

KNPV werkgroep Botrytis

Bijeenkomst 18 september 2002 PPO Bomen, Boskoop

Op deze jaarlijkse bijeenkomst waren zestien onderzoekers aanwezig. Hieronder zijn bijgevoegd de samenvattingen van zeven presentaties.

Botrytis problems in hardy ornamentals

Fons van Kuik and Sabine Böhne

*Praktijkonderzoek Plant & Omgeving Bomen, Boskoop,
Expertisegroep Gewasbescherming*

Botrytis cinerea causes blight of flowers, leaves, and shoots and decay of fruit of hundreds of woody and herbaceous plant species world-wide. *B. cinerea* is most prevalent in humid areas, colonising dead vegetable matter and attacking living tissues predisposed by poor nutrition, low light intensity, low temperature, prolonged succulence, senescence, or toxic chemicals. The fungus often colonises dead plant parts first and then spread into living ones. Strains of *B. cinerea* that attack woody plants show no host specificity. They cause diseases including twig, flower and seedling blight and stem canker. Coniferous seedlings in dense seedbeds are subject to leaf and shoot blight. Dark lesions on succulent shoots commonly develop at the bases of killed needles and may then girdle the shoots. *B. cinerea* also causes storage mold and rot of many kinds of woody horticultural plants and forest tree seedlings. On dormant nursery stock in storage, the pathogen kills bark and cambium, causing them to become brown and mushy. Latent infections are common in many plants.

Botrytis cinerea flourishes where air is moist and stagnant. The climate events likely to promote blight are a warm period in early spring, causing growth to begin, then cool humid weather, which prolongs succulence in developing leaves and shoots. Frost damage, whether it kills or only weakens plant tissues, also set the stage for attack, especially if followed by wet weather. A few days of warm dry weather will prevent or check the disease.

Although plants vary in susceptibility to *B. cinerea*, no resistance is known in either woody or herbaceous plants.

Botrytis blight can be prevented, or losses can be minimised, by any measure that prevents plant stress or promotes air circulation and helps keep plant surfaces dry.

In general, growers rely heavily on fungicides to control *Botrytis* diseases. Chemicals registered for use against *Botrytis* in nursery stock are: thiram, tolylflu-anide and the dicarboximides iprodion, vinchlozolin and procymidon. For developing anti-resistance strategies new fungicides are desirable. At Applied Plant Research Nursery Stock a range of fungicides, natural disease control products and microbials is tested to control grey mould in cuttings.

Most of the natural products tested were not effective against *Botrytis* neither were the biologicals. Unfortunately, the antagonist *Ulocladium atrum* could not be tested, thus far.

In the new crop protection programme, 2002- 2004, there seems to be an opportunity to test the microbials *Ulocladium*, *Aureobasidium*, and *Pseudomonas* or their combinations in cuttings of hardy ornamentals.

Epidemiologie van Botrytis paeoniae in pioenroos

Jos Wubben, Dik Krijger, Ineke Bosker

*Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Sector Glastuinbouw,
Aalsmeer*

In de teelt van pioenroos wordt veel schade veroorzaakt door de plantpathogene schimmels *Botrytis paeoniae* en *Botrytis cinerea*. In een vroeg stadium kunnen 'omvallers' ontstaan doordat de jonge bloemstelen aan de basis aangetast worden. In een later stadium worden bladeren en bloemknoppen aangetast. Tijdens langdurig natte omstandigheden kan de schade op een perceel oplopen tot wel 80%. Een zware aantasting van bovengrondse plantendelen levert tevens groeiremming op van het ondergrondse plantgedeelte (bulb) waardoor ook opvolgende jaren een verminderde productie geven.

Epidemiologisch onderzoek moet inzicht geven in maatregelen die genomen kunnen worden om aan-

tasting te verminderen. Hiervoor is op een praktijklocatie het verloop van een natuurlijke aantasting gevolgd waarbij extra aandacht uitging naar mogelijke besmettingsbronnen. Omvallers zijn vroeg in het seizoen zichtbaar (eind maart) zodra de stengel boven de grond uitgroeit. De oorspronkelijke besmetting van omvallers zit vaak vlak boven de uitgroei uit de bulb. Dit duidt op een besmetting vanuit de grond. Met het verloop van de aantasting worden op de zieke stengelbasis conidiën gevormd welke door luchtverplaatsing verspreid worden. Lage aantallen *Botrytis* sporen worden al vanaf eind maart in de lucht aangetroffen. Met name wanneer de temperatuur hoger wordt in combinatie met een hogere luchtvochtigheid, worden zeer veel *Botrytis* sporen in de lucht gevonden. Deze kunnen onder vochtige omstandigheden bovengrondse delen van de plant aantasten. Bij het afsterven van het aangetaste materiaal aan het einde van het teeltseizoen kunnen veel sclerotia gevormd worden die in de grond kunnen overblijven. Deze zouden in het volgende jaar aantasting van jonge knoppen teweeg brengen. Nader onderzoek moet uitwijzen of dit daadwerkelijk het geval is.

Dit najaar en komend voorjaar wordt op een aantal praktijkpercelen de effectiviteit van teeltmaatregelen onderzocht. Het gaat hier met name om maatregelen gericht om het aangetaste plantmateriaal te verwijderen of te vernietigen. Daarnaast worden de mogelijkheden van een waarschuwingssysteem voor bestrijding van *Botrytis* in pioenen onderzocht

Bestrijding van *Botrytis* in aardbeien met de hulp van een BOS, gericht op BoWaS

Johan Wander¹, Pascal Wanten² en Roeland Kalkdijk¹

¹PPO-agv, Lelystad

²PPO-agv Meterik

In 2000 is PPO-agv begonnen met het valideren van een aantal beslissingsondersteunende systemen voor de bestrijding van *Botrytis* in aardbeien. Tot en met 1999 werd door het FPO in samenwerking met Opticrop het model voor de bestrijding van *Botrytis* in bloembollen aangepast aan aardbeien. In het huidige onderzoek ligt bij dit model (BoWaS) het zwaartepunt. In 2000 en 2001 werden ook een BOS van Dacom en DLV (inmiddels overgenomen door WeerOnline) getest.

Voor de acceptatie van een BOS door telers zal een systeem aan een aantal vereisten moeten voldoen.

Voor bij aardbeien gaat het bij telers (nog) niet om vermindering van de fungiciden input en moet het bestrijdingsniveau hoog zijn. In de afgelopen jaren is gebleken dat vermindering van het aantal bespuitingen op basis van een BOS leidt tot meer aardbeien met een aantasting door *Botrytis*. Voor de aardbeitelers is dit onaanvaardbaar. Bij gebruikmaking van een BOS moet de aantasting maximaal op hetzelfde niveau blijven. Per BOS moet daartoe bekeken worden wat een aanvaardbaar niveau de infectiekans waarbij een advies gegeven wordt om te spuiten.

Gebleken is ook dat de kennis over de werking van fungiciden in aardbeien onvoldoende is. De aardbeienbloem is het meest gevoelig voor infectie tijdens de bloei. Standaard wordt er van uitgegaan dat de werkingsduur van een fungicide zeven dagen is. Echter is een bloem in bloei ook beschermd als deze bloem enkele dagen eerder in het knopstadium bespoten is?

Voorts is er ook over de curatieve werking van enkele fungiciden onvoldoende bekend. Alleen Scala heeft een curatieve werking, maar de effectiviteit van dit middel valt in de praktijk tegen.

In de huidige Nederlandse BOS-en wordt geen rekening gehouden met het bloeiverloop van aardbeien en de gevoeligheid voor infectie in verschillende ontwikkelingsstadia van de bloei. Simulatie met een Italiaans model, waarin dit wel is ingebouwd, leverde een aantal interessante spuitmomenten op. Er kan van uitgegaan worden dat het bloeiverloop van aardbeien in Italië anders is dan in Nederland. Voor de uitbreiding van Nederlandse BOS-en met een bloeimodel zullen dus gegevens verzameld moeten worden.

***Ulocladium* is *Botrytis* een slag voor, maar nog niet praktijkrijp**

A. Evenhuis¹, E.T.M. Meekes², J.A.M. Wilms¹, M.P.J. Linssen¹, C.H. Lombaers² & J. Köhl²

¹Praktijkonderzoek Plant en Omgeving

²Plant Research International

Botrytis cinerea is de belangrijkste veroorzaker van vruchtrot in aardbei. De afgelopen jaren is bij het Praktijkonderzoek Plant & Omgeving (Horst) in samenwerking met Plant Research International het gebruik van *Ulocladium atrum* onder praktijkomstandigheden getoetst.

Kolonisatie van kroonbladeren door *B. cinerea* nam af gedurende de bloei. Bij de *U. atrum* behandeling was deze afname significant groter dan bij de onbehandelde controle en fungicide behandeling. Het uitein-

delijke percentage vruchtrot was bij de fungicide behandelingen het laagst. Ook behandelingen met *U. atrum* verminderden het percentage aangetaste vruchten significant; in sommige gevallen was de bestrijding even goed als bestrijding m.b.v. fungiciden (Tolyfluanide/ Iprodion).

De productie van klasse 1 aardbeien bij *U. atrum* behandeling bleef echter achter in vergelijking met het gebruik van fungiciden. Dit verschil is mogelijk te verklaren door een zware meeldauw aantasting in controle en *U. atrum* behandeling in tegenstelling tot de fungicide behandeling, Tolyfluanide heeft namelijk een nevenwerking op meeldauw. Chemische bestrijding en in mindere mate *U. atrum* verbeterden de houdbaarheid van aardbeien licht.

In biologische teelten zou *U. atrum* goed ingezet kunnen worden. In de geïntegreerde teelt is eveneens een plaats weggelegd voor *Ulocladium*, bijvoorbeeld in combinatie met bestrijdingsmiddelen. Ook als de omstandigheden voor chemische bestrijding ongunstig zijn, bijvoorbeeld een nat gewas af lichte regen, kan *Ulocladium* toegepast worden. Uitgezocht moet worden of effectiviteit van *Ulocladium* verbeterd kan worden door *Ulocladium* bespuitingen beter te timen met behulp van *Botrytis* waarschuwingssystemen. Verder zou optimalisering van spuittechnieken en toepassing in combinatie met ander biologische bestrijders de effectiviteit van *Ulocladium* kunnen verbeteren.

Endopolygalacturonases van *Botrytis cinerea*: karakteristieken in vitro

Geja Krooshof, Harry Kester, Kim Burgers en Jacques Benen

Microbiology/Fungal genomics, Wageningen Universiteit

Botrytis cinerea is een fytopathogene schimmel die grote problemen veroorzaakt in de teelt van economisch belangrijke gewassen zoals aardbei, rozen, bloembollen, druiven, kiwi, etc. Een essentiële stap in het infectieproces is de afbraak van de celwand van de plant. Om de plantencel te kunnen binnendringen, scheidt *Botrytis cinerea* een flink aantal celwand-afbrekende enzymen uit, waarvan zes endopolygalacturonases (BcPG's) de meest belangrijke lijken te zijn. Deze BcPG's zijn onlangs geïsoleerd en gekarakteriseerd om hun rol in het infectieproces nader te bepalen. Omdat de zuivering van de enzymen uit *B. cinerea* zelf erg lastig is, zijn gistcellen (*Pichia pastoris*) gebruikt om de BcPG's afzonderlijk van elkaar te pro-

duceren. De *P. pastoris* cellen maken de *Botrytis* enzymen aan na toediening van methanol. De enzymen zijn vervolgens gezuiverd en hun biochemische karakteristieken bepaald, zoals het pH optimum en substraat specificiteit. Ook is gekeken hoe de enzymen hun substraat (pectine) afbreken en welke producten uiteindelijk ontstaan. De resultaten laten zien dat de BcPG's verschillende eigenschappen hebben ondanks hun overeenkomstige eiwitsequenties. Ze vervullen elk een eigen rol tijdens infectie. Afhankelijk van de te infecteren plantensoort maakt *Botrytis* de gewenste PG's aan die de klus kunnen klaren.

Het volgende doel is om eiwitten te vinden die de activiteit van de polygalacturonases kunnen remmen, want die zouden een *Botrytis* infectie kunnen vertragen of zelfs volledig tegengaan. Het is reeds bekend dat planten zulke PG-remmende eiwitten kunnen bezitten. Mogelijk kunnen PG-remmers ooit worden ingezet in de bestrijding van *Botrytis cinerea* infecties, maar voordat het zover is, is nog veel onderzoek nodig.

De rol van endopolygalacturonases in het infectieproces van *Botrytis cinerea*

Ilona Kars, Lia Sibbel en Jan A.L. van Kan

Wageningen Universiteit, Laboratorium voor Fytopathologie

Tijdens het infectieproces van *Botrytis cinerea* wordt een groot aantal celwand-afbrekende enzymen uitgescheiden, waaronder zes endopolygalacturonases (BcPGs) en een pectine methylesterase (BcPME). Ten Have *et al.* (1998) liet zien dat de eliminatie van *Bcpg1* een reductie in virulentie veroorzaakte op drie verschillende waardplanten. De aanwezigheid van meerdere genen die elk voor celwand afbrekende enzymen coderen doet vragen rijzen over de exacte functie van zo'n set enzymen. Het is onze doelstelling om te weten te komen of elk van deze endoPG's én pectine methylesterase een specifieke functie hebben tijdens het infectieproces. Om dit te onderzoeken zijn mutanten gemaakt waarin elk van de individuele *Bcpg* en *Bcpcme* genen is uitgeschakeld. De keuze voor de genen is gebaseerd op een genexpressie studie, die hieraan vooraf ging. De virulentie van de verschillende *Botrytis cinerea* mutanten wordt momenteel getest op verscheidene plantensoorten. De eerste resultaten geven aan dat tenminste twee mutanten minder virulent dan de wildtype stam B05.10. De reductie in virulentie is zelfs sterker dan die van de *Bcpg1* mutant.

Beheersing van *Botrytis* spp., veroorzaker van 'vuur' in bolgewassen, met behulp van antagonistische micro-organismen

Marjan de Boer, Ineke Pennock-Vos

PPO sector Bloembollen, Lisse

Botrytis elliptica en *Botrytis tulipae* zijn de veroorzakers van vuur in respectievelijk lelie en tulp. Deze *Botrytis* soorten zijn verantwoordelijk voor een productie verlies tot 80% (afhankelijk van de cultivar). Om vuur te bestrijden worden relatief veel fungiciden toegepast (25-40 kilogram per hectare). In het kader van vermindering van afhankelijkheid van chemische bestrijdingsmiddelen wordt er bij PPO-Bloembollen in Lisse onderzoek gedaan naar effecten van antagonistische micro-organismen die vuur in tulp en lelie kunnen beheersen. In klimaatkast experimenten met tulp en lelie zijn een aantal antagonisten onderzocht op hun bestrijdende werking tegen *Botrytis*. Met na-

me een antibioticum producerende *Pseudomonas*-stam (beschikbaar gesteld door Jos Raaijmakers, Laboratorium voor Fytopathologie, Wageningen Universiteit) en een gist (beschikbaar gesteld door Aleid Dik, PPO-Glas) bleken effectieve beheersers van vuur in zowel tulp als lelie. Deze antagonisten zijn vervolgens ook in een veldexperiment onderzocht. Hierin bleken de antagonisten niet of nauwelijks vuur te beheersen.

Gezien de goede potentiële werking van een paar antagonisten zal in vervolgonderzoek de optimalisering van de werking onder veldomstandigheden van deze antagonisten een belangrijke rol spelen. Hiertoe zal het tijdstip van toediening, hechting aan het blad, (verlenging van) werkingsduur worden onderzocht. Daarnaast wordt onderzocht of de toepassing van antagonisten in combinatie met andere maatregelen zoals b.v. fungiciden en andere pesticiden, het *Botrytis* waarschuwingssysteem, plantdichtheid, N-bemesting, gewasrest-management leidt tot een goede vuurbestrijding met minder fungicide input. Het combineren van verschillende soorten maatregelen moet leiden tot de ontwikkeling van een biologische of geïntegreerde beheersstrategie van vuur.