eventueel gewasbeschermingsmiddelen in te zetten.

1. Omschrijving Consultancy opdracht

1.1 Probleemstelling

Bij de teelt van *Prunus laurocerasus* komt sinds 2 jaar een ziekte voor die bladvlekken geeft en bladval veroorzaakt. Momenteel zijn er binnen de boomkwekerij alleen schadebeelden bekend bij Prunus. De schade is echter zo sterk dat binnen 2 weken een complete opstand waardeloos kan worden. Deze gevallen hebben zich al regelmatig voorgedaan. Kwekers maakten zich dan ook grote zorgen over deze nieuwe ziekte in Prunus. Omdat er aanwijzingen waren dat mogelijk de schimmel *Phyllosticta* een rol zou spelen bij genoemde aantasting is oriënterend onderzoek voorgesteld.

Vragen die daarbij beantwoord moesten worden waren:

- is de schimmel *Phyllosticta* de veroorzaker van een bladvlekkenziekte in Prunus?
- waar komt de schimmel vandaan?
- zijn er andere waardplanten?
- wat is er bekend over een levenscyclus?
- hoe is de schimmel het beste te bestrijden?

Er waren voldoende kwekers uit de praktijk die hun medewerking hadden toegezegd en een bijdrage wilden leveren binnen het onderzoek en er ook de waarde van inzagen.

Phyllosticta is in grote delen van de wereld een algemeen voorkomende ziekte in diverse planten inclusief houtige gewassen en vaste planten. *Phyllosticta* veroorzaakt vooral bladvlekken, maar in de literatuur is ook beschreven dat soms grote bladoppervlakten worden aangetast. Dit lijkt overeen te komen met wat op Nederlandse kwekerijen is aangetroffen. Verder kan deze schimmel worden aangetroffen op afgestorven en verterend plantmateriaal.

Phyllosticta lijkt erg op Phoma, een andere veroorzaker van bladvlekken. Phoma is in Nederland wel bekend als ziekteverwekker.

1.2 Doel van de opdracht

Dit consultancyonderzoek heeft er toe gediend om te achterhalen of de schimmel *Phyllosticta* verband houdt met een agressieve vorm van een bladvlekkenziekte in Prunus. Tevens heeft het gediend om inzicht te krijgen in de omvang van de ziekte in Nederland.

2. Onderzoek

2.1 Uitvoering van het onderzoek

Verspreid over Nederland zijn monsters Prunus met bladvlekken verzameld door Cultus Agro Advies en opgestuurd voor diagnostisch onderzoek en determinatie van de gevonden organismen naar DiagnostiekService van PPO in Lisse.

Per monster is het blad visueel beoordeeld en zijn de symptomen omschreven.

Daarna zijn bladeren met bladvlekken geselecteerd om schimmels of bacteriën uit te isoleren. De bladeren met bladvlekken zijn eerst grondig gewassen met water en zeep (Tween). Soms was het blad extra vervuild door opspattende gronddelen. In dat geval is het blad ook nog afgedept met alcohol.

Na wassen met zeep en/of afdeppen met alcohol is het blad steeds grondig gespoeld met steriel water en in een steriele ruimte droog gedept.

Uit de bladvlekken zijn aansluitend isolaties gemaakt op voornamelijk een schimmelvoedingsbodem (omdat de vraag was of sprake was van een aantasting door de schimmel *Phyllosticta*).

Bij een aantal monsters werd duidelijk dat er mogelijk ook sprake zou kunnen zijn van een bacteriële aantasting. In die gevallen zijn steeds ook isolaties gemaakt op een bacterievoedingsbodem.

Na uitgroei van de schimmels zijn deze microscopisch beoordeeld en is geprobeerd ze op naam te brengen tot op geslachtsniveau. Bij uitgroei van bacteriën zijn deze geselecteerd op kolonievorm en kleur en zijn deze een paar keer gekarakteriseerd middels de PCR-methode. De **polymerase-kettingreactie**, vaak afgekort tot **PCR** (van *Polymerase Chain Reaction*), is een manier om uit zeer kleine hoeveelheden DNA (enkele moleculen) specifiek een of meer gedeeltes te vermenigvuldigen tot er genoeg van is om het te analyseren.

2.2 Overzicht van alle onderzochte monsters, de vastgestelde symptomen en gevonden organismen

Nummer	Monsternummer:	Herkomst:	Omschrijving symptomen:	Uitgroei schimmels en/of bacteriën:
2	41983B	Provincie Utrecht	Nieuw blad met bruine bladranden	Botrytis Cladosporium 1x onbekend Candida-achtige
3	42005	Limburg	Blad met geelbruine vlekken vanaf de bladrand	Penicillium meest geen schimmels gevonden
4	42006	Zundert	Blad met bruine bladvlekken	Fusarium-achtige Mucor Botrytis Alternaria
5	42007	Boskoop		geelbruine schimmel Botrytis Alternaria Phoma onbekend
6	42008	Zundert		Botrytis Fusarium-achtige Cladosporium Alternaria onbekend
7	42009	Zundert		Phoma Botrytis Alternaria Cladosporium geelbruine onbekende schimmel
8	42029	Limburg	Grote onregelmatige bladvlekken met gelige zone op de grens van ziek en gezond bladweefsel.	NYA: bacteriën (Pseudomonaden) AGA: meest geen schimmels gevonden Penicillium Botrytis Cladosporium roze bacteriën
9	42031	Limburg	Zwartbruine bladvlekken Wordt door keurmeesters als Phyllosticta benoemd.	geen schimmels gevonden 1x Penicillium
10	42048	Zundert	Hagelschot-achtige symptomen	Phoma Cladosporium Fusarium-achtige 2x onbekend bacteriën (Pseudomonaden)
11	42058	Limburg	Bladvlekken	geen schimmels geïsoleerd alleen Botrytis in vochtige petrischaal
12	42090	Provincie Utrecht	Hagelschot-achtige bladvlekken	Phoma onbekend
13	42140	Limburg	Bruine bladvlekken	NYA: bacteriën AGA: Alternaria Phoma Phoma-achtige

				onbekende zwarte schimmel
14	42162A (Nischana)	Provincie Utrecht	grote bruine bladvlekken	NYA: gelige en crème bacteriën gevonden AGA: meest roze bacterie Cladosporium onbekende zwarte schimmel
15	42162B (Otto Luyken)	Provincie Utrecht	Hagelschot-achtige bladvlekken	NYA: gelige en crème bacteriën AGA: meest roze bacterie Cladosporium gelige onbekende schimmel Phoma-achtige

2.3 Afbeeldingen

Hagelschot: Er ontstaan kleine ronde, bruine bladvlekken. Rondom de aantasting maakt de plant kurkafzetting waardoor de aangetaste plekken uitvallen en kleine gaten ontstaan (het hagelschot).



<http://www.gezondeboomteelt.nl/achtergrondinformatie/hagelschotg.jpg>

Fig 1. Typische hagelschot aantasting



Fig 2 . Pseudomonas-achtige schade inzending 42048. Langwerpige bruine vlekken op het blad

***Xanthomonas arboricola pv pruni*:** Aanvankelijk zijn de vlekjes klein, lichtgroen tot gelig groen, en zichtbaar aan de onderzijde van het blad. Bij het uitgroeien en verder

ontwikkelen van de infectie worden de bladvlekken ook aan de bovenzijde van het blad goed zichtbaar als geelgroene vlekken waarvan het centrum bruin necrotisch wordt.



Fig 3. Schadebeeld van *Xanthomonas arboricola pv pruni*



Fig.4 Karakteristieke, licht groene rand bij *Xanthomonas arboricola pv pruni*

3. Resultaten en conclusies

3.1 Resultaten en discussie

Bij alle monsters werd een reeks aan schimmels gevonden, waaronder zeer regelmatig de schimmels *Phoma*, *Alternaria* en *Cladosporium* maar nooit *Phyllosticta*. Daarmee is duidelijk geworden dat de schimmel *Phyllosticta*, waarvan werd aangenomen dat het mogelijk een rol zou spelen bij een agressieve vorm van bladvlekkenziekte, geen enkele rol lijkt te spelen.

Uit enkele monsters is echter wel bacteriegroei geconstateerd die verder door PPO is gekarakteriseerd middels de PCR-methode. Bij dit onderzoek werd duidelijk dat twee bacteriesoorten konden worden gekarakteriseerd namelijk *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* en *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. *Pseudomonas* wordt vaker aangetroffen bij hagelschot maar geeft voor zover bekend niet de symptomen van genoemde agressieve vorm van een bladvlekkenziekte. *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* is gekenmerkt als quarantaine organisme en in Nederland niet eerder in verband gebracht met een agressieve vorm van een bladvlekkenziekte in Prunus.

Naar aanleiding van deze bevindingen is contact gezocht met de Plantenziektkundige Dienst en werd duidelijk dat ook zij aanwijzingen hadden voor problemen met een bladvlekkenziekte in Prunus, dat veroorzaakt zou worden door de bacterie *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*.

Vervolgens is in overleg met de NBvB een voorlichtingsplan opgezet en is een projectvoorstel voor *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* gestart.

Vooralsnog wordt geadviseerd om preventiemaatregelen te nemen om infectie van *Xanthomonas* te voorkomen. De NBvB heeft in samenwerking met diverse organisaties en adviseurs een factsheet uitgegeven. Deze is te downloaden op <http://www.nbv.nl/downloads/news/D2XUbXidavGKVAJv.pdf>

Gezien het feit dat in bladvlekken bij Prunus bacteriën en een diversiteit aan schimmels is aangetroffen lijkt het zeer verstandig om veel aandacht te schenken aan bedrijfshygiënische maatregelen bij de teelt van Prunus en in overleg met bedrijfsadviseurs eventueel gewasbeschermingsmiddelen in te zetten.

3.2 Conclusies

De schimmel *Phyllosticta* is niet aangetroffen in monsters Prunus met een afwijkende vorm van bladvlekkenziekte. Wel zijn steeds andere schimmels aangetroffen waaronder *Phoma*, *Alternaria* en *Cladosporium*.

Ook werden in een aantal monsters met afwijkende bladvlekken bacteriën gevonden. Deze bleken na karakterisatie te behoren tot *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* en *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*.