

KNPV-werkgroep Bodempathogenen en bodemmicrobiologie

Samenvattingen van voordrachten gehouden op 23 maart 2000

Een biotoets voor *Verticillium dahliae*

L. Soesanto en A.J. Termorshuizen
*Biologische Bedrijfsystemen, Wageningen
Universiteit en Research Centrum,
Marijkeweg 22, 6709 PG Wageningen*

Arabidopsis thaliana blijkt een geschikte toetsplant te zijn voor *Verticillium dahliae*. Al bij een geringe dichtheid van gemiddeld één microsclerotium per gram grond werd bij alle planten vorming van nieuwe microsclerotieën in de spruit aangetroffen. Bij deze dichtheid werd slechts 30% infectie van de spruit vastgesteld door middel van uitplaten van stengelstukjes. In twee experimenten met inoculumdichtheden van 0, 1, 3, 10, 30 en 100 microsclerotieën per gram grond werd een lineair verband gevonden tussen de logaritme van de inoculumdichtheid en de oppervlakte onder de ziektevoortschrijdingscurve. Verder werd een duidelijk verband gevonden tussen inoculumdichtheid enerzijds en infectie van de wortel en hoeveelheid nieuwgevormde microsclerotieën in de spruit anderzijds. Dit laatste duidt erop dat maximale productie van nieuwe microsclerotieën pas optreedt als de wortel herhaald is geïnfecteerd.

De biotoets lijkt geschikt te zijn om geringe dichtheden van *Verticillium dahliae* in de grond aan te tonen. Voor een precieze schatting van de dichtheid van *Verticillium dahliae* in de grond lijkt te toetsen op onnauwkeurig. Het eenvoudigst is het om de veroudering van de toetsplanten te bepalen op een schaal van 0-5. Voor een snel resultaat kunnen wortels uitgeplaat worden circa vier weken na inzetten van drie weken oude plantjes in de te toetsen grond. Het meest onderscheidend, maar ook het meest arbeidsintensief, is de bepaling van het aantal microsclerotieën per drooggewichtseenheid spruit.

De biotoets heeft reeds goede resultaten laten zien bij de evaluatie van verschillende toepassingsmethoden van de antagonist *Talaromyces flavus* en liet verder goede resultaten zien bij eerste experimenten met phlogluinol producerende stammen van *Pseudomonas fluorescens*.

Verspreiding van *Phytophthora* in eb-vloed systemen bij potplanten

D.J. van der Gaag en A. Kerssies
*Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente
(PBG), Kruisbroekweg 5, Postbus 8,
2670 AA Naaldwijk*

Potplanten worden in de Nederlandse glastuinbouw steeds vaker op eb-vloed systemen geteeld. Hierbij staan de potten op tafels of vloeren waar periodiek een laagje voedingsoplossing op wordt gepompt (vloedbeurt). Na een vloedbeurt die meestal vijf tot vijftien minuten duurt loopt de voedingsoplossing terug in een opslagtank en zal worden gebruikt voor een volgende vloedbeurt. Een dergelijk gesloten watergeefstelsel voorkomt verontreiniging van het milieu met nutriënten en evt. bestrijdingsmiddelen. Een nadeel is echter dat wortelpathogenen zoals *Phytophthora*, *Fusarium* en *Cylindrocladium* zich relatief makkelijk kunnen verspreiden.

Om het risico van verspreiding van *Phytophthora* op eb-vloed systemen te onderzoeken werden eb-vloed-tafels op verschillende manieren besmet met *Phytophthora*. Experimenten werden uitgevoerd met verschillende *Phytophthora*-isolaten pathogeen op *Saintpaulia ionantha* (*P. nicotianae*), *Spatiphyllum wallisii* (*P. drechsleri*) en een onbekende *Phytophthora*-soort of *Gerbera jamesonii* (*P. cryptogea*). Planten in het midden van een tafel werden geïnoculeerd of de voedingsoplossing werd besmet met myceliumfragmenten of zoösporen. Bij *Saintpaulia* werd met geen enkele methode verspreiding van *Phytophthora*-rot waargenomen hoewel meer dan 80% van de geïnoculeerde planten ziek werden. Bij *Spatiphyllum* werd geen verspreiding waargenomen vanuit potten met zieke planten (na inoculatie), maar wel nadat de voedingsoplossing was besmet met mycelium of zoösporen van het *P. drechsleri*-iso-laat. Bij *Gerbera* verspreidde de ziekte zich zowel na 'plant-inoculatie' als na besmetting van de voedingsoplossing. Om te onderzoeken of bij *Saintpaulia* en *Spatiphyllum* uit potten met zieke planten *Phytophthora* inoculum 'lekt' werden respectievelijk twaalf en tien potten apart in een bakje met een laagje voedingsoplossing gezet gedurende 24 uur. In de voedings-

KNPV-WERKGROEP

oplossing kon bij *Saintpaulia* geen enkele keer *Phytophthora* worden aangetoond, bij *Spatiphyllum* bij een pot. In een additionele proef werd gevonden dat *Phytophthora* alleen uit een pot lekte wanneer besmette grond op de bodem van een pot was aangebracht, maar niet wanneer besmette grond meer dan drie centimeter boven de bodem was aangebracht. Uit potten met zieke planten afkomstig van de eb-vloed tafels kon bij *Saintpaulia* geen enkele keer *Phytophthora* worden aangetoond in grondwortelmonsters afkomstig uit de onderste laag van een pot. Bij *Spatiphyllum* werd *Phytophthora* in drie van de zestien bemonsterde potten aangetoond in grondwortelmonsters onderuit de pot. Er wordt geconcludeerd dat het risico van verspreiding van *Phytophthora* vanuit potten met zieke planten gering is bij *Saintpaulia* en *Spatiphyllum*, maar hoog bij *Gerbera* potplanten in eb-vloed systemen.

Effect van 2,4-diacetylphloroglucinol op de levenscyclus van *Pythium*

J. de Souza, D. Kraaijeveld en

J.M. Raaijmakers

Laboratorium voor Fytopathologie, Wageningen
Universiteit en Research Centrum,
Binnenhaven 9, 6709 PD Wageningen

Pythium spp. komen voor in diverse habitats en veroorzaken schade aan een groot aantal gewassen waaronder bloembollen, suikerbieten en tarwe. *Pythium* spp. hebben niet alleen effect op de kieming van zaden en ontwikkeling van kiemplanten, maar infecteren tevens het wortelstelsel van oudere planten. Mede vanwege een gebrek aan afdoende of milieuvriendelijke bestrijdingsmethoden wordt momenteel veel aandacht besteed aan biologische bestrijding van *Pythium* spp. met antagonistische micro-organismen. Diverse *Pseudomonas*-isolaten die het antibioticum 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) produceren blijken potentiële kandidaten te zijn voor onderdrukking van *Pythium* spp. Er is echter nog erg weinig bekend over het effect van DAPG en DAPG-producerende *Pseudomonas* spp. op diverse stadia van de levenscyclus van *Pythium* spp. Uit de resultaten van ons onderzoek met HPLC-gezuiverd DAPG blijkt dat myceliumgroei, de vorming van zoösporangia, het vrijkomen van zoösporen, en de kieming van zoöspoorcysten van *P. ultimum* var. sporangiferum sterk geremd worden door DAPG. Met name het vrijkomen van de zoösporen en de kieming van de cysten werden geremd bij relatief lage DAPG-concentraties (respectievelijk 8 en 6.4 µg/ml). Naast de zoösporen en cysten spelen ook de oösporen een centrale rol in de levenscyclus van *Pythium* spp. Momenteel wordt onderzocht of DAPG en DAPG-producerende *Pseudomonas* spp. ook de vorming en kieming van oösporen remmen.

Mesofiele hitteresistente bodemschimmels

G.J. Bollen¹, B. van der Pol-Luiten² en
D. Volker³

¹Nieuweweg 23, 6871 CA Renkum

²Slunterweg 42, 6712 BW Ede

³Biologische Bedrijfssystemen, Wageningen
Universiteit en Research Centrum,
Marijkeweg 22, 6709 PG Wageningen

Een warmtebehandeling van kas- en potgronden bij 70 °C gedurende dertig minuten, mits toegepast onder vochtige omstandigheden, is voldoende om de pathogene schimmels te doden. Een aantal saprotrofe schimmels kan een dergelijke behandeling goed doorstaan. Hieronder zijn slechts enkele soorten met een antagonistische werking tegen pathogene schimmels. Een voorbeeld is *Talaromyces flavus*. In een inventarisatie op het voorkomen van hitteresistente schimmels waren monsters uit 67 kasgronden, 68 akker- en weidegronden, 93 bosgronden en 39 heidegronden betrokken. Onder de 65 geïdentificeerde soorten zijn de *Eurotiales* en de donkersporige deuteromyceten sterk vertegenwoordigd. De oömyceten ontbreken in de lijst en er zijn slechts drie zygomyceten (alle drie van het geslacht *Mortierella*) en een basidiomycete (*Tephrocybe anthracophila*). Voor een aantal soorten is er een duidelijk patroon in het voorkomen met het oog op het grondgebruik. *Gilmaniella humicola* en *Talaromyces flavus* waren alleen algemeen in de voedselrijke kas- en akkergronden. Daarentegen werden de veel voorkomende discomycete *Trichophaea abundans* en de drie *Mortierella*-soorten bijna uitsluitend uit bos- en heidegronden geïsoleerd.

Een van de meest opvallende aanpassingen aan het voorkomen in grond na verhitting is een constitutieve kiemrust van de sporen, die wordt opgeheven door een hiteschok. Dit verschijnsel is in de literatuur beschreven voor de discomycete *Rhizina undulata*, waarvan de ascosporen gaan kiemen na een blootstelling aan 50 °C gedurende dertig minuten in grond onder brandplekken in bossen. Voor twee zeer hitteresistente schimmels in ons onderzoek bleek de activeringstemperatuur voor de kieming veel hoger te liggen. *Gilmaniella humicola* overleefde een verhitting bij 90 °C (dertig minuten) en de optimum temperatuur voor verbreking van de kiemrust lag rond 80 °C (30 min.), afhankelijk van de leeftijd van de sporen. *Tephrocybe anthracophila* was de meest resistente soort in de onderzochte gronden: in een grondsuspensie overleefden de chlamydo-sporen een behandeling bij 95 °C (dertig minuten). De optimum temperatuur voor verbreking van de kiemrust lag rond 85 °C (dertig minuten). Dit verklaart dat in de natuur de vruchtlichamen alleen voorkomen op brandplekken. De chlamydo-sporen hebben een lange levensduur; in een proef met een dertig-jaar oude cultuur in grond

bleken ze voor hun kieming nog steeds afhankelijk te zijn van een hittedeschok.

Detectie van agressiviteit in pathosystemen van *Rhizoctonia solani*

F. Dal Soglio en P.H.J.F. van den Boogert
Plant Research International, Postbus 16,
6700 AA Wageningen

In de meeste pathosystemen van *Rhizoctonia solani* is de agressiviteit van het isolaat een belangrijke parameter. Aangezien het perfecte stadium van *R. solani*, *Thanatephorus cucumeris* vaak niet wordt gevonden en daardoor de genetische variatie op een bepaalde tijd en plaats van het pathogeen beperkt is, bepalen de genetische eigenschappen van het primaire inoculum voor een belangrijk deel de ontwikkeling van de epidemie.

Het kunnen kwantificeren van de mate van agressiviteit van isolaten van *R. solani* kan daarom in belangrijke mate bijdragen tot het opstellen van gewasbeschermingsstrategieën. Binnen Plant Research International wordt de agressiviteit van veldisolaten van *Rhizoctonia solani* AG 2, subgroepen 2-1 en 2-2IIIB, die verschillen in agressiviteit met betrekking tot bloemkool en suikerbiet, onderzocht. Met behulp van ITS-PCR, AFLP en pectinezymogrammen wordt getracht de agressiviteit van isolaten te detecteren. Verder wordt onderzocht in hoeverre agressiviteit gerelateerd is met andere eigenschappen van het pathogeen, zoals groei in de grond en ontwikkeling van ziektesymptomen. De resultaten geven aan dat het belangrijk is zowel de agressiviteit te kennen als de AG-subgroep identiteit. In vitro experimenten laten zien dat de mate van agressiviteit van een bepaald isolaat tevens wordt beïnvloed door milieuomstandigheden, zoals de temperatuur. Het doel is om in de toekomst de genetica van agressiviteit en de relatie met populatie-ecologie te onderzoeken, met het uiteindelijke doel optimale bestrijdingsstrategieën te ontwikkelen.