

Gezonde Buxusteelt

Fons van Kuik (PPO), Johan van den Broek (DLV-Plant)

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving,
onderdeel van Wageningen UR
Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit
PPO nr. 3236152300/PT nr. 14613
September 2013

© 2013 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Praktijkonderzoek Plant & Omgeving. 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 DLO.

Voor nadere informatie gelieve contact op te nemen met: DLO in het bijzonder onderzoeksinstituut Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit

DLO is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.



PPO-Projectnummer: 32 36 1523 00
PT-Projectnummer: 14613 (Gezonde Buxusteelt)

De bomen- en vaste plantensector investeert in dit project via het Productschap  **Tuinbouw**

Dit project is uitgevoerd in samenwerking met: DLV Plant, team Boomteelt



**Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, onderdeel van Wageningen UR
Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit**

Adres : Postbus 85, 2160 AB Lisse
: Prof. Van Slogterenweg 2, 2161 DW Lisse
Tel. : +31 252 46 21 21
Fax : +31 252 46 21 00
E-mail : infobomen.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING	7
2 DOEL.....	7
3 WERKWIJZE.....	9
3.1 Waarschuwingsmodel CylBux.....	9
3.2 Onderzoek stambasisrot in Buxus	10
4 DEMO WAARSCHUWINGSMODEL CYLBUX	11
4.1 Inleiding	11
4.2 Doel.....	11
4.3 Proefopzet	11
4.4 Resultaten.....	14
4.4.1 Resultaten CylBux demoveld Boskoop 2012	14
4.4.2 Ervaringen van deelnemers emailservice CylBux.....	18
4.4.3 Resultaten werking van zwavel, solo en in combinatie met Squall.....	19
5 STAMBASISROT IN BUXUS	21
5.1 Ziektebeeld	21
5.2 Bepaling Phytophthora in grond m.b.v. de bait methode.....	22
5.3 Middelentoetsing	25
5.4 Beheersstrategie stambasisrot	25
6 CONCLUSIES	27
7 AANBEVELINGEN	29
BIJLAGE 1.....	31
BIJLAGE 2 BUXUS DATASHEET	33

Samenvatting

De Buxusteelt is binnen de boomteelt een grote teelt, bijna 10% van het areaal boomkwekerij. Enkele jaren geleden sloeg de Buxustaksterfte, veroorzaakt door de schimmel *Cylindrocladium buxicola* (= *Cylindrocladium pseudonaviculatum*) ernstig toe. In vorige Buxusprojecten die werden gefinancierd door het Productschap Tuinbouw (PT) is veel kennis opgedaan over de biologie van de schimmel, over geschikte gewasbeschermingsmiddelen en zijn effectieve bestrijdingsstrategieën ontwikkeld. Echter, voor een goede beheersing van *Cylindrocladium buxicola* in Buxus zijn in de praktijk vaak nog veel bespuitingen nodig. Het gebruik van een waarschuwingsmodel kan het aantal bespuitingen omlaag brengen. Daarnaast is gebleken dat de spuittechniek waarmee het binnenste van de plant en de onderkant van de bladeren goed zijn te raken met gewasbeschermingsmiddelen een bepalende factor kan zijn.

Naast *Cylindrocladium* is er ook een andere ziekte in Buxus die steeds meer van zich doet spreken, nl. stambasisrot veroorzaakt door *Phytophthora*. Op enkele bedrijven is al forse schade geleden door deze ziekte. De vrees is dat *Phytophthora* snel een nieuwe bedreiging kan worden. In dit project is ervaring opgedaan met een grondbemonsteringstechniek en is een middelentoetsing uitgevoerd.

Het doel van dit project is om taksterfte en bladval, veroorzaakt door *Cylindrocladium* en stambasisrot, veroorzaakt door *Phytophthora*, duurzaam te beheersen zodat een gezonde Buxusplant kan worden geteeld.

Om het aantal bespuitingen te kunnen beperken is het belangrijk dat het juiste spuitmoment wordt bepaald. Onnodige bespuitingen worden zo voorkomen. In dit onderzoek is gebruik gemaakt van het waarschuwingsmodel CylBux. Op een proeflocatie is *Cylindrocladium* in een Buxusteelt bestreden met bespuitingen die werden geadviseerd door Cylbux. Verder hebben Buxustelers in dit project gebruik kunnen maken van een sms/ e-maildienst die deelnemers waarschuwt wanneer een uitbraak van *Cylindrocladium* wordt verwacht. In het Buxusperceel zijn in 2012 zeven bespuitingen tegen *Cylindrocladium buxicola* uitgevoerd. De aantasting in het demoveld was gedurende bijna het gehele seizoen heel laag.

Aan het eind van het seizoen werden de deelnemers gevraagd naar hun ervaringen met Cylbux. Men was tevreden over Cylbux. Het heeft goed gewerkt als ondersteuning bij het maken van een spuitbeslissing. Als aanbeveling werd gegeven dat het meerwaarde zou hebben als het model een prognoselijijn kan aangeven aan de hand van de weersvoorspelling. Vooruit kijken is belangrijk voor de spuitplanning.

Op 15 juni 2012 werd op het bedrijf van Johan Scheurwater in Ophemert een Buxusmiddag georganiseerd. Het waarschuwingsmodel CylBux werd als onderdeel van QMS® gepresenteerd. Vanuit dit project is ook aandacht gegeven aan een goede spuittechniek. Een speciale spuitboom die de spuitvloeistof van onderaf in het centrum van de Buxusplant brengt is belangrijk voor een effectieve bestrijding van *Cylindrocladium*. Enkele Buxustelers gebruiken die spuit ook al in de praktijk en de ervaringen zijn goed.

Op verzoek van de begeleidingscommissie is de werking van zwavel tegen *Cylindrocladium buxicola* getest als mogelijke vervanger van maneb. In een ander Buxusveld werd als extra de hulpstof Squall toegevoegd aan de spuitvloeistof. Squall is een uitvloeier en antidriftmiddel. Het zou moeten zorgen voor een betere hechting en opname van gewasbeschermingsmiddelen. Uit deze demo bleek onder meer dat zwavel mogelijk maneb kan vervangen. Een effect van Squall werd in deze demo niet gevonden. Opgemerkt moet worden dat de testperiode kort was en dat het een demo was en geen middelenonderzoek.

Aanbevolen wordt om de proef te herhalen in voldoende herhalingen en meer behandelingen. Met de juiste proefopzet kan dan worden getoetst of zwavel een goede vervanger van maneb is en dat toevoeging van Squall een meerwaarde heeft.

Een ziekte in Buxus die steeds meer van zich doet spreken is stambasisrot veroorzaakt door *Phytophthora*. Op enkele bedrijven is forse schade geleden door deze ziekte. De vrees is dat *Phytophthora* snel een nieuwe bedreiging kan worden. In dit project is ervaring opgedaan met een grondbemonsteringstechniek en is een middelentoetsing uitgevoerd om een uitbraak van *Phytophthora* te kunnen voorkomen.

Stambasisrot in Buxus wordt veroorzaakt door een nieuwe *Phytophthora*soort. Deze ziekte moet niet worden verward met *Phytophthora cinnamomi*, de veroorzaker van wortelrot. Opvallend is dat bij stambasisrot het wortelgestel niet hoeft te zijn afgestorven.

P. cinnamomi is een bodembewoner en dringt de plant binnen via de wortel. Deze nieuwe *Phytophthora* tast de stengel aan op het grensvlak bodem lucht.

Om een inschatting te maken of een perceel is aangetast door *Phytophthora* zijn in dit project enkele percelen onderzocht op aanwezigheid van *Phytophthora* door gebruik te maken van een zogenaamde 'bait'-methode. Gebleken is dat deze methode voor de praktijk bruikbaar kan zijn om een perceel te laten testen op aanwezigheid van *Phytophthora*. Verder onderzoek moet uitwijzen wat de detectiegrens is van deze methode en hoeveel monsters genomen moeten worden om een betrouwbaar beeld van de besmettingsgraad van een bepaald perceel te krijgen.

De begeleidingscommissie heeft aangegeven dat verder onderzoek wenselijk is om deze methode voor de praktijk geschikt te maken. Ook voor andere teelten die gevoelig zijn voor *Phytophthora*soorten die in de bodem overleven, kan deze bemonsteringstechniek op aanwezigheid van *Phytophthora* telers helpen om te beslissen welke acties ondernomen moeten worden voor het betreffende perceel.

Voor het aantonen van wortelbasisrot, veroorzaakt door de nieuwe *Phytophthora* in *Buxus* is in dit project ervaring opgedaan met een doe-het-zelf kit dat op de kwekerij kan worden gebruikt: On site diagnostiek met behulp van een serologische toets. De basis is een serologische test die kant en klaar is aangebracht op een immunostrip of een device (hulpmiddel). De test staat ook bekend onder LFD (Lateral Flow Device) De doe-het-zelf kit bleek goed te voldoen om zieke *Buxus*planten te testen op aanwezigheid van *Phytophthora*.

Om te onderzoeken welke gewasbeschermingsmiddelen de nieuwe *Buxus-Phytophthora* kunnen bestrijden is een middelentoets opgezet. Echter, de inoculatie is niet gelukt. Ook de onbehandelde besmette planten werden niet ziek. De besmettingsmethode van de planten via de wortels is niet gelukt. Mogelijk dat infectie van *Buxus* vooral optreedt via zwermsporen. Voor een vervolproef wordt aanbevolen om de stambasis van de te besmetten planten aan te gieten met een zwermsporensuspensie. De middelen konden in deze proef dus niet worden getoetst op hun werking tegen de nieuwe *Phytophthora*soort in *Buxus*.

Op basis van de ervaringen en bevindingen uit dit project is een voorlopig praktijkadvies gemaakt om stambasisrot in de teelt van *Buxus* zoveel mogelijk te voorkomen. Belangrijkste teelmaatregel is een goede bedrijfshygiëne. Neem van aangetaste of verdachte planten geen nieuw stek. Zorg dus voor schoon uitgangsmateriaal, laat dit eventueel vooraf testen. Een goede drainage van de grond en containerveld is erg belangrijk. Verwijder zo spoedig mogelijk aangetaste planten in een plastic zak. Na een aantasting moet de teeltvloer goed worden ontsmet en schoongemaakt om de kans op het achterblijven van de schimmel in planten- en grondresten zo klein mogelijk te maken. *Phytophthora*-sporen kunnen zich gemakkelijk verspreiden via het recirculatiewater. *Buxusteelt* in containers loopt een risico via recirculerend gietwater. In de vollegrond kan *Phytophthora*, via plasvorming en slechte drainage, zich snel verspreiden naar buurplanten. Ontsmetting van het gietwater is praktisch lastig uitvoerbaar, het water kan wel worden getest op aanwezigheid van *Phytophthora* met de 'Bait-methode'. Hiermee kan een indruk worden verkregen van de ziektedruk op het bedrijf. Van *Phytophthora* is bekend dat zijn rustsporen een overlevingsmethode is als de omstandigheden ongunstig zijn. Deze rustsporen zijn moeilijk te bestrijden. Na problemen in een *Buxusteelt* In de vollegrond is het niet verstandig om in het volgende jaar of jaren op dezelfde plaats weer *Buxus* te telen. Bedenk dat het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen de aanwezigheid van *Phytophthora* kunnen maskeren. Als de werkingsduur is verlopen dan kan *Phytophthora* de kop weer opsteken. Daarom is het verstandig om verdachte planten te verwijderen in plaats van te behandelen. Op termijn zal de ziektedruk op het bedrijf afnemen..

1 Inleiding

De Buxusteelt beslaat bijna 10% van het areaal boomkwekerij. Om deze teelt te behouden is het nodig om ziekten goed te kunnen beheersen. Enkele jaren geleden sloeg de Buxustaksterfte, veroorzaakt door *Cylindrocladium buxicola*, ernstig toe. In bijlage 1 is een Engelstalig factsheet van *Cylindrocladium buxicola* (= *Cylindrocladium pseudonaviculatum*) te vinden waarin nuttige informatie over de schimmel is te vinden. Aantasting door *Cylindrocladium buxicola* is nu weliswaar redelijk onder controle, maar de begeleidingscommissie van het Buxusproject wilde graag dat het onderzoek naar *Cylindrocladium* in Buxus nog een jaar werd vervolgd. Het aantal benodigde bespuitingen tegen *Cylindrocladium* is namelijk nog erg groot, 20 keer per jaar komt regelmatig voor. Verder is het risico op plotselinge uitbraak van *Cylindrocladium* nog steeds te hoog. In 2011 zijn goede eerste ervaringen opgedaan met het gebruik van het waarschuwingsmodel CylBux. De verwachting is dat wanneer het waarschuwingsmodel praktijkrijp is, het aantal bespuitingen omlaag kan. Verder wil men meer ervaring met een juiste spuittechniek, waarmee het binnenste van de plant en de onderkant van de bladeren goed te raken is met gewasbeschermingsmiddelen.

Een andere ziekte in Buxus die steeds meer van zich doet spreken is stambasisrot veroorzaakt door *Phytophthora*. Op enkele bedrijven is al forse schade geleden door deze ziekte. De vrees is dat *Phytophthora* snel een nieuwe bedreiging kan worden.

In dit project zal ervaring worden opgedaan met een grondbemonsteringstechniek en zal een middelentoetsing worden uitgevoerd.



Figuur 1. Bladvlek in Buxus veroorzaakt door *Cylindrocladium buxicola*.



Figuur 2. Stengelvlekken in Buxus, veroorzaakt door *C. buxicola*

2 Doel

Het doel van dit project is om taksterfte en bladval, veroorzaakt door *Cylindrocladium* en stambasisrot, veroorzaakt door *Phytophthora*, duurzaam te beheersen zodat een gezonde Buxusplant kan worden geteeld.

3 Werkwijze

Aan de basis van dit project staat een begeleidingscommissie, bestaande uit een groep Buxuskwekers, waarvan enkele al meerdere jaren verbonden zijn aan het door het Productschap Tuinbouw gefinancierde Buxusonderzoek.

3.1 Waarschuwingsmodel CylBux

Voor het bepalen van het juiste spuitmoment wordt gebruik gemaakt van een waarschuwingsmodel (CylBux), waarvan de basis is ontwikkeld door PPO. In dit project wordt het waarschuwingsmodel praktijkrijp gemaakt. Alle resultaten worden openbaar gemaakt en na het project staat het vrij aan alle adviseurs en adviesbureaus om het waarschuwingsmodel CylBux te gebruiken.

Op de proeflocatie Rijnveld Boskoop is een Buxusperceel aangelegd voor het demonstreren van het Cylindrocladiummodel in combinatie met een spuitschema. De proef wordt gedemonstreerd aan boomkwekers en geïnteresseerden tijdens een open middag, najaar 2012.

Vanuit dit project wordt een sms/ e-maildienst opgestart door DLV-Plant die de deelnemers waarschuwt wanneer een uitbraak van Cylindrocladium wordt verwacht.

Voor een effectieve bestrijding van Cylindrocladium is een goede spuittechniek belangrijk. In dit project zou ervaring worden opgedaan met (nieuwe)spuittechnieken, o.a. het gewasafhankelijk spuiten, bij meer bladgroei en meer bladmassa hoeveelheid middel aanpassen, andere type spuit ed. Door de begeleidingscommissie is op de eerste bijeenkomst bepaald dat deze dure spuittechniek nog een stap te ver is voor de huidige Buxusteelt. Daar komt bij dat men kennis heeft van een speciale spuitboom die de spuitvloei stof van onderaf in het centrum van de Buxusplant brengt. Enkele Buxustelers gebruiken die relatief goedkope spuit ook al in de praktijk en de ervaringen zijn goed.



Figuur 3. Spuitboom met een opwaarts gericht spuitbeeld, voor de bestrijding van Cylindrocladium in Buxusbollen.

In plaats van onderzoek naar spuittechniek wilde men weten of zwavel ook voldoende werking had tegen Cylindrocladium. Zwavel zou dan een goed alternatief kunnen zijn voor maneb of captan.

Op de proeftuin Rijnveld Boskoop is daarom een demo aangelegd om de werking van zwavel tegen Cylindrocladium te toetsen.

3.2 Onderzoek stambasisrot in Buxus

In dit project is een proef in Buxus uitgevoerd waarin de effectiviteit van verschillende middelen tegen stambasisrot is getoetst. De potgrond/planten werden kunstmatig besmet met de nieuwe Phytophthora-soort om er zeker van te zijn dat er voldoende ziektedruk aanwezig zou zijn.

Op 1 sept. 2012 zijn 2 Phytophthora-isolaten afkomstig uit Buxus verkregen via de NVWA isolaatnr. 05035271 en 04922838. Op 14 sept 2012 werden de Buxus containerplanten opgehaald en in de kas bij PPO Lisse gezet.

Op 20 sept 2012 werden de schalen met Phytophthora beoordeeld. Er werden geen rustsporen, oosporen of chlamydosporen in de agar platen aangetroffen. Na weer een maand later op 20 oktober 2012 werden nog steeds geen rustsporen gezien. Besloten werd om nieuwe platen/ inoculum te maken.

Op 10 december 2012 werden de Buxusplanten getopt. De plant krijgt hierdoor een stressreactie en zal daardoor gevoeliger kunnen zijn voor Phytophthora. De planten zijn individueel op schoteltjes geplaatst zodat de potgrond goed vochtig bleef. Op 10 december 2012 zijn volgens schema de middelen aangemaakt en aangegoten aan de potten. Aan de controlebehandelingen 1 en 2 is 100 ml per liter potgrond aangegoten.

Op 12 december 2012 werden de planten geïnoculeerd. Malt-agar platen die volledig waren begroeid met Phytophthora werden doormidden gesneden. De helft van de agar werd onder in een pot gelegd.

Vervolgens werd de plant weer in het potje geplaatst.

Kastemperatuur werd ingesteld op 20 graden. De planten kregen 16 uur licht en 8 uur donker.

Regelmatig werd de ziekte-ontwikkeling beoordeeld met behulp van een ziekte-index.

Behnr	Omschrijving	concentratie
1	Onbehandelde controle niet besmet	
2	Onbehandelde controle wel besmet	
3	Fenomenal	(0,05%)
4	Ridomil	(0,00625%)
5	Code P	(0,01%)
6	KF	(0,1%)
7	KF	(0,5%)
8	KF	(1%)

Tabel 1. Behandelingsschema middelenproef Phytophthora in Buxus.

4 Demo waarschuwingmodel CylBux

4.1 Inleiding

In een veldje met *Buxus sempervirens* wordt de schimmel *Cylindrocladium buxicola* bestreden door gebruik te maken van het waarschuwingmodel CylBux. Op basis van het voorgaande PT-Buxusproject (PT 13932) is een spuitschema samengesteld, dat bestaat uit de vier gewasbeschermingsmiddelen: maneb, Switch, Spirit en Mirage Plus.

Het waarschuwingmodel CylBux is eind 2011 en begin 2012 ontwikkeld en houdt rekening met de volgende aspecten:

- 5-7 uren bladnat is nodig voor een succesvolle infectie, na 3 uren kiemen de sporen bij hoge RV.
- Groei van de schimmel is al vanaf 5 °C mogelijk, de optimale groeitemperatuur is 25 °C, vanaf 30 °C stopt de groei en temperaturen boven de 33 °C zijn dodelijk voor de schimmel.
- Incubatiefase
- Sporulatiefase

In dit onderzoek wordt het waarschuwingssysteem CylBux uitgetest op een proefperceel *Buxus* en wordt het gebruikt door de deelnemers van het project.

4.2 Doel

Doel van deze demo is om de *Buxus*bollen vrij te houden van *Cylindrocladium* door gebruik te maken van het waarschuwingssysteem CylBux in combinatie met een afwisselingsschema van toegelaten gewasbeschermingsmiddelen.

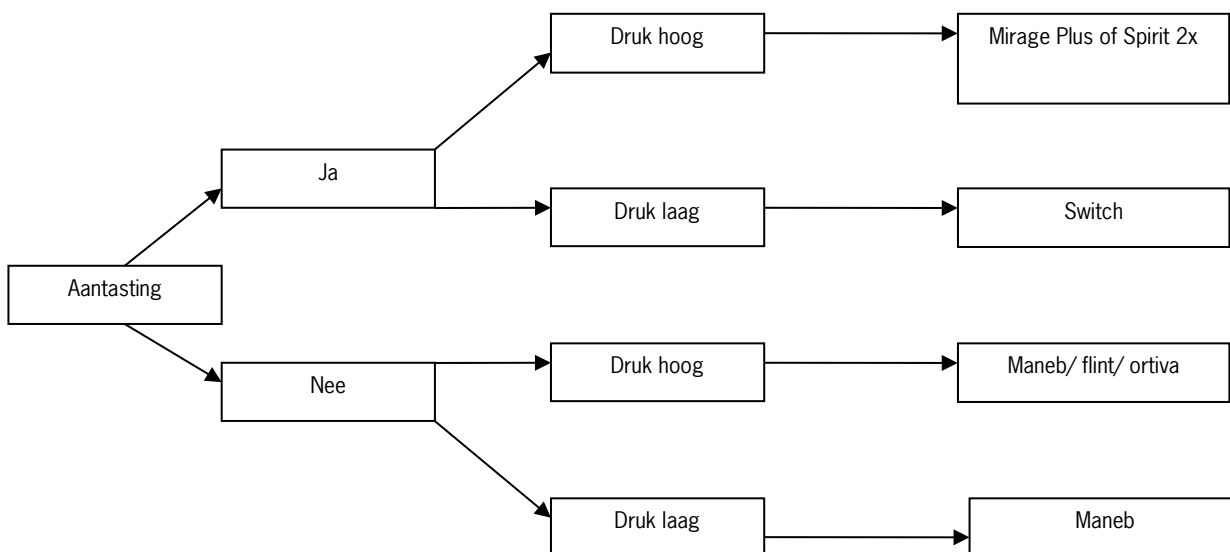
4.3 Proefopzet

Het demoveld bestaat uit 4-jarige *Buxus sempervirens*, 50 rijen met 46 bolletjes op de rij.

Op 29 juni 2012 is een beginnende aantasting geconstateerd. De eerste bespuiting van het demoveldje is een paar dagen later op 2 juli 2012 uitgevoerd met Spirit. De daaropvolgende bespuitingen zijn uitgevoerd op basis van onderstaand stroomschema. De belangrijkste voorwaarde voor opvolging van de volgende bespuiting en middelenkeuze is afhankelijk van de gewaswaarneming¹. De te hanteren interval is afhankelijk van de weersomstandigheden dus de uitkomst van het CylBux. De keuze van opvolging van de verschillende middelen is ook mede afhankelijk van de restricties op het etiket.

Het proefveld is behandeld volgens onderstaand stroomschema, de hoogte van de ziektedruk² wordt bepaald door het CylBux model. Bij alle middelen worden de beperkingen qua aantal behandelingen opgevolgd. Zie ook het spuitschema, verderop.

Wekelijks worden waarnemingen uitgevoerd om de beslissingen en het waarschuwingmodel te ondersteunen. De waarnemingen worden bijgehouden in een logboek.



Figuur 4. Beslisschema middelenkeuze Buxus 2012.

¹ Met aantasting wordt bedoeld: nieuwe zichtbare, dus kleine vlekjes op het blad.

² De hoogte van de ziektedruk wordt aangegeven door het model.

Klasse	Omschrijving	Toelichting
lage druk	Uitkomsten CylBux onder de 0.25	voor een periode van 7 dagen.
gematigde druk	Uitkomsten CylBux hoger dan 0.25 en lager dan 0.7	Als gedurende de laatste 7 dagen 3 dagen of meer hoger dan 0.5 scoren Als gedurende de laatste 7 dagen 1 dag boven de 0.7 (en lager dan 1) zit en de rest van de dagen tussen 0 en 0.25
hoge druk	Uitkomsten CylBux hoger dan 0.7	Als gedurende de laatste 7 dagen 2 dagen hoger dan 1 scoren. Als gedurende de laatste 7 dagen 1 dag boven de 1 scoort en de rest van de dagen boven de 0.25 zit
erg hoge druk	Uitkomsten CylBux hoger dan 1	Gedurende 1 of meerdere dagen blijft de grafiek boven de 1

Tabel 2. Uitleg beslisschema

Klimaatgegevens gedurende de proefperiode zijn geregistreerd met behulp van een geautomatiseerd weerstation Dacom.

Gewaswaarnemingen dmv scouting

Frequentie: Minimaal 1 x per week

Methode: Het netto proefveld wordt beoordeeld waarbij globaal alle planten bekeken worden. Hierbij wordt een inschatting gemaakt van de mate van aantasting van het demoveld. Onderstaande klassenindeling wordt gehanteerd.

Klasse	Omschrijving	Toelichting
0	Gezond gewas	Geen enkel aangetast blad zichtbaar. 100% gezonde plant.
1	Zeer licht aangetast	> 1 aangetast blad per plant. > 1-2,5 % van de planten aangetast.
2	Licht aangetast	> 2 of 3 aangetaste bladen per plant. > 2,5 – 5% aangetaste planten
3	Matige aantasting	> 5-10% van de planten is aangetast.
4	Zware aantasting	Meer dan 10% van de planten is aangetast.

Tabel 3. Klassenindeling aantasting Buxus door *Cylindrocladium buxicola*.

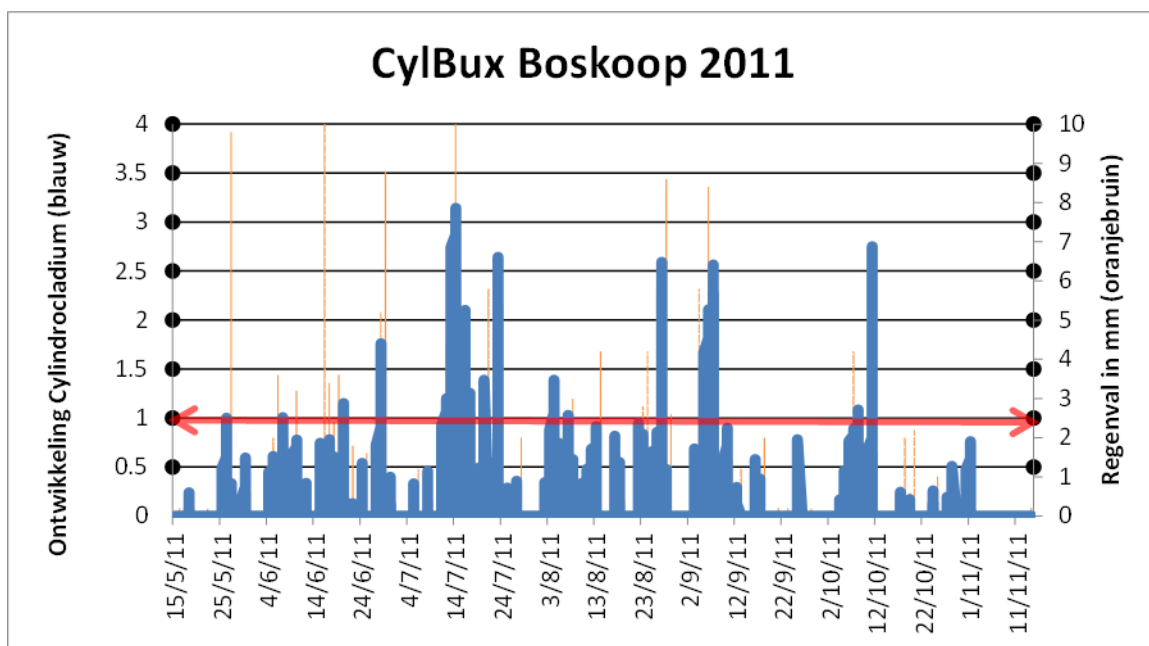
Waarschuwingmodel CylBux

In het vorige PT project, Taksterfte in Buxus II is een begin gemaakt met het ontwikkelen van een waarschuwingmodel. Het model geeft aan wanneer de weersomstandigheden gunstig zijn voor de schimmel, zodat de teler gewaarschuwd wordt voor een mogelijke hoge ziektedruk. Hiermee kan dus een beter spuitadvies worden gegeven. Aanvankelijk gebeurde dat handmatig en werd 2x per week een overzicht gegeven van de ontwikkeling van *Cylindrocladium* in de buurt van het weerstation op de Proeftuin in Boskoop.

Voordat CylBux in 2012 in gebruik werd genomen is het model eerst getest op de weersgegevens van voorgaande jaren, 2010 en 2011. De resultaten zijn vergeleken met de waargenomen ontwikkeling van *Cylindrocladium* in die jaren op het proefveld.

Het model is hierop bijgesteld. Er is voor de ontwikkeling van de schimmel een grenswaarde van 1 ingesteld, zie rode lijn in figuur 5.

Begin 2012 is het waarschuwingmodel overgezet naar een geautomatiseerd emaildienst die dagelijks de ontwikkelingen van *Cylindrocladium* weergeeft op verschillende plekken van het land. Het is gebonden aan de plekken waar weerstations staan. DLV-Plant voert dat uit binnen QMS Boomteelt. Alle deelnemers kunnen vanuit dit project gebruik maken van deze emaildienst.

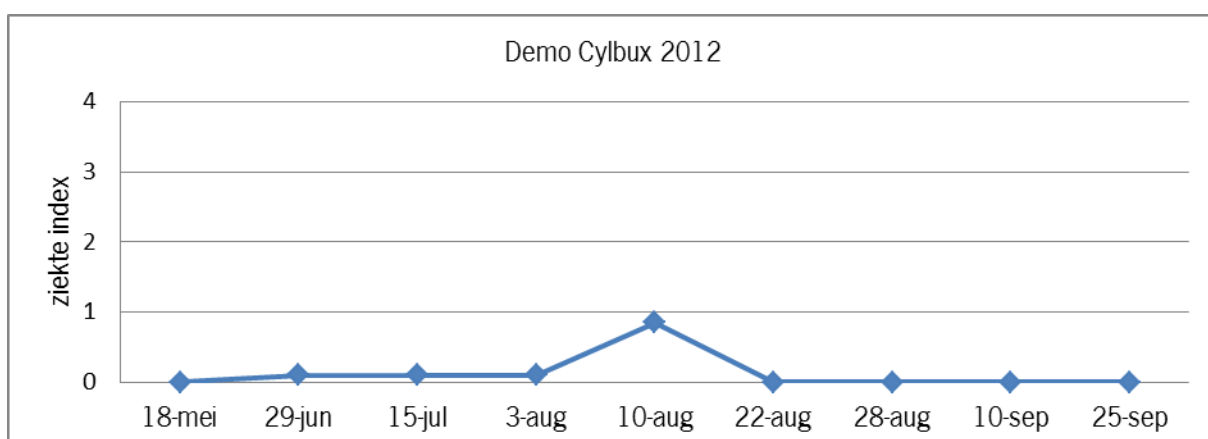


Figuur 5. Uitkomst waarschuwingmodel CylBux voor de locatie proefveld Boskoop in de groeiperiode van 2011.

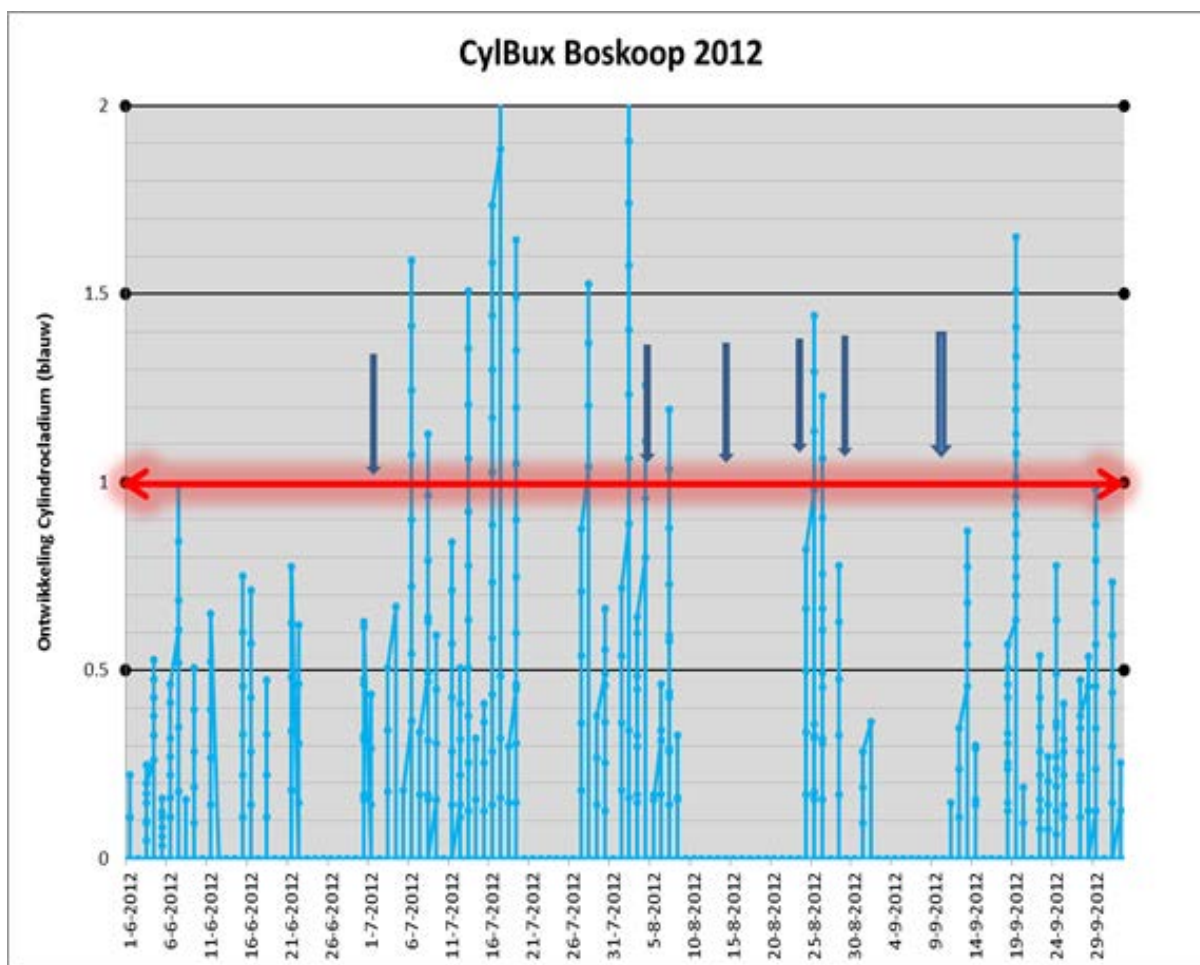
De uitkomsten van Cylbus kwamen goed overeen met de mate van aantasting in 2011. Figuur 5 geeft aan dat er een aantal perioden in het jaar voorkwam waarbij de ziektedruk hoog was, hoger dan de drempelwaarde 1. Tevens is te zien dat de hoogte van de regenval geassocieerd is met een hoge ziektedruk. Op basis van deze gegevens is regenval ook meegenomen in het waarschuwingmodel. Enkele dagen die de 1 benaderen betekent dus een hoge ziektedruk. Perioden van dagen met waarden 0 zorgen voor een afname van de ziektedruk.

4.4 Resultaten

4.4.1 Resultaten CylBux demoveld Boskoop 2012



Figuur 6. Ziekte-index volgens waarneming.



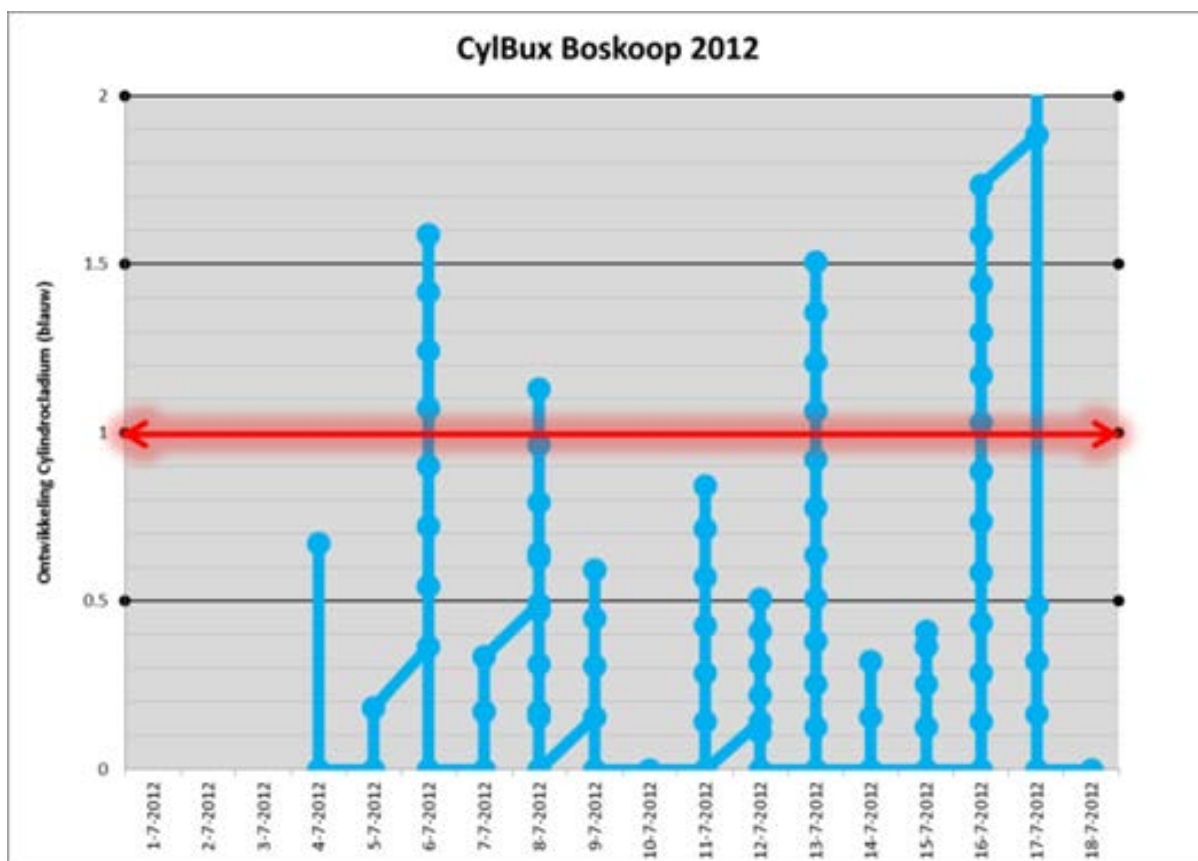
Figuur 7. Ziektedruk volgens waarschuwingmodel CylBux, Boskoop 2012.

In tabel 4 is het bespuitingsschema weergegeven.

Op 18 mei was de eerste bespuiting met Mirage. De uitvoerder wilde uit ervaring een eerste bespuiting vroeg in het groeiseizoen uitvoeren. Er was toen nog geen zichtbare aantasting door *Cylindrocladium*. Door een misverstand is Mirage gespoten, beter was geweest om op dat moment een preventief middel te spuiten. Er was immers nog geen aantasting te zien en de ziektedruk was ook laag volgens CylBux. Mirage Plus kan beter worden 'gespaard' voor later in het seizoen als de ziektedruk hoog is.

Op 29 juni werden de eerste vlekjes in het gewas waargenomen. Op 2 juli is toen gespoten met Spirit. Volgens CylBux waren de weersomstandigheden nog steeds niet gunstig voor *Cylindrocladium buxicola*. Volgens het beslisschema (figuur 4) zou Switch worden gespoten. Echter, het gevoel van de uitvoerder was dat de infectiedruk hoog was, en zijn beslissing was dus anders dan het stroomschema.

In juli liet CylBux hogere waarden zien, verschillende keren zelfs boven de drempelwaarde, zie figuur 7.



Figuur 8. Uitkomsten CylBux in de periode 1 juli tot en met 18 juli 2012.

Uitkomsten boven de drempelwaarde van 1 betekent risico op aantasting. De drempelwaarde werd tussen 5 en 18 juli 5 keer overschreden. 16 juli was zelfs een extreem gunstige dag, de gehele dag zat het model boven de 1. Volgens de waarneming op 15 juli was er geen of nauwelijks aantasting te zien in het veld. Volgens het stroomschema zou er een bespuiting moeten worden gedaan met Flint, Ortiva of maneb, want er was geen zichtbare aantasting, maar de score van het model was hoog. De uitvoerder besloot desondanks om niet te spuiten omdat de weersvoorspelling voor de komende periode aangaf dat de weersomstandigheden ongunstig zouden zijn voor de schimmel.

Op 3 aug is weer een gewaswaarneming gedaan. Hieruit bleek dat vele planten niet waren aangetast, enkele hadden een score 1 en sommige 2. Besloten werd dat er snel een bespuiting moest komen. Op 3 augustus is een bespuiting uitgevoerd met Switch. In die periode gaf CylBux aan dat de omstandigheden voor Cylindrocladium niet zo gunstig waren. De uitvoerder heeft conform het stroomschema gehandeld.

Op de volgende waarneming van 10 augustus bleek er een toename van aantasting, zie figuur 6. Het demoveld was licht aangetast. Volgens Cylbus was de ziektedruk in de periode 8 tot 24 augustus zeer laag. De uitvoerder was geschrokken van de lichte stijging van aantasting en besloot toch tot een bespuiting met Switch op 13 augustus 2012. De toename van de aantasting kwam waarschijnlijk doordat rond 16 juli toen de ziekte druk volgens Cylbus hoog was er geen bespuiting is uitgevoerd.

Bij de volgende waarneming van 22 augustus bleek dat het demoveld 'schoon' was. Er waren geen nieuwe aantastingen. De uitvoerder besloot op 23 augustus een preventieve bespuiting uit te voeren, vanwege de weersverwachting met een risico op ziektedrukverhoging. Er is toen met maneb gespoten. CylBux gaf later inderdaad aan dat de omstandigheden gunstig waren voor de schimmel.

Op 28 augustus is het gewas weer geïnspecteerd op aantasting. Er werd geen aantasting in het demoveld geconstateerd. Besloten werd om toch een maneb bespuiting uit te voeren, omdat CylBux aangaf dat er de dagen ervoor een verhoogde de omstandigheden gunstig waren voor de schimmel.

Op 10 september bleek dat het demoveld vrij was van nieuwe aantastingen. Omdat in de periode daarna de weersvoorspelling aangaf dat de omstandigheden weer gunstiger zouden worden voor de schimmel is er nog een keer met maneb gespoten.

Op de laatste waarneming van het seizoen, op 25 september 2012 liet de gewasbeoordeling geen aantasting zien. Toch waren de weersomstandigheden in september soms erg gunstig voor *Cylindrocladium*. De uitvoerder vertrouwde erop dat de ziektedruk nihil was, aangezien er al 4 weken geen aantasting werd gezien. Ook het naderende einde van het groeiseizoen deed de uitvoerder beslissen dat er geen bespuitingen meer nodig waren.

Eind oktober werd er geen aantasting in het gewas aangetroffen. (niet weergegeven in figuur 6)

Samengevat

Uiteindelijk zijn dus 7 bespuitingen tegen *Cylindrocladium buxicola* uitgevoerd. De aantasting in het demoveld was gedurende het gehele seizoen laag.

De eerste bespuiting op 18 mei met Mirage Plus was niet nodig geweest. Eventueel had toen beter voor een preventief middel, bv maneb of Flint gekozen kunnen worden.

Op 10 augustus was er een lichte toename van aantasting. Terugkijkend kan worden gesteld dat medio juli, toen de omstandigheden gunstig waren voor *Cylindrocladium*, een bespuiting nodig was geweest. Volgens het stroomschema zou dan Switch moeten zijn gespoten.

Het eindresultaat van het demoveldje was goed, alle Buxusplanten zagen er goed uit. Aantasting van Buxus door *Cylindrocladium* werd met slechts 7 bespuitingen voorkomen.

Datum	18-mei	2-jul	3-aug	13-aug	13-aug	23-aug	28-aug	10-sep
Tijd		20.00	14.00	08.30	20.30	19.00	14.00	14.00
Bespuiting veld 1 CylBux	1	2	3	4	5	6	7	8
Ziekte / Plaag	Cylindro + Spint	Cylindro	Cylindro	Cylindro	Topmijt + Spint	Cylindro	Cylindro	Cylindro
Middel	Mirage Plus + Vertimec Gold	Spirit	Switch + Agral Gold	Switch + Agral Gold	Vertimec Gold + Agral Gold	Maneb	Maneb	Maneb
Dosering	350 ml + 50 ml / 100L	350 ml / 100 L	80 gram + 7,5ml / 100 L	80 gram + 7,5ml / 100 L	50 ml + 5 ml / 100 L	300 gram / 100 L	300 gram / 100 L	300 gram / 100 L
l/ha	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Gewas toestand		droog	droog	droog	droog	droog	droog	droog
Temp		19.8	21.9	16.1	21.4	19.3	21.8	21.1
RV		64	52	85	82	71	74	72
Wind richting		OZO	WZW	OZO	0	NW	WZW	ZZW
Wind snelheid		0.8	2.8	0.8	0	1.4	2.4	3

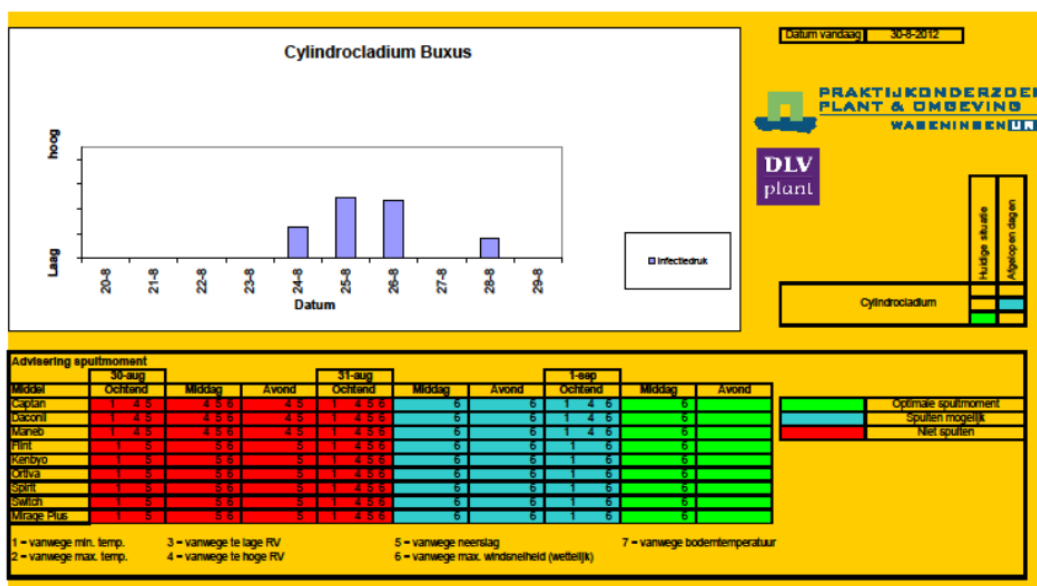
Tabel 4. Uitgevoerde bespuitingen demoveld CylBux 2012.

4.4.2 Ervaringen van deelnemers emailservice CylBux.

De uitkomsten van het waarschuwingsmodel CylBux zijn ook gebruikt om via een emaildienst de deelnemers van het project (tevens de begeleidingscommissie) op de hoogte te houden van de voorspelde ziektedruk. Aanvankelijk was het idee om via een app de deelnemers op de hoogte te houden. Dat is niet doorgegaan omdat de Buxustelers op dat moment geen voorstander waren van het gebruik van een smartphone. Er is toen gekozen voor een emaildienst. Vanaf medio juli 2012 is het model geïntegreerd in het Quality Monitoring System (QMS) van DLV Plant Boomkwekerij. Alleen de Boskoopse kwekers kregen dagelijks de CylBux in hun mailbox. Andere weerstations waren nog niet operationeel met CylBux.

De deelnemers die een emailservice kregen waren:

Theo		Bouwman	theo@debuurte.nl
Koos		Buitenhuis	info@koosbuitenhuis.nl
Iwan		Huysmans	iwan@huysmans.nl
Ernst-Jan	de	Jong	ernst-jandejong@klikSAFE.nl
Marien		Kaashoek	info@debent.eu
Wilbert	van	Luenen	info@wilbertsbuxusstek.nl
Johan		Scheurwater	joen01@zonnet.nl
Piet		Smits	info@pietsmits.nl
Ed		Voskamp	barrywansinck@hetnet.nl
Koen		Vossebelt	boomkwekerijvossebelt@kpnmail.nl



© DLV Plant

QMS Boomteelt

Figuur 9. Voorbeeld CylBux via emaildienst.

Aan het eind van het seizoen werden de deelnemers gevraagd naar hun ervaringen.

Men gaf de volgende terugkoppeling:

- Het model werk mooi. Maar is het mogelijk dat je een prognoselijst aangeeft, aan de hand van de weersvoorspelling. Want vooruit kijken is ook belangrijk voor de spuitplanning.
- Ik maak er gebruik van ter ondersteuning en bevestiging van mijn eigen idee van spuitmoment, de middelen keus die het model aangeeft kijk ik naar, maar wij gebruiken eigenlijk standaard maneb met codacide en dat gaat goed en ik hoop dat we volgend jaar hetzelfde kunnen doen met spuit zwavel.
- Ik zou het heel handig vinden als je de dagen bij de datum kan zetten in het model. Bijvoorbeeld : za 13 okt. Ik moet nu altijd even kijken wat voor datum het is als ik het model open.
- Tot nu toe mijn ervaring met het model zijn goed en heb nu geen suggesties tot verbetering.
- Handig om te ontvangen elke dag, een rood vak weet ik zelf ook wel, blauw of groen is handig om te weten.
- Infectiedrukschema is goede informatie, je zou de dag na een hoge infectie nog kunnen corrigeren met Mirage als het weer goed is.
- Ik probeer er rekening mee te houden als ik de loonwerker bel, om tijdstip door te geven bijv. 's ochtends of 's middags

Op 15 juni 2012 werd op het bedrijf van Johan Scheurwater in Ophemert een Buxusmiddag georganiseerd. DLV Plant organiseerde deze middag. Het waarschuwingmodel CylBux werd als onderdeel van QMS® Gepresenteerd

4.4.3 Resultaten werking van zwavel, solo en in combinatie met Squall.

Op verzoek van de begeleidingscommissie is de werking van zwavel tegen *Cylindrocladium buxicola* getest als mogelijke vervanger van maneb. In een ander Buxusveld werd als extra de hulpstof Squall toegevoegd aan de spuitvloeistof. Squall is een uitvloeier en antidriftmiddel. Het zou moeten zorgen voor een betere hechting en opname van gewasbeschermingsmiddelen.

Het proefveld bestond uit 36 rijen met 32 bolletjes op de rij. De proefopzet deze demo was om zwavel preventief in te zetten met een spuitinterval van 7-14 dagen, afhankelijk van weersomstandigheden en ziektedruk op het proefveld. De dosering was 400 gram spuitzwavel per 100 L water. De bespuitingen op veld 2 (zwavel solo) zijn gedaan met driftarme venturidoppen van het type: Agrotop Airmix AM 110-04. De bespuitingen waarbij Squall is toegevoegd op veld 3 zijn gespoten met Teejet XR 110-04 spleetdoppen. Beide behandelingen zijn gespoten bij een druk van 3 bar.

Bij een aantasting door *Cylindrocladium* wordt gespoten met Mirage Plus, Spirit of Switch.

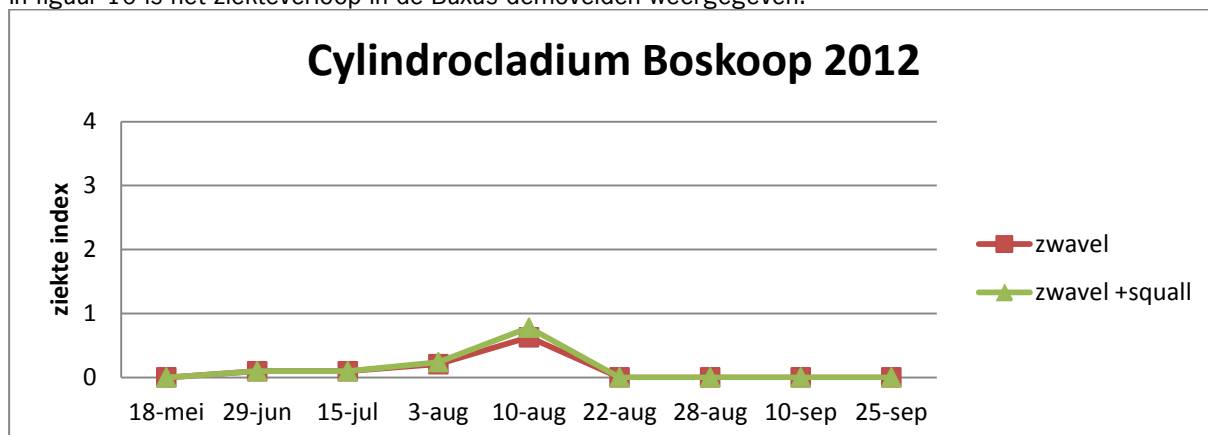
In tabel 5 is het spuitschema weergegeven.

aantal	1	2	3	4	5	6	7
Veld 2 zwavel solo	18-mei	2-jul	3-aug	13-aug	23-aug	28-aug	10-sep
	Mirage Plus	Spirit	Switch+ agral	Switch+ agral	zwavel	zwavel	zwavel
	1	2	3	4	5	6	7
Veld 3 zwavel+ squall	18-mei	2-jul	3-aug	13-aug	23-aug	28-aug	10-sep
	Mirage Plus	Spirit	Switch+ squall	Switch+ squall	zwavel+ squall	zwavel+ squall	zwavel+ squall

Tabel 5. Bespuitingsschema proef met zwavel

In totaal zijn 7 bespuitingen uitgevoerd, in beide velden op dezelfde dag. Vanaf de derde bespuiting is bij veld 3 Squall meegespoten. In totaal zijn 4 Squallbespuitingen uitgevoerd.

In figuur 10 is het ziekteverloop in de Buxus demovelden weergegeven.



Figuur 10. Ziekteverloop van *Cylindrocladium buxicola* in 2 Buxuspercelen, volgens waarneming.

Op 18 mei was de eerste bespuiting met Mirage. We wilden het Buxusgewas zeker vrij houden wanneer we met CylBux zouden beginnen. Er was tot 3 augustus geen zichtbare aantasting door *Cylindrocladium*.

Op 29 juni werden in een naburig Buxusperceel de eerste vlekjes in het gewas gezien. Op 2 juli is toen ook in de proefvelden 2 en 3 gespoten. Allebei met Spirit. Medio juli was het model klaar om te gebruiken. Volgens de waarneming van 3 augustus was er een hele lichte aantasting in beide demovelden. Besloten werd om een Switchbespuiting uit te voeren. In veld 3 werd voor het eerst squall meegespoten. Eind juli en begin augustus was de ziektedruk behoorlijk hoog, zie figuur 7. Daarom werd nogmaals met Switch gespoten. Op 22 augustus bleek dat er geen nieuwe aantastingen waren in de Buxuspercelen veld 2 en 3. Besloten werd om vanaf die dag regelmatig preventieve behandelingen uit te voeren met zwavel resp. zwavel +squall. Er zijn nog 3 bespuitingen uitgevoerd. De aantasting bleef nihil in beide velden.

Uit deze demo bleek onder meer dat:

- 2 bespuitingen met Switch, kort na elkaar, de aantasting kon terugbrengen naar 0.
- Het gebruik van zwavel, preventief toegepast, kan mogelijk maneb vervangen.
- Een effect van Squall werd in deze proef niet gevonden.

N.B. Opgemerkt moet worden dat de proefperiode kort was en dat het een demo was en geen middenonderzoek.

Aanbevolen wordt om de proef te herhalen in voldoende herhalingen en meer behandelingen. Met de juiste proefopzet kan dan worden getoetst of zwavel inderdaad een goede vervanger van maneb is en dat toevoeging van squall inderdaad een meerwaarde heeft.

5 Stambasisrot in Buxus

Een ziekte in Buxus die steeds meer van zich doet spreken is stambasisrot veroorzaakt door Phytophthora. Op enkele bedrijven is al forse schade geleden door deze ziekte. De vrees is dat Phytophthora snel een nieuwe bedreiging kan worden. In dit project is ervaring opgedaan met een grondbemonsteringstechniek en is een middelentoetsing uitgevoerd.

5.1 Ziektebeeld



Figuur 11. Verkleuring en verlies van groei van een tak in een Buxusplant.



Figuur 12. Witte pijl wijst naar afsterving van de bast. Opvallend is dat nieuwe wortels worden gemaakt, zie paarse pijl.

Stambasisrot in Buxus wordt veroorzaakt door een nieuwe Phytophthorasoort. Deze ziekte moet niet worden verward met *Phytophthora cinnamomi*, de veroorzaker van wortelrot. Opvallend is dat bij stambasisrot het wortelgestel niet hoeft zijn afgestorven. *P. cinnamomi* is een bodembewoner en dringt de plant binnen via de wortel. Deze nieuwe *Phytophthora* tast de stengel aan op het grensvlak bodem lucht. De biologie en epidemiologie is nog niet nader onderzocht.

Om een inschatting te maken of een perceel is aangetast door *Phytophthora* zijn in dit project enkele percelen onderzocht op aanwezigheid van *Phytophthora* door gebruik te maken van de bait-methode.

5.2 Bepaling Phytophthora in grond m.b.v. de bait methode.



Figuur 13. Buxusteelt in de volle grond. De lege plekken in het perceel geven aan waar zieke planten hebben gestaan.

Uit een besmet praktijkperceel is een grondmonster gestoken (monster 1) en uit een perceel waar geen zieke Buxusplanten hebben gestaan (monster 2). Beide monsters zijn in duplo in aparte bakken gelegd waarop water werd gegoten. Het waterniveau stond 1 cm boven de grond. Rhododendron-bladeren werden als 'bait' gebruikt. Er werden 6 bladeren per bak met de onderkant op het water gelegd. Gedurende 7 dagen werden de bakken bij kamertemperatuur weggezet. De bladeren werden vervolgens achtereenvolgens gewassen in kraanwater, kort met 70% alcohol en als laatste 3 maal met steriel demi water. Uit elk blad werden 3 á 4 stukjes verdacht weefsel gesneden en uitgelegd op selectief medium.



Figuur 14. Bait methode mbv Rhododendronbladeren in bak met water met grondmonster.

Resultaten

Alle blaadjes uit beide bakken waren aangetast door Phytophthora. Op de onderkant van de bladeren waren duidelijke “waterachtige” vlekken aanwezig. De bovenzijde van het blad verkleurde paars. De blaadjes uit bak 1 waren over het gehele bladoppervlak aangetast (m.u.v. van blad dat niet in het water had gelegen). De vlekken lopen in elkaar over. Op de bladeren van bak 2 zitten ronde losliggende plekken. Op zowel PVPH als PDA medium groeide Phytophthora uit. Dit is microscopisch vastgesteld. Uit beide monsters, grondmonster 1 en grondmonster 2 groeide Phytophthora. Beide percelen waren dus besmet met Phytophthora.



Figuur 15. Overzicht van bladeren uit bak 1. Links onderkant blad, rechts bovenkant blad.



Figuur 16. Overzicht van bladeren uit bak 2. Links onderkant blad, rechts bovenkant blad.



Figuur 17. Detail blad bak 1. Links onderkant blad, rechts bovenkant blad.



Figuur 18. Detail blad bak 2. Links onderkant blad, rechts bovenkant blad.

Gebleken is dat deze methode voor de praktijk bruikbaar kan zijn om een perceel te laten testen op aanwezigheid van Phytophthora. Verder onderzoek moet uitwijzen wat de detectiegrens is van deze methode en hoeveel monsters genomen moeten worden om een betrouwbaar beeld van de besmettingsgraad van een bepaald perceel te krijgen.

De begeleidingscommissie heeft aangegeven dat verder onderzoek wenselijk is om deze methode voor de praktijk geschikt te maken. Ook voor andere teelten die gevoelig zijn voor Phytophthorasoorten die in de bodem overleven, kan deze bemonsteringstechniek op aanwezigheid van Phytophthora telers helpen om te beslissen welke acties ondernomen moeten worden voor het betreffende perceel.

Voor het aantonen van wortelbasisrot, veroorzaakt door de nieuwe Phytophthora in Buxus is in dit project ervaring opgedaan met een hulpmiddel dat op de kwekerij kan worden gebruikt: On site diagnostiek met behulp van Serologische toetsing. De basis is een serologische test die kant en klaar is aangebracht op een immunostrip of een device (hulpmiddel). De test staat ook bekend onder LFD, voor meer informatie zie: <http://www.wageningenur.nl/nl/show/Prime-Diagnostics.htm>



In figuur19 zijn als voorbeeld de uitslag van een zieke plant (links) en van een gezonde plant (rechts) weergegeven.

Op het linker plaatje is een duidelijk extra bandje te zien, zie pijl. Dit geeft aan dat Phytophthora aanwezig was.

De doe-het-zelf kit bleek goed te voldoen om zieke Buxusplanten te testen. Om telers of adviseurs een handvat te geven om zelf te bepalen of een aantasting wordt veroorzaakt door Phytophthora kan gebruik worden gemaakt van een doe-het-zelf kit.

Figuur 19. Phytophthora-immunostrips van Agdia waarmee de aanwezigheid van Phytophthora in plantmateriaal eenvoudig is vast te stellen. De pijl wijst naar een streepje dat verschijnt bij een positieve uitslag, er was dus Phytophthora aanwezig.

5.3 Middelentoetsing

Op 8 januari 2013 werden in de proef nog geen symptomen gezien. Een maand later op 10 februari 2012 waren er nog steeds geen zieke Buxusplanten. In april 2013 werden de Buxusplanten uit de kas gehaald en naar een containerveld overgeplaatst. Er waren geen zieke Buxusplanten te zien.

Behnr	Omschrijving	ziektepercentage
1	Onbehandelde controle niet besmet	0
2	Onbehandelde controle wel besmet	0
3	Fenomenal	0
4	Ridomil	0
5	code	0
6	KF 0.1%	0
7	KF 0.5%	0
8	KF 1%	0

Tabel 6. Ziektepercentage, 4 maanden na inoculatie.

De besmetting van de planten is niet gelukt via de wortels. Het zou kunnen dat de gebruikte inoculatiemethode niet geschikt is voor deze Phytophthora. Mogelijk dat infectie van Buxus vooral optreedt via zoosporen. Voor een vervolproef wordt aanbevolen om de stambasis van de te besmetten planten aan te gieten met een zoosporensuspensie. De middelen konden in deze proef dus niet worden getoetst op hun werking tegen de nieuwe Phytophthorasoort in Buxus.

5.4 Beheersstrategie stambasisrot

Op basis van de ervaringen en bevindingen uit dit project is een praktijkadvies gemaakt om stambasisrot in de teelt van Buxus zoveel mogelijk te voorkomen.

Belangrijkste teeltmaatregel is een goede bedrijfshygiëne.

- Neem van aangetaste of verdachte planten geen nieuw stek.
- Zorg voor schoon uitgangsmateriaal, laat dit eventueel vooraf testen.
- Goede drainage van de grond en containerveld is erg belangrijk
- Verwijder zo spoedig mogelijk aangetaste planten in een plastic zak. Phytophthora is een bodembewoner en kan in de grond en in potgrond lange tijd overleven. Phytophthora kan zich verspreiden via zwerm sporen, die met het water worden meegevoerd. Buxusteelt in containers loopt een risico via recirculerend gietwater. Phytophthora-sporen kunnen zich gemakkelijk verspreiden via het recirculatiewater. In de vollegrond kan Phytophthora zich via plasvorming en slechte drainage snel verspreiden naar buurplanten.
- Ontsmetten van het gietwater is praktisch lastig uitvoerbaar, het water kan wel worden getest op aanwezigheid van Phytophthora met de 'Bait-methode'. Hiermee kan een indruk worden verkregen van de ziektedruk op het bedrijf.
- Na aantasting moet de teeltvloer goed worden ontsmet en schoongemaakt om de kans op het achterblijven van de schimmel in planten- en grondresten zo klein mogelijk te maken. Van Phytophthora is bekend dat zijn rustsporen een overlevingsmethode is als de omstandigheden ongunstig zijn. Deze rustsporen zijn moeilijk te bestrijden. Na problemen in een Buxusteelt in de vollegrond is het niet verstandig om in het volgende jaar of jaren op dezelfde plaats weer Buxus- te telen.
- Bedenk dat het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen de aanwezigheid van Phytophthora kunnen maskeren. Als de werkingsduur is verlopen dan kan Phytophthora de kop weer opsteken. Daarom is het verstandig om verdachte planten te verwijderen in plaats van te behandelen. Op termijn zal de ziektedruk op het bedrijf afnemen en navenant het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen.

6 Conclusies

- In het Buxusperceel zijn in 2012 zeven bespuitingen tegen *Cylindrocladium buxicola* uitgevoerd. De aantasting in het demoveld was gedurende bijna het gehele seizoen heel laag.
- Deelnemers aan de emaildienst Cylbux waren tevreden. Het heeft goed gewerkt als ondersteuning bij het maken van een spuitbeslissing.
- Een speciale spuitboom die de spuitvloeistof van onderaf in het centrum van de Buxusplant brengt is belangrijk voor een effectieve bestrijding van *Cylindrocladium*.
- Uit de demo bleek dat zwavel mogelijk een vervanger kan zijn van maneb. Een effect van Squall werd in deze demo niet gevonden. Opgemerkt moet worden dat de testperiode kort was en dat het een demo was en geen middelenonderzoek.
- Uit dit onderzoek is naar voren gekomen dat de nieuwe ziekte stambasisrot in Buxus wordt veroorzaakt door een nieuwe *Phytophthora*soort. Deze nieuwe soort behoort taxonomisch tot de *P. citricola*-groep. Deze nieuwe soort wordt door de NVWA op naam gebracht en krijgt een nieuwe naam.
- Gebleken is dat de 'bait'-methode bruikbaar kan zijn voor de praktijk om een perceel te laten testen op aanwezigheid van *Phytophthora*. Er is meer onderzoek nodig om de methode praktijkrijp te maken.
- Een doe-het-zelf kit, waarvan de werking is gebaseerd op een serologische toets, bleek goed te voldoen om zieke Buxusplanten te testen op aanwezigheid van *Phytophthora*.
- De middelentoets heeft geen resultaten gegeven, waarschijnlijk door een verkeerde inoculatiemethode. Mogelijk dat infectie van Buxus vooral optreedt via zwermsporen.
- Op basis van de ervaringen en bevindingen uit dit project is een voorlopig praktijkadvies gemaakt om stambasisrot in de teelt van Buxus zoveel mogelijk te voorkomen. Belangrijkste teeltmaatregel is een goede bedrijfshygiëne.

7 Aanbevelingen

Vervanging maneb door zwavel. Aanbevolen wordt om de proef te herhalen in voldoende herhalingen en meer behandelingen. Met de juiste proefopzet kan dan worden getoetst of zwavel inderdaad een goede vervanger van maneb is en dat toevoeging van squall inderdaad een meerwaarde heeft.

Als aanbeveling werd gegeven dat het meerwaarde zou hebben als het model CylBux een prognoselijst kan aangeven aan de hand van de weersvoorspelling. Vooruit kijken is belangrijk voor de spuitplanning. Verder zou een integratie van de advisering van het spuitmoment (Gewis) met de ontwikkeling van *Cylindrocladium* nuttig zijn. Dit zal in een vervolgstadium van het systeem kunnen worden uitgewerkt.

Ervaringen uit dit project laten zien dat er instrumenten zijn om inzicht te krijgen van de ziektedruk van *Phytophthora* op het bedrijf. Aanbevolen wordt om de 'Bait'-methode in de praktijk te gaan gebruiken om het beregeningswater en/ of slootwater te controleren op aanwezigheid en ziektedruk van *Phytophthora*. Als telers een inschatting kunnen maken van de ziektedruk op hun bedrijf, dan kan men op tijd de juiste maatregelen treffen. De kans op grootschalige uitval van Buxus door *Phytophthora* wordt daarmee sterk verkleind. De begeleidingscommissie heeft aangegeven dat verder onderzoek wenselijk is om deze methode voor de praktijk geschikt te maken. Ook voor andere teelten die gevoelig zijn voor *Phytophthora*soorten die in de bodem overleven, kan deze bemonsteringstechniek op aanwezigheid van *Phytophthora* telers helpen om te beslissen welke acties ondernomen moeten worden voor het betreffende perceel.

Voor een juiste diagnose van *Phytophthora* in Buxus kan gebruik worden gemaakt van een doe-het-zelf-kit. Hiermee kan snel en betrouwbaar bepaald worden of *Phytophthora* aanwezig is in ziek plantmateriaal. Voor een eventuele soortbepaling kunnen zieke planten het beste worden gestuurd naar een diagnostisch laboratorium, bv. DiagnostiekService.nl. Aanbevolen wordt om deze doe-het-zelf-kit standaard te gebruiken bij twijfel naar de oorzaak van een zieke plant met stambasisrot.

Voor een vervolgprouf om de werking van middelen tegen de nieuwe *Phytophthora*soort in Buxus te toetsen, wordt aanbevolen om de stambasis van de te besmetten planten aan te gieten met een zwermosporensuspensie.

Buxus stond altijd bekend als een sterk en gezond gewas. De laatste jaren heeft Buxus imagoschade opgelopen door de uitbraak van de relatief nieuwe ziekte *Cylindrocladium buxicola*. Ook de recente uitbraak van stambasisrot veroorzaakt door een nieuwe *Phytophthora*soort en de komst van een nieuw plaaginsect het Buxusmotje (*Glyphodes perspectalis*) doet het imago van Buxus niet goed.

Voor een 'groot' gewas als Buxus zou daarom een Masterplan Buxus een oplossing kunnen zijn om het imago weer te verbeteren.

Een integrale aanpak rond de gezondheid van de Buxusplant zou centraal moeten staan. Dit project en voorgaande projecten laten zien dat voor problemen op het gebied van ziekten, plagen, altijd wel oplossingen kunnen worden gevonden. Naast aandacht voor ziekten en plagen moet minstens zoveel aandacht worden besteed aan bodem en bemesting, water en sortiment. Samenwerking in de keten is de beste garantie voor succes. Partijen die een rol zouden kunnen hebben in het Masterplan Buxus zijn: Buxustelers, adviseurs, onderzoek, toeleveranciers van o.a. gewasbeschermingsmiddelen en bemesting, afnemers o.a. tuincentra, hoveniers, bouwmarkten.

Bijlage 1.

Demo middelen beschikbaar voor *Cylindrocladium*-bestrijding 2012

N.B. Restricties op etiket

Switch:	max 3 toepassingen per teeltseizoen; in overige boomkwekerijgewassen (anders dan spullen en opzetters) uitsluitend toegestaan indien gebruik wordt gemaakt van 75 % driftreducerende doppen;
Mirage Plus:	max 4 toepassingen per teeltseizoen; dosering: 0,35 % (0,35 liter middel per 100 l water, maximaal 400 liter water per ha toepassen).
Spirit:	max 4 toepassingen per teeltseizoen; dosering: 0,35 % (0,35 liter middel per 100 l water, maximaal 400 liter water per ha toepassen); om in het water levende organismen te beschermen is de toepassing in percelen die grenzen aan oppervlaktewater uitsluitend toegestaan indien gebruik wordt gemaakt van 50% driftreducerende doppen in combinatie met luchtondersteuning of van 90% driftreducerende doppen zonder luchtondersteuning of van een overkapte beddenspuit.
Daconil:	max 5 toepassingen per teeltseizoen. Dosering: 0,3% (300 ml per 100 liter water). In de teelt van boomkwekerijgewassen (laag) en vaste planten, waarbij voor de toepassing in de vollegrond geldt dat deze uitsluitend is toegestaan indien het middel in een maximale dosering van 2,2 L/ha (lage boomkwekerijgewassen en vaste planten) wordt verspoten.
Flint:	Maximaal 3 bespuitingen met Flint per teelt. Maximaal 33% van de bespuitingen indien gespoten als solo product of maximaal 50% van de bespuitingen indien gespoten in combinatie met een ander fungicide (niet strobilurine).
Ortiva:	Gebruik minimaal 0,6 liter Ortiva per ha. Bij een hoge infectiedruk verdient het de aanbeveling 1 liter per ha te gebruiken. Maximaal 4 toepassingen per teelt uitvoeren. Toegestaan mits gebruik wordt gemaakt van 75% driftreducerende doppen.
Captosan:	geen
Vondac DG:	geen

Bijlage 2 Buxus datasheet

Bron: Buxus datasheet was developed by USDA-APHIS-PPQ-CPHST and NCSU-Department of Plant Pathology, Mountain Horticultural Crops Research and Extension Center (MHCREC) staff.

The 'box blight' pathogen: *Cylindrocladium pseudonaviculatum* = *Cylindrocladium buxicola* (Teleo. *Calonectria pseudonaviculata*) Scientific Name *Cylindrocladium pseudonaviculatum* Crous, J.Z. Groenew. & C.F. Hill 2002

Synonym*: *Cylindrocladium buxicola* Henricot 2002 Teleomorph: *Calonectria pseudonaviculata* Lombard, M. J. Wingf. & Crous 2010

*Although most literature refers to this species as *Cylindrocladium buxicola*, the name given to this fungus in the UK where the disease was first observed in the mid 1990s, this pathogen was not formally reported in the literature until 2002, when Crous et al. (2002) published its identity as *Cylindrocladium pseudonaviculatum* after it also became established in New Zealand. Molecular evidence places this species in the teleomorph genus *Calonectria* (Lombard et al., 2010), however, *Calonectria* has never been observed in the field causing disease.

Common Name(s)

Box blight, *Cylindrocladium* boxwood blight, blight disease of boxwood, Boxwood leaf drop

Type of Pest Pathogen (fungus)

Taxonomic Position

Kingdom: Fungi, **Phylum:** Ascomycota, **Class:** Sordariomycetes, **Order:** Hypocreales, **Family:** Nectriaceae

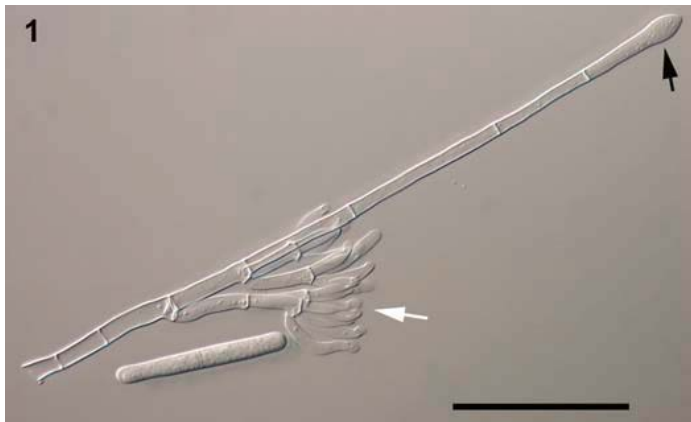


Figure 1. Asexual structures of *Cylindrocladium pseudonaviculatum*. Black arrow at apex of sterile vesicle on the stipe. White arrow at conidiogenous cells. Bar = 50µm (Joseph Bischoff, USDA-NIS).

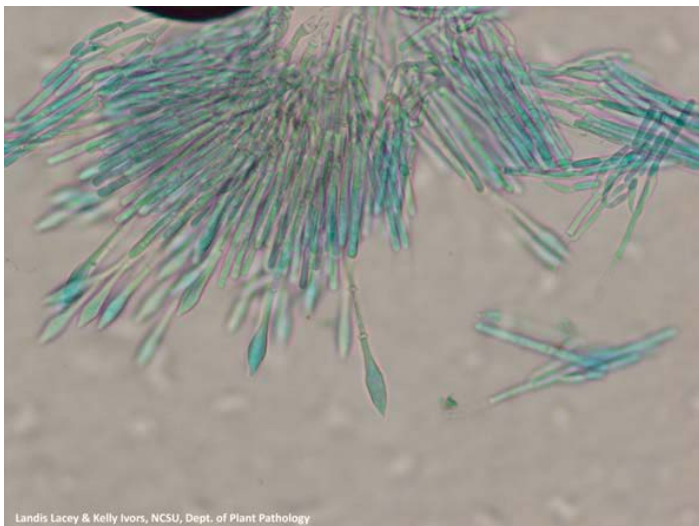


Figure 2. Vesicles of *Cy. pseudonaviculatum* (Landis Lacey and Kelly Ivors, NCSU Department of Plant Pathology)

Pest Description

Anamorph stage—the only stage found infecting host tissue. Description taken from Henricot and Culham (2002): Perithecia of *Cylindrocladium* have not been found. Macroconidiophores are comprised of a penicillate arrangement of fertile branches, the conidiogenous phialide, a stipe, a sterile elongation, and a vesicle (Fig. 1). The stipe is septate ranging in length from 95 to 155 μm long, hyaline, terminating in a lanceolate or broadly ellipsoidal vesicle with a pointed or papillate apex. The vesicle is typically 6.5–11 μm in diameter (Fig. 2). In the vast majority (97%, 168/174) of vesicles measured, the widest part was above the midsection. Primary phialide branches are uni-septate or aseptate, (5–) 15–41 (–66) \times 3–5 μm , with secondary phialide branches aseptate (11–) 13–25 (–35) \times 3–5 μm , tertiary phialide branches are rare, each terminal branch produces 2–5 reniform, hyaline, non-septate phialides; phialides. Conidia are cylindrical, rounded at both ends, straight, hyaline, 42–68 \times 4–6 μm , uni-septate held in cylindrical clusters by a clear slime-like matrix (Fig 3). Microconidiophores have not been observed. When present, Chlamydospores are dark, brown, thickened, and formed in moderate numbers on carnation leaves, not on agar, aggregated to form microsclerotia common to the genus (Henricot and Culham, 2002). Although observed on carnation leaves in culture, neither chlamydospores nor microsclerotia have ever been observed in host tissue; the occurrence and role of these structures in the disease cycle is unknown at present (B. Henricot, personal communication, October 28, 2011).

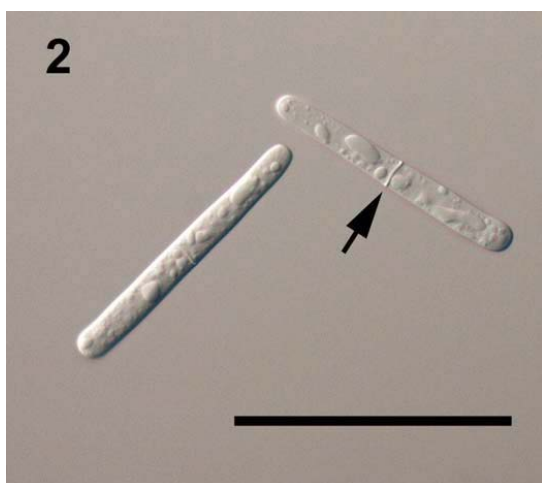


Figure 3. Hyaline conidia of *Cy. pseudonaviculatum*. Conidia are rounded at both ends with one septum. Black arrow at septum. Bar = 50 μm (Joseph Bischoff, USDANIS).



Figure 4. Sporodochia of *Cy. pseudonaviculatum* on plant tissue as well as stem streaks (Landis Lacey and Kelly Ivors, NCSU Department of Plant Pathology)

Cultural characteristics: Colony color (reverse) on Malt Extract Agar at 25°C (77°F) after 7 days is fuscous black at the middle which fades to sienna with a halo of pale luteous (Rayner, 1970). The growing mycelium at the margin is white. Minimum temperature of observed growth is above 5°C (41°F); with a temperature maximum below 30°C (86°F). The optimum temperature for growth is 25°C (77°F). This appears to be a low temperature species, with *Cy. pseudonaviculatum*=*Cy. buxicola* killed after 7 d at 33°C [91.4°F] (Henricot and Culham, 2002).

Biology and Ecology

This pathogen has a rapid disease cycle that can be completed in one week (Henricot et al., 2008). Infection can occur very quickly in warm (18–25°C, 64.4–77°F), humid conditions (Henricot, 2006). Fungus growth can occur at low temperatures (<10°C, 50°F) with pathogen death occurring at 33°C or above (91.4°F) (Henricot, 2006). High humidity levels or free water are needed in order for infection to be successful (Henricot et al., 2000). Germination of spores occurs 3 hours after inoculation, with penetration occurring in as little as 5 hours (Henricot, 2006). Hyphae can penetrate plant cuticles without appressorium formation (Henricot et al., 2008) and may enter through leaf stomata (Henricot, 2006). Fungal growth can occur intercellularly in the plant mesophyll (Henricot, 2006). Conidia borne on conidiophores cover the underside of the leaf after 7 days (Henricot, 2006; Saracchi et al., 2008).

Cy. pseudonaviculatum survives as mycelium on fallen leaves and will produce spores when environmental conditions become suitable (RHS, 2011). *Cy. Pseudonaviculatum* can survive at least 5 years on decomposing fallen leaves of *Buxus sempervirens* 'Suffruticosa' (Henricot et al., 2008). The entire foliage typically becomes blighted, causing the leaves to turn 'straw' to light brown in color. These leaves will defoliate, making the plant unsalable. Often the stems of blighted boxwoods will remain green under the outer bark until a secondary invader or opportunistic pathogen attacks this tissue, eventually killing the entire plant. That's why *Cy. pseudonaviculatum* is often associated with the secondary pathogen *Volutella buxi* (teleomorph *Pseudonectria rousseleana*), known to cause Volutella blight (Henricot et al., 2000). *V. buxi* is associated with plant wounds, whereas *Cy. pseudonaviculatum* does not need a wound to infect, but can penetrate directly through the cuticle (Henricot et al., 2000; Henricot et al., 2008) *Cy. pseudonaviculatum* is considered the more damaging of the two as it also infects young stems, causing dieback. Both can also occur independently (Henricot et al., 2000). Isolates can be grown on either potato-carrot agar (PCA) or carnation leaf agar (Henricot et al., 2008). On carnation leaf agar, sporulation will occur around 7-10 days after incubation at 25°C (77°F) under nearultraviolet light (Henricot et al., 2008). The minimum temperature for growth is approximately 5°C (41°F) and maximum is 30°C (86°F); the optimal temperature for growth is 25°C (77°F) (Henricot and Culham, 2002).



Figure 5. Leaf spots caused by *Cylindrocladium* blight of box (RHS)

Symptoms/Signs

Symptoms caused by this species include dark or light brown spots on leaves with dark borders (often in a circular pattern) (Fig. 5), black streaks on stems (Fig. 4), straw to bronze colored blighted foliage, and defoliation (Henricot and Culham, 2002, Henricot, 2006). In some cases, blighting and defoliation can occur suddenly (Saracchi et al., 2008) with complete leaf loss in severe cases (Henricot et al., 2000).



Figure 6. Infected prop bed (Landis Lacey and Kelly Ivors, NCSU Department of Plant Pathology)



Figure 7. *Buxus* spp. infected with *Cy. pseudonaviculatum* with healthy root system (Landis Lacey and Kelly Ivors, NCSU Department of Plant Pathology)

Disease spreads rapidly throughout infected plants when conditions are warm and humid, and in shady areas (Henricot et al., 2008). Unfortunately, most boxwood cuttings are initially rooted and propagated in humidity chambers or tents, and young boxwood liners are purposely grown under shady conditions (Fig. 6). These production conditions are also conducive to the pathogen; therefore young boxwoods are more at risk to infection. Infected leaves can be aggregated in expanded patches. Infected leaf tissue will eventually expand to the petiole and shoot of the leaf (Saracchi et al., 2008). Leaf spots can coalesce, covering the entire leaf surface. Infected shoots can have multiple dark brown or black lesions, either linear or diamond in shape. The black streaks found on stems progress from the bottom of the plant up (Henricot et al., 2000). New young shoots continue to develop on healthy twigs (Saracchi et al., 2008). The fungus has not been recovered on the root system (Henricot, 2006), and often the root systems remain healthy and intact (Fig 7).

Sporulation of the pathogen can be seen on the underside of the infected leaves (Henricot, 2006; Saracchi et al., 2008). Under high humidity, white fuzzy spore masses (called sporodochia) containing large numbers of conidia are sometimes visible to the naked eye or with a hand lens on infected stem and leaf tissue (Fig 8).

Pest Importance

This species was discovered in the United Kingdom during the mid-1990s causing a blight disease on boxwood (*Buxus* spp.) (Henricot and Culham, 2002). An outbreak of the disease occurred in the United Kingdom in 1998 (Henricot et al., 2000) and is now considered widespread there (EPPO, 2004). The disease can seriously impact the appearance and aesthetics of the host plants (EPPO, 2004) and can also kill plants, especially young seedlings (Henricot, 2006). This fungus could have an impact on nurseries, parks, and gardens as the hosts are used widely as ornamental species (EPPO, 2008).

Buxus spp. are not native to the United States, but were brought in as an ornamental plant (Batdorf, 1995). In general, *Buxus* spp. are used in the United States as ornamentals in landscapes (Bir et al., n.d.; Batdorf, 1995); boxwood tips and branches are also commonly used in Christmas holiday adornments such as wreaths, garlands, and floral arrangements. Infection by the fungus causes unsightly symptoms including



leaf spots, stem streaks, lesions, straw-colored blighted foliage, and defoliation, which can be severe (Henricot et al., 2000; Saracchi et al., 2008).

This disease could lead to negative impacts on the nursery industry as infested plants become unsalable due to symptoms. *Buxus* spp. are produced in two main areas within the United States, the first being the West Coast of Washington, Oregon, and north central California, and the second being the East from Maryland to South Carolina and west to Tennessee (Bir et al., n.d.).

Figure 8. (Image courtesy of Landis Lacey and Kelly Ivors, NCSU Department of Plant Pathology)

This disease could also lead to negative impacts on tourism for attractions that use *Buxus* spp. There are many gardens throughout the United States that have boxwoods displayed prominently, several of which are part of historic sites and buildings (Batdorf, 1995). Although this species is no longer listed on the EPPO Alert List, some countries have taken harsh actions when this pathogen has been found. Austria immediately destroys all infected *Buxus* spp. every time *Cy. pseudonaviculatum* is detected (EPPO, 2009; EPPO, 2010). In 2010, Austria prevented export of plants from companies that had been linked to an outbreak of the disease (EPPO, 2010). Based on recent export data, an introduction of this pathogen would have some impact on international trade as over 400,000 plants were exported in the past 3 years, most of which were sent to Canada (L. Campbell, personal communication, October 26-27, 2011).

Known Hosts

Cy. pseudonaviculatum has only been observed on leaves and shoots of *Buxus* spp. under natural conditions. The full host range of this species is not currently known (RHS, 2011) but there appears to be no published evidence of resistance to this fungus in any of the commercial boxwood species available. Some varieties of boxwoods are more susceptible than others, possibly due to physical features of the plant, such as water retaining foliage. *Buxus semperviens* 'Suffruticosa' ('English' boxwood) appears to be especially susceptible to *Cy. pseudonaviculatum* (EPPO, 2004; Henricot et al., 2008), although *Buxus semperviens* ('common' or 'American' boxwood) is also quite susceptible.

Pathogenicity assays conducted in the laboratory determined that a *Sarcococca* species, another member in the family Buxaceae, is also susceptible to this fungus (Henricot et al., 2008), however this plant has never been found with infections under natural field conditions. It is unknown whether other members of the family Buxaceae, such as *Pachysandra*, are also susceptible.

Buxaceae - *Buxus colchica*, *Buxus microphylla* (littleleaf boxwood), *Buxus microphylla* var. *japonica* (Japanese boxwood), *Buxus sempervirens* (common or American boxwood), *Buxus sempervirens* 'Suffruticosa' (English boxwood), *Buxus sinica* (Korean boxwood), and *Buxus sinica* var. *insularis* (Korean boxwood) (Henricot and Culham, 2002; Henricot et al., 2008; Gorgiladze et al., 2011; RHS, 2011).

Experimental hosts Buxaceae - *Buxus balearica*, *Buxus bodinieri*, *Buxus glomerata*, *Buxus harlandii* (Harland's box), *Buxus macowanii* (Cape box), *Buxus riparia*, and *Sarcococca* sp. (Henricot et al., 2008). *Buxus balearica* was the most resistant to infection. This could be due to the very thick, leathery texture of the leaves of this particular species (Henricot et al., 2008). Henricot et al. (2008) states that this pathogen can infect several cultivars of the three main boxwood species, *Buxus microphylla* (littleleaf boxwood), *Buxus sempervirens* (common, American and English boxwood), and *Buxus sinica* var. *insularis* (Korean boxwood).

Known Vectors (or associated insects)

Spores of this fungus are contained in a gelatinous matrix and may be moved by insects, birds (Henricot, 2006), or contaminated tools.

Known Distribution

The disease caused by this pathogen was first observed in the United Kingdom in the mid-1990s and was widespread by 1998 (Henricot and Culham, 2002). It was most likely introduced into New Zealand (Henricot and Culham, 2002) where it was first reported in 1998 (Riley, 1998). The origin of this species is unknown (Henricot, 2006; RHS, 2011) but it is believed to have been introduced into the United Kingdom before being introduced into New Zealand (EPPO, 2008). Although some information available online indicates that the pathogen is endemic to Central America, the Caribbean, and Mexico, these claims have not been substantiated by scientific research. The original origin of *Cy. pseudonaviculatum* is unknown at present.

Europe: Belgium, Croatia, France, Georgia, Germany, Ireland, Italy, the Netherlands, Slovenia, Spain, Switzerland, United Kingdom; **Oceania:** New Zealand (Henricot and Culham, 2002; Crepel and Ingelbrecht, 2003; Brand, 2005; CABI, 2007; Henricot et al., 2008; Saracchi et al., 2008; Vincent, 2008; Benko Beloglavec et al., 2009; Varela et al., 2009; Cech et al., 2010; Gorgiladze et al., 2011). This species has been detected several times in Austria, but the population of the fungus is considered local and under eradication (EPPO, 2010).

Potential Distribution within the United States

Buxus spp. (boxwoods) are not native to the United States (USDA-NRCS, 2011), but are widely cultivated as ornamentals. In the United States, there are two major production areas for *Buxus* spp., the first being the West Coast of Washington, Oregon, and north central California, and the second being the East from Maryland to South Carolina and west to Tennessee (Bir et al., n.d.). The three main species grown as ornamentals in the United States are *Buxus sempervirens*, *Buxus microphylla*, and *Buxus sinica* var. *insularis* (Bir et al., n.d.), all of which are known to be hosts for *Cy. pseudonaviculatum*. Known hosts of this fungus can be found from USDA Zone 10 (*Buxus balearica*) to USDA Zone 4 (*Buxus sinica* var. *insularis*) (Batdorf, 1995). This fungus can grow successfully at low temperatures (<10°C, 50°F) and will be limited at higher temperatures (Henricot, 2006).

Buxus sempervirens (common or American boxwood) and *Buxus sempervirens* 'Suffruticosa' (English boxwood) are the most susceptible and are also the most widely grown in North Carolina and throughout the United States, especially in the Northwest region of North Carolina where this pathogen was recently found (K. Ivors, personal communication, October 26, 2011).

If this pest becomes established in the United States, it could be further dispersed through natural spread (rain splash, movement of spores in flood/irrigation water) (RHS, 2011), as well as animal vectors, contaminated tools and equipment, or through movement of contaminated asymptomatic nursery stock (Henricot et al., 2008; Saracchi et al., 2008).

Pathway

Cy. pseudonaviculatum has not been intercepted on imported commodities by U. S. agriculture inspectors; however the genera *Calonectria* and *Cylindrocladium* have each been intercepted 7 times. All instances were on plant materials (AQAS, 2011; queried October 24, 2011). Buxaceae is not a regulated family for nursery stock, but one species, *Buxus vahlii*, is a regulated propagative material (USDA, 2011). The United States does import a small amount of *Buxus* spp. from the Netherlands, which is known to have the disease (C. Katsur, personal communication, October 27, 2011). This disease has likely spread throughout Europe via the movement of infected nursery stock. In Italy, infected plants were originally imported from Belgium as symptomless cuttings (Saracchi et al., 2008). Short distance dispersal can occur through water (splash dispersal), contaminated tools, and possibly birds and other animals as spores are sticky (Henricot, 2006; RHS, 2011). Spores are unlikely to travel long distances by wind (RHS, 2011). Human activities, such as pruning, may also spread the fungus.

Control

Methods for control have not been studied in detail for this specific fungus. Pruning of infected twigs and/or removal and destruction of fallen leaves and topsoil may help reduce inoculum of *Cy. pseudonaviculatum* (EPPO, 2004; Henricot et al., 2008). Sanitation of pruning equipment may be helpful in preventing spread of the disease. Control of water and humidity levels may also be useful in controlling this fungus. Badly infected plants should be removed and destroyed. RHS (2011) states that alternative ornamentals outside of the *Buxus* family may be used in place of susceptible hosts to prevent infection by the disease. In general, *Cylindrocladium* diseases are very difficult to control with fungicides. Henricot et al. (2008) looked at the effect of 13 ornamental fungicides on *Cy. pseudonaviculatum*. None killed the fungus, although some did inhibit spore germination and mycelium growth. However, the active ingredient fludioxonil was not tested because of its inavailability to the ornamental industry in the UK. Studies conducted on other ornamental hosts in the U.S. have shown that fludioxonil is one of the most effective chemicals against other *Cylindrocladium* species (Haralson et al., 2007). Fungicides should be applied on both sides of the leaves to prevent both germination and penetration of the fungus (Henricot et al., 2008). Due to the tight nature of boxwood foliage, it may be difficult to get good coverage within the plant canopy. RHS (2011) suggest holding commercially sourced plants in quarantine for at least three weeks before planting since it may take up to three weeks for the fungicide application to wear off, allowing better detection of the pathogen. *Volutella buxi* is currently present in the United States (Batdorf, 1995) and methods to help control this pathogen may be helpful in controlling *Cy. pseudonaviculatum*.

Survey

Visual survey: A visual survey should be completed to look for symptomatic plant tissue.

Survey Site Selection

It may be useful to visually survey host species that are known to be particularly susceptible to this fungus, like *Buxus semperviens* 'Suffruticosa', which is hardy to USDA Zone 5 (Batdorf, 1995). Surveys should occur wherever host plants are abundant. As the hosts are ornamentals, surveys could occur in large scale container and field nurseries, gardens, parks, or residential areas. As this fungus may move through international trade (through ornamental plants for planting), nurseries are a logical survey site. It is unknown whether other members of the family Buxaceae, such as *Pachysandra*, are also susceptible so any suspicious samples from these plants should be collected as well.

Sampling

Submit adequate amounts of suspect leaf and stem material when possible. This helps ensure that there is sufficient material if downstream diagnostic techniques are required. Twelve or more leaves per sample are desired.

Storing

Refrigerate samples while awaiting shipment to the diagnostic laboratory. Place leaves without paper towel in a sealed and labeled ziplock bag.

Key Diagnostics/Identification

Cylindrocladium spp. are morphologically differentiated mainly by the shape of the vesicle and characteristics of the conidia (Crous and Wingfield, 1994), but misidentifications can occur, mainly due to cultural conditions that may influence these characters (Crous et al., 1992; Henricot and Culham, 2002). Unfortunately, molecular diagnostic techniques have not yet been developed for rapid detection of this pathogen. In the UK, the disease is mainly confirmed through morphological examination of the fungal spores and isolation of the pathogen *in vitro*. In order to correctly identify *Cy. pseudonaviculatum* as a new species, Henricot and Culham (2002) used a variety of methods including morphological characteristics, sequencing the ribosomal 5.8S RNA gene and the flanking internal transcribed spacers (ITS), the β -tubulin gene, and the high mobility group (HGM) of the *MAT2* mating type gene. Isolation: Henricot and Culham (2002) incubated diseased leaf and stem pieces of *Buxus* spp. in damp chambers at 20°C (68°F) to induce sporulation. "Isolates were single spored and subcultured weekly on potato carrot agar (PCA) (carrot 20g/L, potato 20g/L, agar-agar 20g/L, ampicillin 30 mg/L, streptomycin 133 mg/L)" (Henricot and Culham 2002). To determine morphology "Single spores of 14 isolates were plated onto carnation-leaf agar (CLA) (Fisher et al 1982, Crous et al 1992) and incubated at 25°C [77°F] under near-ultraviolet light. The plates were examined after 7 d or until sporulation occurred (no later than 9 d) and only conidiophores on the carnation leaves were examined. For each isolate, mounts were prepared in lactic acid with aniline blue (0.2 g/100 mL), and measurements of at least 30 conidia, vesicles, stipes, branches and phialides were made at 1000x magnification with an optical microscope (Zeiss)" (Henricot and Culham, 2002).

Easily Confused Pests

This species was initially misidentified as *Cylindrocladium scoparium* in the United Kingdom (Henricot and Culham, 2002). *Cy. scoparium* is the most misidentified species in the genus most likely due to variability in morphological characteristics used in identification (Polizzi and Crous 1999, Schoch et al 1999). *Cy. pseudonaviculatum* can be differentiated from *Cy. scoparium* as it has "one-septate conidia and ellipsoidal vesicles with pointed or papillate apices"; *Cy. scoparium* tend toward globose to obpyroid vesicles and lacks the pointed, lanceolate vesicles (Henricot and Culham, 2002). In New Zealand, this species was initially misidentified as *Cylindrocladium spathulatum* (Ridley, 1998).



Cy. pseudonaviculatum can occur with another species *Volutella buxi* (teleomorph *Pseudonectria rousseliana*) known to cause Volutella blight (Henricot et al., 2000). *V. buxi* produces pink to orange spore masses on infected tissues (Fig. 9); under the microscope it is fairly easy to distinguish these fungi apart. Care must be taken to rule out the presence of *Cy. Pseudonaviculatum* when *Volutella* is observed, as both pathogens may be present in the tissue.

Figure 9. Spores of *Volutella buxi* (Landis Lacey and Kelly Ivors, NCSU Department of Plant Pathology).

Other pathogens that affect *Buxus* spp. in the United States are *Phytophthora parasitica*, *Macrophoma candolleri* (Macrophoma leaf spot), and nematodes. *Phytophthora parasitica* can be found on all cultivars of *B. sempervirens* (American boxwood) and causes wilting and discoloring of the foliage. *Macrophoma candolleri* is considered a secondary invader and causes raised tiny black spots on the underside of leaves. Nematodes cause wilting, stunting, and yellowing of the foliage (Batdorf, 1995). All of these pathogens, as well as *Paecilomyces buxi* (= *Verticillium buxi*), may cause Boxwood decline. This complex is poorly understood, but can lead to poor plant growth, small leaves, and defoliation or dieback (Batdorf, 1995).

References

- AQAS. 2011.** Interception data on *Calonectria* and *Cylindrocladium* genera. All interceptions. Queried October 24, 2011.
- Batdorf, L. R. 1995.** Boxwood Handbook, A Practical Guide to Knowing and Growing Boxwood. American Boxwood Society. 99 pp.
- Benko Beloglavec, A., R. Ličen, G. Seljak, K. Šnajder Kosi, Z. Grando, M. Lešnik, and E. Pavlič Nikolič. 2009.** New pests detected on plants moved from member states of the European Union or during the production in Slovenia in 2008 [abstract]. Zbornik predavanj in referatov 9. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo. Nova Gorica, March 4-5, 2009.
- Bir, R. E., T. E. Bilderback, J. E. Baker, R. K. Jones. No date.** Commercial Boxwood Production. Leaflet no. 407, 2/97. Last accessed October 24, 2011, <http://www.ces.ncsu.edu/depts/hort/hil/hil-407.html>.
- CABI. 2007.** Distribution Maps of Plant Diseases. *Cylindrocladium buxicola* Henricot. Map No. 996, edition 1, issued April 2007. CABI and EPPO. 2 pp.
- Cech, T., D. Diminic, and K. Heungens. 2010.** *Cylindrocladium buxicola* causes common box blight in Croatia. Plant Pathology 59: 1169.
- Crepel, C. and S. Inghelbrecht. 2003.** First report of blight on *Buxus* spp. caused by *Cylindrocladium buxicola* in Belgium. Plant Disease 87(12): 1539.
- Crous, P. W., A. J. L. Phillips, and M. J. Wingfield. 1992.** Effects of cultural conditions on vesicle and conidium morphology in species of *Cylindrocladium* and *Cylindrocladiella*. Mycologia 84(4): 497-504.
- Crous, P. W. and M. J. Windfield. 1994.** A monograph of *Cylindrocladium*, including anamorphs of *Calonectria*. Mycotaxon 51: 341-435.
- EPPO. 2004.** EPPO Reporting Service. European and Mediterranean Plant Protection Organization 8: 2004/123.
- EPPO. 2008.** EPPO Alert List deletion, *Cylindrocladium buxicola*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. 2 pp.
- EPPO. 2009.** EPPO Reporting Service. European and Mediterranean Plant Protection Organization 1: 2009/009.
- EPPO. 2010.** EPPO Reporting Service. European and Mediterranean Plant Protection Organization 8: 2010/142-2010/143.
- Gorgiladze, L., G. Meparishvili, Z. Sikharulidze, K. Natsarishvili, and R. Davitadze. 2011.** First report of box blight caused by *Cylindrocladium buxicola* in Georgia. New Disease Reports 23: 24.
- Haralson, J. C., P. M. Brannen, and H. Scherm. 2007.** Evaluation of fungicides for the control of *Cylindrocladium* root rot in blueberry cuttings, 2007. Plant Disease Management Reports 2:SMF038.
- Henricot, B. 2006.** Box blight rampages onward. The Plantsman 5: 153-157.
- Henricot, B. and A. Culham. 2002.** *Cylindrocladium buxicola*, a new species affecting *Buxus* spp, and its phylogenetic status. Mycologia 94(6): 980-997.
- 12
- Henricot, B., A. Pérez Sierra, and C. Prior. 2000.** A new blight disease on *Buxus* in the UK caused by the fungus *Cylindrocladium*. Plant Pathology 49: 805.
- Henricot, B., C. Gorton, G. Denton, and J. Denton. 2008.** Studies on the control of *Cylindrocladium buxicola* using fungicides and host resistance. Plant Disease 92: 1273-1279.
- Lombard, L., P. W. Crous, B. D. Wingfield, and M. J. Wingfield. 2010.** Phylogeny and systematic of the genus *Calonectria*. Studies in Mycology 66: 31-69.
- Polizzi, G. and P. W. Crous. 1999.** Root and collar rot of milkwort caused by *Cylindrocladium pauciramosum*, a new record for Europe. European Journal of Plant Pathology 105: 407-411.
- Rayner, R. W. 1970.** A mycological colour chart. Kew, Surrey, UK: CMI and British Mycological Society.
- RHS. 2011.** Box blight. Royal Horticultural Society. Accessed October 21, 2011 from: <http://apps.rhs.org.uk/advicesearch/Profile.aspx?pid=96>.

Ridley. 1998. Requested through NAL 10/24/11.

Saracchi, M., R. Rocchi, C. Pizzatti, and P. Cortesi. 2008. Box blight, a new disease of *Buxus* in Italy caused by *Cylindrocladium buxicola*. *Journal of Plant Pathology* 90(3): 581-584.

Schoch, C. L., P. W. Cours, B. D. Wingfield, and M. J. Wingfield. 1999. The *Cylindrocladium candelabrum* Species Complex Includes Four Distinct Mating Populations. *Mycologia* 91(2): 286-298.

USDA-NRCS. 2011. The PLANTS Database. National Plant Data Team, Greensboro, NC 27401-4901 USA. Last accessed October 25, 2011, <http://plants.usda.gov>.

Varela, C. P., B. G. Penalta, J. P. M. Vázquez, and O. A. Casal. 2009. First report of *Cylindrocladium buxicola* on *Buxus sempervirens* in Spain. *Plant Disease* 93(6): 670.