

Literatuuroverzicht van *Ascochyta caulina*

Een pathogene schimmel met
mogelijkheden voor bestrijding van
Chenopodium album

C. Kempenaar & P.J.F.M. Horsten

ab-dlo

Inhoudsopgave

	pagina
Samenvatting	1
1. Inleiding	3
2. Taxonomie	4
3. Een perfect stadium?	5
4. Het geslacht <i>Ascochyta</i> Libert	6
5. Ziektebeeld	7
6. Waardplantenreeks	8
7. Levenscyclus	9
8. Pathogeen of saprofiet?	10
9. Infectieproces	11
10. Cuticula en epidermis van <i>Chenopodium album</i>	12
11. Infectieproces van verwante <i>Ascochyta</i> -soorten	13
12. Produceerbaarheid van inoculum	15
Literatuur	17
Bijlage I: <i>Chenopodium</i> - en <i>Atriplex</i> -soorten	1 p.

Samenvatting

In dit literatuuroverzicht wordt de kennis over de schimmel *Ascochyta caulina* op een rij gezet. Het doel hiervan is kennis verzamelen die relevant is voor inzicht in biologische bestrijding van *Chenopodium album*, waarop *Ascochyta caulina* voorkomt. Taxonomie, biologie en ecologie worden beschreven. Tot nog toe zijn er weinig publikaties verschenen over *Ascochyta caulina*. Daarom wordt regelmatig verwezen naar kennis over verwante *Ascochyta*-soorten. Dat geldt vooral bij de beschrijving van het pathosysteem.

1. Inleiding

Op de éénjarige plant *Chenopodium album* (melganzevoet) komt een schimmel voor die necrotische vlekken op bladeren en stengels kan veroorzaken. In de necrotische vlekken worden soms donkere bolvormige vruchtlichamen gevormd. Nader bekeken blijken deze vruchtlichamen pycniden te zijn. Uit de necrotische vlekken kan de schimmel *Ascochyta caulina* geïsoleerd worden, zoals bijvoorbeeld in 1977 op het Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO-DLO) gebeurd is (Franken, 1978).

Gezien het geringe aantal publikaties over *Ascochyta caulina*, mag geconcludeerd worden dat de schimmel tot nog toe een vrij onopvallend bestaan geleden heeft en geen of nauwelijks problemen bij cultuurgewassen veroorzaakt heeft. *Ascochyta caulina* wordt overigens wel in verband gebracht met een ziektebeeld bij suikerbiet en spinazie (Boerema et al., 1985). Bij kiemplanten van deze cultuurgewassen zou deze schimmel wortelbrand kunnen veroorzaken. De publikatie vermeldt niet of dit ziektebeeld ook daadwerkelijk in de praktijk optreedt. *Phoma betae* wordt over het algemeen gezien als de primaire veroorzaker van wortelbrand bij suikerbiet en spinazie.

Anno 1991 krijgt *Ascochyta caulina* enige aandacht. De schimmel heeft volgens een onderzoeksgroep op het CABO-DLO (Scheepens & Frantzen, 1990) perspectief als biologisch onkruidbestrijdingsmiddel voor *Chenopodium album*. Dit staat in contrast met de conclusie uit een Duits onderzoek (Eggers & Thun, 1988) dat in 1987 uitgevoerd is. De Duitse onderzoekers concludeerden dat *Ascochyta caulina* weinig perspectief biedt onder Westeuropese klimatologische omstandigheden. Volgens de Nederlandse onderzoeksgroep is deze conclusie voorbarig. In het kader van het Meerjarenplan Gewasbescherming zal op het AB-DLO de mogelijkheid van *Ascochyta caulina* als bestrijdingsmiddel onderzocht worden. Beoordeeld zal worden of het concurrentievermogen van *Chenopodium album* in gewassen aanzienlijk verlaagd kan worden door een mycoherbicide-toepassing van *Ascochyta caulina*.

Het doel van dit literatuuroverzicht is: de kennis van *Ascochyta caulina* op een rij te zetten en deze kennis te gebruiken bij het genoemde onderzoek. Bij bepaalde onderwerpen zal de bestaande literatuur aangevuld worden met eigen waarnemingen die (nog) niet gepubliceerd zijn. Daar waar dat nodig is zal informatie gegeven worden over *Chenopodium album*. Ook zal regelmatig naar andere *Ascochyta*-soorten verwezen worden.

2. Taxonomie

Er is een groot aantal beschrijvingen van schimmels uit West-Europa die necrotische vlekken kunnen veroorzaken bij *Chenopodium album* en nauwverwante plantesoorten. De eerste beschrijving is gedaan door Karsten in 1884 met als vermelding een soortnaam *Chaetodiplodia caulina* Karst. (Karsten, 1884). Daarna zijn er vele beschrijvingen gevolgd. De beschrijvingen zijn in de zeventiger jaren bestudeerd door de Nederlandse schimmeltaxonomien Van der Aa en Van Kesteren (1979). Zij concludeerden dat er in West-Europa drie pycnide-vormende schimmelsoorten op *Chenopodium*- en *Atriplex*-soorten voorkomen, te weten:

Phoma heteromorphospora

Phoma dimorphospora

Ascochyta caulina

Aan de soort die over het algemeen tweecellige pycnidiosporen vormt, geven zij bij voorkeur de naam *Ascochyta caulina*. Tevens concludeerden zij dat er meer dan 20 synoniemen voor *Ascochyta caulina* zijn.

Internationaal is de naam *Ascochyta caulina* nog niet overgenomen. De schimmel voldoet namelijk op bepaalde punten niet aan de kenmerken van het geslacht *Ascochyta* Libert. Soms maakt *Ascochyta caulina* behaarde pycniden en licht-bruine pycnidiosporen met géén of meerdere septa. In dit literatuuroverzicht en in ons onderzoek gebruiken we de naam *Ascochyta caulina* (Karsten, 1884; Van der Aa & Van Kesteren, 1979).

De oorzaak voor het grote aantal synoniemen voor *Ascochyta caulina* is het feit dat er fenotypen van deze soort waargenomen zijn die morfologisch sterk verschillen. Volgens Van der Aa (persoonlijke mededeling) is het zelfs verwonderlijk dat een organisme dat morfologisch zo verschillend kan zijn, toch één en hetzelfde organisme is. Uit de literatuur (Menzies, 1966; Van der Aa & Van Kesteren, 1979) blijkt dat het fenotype beïnvloed wordt door het (plante)-substraat waarop de schimmel voorkomt en de groeiomstandigheden (jaargetijde-effect). Op grond van de afwezigheid van een geslachtelijk stadium, wordt *Ascochyta caulina* ingedeeld in de schimmelklasse der *Deuteromycetes* (*Fungi Imperfecti*). Op grond van de vorm van de ongeslachtelijke vruchtlichamen wordt *Ascochyta caulina* ingedeeld in de subklasse der *Coelomycetes* en orde der *Sphaeropsidales*. Het meest recente overzicht van de *Coelomycetes* wordt door Sutton (1980) gegeven. De vorm en afmetingen van pycniden en conidiën staan vermeld in twee publikaties (Menzies, 1966; Van der Aa & Van Kesteren, 1979).

3. Een perfect stadium?

Een geslachtelijk voortplantingsstadium van *Ascochyta caulina* is in Nederland (nog) niet waargenomen. Wel wordt door de Plantenziektenkundige Dienst (PD) verwezen naar een mogelijk geslachtelijk stadium, aangeduid met de soortnaam *Pleospora calvescens* (Anoniem, 1984; Boerema et al., 1985). Zij baseren dit op een Nieuwzeelandse en Engelse studie (Webster & Lucas, 1959; Menzies, 1966). Betekent het niet aantreffen van een geslachtelijk stadium dat dit stadium er inderdaad niet is (mogelijk komt in Nederland geen gunstige combinatie van substraat en groeiomstandigheden voor), of dat we niet weten waar we moeten zoeken?

In de Nieuwzeelandse studie werden o.a. ascosporen uit perithecia steriel overgebracht op voedingsmedia. Uit deze ascosporen werd een schimmelisolaat verkregen waarbij in de pycniden, conidiën werden gevormd. Wondinoculaties met deze conidiën gaven de karakteristieke necrotische vlekken op bladeren en stengels van *Chenopodium album*. De beschrijving van de vegetatieve schimmel in het Nieuwzeelandse proefschrift komt overeen met de waarnemingen aan onze *Ascochyta caulina*.

Door de groep Engelse onderzoekers (Webster & Lucas, 1959) wordt *P. calvescens* beschreven als zijnde een perithecia-vormende schimmel die voorkomt op planten uit de geslachten *Chenopodium* en *Atriplex*. Zij troffen geen vegetatief stadium van *P. calvescens* aan. Of *P. calvescens* de teleomorf (geslachtelijk stadium) van *Ascochyta caulina* is, kan uit de Engelse publikatie niet direct worden afgeleid. Het is echter niet onwaarschijnlijk. De Engelse beschrijvingen van de conidiën en de pycniden die gekweekt waren op haverhoutagar komen overeen met onze waarnemingen aan *Ascochyta caulina*.

4. Het geslacht *Ascochyta* Libert

Het geslacht *Ascochyta* werd voor de eerste maal in 1830 beschreven door Libert. Hij gebruikte *Ascochyta pisi* als voorbeeld voor dit geslacht. Aan het einde van de 19^e eeuw werd het door Saccardo ontworpen systeem voor classificatie van Fungi Imperfecti geaccepteerd. Het geslacht *Ascochyta* werd gereserveerd voor schimmels die ongeslachtelijke tweecellige hyaliene conidiën vormen, in pycniden op bladweefsel. De afgelopen anderhalve eeuw zijn op basis van deze eenvoudige classificatiekenmerken meer dan 1100 *Ascochyta*-soorten beschreven (Punithalingam, 1979). Een groot deel hiervan is waarschijnlijk foutief in het geslacht *Ascochyta* geplaatst. Andersom komt ook regelmatig voor dat *Ascochyta*-soorten in een verkeerd geslacht geplaatst zijn.

Een differentiatie criterium op basis van planteweefsel waarop schimmels voorkomen bleek onvoldoende te zijn. Zo komen *Ascochyta*-soorten bijvoorbeeld ook op stengels voor. In de afgelopen dertig jaar is, onder andere door de PD, het Centraal Bureau voor Schimmelcultures (CBS) en het Commonwealth Mycological Institute (CMI), getracht orde aan te brengen in de taxonomie van de pycnide-vormende schimmels (Van der Aa & Van Kesteren, 1979; Punithalingam, 1979).

Dit heeft geleid tot nieuwe differentiatiecriteria (Anoniem, 1978). Aan de basis van deze criteria ligt een elektronen-microscopische studie naar de conidiogenese van *Phoma*- en *Ascochyta*-soorten (Boerema & Bollen, 1975). Een belangrijk differentiatie criterium voor deze twee geslachten is de vorming van een tussenwand (septum) in de conidiën. Over het algemeen maken *Phoma*-soorten ééncellige conidiën en *Ascochyta*-soorten tweecellige conidiën.

De meest uitgebreide beschrijving van het geslacht *Ascochyta* staat in de publikatie over de elektronen-microscopische studie. Andere recentelijke besprekingen van het geslacht *Ascochyta* worden gegeven door Sutton (1980) en Punithalingam (1979). De Russische mycoloog Melnik heeft een uitgebreid overzicht gemaakt van de in de Sovjetunie voorkomende *Ascochyta*-soorten. Hij beschrijft meer dan 328 gereviseerde *Ascochyta*-soorten. Helaas is deze literatuur weinig toegankelijk voor mensen die geen Russisch kennen.

Punithalingam (1979) stelt voor om binnen het geslacht *Ascochyta* drie secties te maken:

1. *Ascochyta*-soorten op monocotiele *Gramineae*;
2. op de overige monocotiele planten (o.a. *Cryptogamae* en *Gymnospermae*);
3. op dicotiele planten.

Door de PD (Van der Aa & Van Kesteren, 1979; Anoniem, 1984) is voorgesteld om de *Ascochyta*-soorten op dicotiele planten in twee secties te verdelen:

- a. de echte *Ascochyta*-soorten op *Papilionaceae*;
- b. de onechte *Ascochyta*-soorten op *Chenopodiaceae*.

De echte *Ascochyta*-soorten worden in de sectie *Ascochyta* geplaatst. Voorbeelden hiervan zijn *A. pisi* op erwt, *A. pinodes* (teleomorf *Mycosphaerella pinodes*) op erwt en *A. fabae* op veldboon. De onechte *Ascochyta*-soorten worden in de sectie *Chaetodiplodina* geplaatst. In deze sectie is naast *A. caulina*, de schimmel *A. hyalospora* geplaatst (Boerema et al., 1977). Deze schimmels zijn nauw verwant en moeilijk onderscheidbaar (Van der Aa & Van Kesteren, 1979). Er zijn kleine verschillen in vorm, kleur en omvang van de conidiën en de frequentie van behaard zijn van de pycniden. *A. hyalospora* komt alleen in het werelddeel Amerika voor op *Chenopodium*-soorten en kan problemen veroorzaken bij de teelt van het cultuurgewas gierstmelde (*C. quinoa*). Het ziektebeeld van *A. hyalospora* bestaat uit kiemplantsterfte, bladvlekken of stengel necrose en komt overeen met het ziektebeeld van zijn Europese en Aziatische broer *A. caulina*. *A. hyalospora* is met zaad van *C. quinoa* overdraagbaar.

5. Ziektebeeld

Aantastingen door *A. caulina* kunnen op nagenoeg alle bovengrondse plantedelen (bladeren, bladstelen en stengels) waargenomen worden (Menzies, 1966; Van der Aa & Van Kesteren, 1979; Scheepens & Frantzen, 1990). Aantasting van bloempjes is echter niet beschreven.

De aantastingen worden meestal niet eerder dan in de zomer en meestal pas in de herfst waargenomen en bestaan uit necrotische vlekken. Onder vochtige omstandigheden (gunstig voor de schimmel) kunnen binnen enkele dagen pycniden in de necrotische vlekken ontstaan. Op bladeren zijn de necrotische vlekken licht- tot donkerbruin van kleur, onregelmatig van vorm en niet scherp begrensd. De diameters van bladvlekken zijn meestal enkele mm's, maar kunnen een enkele keer afmetingen van meer dan één cm bereiken. Zowel de boven- als de onderzijde van een blad kan necrotisch zijn. Aan de necrose (afsterven van plantecellen) gaat soms chlorose (verbleking) van het bladweefsel vooraf. Bij zware aantasting kan omkrullen en vervroegd afvallen van bladeren optreden (Scheepens & Frantzen, 1990). De necrotische vlekken op stengels zijn meestal elliptisch van vorm (lengte is hooguit enkele cm's, breedte is enkele mm's) en grijsbruin van kleur. Stengelaantastingen blijven zeer oppervlakkig (Van der Aa & Van Kesteren, 1990).

Of ondergrondse aantastingen door *A. caulina* voorkomen, is niet bekend. Wij hebben pycniden van *A. caulina* op het witte epicotyl van kiemend melganzevoetzaad waargenomen. Daardoor mag aangenomen worden dat *A. caulina* ondergrondse delen van kiemplanten kan aantasten en mogelijk wortelbrand kan veroorzaken. Voor de verwante schimmelsoort *A. hyalospora* is kiemplantinfectie beschreven (Boerema et al., 1977).

Het door *A. caulina* veroorzaakte ziektebeeld komt min of meer overeen met het algemene ziektebeeld dat door *Ascochyta*-soorten veroorzaakt wordt. Algemeen gesteld veroorzaakt deze groep schimmels kleine necrotische vlekken op bovengrondse plantedelen (zoals stengels, bladstelen, bladeren, bloemen, vruchten en zaden). Afmetingen van bladvlekken zijn zelden groter dan enkele mm's. Bladaantastingen zijn over het algemeen weinig pathogeen, stengelaantastingen kunnen soms zeer pathogeen zijn (voetziekte bij erwt). De kleur van het necrotische weefsel kan verschillen voor de verschillende *Ascochyta*-soorten. Zo geeft *A. pisi* op erwt lichtbruine vlekken en *A. pinodes* op erwt donkerpaarse vlekken.

6. Waardplantenreeks

A. caulina is beschreven op enkele plantesoorten uit de familie der *Chenopodiaceae*. Van der Aa & Van Kesteren (1979) geven aan dat *A. caulina* voorkomt op plantesoorten uit de geslachten *Chenopodium* en *Atriplex*. Dit staat in contrast met een publikatie (Boerema et al., 1985) waarin naar een voorkomen op suikerbieten- en spinaziekiemplanten (uit respectievelijk de geslachten *Beta* en *Spinacia*) verwezen wordt. In de Nieuwzeelandse studie wordt *P. calvescens* alleen op *C. album* beschreven (Van der Aa & Van Kesteren, 1979).

Een experiment waarin planten getest worden op vatbaarheid voor *A. caulina* is nooit uitgevoerd. Daarom is het, ondanks de twee gerefereerde publikaties, moeilijk om conclusies over waardplantspecificiteit te trekken. Met zekerheid kan gesteld worden dat *A. caulina* in Nederland voorkomt op *C. album* en *Atriplex hastata* (spiesmelde).

Voor een overzicht van de Nederlandse *Chenopodium*- en *Atriplex*-soorten wordt naar de Flora van Nederland (Heukels & Van der Meijden, 1983) verwezen. De gegevens uit de Nederlandse Flora zijn in tabel 1 samengevat (appendix I-1). Het lijkt waarschijnlijk dat alle onkruidsoorten uit de betreffende geslachten vatbaar zijn voor *A. caulina*. Maar ook de (gewenste) kruiden zijn waarschijnlijk vatbaar. Enkele kruidesoorten uit deze families (zoals *C. bonus-henricus*, brave-hendrik) zijn thans vrij zeldzaam. De kans op (verdere) verdwijning van zeldzame soorten door gebruik van *A. caulina* wordt gering ingeschat (Scheepens & Frantzen, 1990).

Het CBS gebruikte vooral de *Atriplex*-soorten voor het beschrijven van de fenotypen van *A. caulina*. Onderzoekers van het CBS verzamelden hun plantmateriaal uit het kustgebied (Texel) van Nederland. Wij werken met schimmelisolaten van *C. album* uit de omgeving van Wageningen.

Sinds enkele jaren wordt het uit Zuid- en Midden-Amerika afkomstige gewas gierstmelde (*C. quinoa*) in Nederland op proefveldschaal verbouwd. Deze plantesoort is vatbaar voor *A. caulina* (Boerema et al., 1977).

7. Levenscyclus

De levenscyclus van *A. caulina* kan niet los gezien worden van de waardplanten waarop de schimmel voorkomt. De waardplanten zijn over het algemeen éénjarige planten. Uitgaande van *C. album* als waard hebben we te maken met een plant waarvan het zaad in het late voorjaar kiemt (april tot en met juni). *C. album* groeit als een kruid die een aanzienlijk bladapparaat kan vormen aan een rechtopstaande hoofdstengel en meerdere zijstengels. De bloei vindt plaats in de zomermaanden (juni tot september). In het najaar sterft de plant ten gevolge van ouderdom (afrijping) volledig af. Dit proces kan versneld worden door nachtvorst (Van den Brand, 1985).

De levenscyclus van *A. caulina* is fragmentarisch bekend (Menzies, 1966; Van der Aa & Van Kesteren, 1979; Anoniem, 1984). De eerste bladaantastingen (necrotische vlekken) kunnen pas in de zomer waargenomen worden. De bron van deze aantastingen is niet bekend. Wel is bekend dat in de necrotische vlekken pycniden ontstaan die onder vochtige omstandigheden sporenslijm uitscheiden. Deze pycnidiosporen dragen bij aan de verdere verspreiding van het pathogeen. Op infecteerbare plaatsen kiemen de sporen onder invloed van water en dringen het weefsel binnen. Dit geeft aanleiding tot lokale necrotische vlekken.

Verdere kolonisatie vanuit lokale aantastingen treedt bij actief groeiende planten nauwelijks op. Het koloniserend vermogen van deze schimmel lijkt dan ook gering. Wanneer planteweefsel met aantastingen in petrischalen gelegd wordt, is snelle kolonisatie wel mogelijk. De resistentie van het planteweefsel neemt blijkbaar af bij kunstmatig versnelde veroudering. Waarschijnlijk gebeurt iets dergelijks ook bij natuurlijke veroudering. De schimmel is waarschijnlijk in staat om vanuit lokale aantastingen afstervend weefsel snel te koloniseren. Tijdens de winter kan de schimmel zich op gekoloniseerde planteresten minstens een jaar handhaven.

Hoe primaire infecties in het voorjaar optreden, is niet precies bekend. Een generatief stadium is in Nederland niet aangetroffen. Primaire infecties zullen waarschijnlijk door pycnidiosporen optreden. Deze sporen worden op dood plantmateriaal gevormd. In het Nieuwzeelandse onderzoek werd aangetoond dat stengelinfectie mogelijk was bij planten die gepoot werden in een mengsel van grond en pycniden. Vanuit stengelaantastingen zou de schimmel zich door middel van pycnidiosporen naar de bladeren kunnen verspreiden. Hiermee lijkt de cyclus rond. Een tweede overlevingsstrategie van *A. caulina* zou overwintering op zaad van *C. album* kunnen zijn. In een door ons uitgevoerde zaadkiemtoets bleek dat *A. caulina* op kiemend zaad aangetroffen kan worden. Dat kiemplanten geïnfecteerd kunnen worden vanuit het zaad en zo als primaire infectiebron op kunnen treden mag dan ook niet uitgesloten worden. Bij enkele *Ascochyta*-soorten is een dergelijke overlevingsstrategie ook aangetroffen (Dekker, 1957).

8. Pathogeen of saprofiet?

In het Nieuwzeelandse proefschrift (Menzies, 1966) wordt een hoofdstuk gewijd aan 'Proof of pathogenicity' van de vegetatieve vorm van *P. calvescens*. Geslaagde bladinfecties veroorzaakten bladnecroses en in die zin is de pathogeniteit op bladeren aangetoond. Inoculaties van stengels gaven in zeer geringe mate macroscopisch waarneembare aantastingen.

Pathogeniteit voor de stengel lijkt dan ook gering. Dit komt overeen met onze waarnemingen. Geslaagde bladinfecties geven binnen enkele dagen aanleiding tot necroses en kunnen bij massaal optreden zelfs aanleiding tot groeiremming van de plant geven.

In de Nieuwzeelandse studie bleek het nodig om bladeren eerst te verwonden, waarna infecties tot stand gebracht konden worden. De betreffende onderzoeker spreekt van een wondpathogeen. Hij legt een relatie tussen slakkevraat en aantastingen door *P. calvescens*. Onze ervaringen zijn anders. Wij kunnen zonder verwonding aantasting krijgen, mits de sporendichtheid van het inoculum maar hoog genoeg is en het tijdstip van bespuiten gunstig is. Dat wil zeggen een hoge relatieve luchtvochtigheid, gedurende een periode van 16 à 24 uur.

Daar *A. caulina* zich zowel op de levende plant (ten koste van de plant) als op het dode planteweefsel in stand kan houden is de schimmel een parasiet met enig saprofitisch vermogen (facultatieve parasiet).

Na het binnendringen, van met name de bladeren, treedt vrij snel rond de infectieplaats necrose op. Dit wordt binnen enkele dagen na het eerste contact van de schimmel met de plant zichtbaar. Plaatselijk sterven de plantecellen rond de penetratieplaats af en in die zin is *A. caulina* een necrotrofe schimmel. Necrotrofe pathogene schimmels zijn schimmels die door de basis-resistentie van een plant heen kunnen breken (Lamb et al., 1989). Hun aanvalswapens zijn (tijdelijk) sterker dan de verdedigingswapens van de vatbare plant. Na penetratie in het planteweefsel maken dergelijke schimmels toxinen en/of enzymen die plantecellen beschadigen en doen sterven. Necrotrofe schimmels voeden zich met de inhoud van dode (lekkende) cellen. Het specifieke afweermechanisme van de plant zal ten gevolge van de penetratie op gang komen, maar necrotrofe schimmels zijn (tijdelijk) in staat deze afweermechanismen onschadelijk te maken of te omzeilen. De onderlinge wisselwerkingen tussen pathogene schimmels en planten staat goed beschreven in een recentelijk collegedictaat (De Wit, 1989). In het Jaarboek van de Plantenziektenkundige Dienst 1983 (Anoniem, 1984) wordt een parasitair en een saprofytisch fenotype van *A. caulina* onderscheiden. De parasitaire (onbehaarde pycniden) vorm komt alleen op bladeren voor en de saprofitische vorm (behaarde pycniden) komt alleen op de stengel voor. Naar ons idee is onderscheid tussen behaarde pycniden op de stengel en onbehaarde pycniden op bladeren niet zo scherp.

9. Infectieproces

Voor zover bekend treden infecties door *A. caulina* alleen via pycnidiosporen op. Deze sporen kunnen onder invloed van water vrij snel kiemen. Naarmate er langer vocht voor kieming beschikbaar is, is de kans op aantasting groter. Door de Duitse onderzoeksgroep (Eggers & Thun, 1988) is de temperatuurafhankelijkheid van de kieming op wateragar bestudeerd. In de range van 5 tot 30 °C vonden zij dat kieming het snelst verloopt bij 20-25°C. Bij 5°C bleek na 6 uur nog geen kieming te zijn opgetreden.

Hoe de schimmel naar binnen gaat is niet precies bekend. Het Nieuwzeelandse onderzoek (Menzies, 1966) geeft aan dat verwondingen nodig zijn voor infectie. Het Duitse onderzoek geeft aan dat zij 6 uur na inoculatie bij 20°C de eerste penetraties van de schimmel via de huidmondjes zien. Zij hebben cytologische waarnemingen gedaan tot 24 uur na inoculatie en concludeerden dat de schimmel als enige penetratieweg de huidmondjes heeft. Zij hebben geen appressoria waargenomen.

Het Duitse onderzoek (Eggers & Thun, 1988) toonde een leeftijdseffect van bladeren aan op het ontstaan van infecties. Zij geven aan dat penetraties alleen bij jonge bladeren optreden. Bij bladeren ouder dan 18 dagen (zeer afhankelijk van de groeiomstandigheden) werden geen penetraties via de huidmondjes waargenomen.

Over de groei van *A. caulina* in het planteweefsel en de pathogenese die daarvan een gevolg is, is niets bekend. Er zijn alleen beschrijvingen van de macroscopische symptomen (Menzies, 1966; Van der Aa & Van Kesteren, 1979; Eggers & Thun, 1988). Deze symptomen zijn 3 tot 7 dagen na inoculatie zichtbaar. In hoofdstuk 11 worden infectiestructuren en pathogenese van andere *Ascochyta*-soorten besproken. Eerst zal in hoofdstuk 10 een beschrijving van de bovengrondse oppervlaktestructuren van melganzevoetplanten gegeven worden.

10. Cuticula en epidermis van *Chenopodium album*

De bovengrondse plantedelen zijn omgeven door een epidermis met een cuticula. Cuticula's zijn opgebouwd uit een raamwerk van cutine. Voor de bestudering van cuticula's zijn de volgende publikaties geraadpleegd (Wood, 1967; Bukovac et al., 1981).

Cutine is opgebouwd uit vetten met hydroxylgroepen en vetzuren die met esterverbindingen tot een raamwerk verbonden zijn. Cutine is enigszins polair en heeft enige affiniteit voor water. Door sommige onderzoekers wordt beweerd dat de cuticula uit meerdere lagen cutine is opgebouwd. Dit is echter nooit waargenomen. In en op het cutineraamwerk bevindt zich de epicuticulaire waslaag. Deze waslaag bestaat uit klompjes was die min of meer uit het cutineraamwerk steken. De dichtheid van de klompjes kan zo groot zijn dat er een echte laag waarneembaar is. De samenstelling van de wassen die *C. album* uitscheidt in de cuticula zijn geanalyseerd (Allebone & Hamilton, 1972) en er zijn EM-foto's beschikbaar (Taylor et al., 1981). De wassen zorgen voor de waterafstotendheid van het planteweefsel. De samenstelling van de waslaag van *C. album* werd nauwelijks beïnvloed door een reeks van groeiomstandigheden (Taylor et al., 1981).

Een karakteristieke eigenschap van het oppervlak van *C. album* is dat er zilverachtige bolvormige blaasjes (diameter ongeveer 80 μm) op voorkomen (Brian & Cattlin, 1968). Lange tijd zijn deze blaasjes voor een meelachtige substantie aangezien en daaraan dankt de plant ook zijn naam (melganzevoet of ook wel witte ganzevoet). De dichtheid van de blaasjes varieert met de leeftijd van het weefsel. Met name op jong weefsel kunnen zeer veel blaasjes voorkomen. De blaasjes staan door middel van kanaaltjes (ectodesmata) door de cuticula in contact met het inwendige watersysteem van de plant. Bij oudere planten kunnen de blaasjes kapot gaan en of losraken van het blad. De functie van de blaasjes is niet bekend. Er is gesuggereerd dat ze een functie hebben bij wateropslag. Een alternatief zou kunnen zijn dat de blaasjes bij hoge lichtintensiteit reflectie kunnen veroorzaken, ter voorkoming van foto-oxydatie.

Onder de cuticula liggen de epidermiscellen. Er zijn geen aanwijzingen dat de rangschikking en eigenschappen van de epidermiscellen van *C. album* afwijken van het algemene beeld van dergelijke cellen. Datzelfde geldt voor het onderliggende parenchymatische planteweefsel. Voor beschrijvingen van epidermiscellen en parenchymcellen wordt naar het collegedictaat Plantkunde (Munting, 1980) verwezen.

Huidmondjes bevinden zich zowel aan de boven- als onderzijde van bladeren van *C. album*. Tellingen gaven respectievelijk aan de boven- en onderzijde ongeveer 65 en 78 huidmondjes per mm^2 .

11. Infectieproces van verwante *Ascochyta*-soorten

Dit hoofdstuk is een compositie van waarnemingen aan het infectieproces van, aan *A. caulina* verwante soorten.

Pycnidiosporen van *Ascochyta*-soorten kunnen in waterdruppels binnen enkele uren kiemen. De snelheid van kiemen wordt vooral beïnvloed door de temperatuur. Bij gunstige temperaturen (15-25°C) kan binnen enkele uren, een groot deel van de sporen gekiemd zijn. Licht heeft nauwelijks effect op kieming en infectie (Blakeman & Dickinson, 1967). Bij dit onderzoek is naar ons idee het effect van indrogen van inoculum onderschat.

In de literatuur zijn veel inoculatie-experimenten (druppelinoculaties en verspuiten van inoculum) met *Ascochyta*-soorten beschreven. Over het algemeen gaven inocula met sporendichtheden van boven de 10^5 sporen per ml goede resultaten. Binnen twee tot acht dagen na de inoculatie werden karakteristieke necrotische vlekken zichtbaar. Stengelinoculaties met *Ascochyta*-soorten worden veel minder vaak beschreven dan bladnecroses. Door Kerling (1949) is een uitgebreid experiment met geslaagde stengelinoculaties met *A. pinodes* beschreven. Uit alle inoculatie-experimenten zonder kunstmatige verwondingen blijkt dat na inoculatie een periode van minimaal zes uur met hoge relatieve luchtvochtigheid of vrij water op het weefsel vereist is voor het laten optreden van infecties.

Tijdens de inoculatie-experimenten is regelmatig gekeken naar infectiestructuren van *Ascochyta*-soorten (Ludwig, 1928; Hare & Walker, 1944; Kerling, 1949; Brewer & MacNeil, 1953; Brewer, 1960). De *Ascochyta*-soorten vormen kiembuizen die kunnen uitgroeien tot hyfen die sterk kunnen variëren in lengte. De hyfen kunnen op bepaalde plaatsen door de cuticula dringen. Soms wordt gesproken van binnendringen door openingen zoals scheuren in de cuticula. Een enkele keer wordt over actieve penetratie gesproken. Of hierbij cutinasen betrokken zijn, is niet bekend. Apressoria zijn voor *Ascochyta*-soorten niet beschreven. Soms wordt penetratie via de huidmondjes waargenomen, maar men geeft regelmatig aan dat dit waarschijnlijk niet de primaire infectieweg is.

Kerling (1949) merkt zeer terecht op dat de penetratiewijze sterk zal afhangen van de omstandigheden.

Nadat de hyfen onder de cuticula gekomen zijn, kunnen de *Ascochyta*-soorten enige tijd subcuticulair groeien. In meerdere studies (Kerling, 1949; Blakeman & Dickinson, 1967) zijn tussen de cuticula en de epidermiscellen hyfen waargenomen. Afhankelijk van de waard en de omstandigheden blijft de schimmel tot enkele dagen subcuticulair. De groei van hyfen op de buitenzijde van de cuticula gaat onder bepaalde omstandigheden gewoon door (alleen bij voldoende vocht?). Blakeman & Dickinson (1967) constateerden dat 6 dagen na inoculatie, meer dan de helft van de hyfen buiten de plant groeiden.

Na enige tijd van subcuticulair groei dringen de hyfen dieper het weefsel in. Sommige onderzoekers beweren dat dit intercellulair gebeurt. Andere onderzoekers hebben intra-cellulaire groei in epidermiscellen geconstateerd. Als de hyfen door de epidermislaag heen zijn (na enkele dagen), komen ze in de parenchymlaag. Hierin lijken ze de intercellulaire holten op te zoeken maar ook intra-cellulaire groei is mogelijk. In studies van Heath & Wood (1971) is zowel enzymatische celwandafbraak als mechanische penetratie van celwanden waargenomen. Individuele waardplantcellen die in contact komen met de gepenetreerde hyfen sterven soms af. Uit cytologische studies is echter gebleken dat, ook levende (op het oog gezonde) cellen tegen hyfen aan kunnen liggen.

De celinhoud van afstervende cellen kleurt bruin en raakt gedesoriënteerd. Er treedt plasmolyse van cellen op. Waarschijnlijk lekken uit deze cellen de voedingsstoffen die de groeiende schimmel nodig heeft. Van enkele *Ascochyta*-soorten is beschreven dat zij toxinen produceren die afsterving van cellen kunnen veroorzaken. Ascochitine en fanine worden als toxinen genoemd (Anoniem, 1984). Deze toxinen worden in de hyfen gevormd en uitgescheiden in het planteweefsel. De toxinen hebben onder natuurlijke omstandigheden alleen activiteit op zeer korte afstand van de hyfen.

Een interessante vraag is waarom de infecties door *Ascochyta*-soorten beperkt blijven tot lokale aantastingen. Hiervoor zijn meerdere hypothesen:

1. Het afweermecanisme van de plant komt vertraagd op gang. Als het eenmaal werkt, dan is het afweermecanisme in staat de schimmel binnen de aantastingsplaats te houden. In zo'n geval hebben we te maken met de vorming van fungitoxische fenolen (Heath & Wood, 1969) of fytoalexinen door het planteweefsel. Afzetting van fysische barrières rond de aantastingsplaats (zoals kurk) zijn nooit waargenomen voor *Ascochyta*-infecties.
2. De schimmel gaat om de een of andere reden over tot de vorming van pycniden. De schimmel stopt als het ware al zijn energie in de vorming van verspreidingsstructuren. Daardoor wordt verdere kolonisatie van de geïnfecteerde plant, voor de schimmel minder belangrijk.

Door veredeling zijn resistente erwterassen verkregen tegen o.a. *A. pisi*. Dergelijke rassen lenen zich voor onderzoek naar resistentiemechanismen (Brewer & MacNeil, 1953; Brewer, 1960). Resistentie bleek in de twee studies te berusten op een verminderde penetratie via de cuticula (fysieke resistentie, ontsnapping) of een verminderd uitgroeien van hyfen in het weefsel (fysiologische resistentie).

12. Produceerbaarheid van inoculum

A. caulina is goed te kweken op kunstmatige voedingsbodems. Binnen enkele weken kunnen grote hoeveelheden pycnidiosporen op voedingsbodems geproduceerd worden. Zelf hebben wij enige ervaring met de geschiktheid van enkele media voor de kweek van *A. caulina*. Daarnaast staat in het Nieuwzeelandse proefschrift (Menzies, 1966) over dit onderwerp het een en ander vermeld. Ook wordt naar de fysiologische studie van Ludwig (1928) aan *A. pisi* verwezen. In de toekomst zal hierover een uitgebreid verslag komen. Daarom wordt er nu niet verder op in gegaan.

Literatuur

- Aa, H.A. van der & H.A. van Kesteren, 1979.
Some pycnidial fungi occurring on *Atriplex* and *Chenopodium*. *Persoonia* 10, 267-276.
- Allebone, J.E. & R.J. Hamilton, 1972.
Cuticular leaf waxes III. Free and esterified acids and alcohols in *Chenopodium album* L., *Lolium perenne* L. and *Stellaria media* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 23, 777-786.
- Anoniem, 1978.
Jaarboek Plantenziektenkundige Dienst 1977, Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen, 18.
- Anoniem, 1984.
Jaarboek Plantenziektenkundige Dienst 1983, Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen, 23-34.
- Blakeman, J.P. & C.H. Dickinson, 1967.
The effect of UV and visible light on infection and host leaf tissue by four species of *Ascochyta*. *Transactions British Mycological Society* 50, 385-396.
- Boerema, G.H. & G.J. Bollen, 1975.
Conidiogenesis and conidial septation as differentiating criteria between *Phoma* and *Ascochyta*. *Persoonia* 8, 111-144.
- Boerema, G.H. et al., 1977.
Ascochyta hyalospora (Cooke & Ell.) comb. nov. in seeds of *Chenopodium quinoa*. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 83, 153-159.
- Boerema, G.H. et al., 1985.
Vermeldenswaardige schimmelaantastingen in de periode 1980-1984. *Gewasbescherming* 16, 109-110.
- Brand, W.G.M. van den, 1985.
Biologie en ecologie van Melganzevoet (*Chenopodium album*). PAGV-verslag 47. Proefstation voor de Akkerbouw en Groenteteelt in de Vollegrond, Lelystad, 28 pp.
- Brewer, D. & B.H. MacNeil, 1953.
Preliminary studies in *Ascochyta pisi* Lib. *Canadian Journal of Botany* 31, 739-744.
- Brewer, D., 1960.
Studies in *Ascochyta pisi* Lib. *Canadian Journal of Botany* 38, 705-717.
- Brian, R.C. & N.D. Cattlin, 1968.
The surface structure of leaves of *Chenopodium album* L. *Annals of Botany* 32, 609-612.
- Bukovac, M.J. et al., 1981.
The cuticle: surface structure and function. *Scanning electron microscopy III*, 213-223.
- Dekker, J., 1957.
Inwendige ontsmetting van door *Ascochyta pisi* aangetaste erwtezaden met de antibiotica rimocidine en pimarinine, benevens enkele aspecten van het parasitisme van deze schimmel. *Tijdschrift over Plantenziekten* 63, 65-144.
- Eggers, T. & K. Thun, 1988.
Biologische Bekämpfung von *Chenopodium album* mit *Ascochyta caulina*? *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* sonderheft XI, 225-237.
- Franken, C., 1978.
Stageverslag. Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek, Wageningen, 21pp.

- Hare, W.W. & J.C. Walker, 1944.
Ascochyta diseases of canning pea. Research Bulletin Agricultural Experiment Station of the University of Wisconsin, Madison 150, 1-31.
- Heath, M.C. & R.K.S. Wood, 1969.
 Leaf spots induced by *Ascochyta pisi* and *Mycosphaerella pinodes*. *Annals of Botany* 33, 657-670.
- Heath, M.C. & R.K.S. Wood, 1971.
 Role of cell-wall-degrading enzymes in the development of leaf spots caused by *Ascochyta pisi* and *Mycosphaerella pinodes*. *Annals of Botany* 35, 451-474.
- Heukels, H. & R. van der Meijden, 1983.
 Flora van Nederland, Wolters-Noordhoff, Groningen, 98-104.
- Karsten, P.A., 1884.
 Fragmenta mycologica XVI. *Hedwigia* 23, 61-63.
- Kerling, L.C.P., 1949.
 Aantasting van erwten door *Mycosphaerella pinodes* (Berk. and Blox.) Stone. *Tijdschrift over Plantenziekten* 55, 41-68.
- Lamb, C.J. et al., 1989.
 Signals and transduction mechanisms for activation of plant defenses against microbial attack. *Cell* 56, 215-224.
- Ludwig, O., 1928.
 Untersuchungen an *Ascochyta pisi* Lib. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 16, 464-510.
- Menzies, S.A., 1966.
 An investigation of a fungus of Fathen (*Chenopodium album*). Thesis of the University of Canterbury. Canterbury, Nieuw-Zeeland, 120 pp.
- Munting, A.J., 1980.
 Collegedictaat Plantkunde. Landbouwniversiteit, vakgroep Plantencytologie en -morfologie, Wageningen, 229 pp.
- Punithalingam, E., 1979.
 Graminicolous *Ascochyta* species. Commonwealth Mycological Institute, Kew-Surrey, Engeland, *Mycological Papers* 142, 1-214.
- Scheepens, P.C. & P.A.M.J. Frantzen, 1990.
 Perspectieven voor biologische onkruidbeheersing. In: *Gewasoecologie in relatie tot gewasbescherming (CABO-thema III)*. M. Hoogerkamp & R. Rabbinge (redactie). CABO-DLO, Wageningen, 73-80.
- Sutton, B.C., 1980.
 The Coelomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew-Surrey, Engeland, 696 pp.
- Taylor, F.E. et al., 1981.
 An analysis of the epicuticular wax of *Chenopodium album* leaves in relation to the environmental change, leaf wettability and the penetration of the herbicide bentazone. *Annals of Applied Biology* 98, 471-478.
- Webster, J. & M.T. Lucas, 1959.
 Observations on British species of Pleospora. I. *Transactions British Mycological Society* 42, 332-342.
- Wit, P.J.G.M. de, 1989.
 Fysiologisch-genetische aspecten van pathosystemen. Collegedictaat LUW-Vakgroep Fytopathologie, Wageningen, Hoofdstuk 5, 1-12.
- Wood, R.K.S., 1967.
 Physiological plant pathology. Blackwell Scientific Publications, Oxford, Engeland, 570 pp.

Bijlage I:

Chenopodium- en *Atriplex*-soorten

Tabel 1 De in Nederland voorkomende *Chenopodium*- en *Atriplex*-soorten
(Heukels & van der Meijden, 1983)

Latijnse naam	Nederlandse naam
<i>C. foliosum</i>	Rode aardbeispinazie
<i>C. bonus-henricus</i>	Brave Hendrik
<i>C. polyspernum</i>	Korrelganzevoet
<i>C. glaucum</i>	Zeegroene ganzevoet
<i>C. rubrum</i>	Rode ganzevoet
<i>C. botryodes</i>	Beursjesganzevoet
<i>C. vulvaria</i>	Stinkende ganzevoet
<i>C. hybridum</i>	Bastaardganzevoet
<i>C. murale</i>	Muurganzevoet
<i>C. ficifolium</i>	Stippelganzevoet
<i>C. album</i>	Melganzevoet
<i>A. hortensis</i>	Tuinmelde
<i>A. laciniata</i>	Gelobde melde
<i>A. littoralis</i>	Strandmelde
<i>A. glabriuscula</i>	Kustmelde
<i>A. patula</i>	Uitstaande melde
<i>A. hastata</i>	Spiesmelde