

KNPV-werkgroep 'Phytophthora en Pythium'

Samenvattingen van de bijdragen, gepresenteerd op de bijeenkomst van 28 september 2000

Zijn driftarme doppen geschikt voor de bestrijding van Phytophthora infestans in aardappelen?

H.T.A.M. Schepers en R. Meier

Praktijkonderzoek voor de Akkerbouw en de Vollegrondsgroenteteelt (PAV)
Postbus 430, 8200 AK Lelystad

Het gebruik van driftarme doppen zal nu het Lozingenbesluit van kracht is, steeds meer toenemen. Zeker is dat deze doppen de drift verminderen, maar de vraag is of de bespuitingen ook nog goed werken. De bedekking (direct na de bespuiting) met de grovere druppels is namelijk kleiner, hetgeen de vraag oproept of de preventieve bestrijding van *Phytophthora infestans* in aardappel niet minder is. Om dit na te gaan heeft het PAV in 1999 en 2000 veldproeven uitgevoerd waarin aardappels gespoten zijn met 95, 150 en 300 liter per hectare met een standaard spleetdop (XR110.04 & 02) en driftarme doppen (AI110.04 & 02 & DBO15F120). In de proeven is wekelijks gespoten met contact fungiciden (Maneb-Tin of Shirlan). Ook is de invloed van de uitvloeier Zipper bekeken. De effectiviteit van de bespuitingen is beoordeeld door de ontwikkeling van *P. infestans* in het loof te volgen. De resultaten van alle veldproeven laten zien dat met driftarme doppen *P. infestans* net zo goed bestreden kan worden als met de standaard spleetdoppen. Bij gebruik van de normale etiketdoseringen en spuitvolumes lijkt de herverdeling van de werkzame stof op de aardappelbladeren een goede bestrijding te bewerkstelligen. Het toevoegen van een uitvloeier verbetert onder deze omstandigheden de werking niet. Het zou kunnen zijn dat bij lagere doseringen en spuitvolumes in combinatie met een snelle gewasgroei en een hoge ziektedruk of fikse regenbuien, de bestrijding met grovere druppels eerder een steekje laat vallen in vergelijking met standaard spleetdoppen. In detailproeven met een hoge kunstmatige ziektedruk en flinke regenbuien is dit wel eens gevonden. In veldproeven waren de driftarme doppen tot nu toe echter net zo goed als de standaard spleetdoppen.

Wanneer is er sprake van een 'nieuwe' soort? Overwegingen en praktijkvoorbeelden

A.W.A.M. de Cock

Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS), Uppsalalaan 8,
Postbus 85167, 3508 AD Utrecht

In het dagelijks leven praten we heel gemakkelijk over soorten en we begrijpen (of denken te begrijpen) wat daarmee wordt bedoeld. Als het over bijvoorbeeld zoogdieren gaat lijkt het ook ondubbelzinnig duidelijk wat een soort is. Kijken we bij lagere organismen dan wordt het soortsbegrip een stuk gecompliceerder. Omdat we in de wetenschap graag weten waar we over praten zijn er vele pogingen gedaan om het begrip soort te definiëren. Er zijn inmiddels tientallen soortskoncepten met verschillende uitgangspunten, vaak echter ook overlappend. Sommige soortskoncepten zijn slechts toepasbaar op een beperkte groep van organismen; andere zijn zeer theoretisch en in de praktijk niet te gebruiken. Met name bij de meer theoretische concepten lijkt men er vanuit gegaan te zijn dat de evolutie leidt tot groepen van nauw verwante organismen met gemeenschappelijke kenmerken die men kan onderscheiden van andere zulke groepen; de definities pogen dan een sleutel te geven om deze groepen te herkennen. In de evolutietheorie ontstaan soorten echter uit elkaar en dus zijn zowel in tijd als vaak ook in ruimte geen scherpe grenzen te trekken. Criteria die in sommige soortskoncepten gebruikt worden om soortsgrenzen te bepalen zijn in de praktijk onbruikbaar of leiden tot ongewenste groepen. Bijvoorbeeld vaststellen van kruisbaarheid (biologische soortskoncept) is onpraktisch en vaak onmogelijk; in het geval van vegetatief voortplantende organismen zou men wellicht elk individu de status van soort moeten geven. Een benadering die de evolutie en onze wens om soorten te onderscheiden bij elkaar brengt is de polyfasische taxonomie, die genetische (evolutie) en phenetische (praktijk) kenmerken combineert om soorten te onderscheiden. Zo kunnen we met behulp van DNA technieken de verwantschappen van organismen vaststellen terwijl praktische eigenschappen de grenzen van de soorten mede bepalen. Voorbeeld: isolaten van *Phytophthora porri* van prei en kool zijn morfologisch vrijwel gelijk. DNA onderzoek toont aan dat isolaten van dezelfde waard-

KNPV - WERKGROEP

plant (vrijwel) identiek zijn terwijl isolaten van prei nauw verwant zijn aan die van kool maar wel consistent verschillend. Bij pathogeniteitstesten blijken de isolaten waardplantspecifiek; m.a.w. ook al zouden ze nog kunnen kruisen dan zullen ze dat in de natuur niet doen omdat ze niet bij elkaar komen. Deze combinatie van gegevens vormt voldoende basis om beide groepen één aparte specifieke status toe te kennen. Een vergelijkbare situatie werd aangetroffen in de morfologische soort *P. megasperma*, waarin moleculaire subgroepen werden gevonden die correspondeerden met waardplantspecificiteit. Een geheel ander geval is *Pythium insidiosum*, een pathogeen voor zoogdieren. Binnen deze soort werden groepen gevonden met relatief grote verschillen in ITS sequenties. Wat betreft morfologie en pathogeniteit werden geen verschillen waargenomen zodat het voorsnog niet zinvol lijkt deze groepen de status van soort toe te kennen, hoewel dat op grond van DNA verschillen wel gerechtvaardigd lijkt te zijn.

Geleide bestrijding van *Pythium*; twee jaar praktijkervaring

B. Groen,

Groen Agro Control, De Vries van Heijstplantsoen 2,
2628 RZ Delft

Bij de teelt op kunstmatige substraten zoals steenwol, agrofoam en andere substraten, blijkt dat problemen met wortelpathogenen groot kunnen zijn. *Pythium* is een van de schimmels die in de meeste groentegewassen aanzienlijke uitval en oogstreducties kan veroorzaken. Telers hebben vaak te maken met planten die binnen enkele weken na het planten worden aangetast. In het algemeen wordt de aantasting te laat gesignaleerd. Voor de oudere gewassen wordt dan ook een bestrijdingsschema voor het wortelmilieu aangehouden.

Hypothese

Door vroegtijdige signalering van wortelpathogenen voordat plantsymptomen worden waargenomen ontstaat de mogelijkheid om tijdig een gerichte bestrijding uit te voeren.

In 1999 en 2000 is door Groen Agro Control een praktijkonderzoek uitgevoerd naar de mogelijkheden van geleide bestrijding van wortelpathogenen in de teelt van tomaat, komkommer, paprika en roos. Dit project werd gefinancierd door LTO. Gedurende de teelt werden drainwater en wortels van de gewassen onderzocht op de aanwezigheid van een aantal wortelpathogenen waaronder: *Pythium*, *Phytophthora*, *Verticillium*, *Fusarium*, *Cylindrocarpon*, *Cylindrocladium* en de onschadelijke schimmels *Trichoderma*, *Penicillium*, *Glio-*

cladium en *Aspergillus*. Tevens zijn *Pseudomonas*-soorten en totaal kiemgetal bepaald.

Resultaten met betrekking tot *Pythium*

Er bleken grote onderlinge verschillen te bestaan tussen de bedrijven. Op een aantal bedrijven werd *Pythium* vanaf het begin van de teelt aangetoond en op andere bedrijven werd na 2 tot 3 maanden nog steeds geen *Pythium* aangetoond.

Uit dit onderzoek is gebleken dat *Pythium* niet altijd aanwezig is en dat bij voldoende hygiënische maatregelen tijdens de opkweek van jonge planten en ook tijdens het vervolg van de teelt de infectiedruk door *Pythium* in de hand is te houden. Wanneer de infectiedruk steeg werd er een bestrijding tegen *Pythium* uitgevoerd. Na de bestrijding werd in de meeste gevallen nog steeds *Pythium* aangetoond echter de algemene indruk was, dat de plantaantasting door *Pythium* bij vroegtijdige signalering bij alle gewassen duidelijk minder was dan in de vorige teelten. *Pythium* bleek bij de onderzochte teelten pleksgewijs voor te komen.

In dit onderzoek is niet direct een verband tussen de aanwezigheid van antagonisten en *Pythium*-aantasting aangetoond.

Conclusies

De detectielimieten van de metingen waren voldoende laag. Voordat bovengrondse symptomen zichtbaar waren, werden regelmatig wortelpathogenen vroegtijdig aangetoond. In bepaalde perioden werden zelfs geen bestrijdingen uitgevoerd, terwijl dit met de traditionele teeltmethode wel het geval geweest zou zijn. Door het nemen van de juiste hygiënische maatregelen bij de opkweek van plantmateriaal kan de periode tot een eerste aantoning van *Pythium* worden verlengd en kan de periode waarin geen of nauwelijks schadelijke schimmels aanwezig zijn met een gerichte en effectieve bestrijding worden verlengd. Schoon uitgangsmateriaal is dus zeer belangrijk.

Geleide bestrijding in het wortelmilieu door vroegtijdige analyse van wortelpathogenen en een effectieve bestrijding biedt daarom zeer goede perspectieven met betrekking tot:

1. bestrijding op het juiste moment
2. toepassing van het juiste middel, vaak wordt op basis van uiterlijke symptomen een bestrijding uitgevoerd waardoor onjuiste middelen worden ingezet.
3. reductie van middelengebruik.
4. verlenging van perioden zonder bestrijding
5. minder stress voor de plant

Elzenziekte: recente ontwikkelingen in de Europese lidstaten

C. van Dijk¹ en H. de Gruyter²

¹ Nederlands Instituut voor Oecologisch Onderzoek (NIOO – CTO), postbus 40, 6666 ZG Heteren

² Plantenziektenkundige Dienst (PD), postbus 9102, 6700 HC Wageningen

In 1994/1995 werd door de Forestry Commission in Engeland alarm geslagen in verband met grootschalige sterfte van de Zwarte els (*Alnus glutinosa*) langs verschillende rivierlopen in Engeland (Gibbs, 1995). De ziekteverwekker bleek een onbekende *Phytophthora* te zijn, morfologisch verwant aan *Phytophthora cambivora* en voorlopig aangeduid als de 'Elzen-*Phytophthora*'. Spoedig bleek dat deze elzenziekte ook optrad in Duitsland, Frankrijk en Zweden. In Nederland werd in 1994 de Elzen-*Phytophthora* aangetroffen in de bodem van broekbossen in 'De Beulaker Wieden', echter zonder expressie van typische ziektesymptomen bij de elzen.

In 1997 kreeg de coördinatie van onderzoek naar elzenziekte binnen West Europa een formeel karakter dankzij een driejarige 'Concerted Action' financiering van de Europese Gemeenschap. In deze Concerted Action met de werktitel '*Phytophthora* disease of alder', zijn de meeste EU lidstaten vertegenwoordigd, met uitzondering van de meest zuidelijke landen.

Tot de taken van deze onderzoeksgroep behoort het in kaart brengen van ziektegevallen, het isoleren en identificeren van *Phytophthora* isolaten, het vervolgen van de ziekteontwikkeling in geselecteerde bestanden en het ontwikkelen en afstemmen van methodieken van onderzoek (De Gruyter & Van Dijk, 1999). Eco-logisch onderzoek is onder andere gericht op milieufactoren die van invloed zijn op de ziekteontwikkeling.

Recente ontwikkelingen werden besproken tijdens de jaarlijkse bijeenkomst in Engeland (Stourport, Juni 2000). Tabel 1 geeft een overzicht van de ziektever-spreiding in Europa sedert 1993. Recente uitbreiding van elzenziekte werd gemeld vanuit de meeste landen die al enige jaren elzenziekte kennen. Relatief sterke uitbreiding van elzenziekte werd gemeld van enige riviersystemen in Beieren. Hierbij zouden ook besmettingen van lokale boomkwekerijen betrokken zijn.

Een beperkte toename van het al omvangrijke aantal ziektelocaties werd gemeld van Engeland en Frankrijk. Opvallend was de eerste waarneming van elzenziekte in België langs verschillende rivierlopen.

In Scandinavië zijn de meldingen beperkt tot Zweden.

Tabel 1. Ontwikkeling van Elzenziekte in Europa, periode 1993-2000.

Land	Omvang ziekte 93 t/m 99	Eerste melding van ziekte	Toename 99/00
Engeland	++++*)	1993	++
Duitsland	++++	1995	+++
Frankrijk	++++	1996	++
België	+	1999	++
Nederland	-**)	2000	+
Oostenrijk	+	1996	-
Ierland	+	2000	+
Zweden	++	1996	+
Denemarken	-	-	-
Noorwegen	-	-	?***)
Finland	-	-	?

* : + een of enkele kleinere locaties; ++ meerdere kleine locaties; +++ meerdere grote en kleine locaties; ++++ >25 grote en kleine locaties, verspreid.

** : het archief Plantenziektenkundige Dienst Wageningen vermeldt 4 *Phytophthora* isolaties van zieke elzen, allen van windhagen (1983: Limburg, 1 herkomst onbekend; 1991: Goes; 1992: Nijmegen). Het isolaat Nijmegen 1992 kon in 1995 alsnog als Elzen-*Phytophthora* worden geïdentificeerd. De overige isolaten zijn niet meer aanwezig.

*** : in onderzoek.

Het aldaar aangetroffen type Elzen-*Phytophthora* wijkt enigszins af van het 'standaardtype' dat algemeen verspreid is in Europa. Een derde type aangeduid als de 'Dutch variant' werd aangetroffen in de collectie van de PD uit 1992, maar ook in de bodem van natuurre-servaat 'De Beulaker Wieden' in 1994 door C. van Dijk. DNA sequentie analyses (Brasier et al., 1999) en isozymanalyses (W. Man in 't Veld, PD Wageningen) moeten duidelijkheid geven over de onderlinge relaties tussen deze 'varianten'. Inmiddels is vastgesteld dat het 'standaardtype' natuurlijke hybriden bevat, hetgeen het ontstaan van een nieuwe gastheerspecificiteit zou kunnen verklaren. Het optreden van natuurlijke hybriden verklaart echter slechts gedeeltelijk de in Europa waargenomen verscheidenheid van de Elzen-*Phytophthora*.

Voor alle Elzen-*Phytophthora*'s geldt dat ziekte-expressie alleen binnen het geslacht *Alnus* wordt waargenomen.

Het ontstaan van ziekte lijkt gerelateerd aan het voorkomen van infectiebronnen in combinatie met stressfactoren. Bij verspreiding speelt het oppervlaktewater een belangrijke rol.

In Nederland werd deze zomer het eerste duidelijke geval van elzenziekte in natuurlijke omgeving waargenomen. Het betreft een elzenbroekbos van hoge natuurwaarde in Limburg. De stressfactor ter plaatse hangt vermoedelijk samen met recente hydrologische maatregelen.

Gezien de ontwikkeling in omliggende landen kan ook in Nederland uitbreiding van elzenziekte worden verwacht.

Literatuur

- Brasier, C.M., Cooke D.E.L. & J.M. Duncan (1999). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 5878-5883.
 Gibbs, J.N. (1995) EPPO Bull. 25, 661-664.
 Gruyter de, J. & C. van Dijk (1999) Tuin en Landschap 10: 60-61.

Opsporen van schimmelpathogenen met een waardplant-specifiek DNA membraan

M. Maes, S. van Pottelberge en G. Jamart

Centrum Landbouwkundig Onderzoek, Departement Gewasbescherming, Merelbeke, België

Opsporen en identificeren van plantpathogene schimmels is een gespecialiseerde en uitgebreide activiteit in het diagnostisch laboratorium. Naast de ziektediagnose is het in specifieke gevallen zeer nuttig de ziekteverwekkers ook reeds preventief op te sporen, zoals in de voedingsoplossingen van gesloten teeltsystemen of in symptoomloos plantenmateriaal voor propagatie of handel.

We ontwikkelen een moleculaire strategie waarbij in

één enkele test uitspraak kan gedaan worden over een besmetting met een van de belangrijke schimmelpathogenen. We werken volgens het principe van de 'reverse dot blot hybridisatie'. Er wordt een diagnoses-trip aangemaakt waarop DNA fragmenten gebonden zijn die specifiek zijn voor de verschillende schimmelpathogenen van de waardplant. DNA bereid uit besmet testmateriaal bindt alleen op de corresponderende specifieke schimmelspot op het membraan. De diagnose of detectie gebeurt rechtstreeks op het teststaal, zonder dat de schimmel opgekweekt wordt. De ontwikkelde methode is gebaseerd op ribosomale DNA sequenties van schimmels, PCR en niet-radioactieve probesynthese. Zowel enkelvoudige als meervoudige schimmelproblemen kunnen in deze test geduid worden.

De eerste detectiemembranen bevatten vooral de schimmelpathogenen van azalea. Tot 80% van de plantenmonsters binnengebracht in het DGB voor mycologisch onderzoek bestaat immers uit azalea. Hierdoor kunnen verse en goed geïdentificeerde schimmelstammen in de testen gebruikt worden. Vooral *Phytophthora* en *Pythium* zijn economisch belangrijk. Ze zijn door hun zwemsporen speciaal goed aangepast voor verspreiding binnen gesloten teeltsystemen. Per schimmelsoort worden verschillende isolaten gespot op membraan. In bepaalde gevallen duidt de 'reverse dot blot hybridisatie' op sequentievariatie binnen de soort. Dit wordt bevestigd in rDNA-RFLP. Er zijn procedures ontwikkeld voor schimmeldetectie rechtstreeks in de plantenstalen. Binnen twee dagen kan een actieve of latente schimmelziekte opgespoord worden in een klein takstaaltje van azalea, daar waar de klassieke diagnose tot twee weken vraagt.

Termenlijsten

De KNPV heeft in de afgelopen decennia verschillende termenlijsten uitgegeven. Een aantal van deze lijsten zijn (zolang de voorraad strekt) nog te bestellen voor f 25,- per exemplaar.

Lijst van gewasbeschermingskundige termen (1998)

Nederlandse namen van planteziekten bij bloembolgewassen (1987)

Nederlandse namen van de belangrijkste insecten en mijten schadelijk op land- en tuinbouwgewassen (1987)

Nederlandse namen van planteziekten voorkomend in de 'EPPO-recommendations on new quarantine measures, 1982 (1988)

Lijst van officiële Nederlandse namen van plantevirussen -viroïden (1995)

Nederlandse namen van planteziekten bij groentegewassen (1987)