

# Consultancy: Verkendend onderzoek naar Elsinoë in Roos

A.P. (Arjan) Smits M.Sc, P. Vink, ing. K.T.K. Pham & ing. P. (Pieter) van Dalssen

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving  
Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit  
PPO nr: 32 361382 00/ PT nr:14216.10  
Lisse, december 2011

© 2011 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)

Alle intellectuele eigendomsrechten en auteursrechten op de inhoud van dit document behoren uitsluitend toe aan de Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO). Elke openbaarmaking, reproductie, verspreiding en/of ongeoorloofd gebruik van de informatie beschreven in dit document is niet toegestaan zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van DLO.

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

Deze uitgave is samengesteld binnen het door het PT gefinancierde project Consultancy voor de Boomkwekerij.

DLO en Productschap Tuinbouw zijn niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

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

---

Projectnummer PPO : 32 361382 00

Projectnummer PT : 14216.10

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

Adres : Prof. Van Slogterenweg 2, 2161 DW Lisse  
: Postbus 85, 2160 AB Lisse  
Tel. : 0252 - 46 21 21  
Fax : 0252 - 46 21 00  
E-mail : [infobomen.ppo@wur.nl](mailto:infobomen.ppo@wur.nl)  
Internet : [www.ppo.wur.nl](http://www.ppo.wur.nl)

# Inhoudsopgave

	pagina
SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING .....	7
2 AANPAK .....	9
3 RESULTATEN .....	11
3.1 Inventarisatie.....	11
3.2 Diagnostiek .....	12
3.3 Moleculaire analyse.....	13
3.4 Discussie .....	14
4 CERCOSPORA SPOT OF ROSE .....	15
4.1 Beheersmaatregelen.....	15
4.1.1 Preventie.....	15
4.1.2 Chemische bestrijding .....	15
4.1.3 Niet-chemische bestrijding.....	15
5 CONCLUSIES .....	17
6 LITERATUUR.....	19



# Samenvatting

De laatste jaren wordt er bij de eindgebruikers van rozen steeds meer aantasting gevonden van bladvlekken. Opmerkelijk hierbij is dat deze bladvlekken ook worden waargenomen bij rozen die zijn geselecteerd op ziektebestendigheid. De bladvlekken doen zich echter nog niet voor op kwekerijen waar fungiciden worden gebruikt. Het vermoeden bestond dat het hier ging om de Elsinoë schimmel: *Elsinoë rosarum*, welke zwarte vlekken op het blad veroorzaakt, waar na verloop van tijd de kern uitvalt (lijkt op hagelschot). Met behulp van deze consultancy is onderzocht of deze schimmel de oorzaak is van deze bladvlekken.

Er is ziek materiaal verzameld in een rosarium op een reeks van ADR en Toproos gecertificeerde cultivars. Deze cultivars zijn juist geselecteerd op lage gevoeligheid voor schimmelziekten.

Met behulp van diagnostiek, PCR analyse en sequentie analyse is vastgesteld dat de bladvlekken niet worden veroorzaakt door *Elsinoë rosarum*, maar waarschijnlijk door de schimmel *Cercospora rosicola* = *Mycosphaerella rosicola* [teleomorph].

Met een literatuurstudie is gekeken naar wat er bekend is over infectieroute en of er beheersingsstrategieën bekend zijn die risico's op schade verminderen en passen binnen de mogelijkheden van de eindgebruikers, dan wel als preventieve teeltmaatregelen kunnen worden toegepast, alsook de grootte van het probleem. Hieruit kwam naar voren dat deze schimmel wereldwijd wordt aangetroffen waardoor geen problemen kunnen worden verwacht voor export. Bij zware aantasting kan grote schade ontstaan door bladverlies.

De verspreiding van sporen en conidia is waarschijnlijk door de wind, waterspetters en contactoverdracht. Om verspreiding en aantasting te voorkomen wordt een aantal preventieve maatregelen geadviseerd.

Er zijn verschillende fungiciden bekend die *Cercospora* op roos bestrijden. Ook zijn een reeks van gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong (G.N.O.'s) bekend die verwante schimmels bestrijden. Met deze middelen is echter nog geen ervaring op roos in relatie tot deze specifieke schimmel. Hiervoor is verder onderzoek wenselijk.

De vraag die overblijft is of de eindgebruikers bereid zijn GNO's of chemische bestrijdingsmiddelen toe te passen of dat verdere selectie van rozen noodzakelijk is waarbij ook gevoeligheid voor deze schimmel wordt meegenomen.



# 1 Inleiding

In de bestuursvergadering van de Cultuurgroep Rozen en Rozenonderstammen van 9 februari 2011 gaf de keurmeester van de Naktuinbouw (adviseur voor het bestuur van deze cultuurgroep), dhr. Jan Thielen aan dat hij de laatste jaren steeds meer schade vindt door bladvlekken in rozen bij belangrijke eindgebruikers, namelijk in gemeentelantsoen, particuliere tuinen en Rosaria. Het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen is daar niet toestaan of gewenst. Volgend dhr. Thielen ging het hier om de Elsinoë schimmel: *Elsinoe rosarum*. In het Engels heet de ziekte 'Rose Spot Anthracnose' omdat deze schimmel zwarte vlekken op het blad veroorzaakt, waar na verloop van tijd de kern uitvalt (lijkt op hagelschot). Dhr. Thielen gaf aan zich zorgen te maken over het vinden van deze aantasting in rozen die geselecteerd zijn op een lage ziektegevoeligheid (zonder gebruik van chemische gewasbescherming), nl. de Toprozen.

Opmerkelijk is dat deze schimmel van oudsher bekend is in de rozenteelt maar lange tijd geen problemen opleverde. Een waarschijnlijke verklaring hiervoor, is het gebruik van fungiciden op de kwekerij. Volgens dhr. Thielen komt de schimmel nog niet voor in de reguliere rozenteelt omdat daar de gebruikte fungiciden een nevenwerking zullen hebben.

Een groot deel van de afzetmarkt voor boomkwekerijproducten zoals gemeenten en particulieren wenst echter geen gebruik te maken van chemische gewasbeschermingsmiddelen. Rozen worden daarbij vaak gezien als lastig product door gevoeligheid voor schimmels als meeldauw, valse meeldauw, sterroetdauw en roest. Als reactie hierop is een keuringsstelsel opgezet waarbij rozen in Rosaria zonder chemische gewasbeschermingsmiddelen voor een minimumperiode van 3 jaar worden gevolgd en beoordeeld op uiterlijk. Plantgezondheid is hierbij een zeer belangrijk beoordelingscriterium. Indien een schimmel bladvlekken veroorzaakt op rozen die juist zijn geselecteerd op plantgezondheid is er een probleem aangezien een deel van het voordeel van het kiezen voor promotie en aanschaf van deze rozen verval. Indien deze schimmel zich uitbreidt kan dit de keuring- promotie- en afzetmogelijkheden beïnvloeden.

Het doel van deze consultancy is het achterhalen of de schimmel *Elsinoe rosarum* deze bladvlekken veroorzaakt en vervolgens de beheersmogelijkheden van deze schimmel op een rij te zetten.





## 2 Aanpak

Via deze consultancy is na diagnostiek van de ziekteveroorzaker van de ondervonden schade in de rozen d.m.v. een literatuurstudie achterhaald wat bekend is van de ziekteveroorzaker. Hierbij diende eerst bevestigd te worden of het hier daadwerkelijk gaat om de schimmel *Elsinoë*.

Met een literatuurstudie is gekeken naar wat er bekend is over infectieroute van de gevonden schimmel en of er beheersingsstrategieën bekend zijn die risico's op schade verminderen en passen binnen de mogelijkheden van de eindgebruikers, dan wel als preventieve teeltmaatregelen kunnen worden toegepast. Daarnaast zijn ook de ervaringen opgenomen van een beheerder van het Rosarium van Winschoten, die veel ervaring heeft met gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong (G.N.O.'s).



## 3 Resultaten

### 3.1 Inventarisatie

Op 9 augustus 2011 is een afspraak gemaakt bij De Rozenhof met dhr. Thielen. Dhr. Thielen is keurmeester boomkwekerijproducten bij Naktuinbouw, adviseur aan het bestuur van de Cultuurgroep Rozen en Rozenonderstammen en jurylid voor rozen bij de VKC (Vaste Keuring Commissie). De Rozenhof, in beheer van Stichting Rozendorp Lottum, is een rozentuin met een rozenkenniscentrum. De doelstelling van De Rozenhof in Lottum is meer bekendheid te geven aan de Nederlandse "Toproos" en de Duitse "ADR-roos" (ADR = Allgemeine Deutsche Rosenneuheitenprüfung), de rozen die in het Nederlandse respectievelijk het Duitse klimaat het allerbeste groeien en bloeien. Sinds 2009 is De Rozenhof compleet en maken alle Duitse ADR-Rozen deel uit van het assortiment. De rozen in De Rozenhof worden beheerd zonder gebruik te maken van chemische gewasbeschermingsmiddelen.

Tijdens dit bezoek kon dhr. Thielen makkelijk voorbeelden tonen van de rozen met bladvlekken waar het om ging (figuur 1). Van deze schade is een aantal foto's gemaakt, is plantmateriaal verzameld voor diagnostiek en is een inventarisatie gemaakt van de rozen waar deze bladvlekken op zijn gevonden.



Figuur 1: Betreffende bladvlekken op Red Leonardo da Vinci (ADR-roos)

Rozen in De Rozenhof waarop bladvlekken zoals op de foto zijn aangetroffen:

- 'Abrikoos Queen Elizabeth': Toproos
- 'Focus' (Noagut): Toproos
- 'Kosmos Fairy Tale' (Korprigoos): ADR-certificaat
- 'Lichtkönigin Lucia' (Korilub): ADR-certificaat
- 'Neon' (Korenon): ADR-certificaat
- 'Pink Blanket' (Wiljans): Toproos
- 'Poustinia' (Orybie): Toproos
- 'Red Leonardo da Vinci': ADR-certificaat
- 'Red Premonition': Toproos
- Klimroos - 'Eloïse'
- Klimroos - 'Toby Tristan'

Overigens moet hier wel bij gezegd worden dat ook andere rozen mogelijk gevoelig zijn voor deze schimmel, alleen is dat op die dag nog niet waargenomen.

## 3.2 Diagnostiek

Uit het verzamelde monstermateriaal zijn enkele blaadjes met bladvlekken voor referentie op detailfoto gezet zoals weergegeven in figuur 2.



Figuur 2: Detailfoto van blaadje met betreffende bladvlekken.

Een deel van het bladmateriaal is voorzichtig gewassen met steriel water en Tween en daarna nagespoeld met steriel water. Uit de blaadjes zijn uit de bladvlekken isolaties gemaakt op een algemene voedingsbodem + antibiotica om ongewenste groei van bacteriën te voorkomen. Het overige materiaal is weggezet bij -80 graden voor eventueel verdere analyse.

Uit de isolaties zijn de in figuur 3 weergegeven palet aan schimmel gegroeid. Deze schimmels zijn daarna microscopisch beoordeeld.

Uit de uitgegroeide schimmels zijn bekende bladvlekken veroorzakende schimmels op de voedingsbodem gevonden als *Alternaria* sp. en *Colletotrichum capsici*. Bij de microscopische determinatie zijn verder conidia gevonden die qua structuur overeenkomen met de beschrijving van *Cercospora rosicola* in Compendium of Rose Diseases and Pests (Horst, 2007). Ook een in dit compendium getoonde foto (figuur 4) komt overeen met het shadebeeld van figuur 2.



Figuur 3: Op voedingsbodem ontwikkelde schimmels uit isolaten van de bladvlekken.



Figuur 4: foto uit Horst (2007) ter illustratie van *Cercospora* leaf spot (*C. rosicola*).

Aangezien het aantal op voedingsbodem geïsoleerde soorten schimmels groot was, kon niet met zekerheid de voor de bladvlekken primair verantwoordelijke schimmel worden aangewezen. Daarom is besloten om het monstermateriaal en een aantal geïsoleerde schimmels te karakteriseren middels moleculaire analyse.

### 3.3 Moleculaire analyse

Verschillende schimmels die waren geïsoleerd uit bladvlekken zijn middels DNA-technieken geïdentificeerd. Daarbij is het onderzoek speciaal gericht op in roos bekende bladvlekenschimmels te weten *Elsinoë rosarium* (Spot Anthracnose), *Pseudocercospora puderi* en *Cercospora rosicola* (Cercospora Spot of Rose).

De sequenties van genoemde soorten schimmels zijn nog niet beschikbaar in GenBank, daarom was het niet mogelijk om specifieke toetsen te ontwikkelen, maar zijn er generiekere primers ontworpen en toegepast. Deze primers zijn niet specifiek voor *Elsinoë* respectievelijk voor *Cercospora*, maar sluiten genetisch meer afwijkende schimmelfamilies uit en is daarmee een eerste selectiestap.

DNA van 4 stukjes blad (tot dan bewaard bij -80 °C) met vlekken en DNA van 4 geïsoleerde schimmeltypen van de voedingsbodems zijn gebruikt voor PCR toetsing met generieke primers voor *Elsinoë* soorten en *Cercospora* soorten. Dit leidde in enkele gevallen wel tot een reactie. Omdat deze primers mogelijk ook andere schimmels dan *Elsinoë* respectievelijk *Cercospora* aantonen, zijn de sequenties van de verkregen PCR producten bepaald. Deze zijn vergeleken met aanwezige sequenties in de GenBank.

Hieruit kwam naar voren dat *Elsinoë* niet gevonden is. Wel waren er in 2 isolaten sterke overeenkomsten met *Mycosphaerella* sp./ *Ramularia* sp.. Het derde isolaat had overeenkomst met *Pleosporales* sp./ *Alternaria* sp. En een vierde isolaat had overeenkomst met *Pilidiella* sp.

NB: *Cercospora rosicola* [anamorph]= *Mycosphaerella rosicola* [teleomorph].

### 3.4 Discussie

Uit het diagnostisch onderzoek is naar voren gekomen dat de bladvlekken in het onderzochte monstermateriaal niet veroorzaakt zijn door *Elsinoe rosarum*. Zowel visueel als moleculair kon deze schimmel niet gevonden worden. In het traditionele diagnostiekwerk als via moleculaire diagnostiek zijn wel andere schimmels aangetroffen:

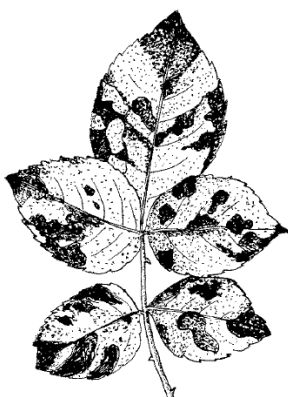
Visuele determinatie:

- *Alternaria* sp.
- *Colletotrichum capsici*
- *Cercospora rosicola*

Moleculaire determinatie:

- *Mycosphaerella* sp./ *Ramularia* sp.
- *Pleosporales* sp./ *Alternaria*
- *Pilidiella* sp.

Het is niet waarschijnlijk dat de schimmels *Colletotrichum*, *Pilidiella* en *Pleosporales* sp. de veroorzaker van deze bladvlekken zijn, aangezien deze er niet om bekend staan dat ze dergelijke symptomen op bladeren veroorzaken. Er blijven dan twee kandidaten over, namelijk *Cercospora* (anamorph van *Mycosphaerella*) of *Alternaria*. In de literatuur wordt gemeld dat *Alternaria* bladvlekken kan veroorzaken in *Rosa damascena* (Rajderkar, 1966), maar de bladvlekken zijn uiteindelijk grilliger en groter van vorm (figuur 5). De symptomen lijken het meest op bladvlekken veroorzaakt door *Cercospora rosicola*. Het is daarom meest aannemelijk dat deze schimmel de daadwerkelijke veroorzaker is van de gevonden bladvlekken.



Figuur 5. Schets van symptomen van *Alternaria*-bladvlekken op *Rosa damascena*. (Rajderkar, 1966)

## 4 Cercospora spot of rose

Ervan uitgaand dat de bladplekken door de schimmel *Cercospora rosicola* is veroorzaakt, is er over deze schimmel informatie verzameld.

De schade van deze schimmel met Engelse naam: Cercospora spot of rose (anamorph *Cercospora rosicola*/teleomorph *Mycosphaerella rosicola*) wordt beschreven als: ronde vlekken 1-4 mm in diameter dat samenklontert tot paars of roodbruine vlekken met lichtbruine, bruin of grijze centra. Overlevingsstructuren (perithecia) worden in afgevallen bladeren gevormd (Horst, 2007). Een zware aantasting kan leiden tot totaal bladverlies en kan op die manier aanzienlijke schade veroorzaken. De verspreiding is waarschijnlijk door de wind, waterspeters en contactoverdracht van sporen en conidia. De schimmel is gevonden in: Afrika, Azië, Australië en Europa (CAB International, 1998)

### 4.1 Beheersmaatregelen

#### 4.1.1 Preventie

Het algemene beheersadvies voor bladplekkenziekten is de bladnatperiode zo kort mogelijk te laten zijn. Verruimen van de plantafstand kan hierbij helpen. Van Abeelen (2010) geeft aanvullend als algemeen preventief advies:

- Gebruik gezond uitgangsmateriaal
- Verwijder aangetaste planten
- Laat het gewas vóór de nacht opdrogen, geef alleen 's morgens water.
- Geef onderdoor water

Ervaring met gerelateerde schimmels in andere gewassen geeft aanwijzingen voor mogelijke preventieve beheersmaatregelen. Opruimen van bladresten bleek belangrijk tegen *Mycosphaerella* in kool (Vlaswinkel, 2003). Voldoende stikstofbemesting gaf minder *Cercospora* aantasting in *Lagerstroemia indica* (Hagan, 2010).

#### 4.1.2 Chemische bestrijding

Van Abeelen (2010) geeft voor *Cercospora* een redelijke werking van de middelen Daconil en middelen met werkzame stof maneb (Trimangol/ Vondac DG). Volgens de website van Syngenta werken de middelen Ortiva, Switch en Tilt tegen *Cercospora*. Bladplekken in *Tilia* veroorzaakt door een *Cercospora*-schimmel werden aanvullend preventief bestreden met Flint en curatief bestreden met Folicur (Van der Sluis, 2006). Het is zeer aannemelijk dat ook producten van andere fabrikanten effectief zijn tegen deze schimmel.

#### 4.1.3 Niet-chemische bestrijding

Aangezien de problemen met deze schimmel zich vnl. voordoen bij eindgebruikers die geen chemische gewasbeschermingsmiddelen mogen/willen gebruiken, is gezocht naar alternatieve bestrijdingsmethoden. Hierbij is alleen literatuur gevonden van niet-chemische bestrijding van *Cercospora* dan wel *Mycosphaerella* schimmels in andere gewassen dan roos. Ervaring met gerelateerde schimmels in andere gewassen geeft aanwijzingen voor mogelijke biologische bestrijding.

In komkommer werd Enzicur (een natuurlijk fungicide van Koppert of BASF) genoemd als mogelijke bestrijder van *Mycosphaerella* (Hofland-Zijlstra, 2010). In suikerbiet is onderzoek gedaan naar gisten en een bacterie als biologische bestrijding van *Cercospora*. De gisten *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia albicans* en *Candida sake* alsook bacteriepreparaat Rhizo-N (*Bacillus subtilis*) hadden een positief effect (Ziedan, 2011). Ook essentiële oliën uit *Citrus* hadden een positief effect tegen *Cercospora* op suikerbiet (Fatouh, 2011)

UV-C belichting geeft volgens de literatuur een goede remming (95%) van de groei van *Mycosphaerella* sporen. De toepassing in de praktijk stuit echter nog op problemen van een geschikte toedieningstechniek die weinig extra arbeid vergt, voldoende de besmette plekken kan raken en een dosering afgeeft die wel effectief sporen bestrijdt, maar geen plantschade geeft (Hofland-Zijlstra, 2010).

Het rosarium van Winschoten past diverse biologische producten preventief toe en heeft naar eigen zeggen nauwelijks last van bladvlekken in roos. Producten die worden toegepast zijn o.a. Algeco en Vital van Ecostyle en daarnaast bitterzout. Er is echter geen ervaring met de in dit rapport onderzochte bladvlekken.



## 5 Conclusies

- De bladvlekken op roos worden niet veroorzaakt door *Elsinoe rosarum*, maar hoogstwaarschijnlijk door *Cercospora spot of rose* (anamorph: *Cercospora rosicola*/teleomorph: *Mycosphaerella rosicola*)
- Deze schimmel wordt wereldwijd aangetroffen waardoor geen problemen kunnen worden verwacht voor export.
- Bij zware aantasting kan grote schade ontstaan door bladverlies.
- De verspreiding is waarschijnlijk door de wind, waterspetters en contactoverdracht van sporen en conidia.
- Om verspreiding en aantasting te voorkomen zijn een aantal preventieve maatregelen mogelijk, zoals verwijderen van afgevallen bladeren, voldoende stikstofbemesting. Ook een regelmatige bespuiting met bitterzout kan een sterker blad tot gevolg hebben.
- Er zijn verschillende fungiciden bekend die *Cercospora* in andere gewassen bestrijden. Vermoedelijk werken deze ook in roos.
- Ook zijn een reeks van gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong (G.N.O.'s) bekend die verwante schimmels bestrijden, zoals gisten, *Bacillus subtilis* en oliën uit citrus. Mogelijk dat Enzicur een werking heeft. Met deze middelen is echter nog geen ervaring op roos in relatie tot deze specifieke schimmel. Hiervoor is verder onderzoek wenselijk.

De vraag die overblijft is of de eindgebruikers bereid zijn GNO's of chemische middelen toe te passen of dat verdere selectie van rozen noodzakelijk is waarbij ook gevoeligheid voor deze schimmel wordt meegenomen. Met andere woorden: "Moet de Toprozen keuring worden aangepast aan de gevoeligheid voor deze bladvlekkenziekte?"



## 6 Literatuur

- Abeelen, E. van, W. Dorresteijn (red.) 2010  
Gewasbescherming Boomteelt en Vaste Plantenteelt 2010. DLV Plant
- CAB International, 1998  
CMI Description of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 990.
- Hagan, A.K. 2010  
Cercospora Leaf Spot and Growth of Crapemyrtle as Influenced by Nitrogen Rate.  
Alabama Agricultural Experiment Station. Bulletin 673
- Hofland-Zijlstra, J.D., L.M.A. van Genuchten, A.J. Dik, 2010  
Grip op Mycosphaerella in komkommer. PPO, DLV-Plant & Adviesbureau Aleid Dik
- Horst, R.H., R.A. Cloyd, 2007  
Compendium of Rose Diseases and Pests. The American Phytopathological Society.  
P25-27
- Sluis B. van der, F. van Kuik, 2006  
Blast- en vlekziekte in Tilia: laat je niet verrassen! Vakblad De Boomkwekerij (36): 16-17
- Stolk, T., 2006  
Biomiddelen beschermen rozen tegen schimmelziekten. Tuin & Landschap (8): 48-49
- Rajderkar, N.R., 1966  
A new record of Alternaria on Rosa damascena Mill. Mycopathologia et Mycologia Applicata (1966)  
28: 297-300.
- Vlaswinkel, M., R. Meijer, H. Schepers, 2003  
Preventieve maatregelen ter voorkoming van initiële infectiebronnen. PPO.
- Ziedan, E.H.E., E.S.H. Farrag, 2011  
Application of yeasts as biocontrol agents for controlling foliar diseases on sugar beet  
Plants. Journal of Agricultural Technology 2011 Vol. 7(6): 1789-1799