

Verticillium-verwelkingsziekte in bomen: detectie, voorspelling van aantasting en beheersing van de ziekte

J.C. Goud

Op 19 september 2003 promoveerde Jan-Kees Goud aan Wageningen Universiteit op het proefschrift getiteld '*Verticillium wilt in trees. Detection, prediction and disease management*'. Promotor was Prof. Dr. Ir. A.H.C. van Bruggen en co-promotor Dr. Ir. A.J. Termorshuizen, beiden werkzaam bij de leerstoelgroep Biologische Bedrijfs-systemen. Dit onderzoek werd gefinancierd door het Productschap Tuinbouw en de Europese Commissie (Raamwerkprogramma 5, QLRT-1999-1523).

Inleiding

De bodemschimmel *Verticillium dahliae* is de oorzaak van verticillium-verwelkingsziekte in een groot aantal gewassen, zoals in Nederland aardappel, aardbei, chrysant, roos, tomaat en aubergine en in het buitenland onder andere olijf en katoen. In de boomteelt treedt de ziekte op in Noorse esdoorn, es, trompetboom en linde. In deze kapitaalintensieve teelt kan de financiële schade erg groot zijn. Dit komt doordat, bij geconstateerde besmetting, een teler of de teelt van zijn vatbare bomen moet staken, of een nieuwe locatie moet zoeken. De levenscyclus van *V. dahliae* wordt vooral gekenmerkt door de microsclerotieën, microscopisch kleine structuren met een diameter van ongeveer 0,05 mm. Deze kunnen wel tien jaar in de bodem overleven. Wanneer er een wortel van een waardplant langs een microsclerotium groeit, dan kiemt deze en kan de schimmel de plant infecteren. In de plant koloniseert de schimmel snel de houtvaten en verplaatst zich naar de stengel. Eenmaal in

de stengel, verstopt de schimmel de houtvaten, waardoor de plant watergebrek krijgt, verwelkt en tenslotte sterft. De vorming van toxinen door de schimmel kan verder bijdragen aan de ziektesymptomen. In afstervend weefsel vormt de schimmel weer nieuwe microsclerotieën.

Detectie van de schimmel in de bodem

Momenteel bestaan er geen efficiënte bestrijdingsmethoden voor *V. dahliae* in de boomteelt. In de praktijk is vruchtwisseling met onder andere onvatbare graangewassen het meest gebruikelijk, maar voor boomtelers bedrijfseconomisch onhaalbaar. Voor de boomteelt is het belangrijk om vóór de verwerving van de grond te weten of, en in welke dichtheden, er een besmetting met microsclerotieën van *V. dahliae* aanwezig is. Het aantonen en kwantificeren van deze microsclerotieën geschiedt doorgaans door de grond nat (met

behulp van water) of droog (met behulp van lucht) op een semi-selectief voedingsmedium te brengen. Microsclerotieën in het grondmonster groeien dan uit tot een kolonie en kunnen onder een microscoop worden geteld. Er bestaan veel kwantificeringsmethoden die gebaseerd zijn op dit werkingsmechanisme, maar die in de uitwerking (bijv. samenstelling van het voedingsmedium) sterk kunnen verschillen. De hoeveelheid *V. dahliae* die wordt aangetoond met deze verschillende methoden loopt dan ook sterk uiteen. In dit proefschrift werden verschillende kwantificeringsmethoden vergeleken. De reden van de verschillen in uitkomst bij natte uitplaatmethoden is niet duidelijk geworden. De meest bepalende factor bij droge uitplaatmethoden bleek de hoeveelheid grond per petrischaal te zijn. Voorts werden er verscheidene aanpassingen aan de natte en droge uitplaatmethoden onderzocht. Het is vooralsnog niet gelukt om een betere methode dan de bestaande te ontwikkelen.

Het morfologisch onderscheid tussen *V. dahliae* en *V. tricorpus*

Het herkennen van kolonies van *V. dahliae* in het semi-selectieve uitplaatmedium kan sterk worden

PROMOTIE

bemoeilijkt door de aanwezigheid van een andere *Verticillium* soort, *V. tricorpus*. Deze soort is echter onschadelijk voor bomen. Bij verkeerde identificatie zouden verkeerde conclusies kunnen worden getrokken omtrent de besmetting van een veld. De morfologie van beide schimmels werd daarom vergeleken op twee semi-selectieve uitplaatmedia. Op het meest gangbare medium (pectaat-agar) vormde *V. tricorpus* microsclerotia die iets groter zijn dan die van *V. dahliae* en waaraan bovendien soms donkere hyfen (schimmel-draden) zaten. Op het andere semi-selectieve uitplaatmedium (ethanol-agar) waren deze kenmerken grotendeels omgekeerd. De overvloedige aanwezigheid van de donkere hyfen bij *V. dahliae*, zoals die op ethanol-agar aanwezig bleken te zijn, is niet eerder beschreven. De morfologische kenmerken werden met succes toegepast voor de determinatie van praktijkisolaten als *V. dahliae*, dan wel *V. tricorpus*. Determinaties werden bevestigd m.b.v. moleculaire methoden.

Virulentie van verschillende groepen

De genetische samenstelling van isolaten van *V. dahliae* is niet uniform, hoewel *V. dahliae* zich uitsluitend ongeslachtelijk voortplant door middel van versmelting van hyfen. Er bestaan met betrekking tot deze versmelting verschillende groepen. Deze groepen worden vegetatief-compatibele groepen (VCG's) genoemd. Tussen isolaten van *V. dahliae* behorende tot dezelfde VCG kan versmelting plaatsvinden en tussen isolaten van verschillende VCG's niet. In de literatuur komen soms verschillen voor tussen VCG met betrekking tot virulentie op bepaalde gewassen. In dit proefschrift werd bekeken of dit ook gold voor een reeks



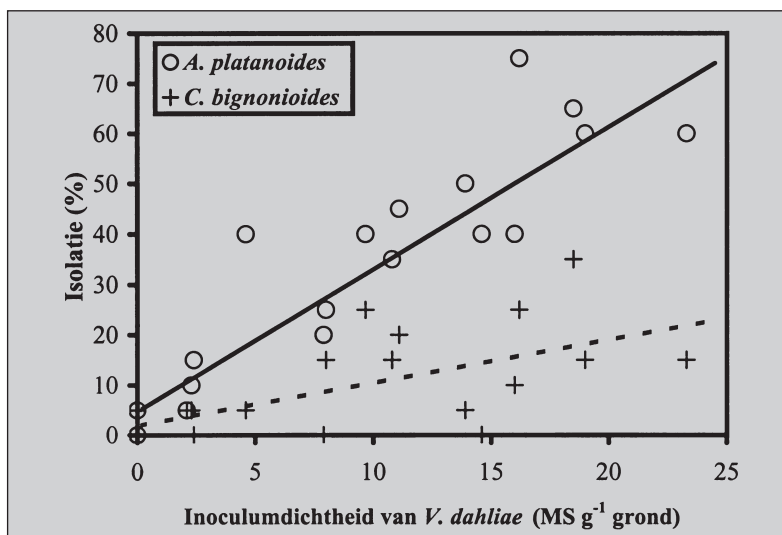
Figuur 1. Volledig verwelkte Noorse esdoorn in een van de veldproeven.

van boomkwekerijgewassen. Er bleken geen verschillen te bestaan tussen de twee in Nederland voorkomende VCG's. Er hoeft bij de bepaling of een grond wel of niet besmet is met *V. dahliae* dus geen rekening gehouden te worden met welke VCG men te maken heeft. Wel bleken er grote virulentieverschillen te zijn van individuele isolaten op bepaalde plantensoorten.

Voorspelling van aantasting

V. dahliae komt in Nederland zeer algemeen voor en het is dus voor een boomteler moeilijk om grond te vinden die geheel vrij is van deze schimmel. Als dit een gegeven is, wat is dan de maximale besmetting waar een boomteler genoeg mee mag nemen? Dit werd onder-

PROMOTIE



Figuur 2. Percentages planten waarvan uit de stengelbasis *Verticillium dahliae* kon worden geïsoleerd doormiddel van uitplaten van stengelstukjes op semi-selectief voedingsmedium, in de veldproef in Wageningen, aan het eind van het eerste seizoen. De dichte lijn is de regressielijn voor Noorse esdoorn (*Acer platanoides*) ($\% = 5,6 + 2,9 * V. dahliae\text{-inoculumdichtheid}$; $R^2=0,83$). De gestreepte lijn is de regressielijn voor trompetboom (*Catalpa bignonioides*) ($\% = 2,5 + 0,85 * V. dah.$

zocht in twee veldproeven waarbij de relatie werd vastgesteld tussen verwelkingsziekte in Noorse esdoorn (*Acer platanoides*) en trompetboom (*Catalpa bignonioides*) en besmettingsgraad van de bodem. De schadedrempel (minder dan vijf % zieke planten) bleek voor Noorse esdoorn ca. twee gedetecteerde microsclerotia per gram grond te zijn en bij trompetboom ca. één microsclerotium per gram grond. Bij besmettingen van ca. vijf microsclerotia per gram grond kan al zeven (trompetboom) tot veertien % (Noorse esdoorn) zieke planten worden verwacht. De percentages zieke planten gelden echter alleen voor jaren waarin veel verticillium-verwelkingsziekte optreedt. In jaren met minder verwelkingsziekte kan de schade in de praktijk meevalen. Een complicerende factor is verder dat de aanwezigheid van

plantenparasitaire nematoden (aaltjes) de schadedrempel verder kan verlagen. Zieke bomen kunnen in het volgende seizoen van de ziekte herstellen. In de veldproeven werd herstel vaak waargenomen, vooral bij trompetboom. Echter, in jaren daarna hadden herstelde bomen een grotere kans om weer ziek te worden. Bovendien hadden buurplanten van zieke planten soms een verhoogd risico om ziek te worden. Zieke bomen dienen dus direct te worden verwijderd om opbouw van de besmetting in de grond tegen te gaan.

Biologische grondontsmetting

Voorts werd de effectiviteit van biologische grondontsmetting on-

derzocht als bestrijdingsmethode voor *V. dahliae* in de boomkwekerij. Bij biologische grondontsmetting wordt vers organisch materiaal (bijvoorbeeld gras) door de grond gemengd en wordt grond afgedekt met luchtdicht kuilplastic, gedurende zes tot acht weken in de zomer. Het resultaat was dat de besmettingsgraad van de met *V. dahliae* met 85% werd verlaagd. Bovendien werd 99% van de plantenparasitaire nematoden gedood. Dit resulteerde in een verminderde aantasting door verwelkingsziekte gedurende de vier jaar waarin de bomen werden gevolgd, ten opzichte van onbehandelde veldjes, vooral in jaren met veel verwelkingsziekte. In hoogrende gewassen met een lage schadedrempel, zoals boomkwekerijgewassen, is biologische grondontsmetting een goede methode om schade door *V. dahliae* te voorkomen.

Verder onderzoek

Ondanks de voortgang die is geboekt in dit onderzoek, zal een aantal problemen met betrekking tot verticillium verwelkingsziekte in de boomteelt in de nabije toekomst blijven bestaan. Vervolgonderzoek dient zich te richten op het selecteren van resistente onderstammen, analyse van factoren die van invloed zijn op gewasgezondheid, de relatie tussen bodemgezondheid en het optreden van verticillium verwelkingsziekte en het verbeteren van het aantonen van *V. dahliae* in de bodem met moleculaire kwantificeringsmethoden.