

clb

Bibliotheek
Proefstation
Naaldwijk

A
3
P
21

ATION VOOR TUINBOUW ONDER GLAS NAALDWIJK

BIBLIOTHEEK
PROEFSTATION VOOR TUINBOUW
ONDER GLAS TE NAALDWIJK

VOETROT VAN COURGETTE, VEROORZAAKT DOOR FUSARIUM SOLANI F.SP.
CUCURBITAE

S.J. Paternotte

Intern Verslag no. 23

mei 1987

2243063

VOETROT VAN COURGETTE, VEROORZAAKT DOOR FUSARIUM SOLANI F.SP. CUCURBITAE.

Inleiding.

Courgette wordt sinds een tiental jaren in Nederland op beperkte schaal onder glas geteeld.

Sinds 7 jaar wordt in deze teelt op een aantal bedrijven die in grond telen een voetrot geconstateerd. De aantasting kan oplopen tot tientallen procenten dode planten aan het eind van de teelt.

Dit ondanks een grondontsmetting door middel van stomen of methylbromide. Bij de teelt op steenwol is zo'n voetrot incidenteel.

De eerste symptomen van aantasting treden op vanaf enkele weken na het uitplanten. De planten worden donkergroen en blijven achter in groei. De stengelvoet is op dat moment reeds zacht en papperig en de wortels zijn voor een groot deel weggerot. Soms is een lesie hogerop aan de stengel te vinden, maar dan is de stengel op die plaats beschadigd. Op de lesie is soms een grijze massa zichtbaar die voor het grootste deel bestaat uit macroconidien van *Fusarium*. Het geslachtelijk stadium van de schimmel is op planten nooit geconstateerd. Planten met deze symptomen sterven binnen enkele weken af, hetgeen gedurende het gehele teeltseizoen geschiedt.

De schimmel werd op het Proefstation voor Tuinbouw onder Glas en de Plantenziektenkundige Dienst uit zieke planten geïsoleerd en geïdentificeerd als *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. f.sp. *cucurbitae*, het conidienstadium van de schimmel *Nectria haematococca* Berk. en Br. var. *cucurbitae*.

Het pathogeen is in het Zuid-Hollands glasdistrict in 1958, 1962 en 1963 geconstateerd in de komkommerteelt en daarin hoogstwaarschijnlijk geïntroduceerd door middel van besmet zaad van *Cucurbita ficifolia*, de onderstam voor komkommer (Kerling en Bravenboer, 1967). Door uit te gaan van een goede grondontsmetting en gezond zaad is de ziekte in het Zuid-hollandse glasdistrict in de komkommerteelt verdwenen.

Uit paprika wordt sinds 1974 van rotte wortels, zwartverkleurde stengels, rotte vruchten en verrotte stengelvoeten regelmatig *Fusarium Solani* (Mart.) Sacc. geïsoleerd. Op de stengelvoet van aangetaste

planten en op verrotte vruchten kunnen soms peritheciën van het perfecte stadium van de schimmel *Nectria haematococca* geconstateerd worden. (v. Steekelenburg, 1979).

De groei van Isolaten van *F. solani* uit paprika zijn in vitro vergeleken met die van isolaten van *F. solani* f.sp. *cucurbitae* uit courgette, de pathogeniteit is in vivo getoetst.

Een aantal auteurs hebben verschillen tussen Cucurbitaceae in vatbaarheid voor *F. solani* f.sp. *cucurbitae* geconstateerd. (Tousson en Snijder, 1960; Vanacci en Gambogi, 1980). Op bedrijven waar + 20% van de courgetteplanten voortijdig afstierf door het pathogeen bleven courgetteplanten geënt op R.S. 841 volkomen gezond. Planten geënt op Benincasa cerifera waren wat donkerder van kleur dan planten geënt op R.S. 841, maar er gingen geen planten dood. Op de onderstam B. cerifera werd soms *F. solani* f. sp. *cucurbitae* geconstateerd. Verder werd in de vroege stookteelt gele courgette cv 'Gold Rush' minder zwaar aangetast dan de groene courgette 'Green'. Dit was in de teelt die in de zomer geplant werd niet meer het geval. Daarom is het wellicht mogelijk een minder vatbaar courgetteras te vinden of een minder vatbare Cucurbitaceae die geschikt is als onderstam voor courgette zijn een aantal Cucurbitaceae getoetst op hun vatbaarheid voor dit pathogeen.

Het pathogeen kan zeer gemakkelijk met zaad overgaan en op deze manier naar andere percelen verspreid worden (Doidge en Kresfelder, 1932; Snijder en Hansen, 1954; Snijder 1938; Conroy, 1953; Richardson, 1979). Dit zaad kan zowel in als uitwendig besmet zijn. Over de tijd dat de schimmel in het zaad levenskrachtig blijft verschillen de meningen (Gries, 1946; Tousson en Snijder, 1960). Daarom is onderzocht in hoeverre zaadbesmetting met het gevonden pathogeen mogelijk is.

Verder is getoetst wat de invloed is van verwijderen van afstervend bladmateriaal van de plant op stengelaantastingen. Tot slot wat de invloed is van verwonden van de plant en plantleeftijd op de aantasting.

Materialen en methoden

Kweken van de schimmels

Isolaten van *F. solani* uit paprika en courgette werden gekweekt op

pruimenagar of Czapek Dox agar in een stoof bij 25^oC. Om morfologische verschillen tussen isolaten uit courgette en paprika beter te kunnen onderkennen en mogelijk het geslachtelijk stadium te kunnen induceren werden isolaten ook gekweekt onder N.U.V. licht bij 20^oC op het laboratorium en in daglicht in een kas bij 27^oC. De isolaten van *F. solani* f.sp. *cucurbitae* werden om het geslachtelijk stadium te induceren onderling gekruist door 2 ponsjes van 5 mm. doorsnee van cultures van verschillende herkomst op één plaat te enten.

De koloniediameter van de isolaten bij verschillende temperaturen werd bepaald door platen beënt met ponsjes van 5 mm doorsnee uit een volgroeide plaat te incuberen in broedstoven. Na 6 dagen werden 2 loodrecht op elkaar staande diameters van de kolonies min de loodrecht op elkaar staande diameters van het ponsje gemeten. Sporensuspensies voor de proeven werden verkregen door de schimmel 5 à 7 dagen te kweken in vloeibaar Czapek Dox medium bij 26^oC.

Inoculatie methoden

Planten werden geïnoculeerd door het wortelstelsel te dompelen in en/of aan te gieten of te bespuiten met een sporensuspensie, concentratie ongeveer 1×10^6 sporen per ml. In een aantal proeven werden planten verwond door het eerste blad van de stengel te snijden en een sneetje van 1 cm in de lengterichting van de stengel aan te brengen. Bij één proef is een sporensuspensie behalve bijgegoten bij een deel van de planten met een kwastje op de stengel aangebracht. In deze proef is bij een deel van de planten de bladschijf van geel en afgestorven blad wekelijks verwijderd. Dit om een droger microklimaat rond de stengel te creëren.

De temperatuur bij de kasproeven was 23^oC of hoger afhankelijk van de zoninstraling.

Besmet courgettezaad werd verkregen door een vrucht cv 'Green' op 5 plaatsen te injecteren met 10 ml sporensuspensie, concentratie $1 \times 10^{6.6}$ sporen per ml. Na een maand, toen de vrucht totaal verrot was, werd het zaad uit de vrucht gewonnen, met water schoon gespoeld en gedroogd. Het zaad werd bewaard bij kamertemperatuur. Herisolaties werden verricht na het zaad uitwendig te ontsmetten met 0,1% natriumhypochloridiet of 20 en

50% methanol.

Na 7 en 10 maanden werd het kiempercentage bepaald door respectievelijk 300 en 100 zaden uit te zaaien.

Resultaten

Morfologie van de schimmels.

Isolaten van *F. solani* f. sp. *cucurbitae* uit courgette gekweekt op Czapek Dox agar waren soms wit of crème maar meestal met een grijze, bruine violette of blauw-groene pigmentatie afhankelijk van onder andere de hoeveelheid licht en de ouderdom van de cultures. Isolaten van *F. solani* uit paprika waren op Czapek Dox agar onder alle omstandigheden wit of crème met soms een blauwe pigmentatie meestal in bepaalde sectoren van een schaal. Op pruimenagar werd de kleur van de isolaten gemaskeerd door de kleur van de agar en was daardoor moeilijk te bepalen.

Het perfecte stadium van *F. solani* f.sp. *cucurbitae* uit courgette werd zowel op aangetaste planten als op kunstmatige voedingsbodem nooit geconstateerd. Ook niet op schalen die onder N.U.V. geplaatst werden of op schalen waar isolaten van verschillende herkomst op geënt waren.

Daarentegen werd het perfecte stadium van *F. solani* uit paprika dikwijls geconstateerd op aangetaste vruchten en op de stengelvoet van aangetaste paprikaplanten. Op kunstmatige voedingsbodem werd het perfecte stadium incidenteel geconstateerd en wel als schalen in het licht werden geïncubeerd. De isolaten van *F. solani* f.sp *cucurbitae* uit courgette vormden op schalen minder luchtmycelium dan isolaten van *F. solani* uit paprika maar sporuleerden wel veel overvloediger.

De sporen van *F. solani* f.sp *cucurbitae* waren tot 65 u lang met 0 tot 5 septen en slanker dan sporen van *F. solani* die tot 37,5 u lang waren en 0 tot 3 septen hadden.

Temperatuursregime

De invloed van temperatuur op de groei van het mycelium van enkele isolaten van *F. solani* en *F. solani* f.sp. *cucurbitae* op Czapek Dox agar

staat vermeld in tabel 1.

Het temperatuursregime van *F. solani* verschilt niet van dat van *F. solani* f.sp. *cucurbitae*.

Tabel 1. Kolonie diameter in mm. van *F. solani* en *F. solani* f.sp. *cucurbitae* isolaten na 6 dagen bij diverse temperaturen op Czapek Dox agar (N = 3).

Pathogeen	10 ^o C	15 ^o C	20 ^o C	25 ^o C	30 ^o C	35 ^o C
<i>F. solani</i> f.sp. <i>cucurbitae</i>	4	32	70	86	88	0
<i>F. solani</i> f.sp. <i>cucurbitae</i>	2	34	71	98	107	0
<i>F. solani</i> f.sp. <i>cucurbitae</i>	4	37	67	88	106	0
<i>F. solani</i>	21	64	115	144	140	4
<i>F. solani</i>	6	36	74	107	145	43

Waardplantenreeks

Isolaten uit courgette tastten in inoculatieproeven alleen Cucurbitaceae aan maar geen paprika en aubergine. Isolaten uit paprika tastten alleen paprika licht en maar geen van de andere gewassen die in tabel 2 genoemd worden. Aantasting in paprika werd alleen gerealiseerd onder extreme omstandigheden bijvoorbeeld nadat planten verwond waren.

Tabel 2. Planten getoetst op hun vatbaarheid voor *F. solani* van paprika en *F. solani* f.sp. *cucurbitae* van courgette.

Toetsplant			<i>F. solani</i>	<i>F. solani</i> f.sp. <i>cucurbitae</i>
<i>Cucurbita pepo</i>	green	courgette	o	+
<i>Cucurbita pepo</i>	gold Rush	gele courgette	-	+
<i>Citrullus vulgaris</i>	Pattison		-	+
<i>Citrullus vulgaris</i>	Sweet Baby	watermeloen	-	+
<i>Cucurbita ficifolia</i>	Gold Baby	watermeloen	-	+
<i>Benincasa hispida</i> (cerifera)			o	+
<i>Cucumis sativus</i>	Farbio	komkommer	o	+
<i>Cucumis melo</i>	Ha'on	meloen	o	+
	R.S. 841*		-	+
<i>Capsicum annum</i>	Tisana	paprika	+	o
<i>Solanum melongena</i>	Mammoth	aubergine	o	o

* veredelingsmateriaal van Royal Sluis.

+ en o aangetast en niet aangetast na inoculatie; -: niet getoetst.

Inoculatiemethoden.

Alle Cucurbitaceae genoemd in tabel 2 die geïnoculeerd werden door het wortelstelsel van verspeenbare planten te dompelen in een sporensuspensie, concentratie $1 \times 10^{.6}$ sporen per ml, hadden binnen een week symptomen en waren voor het overgrote deel binnen 2 weken afgestorven. Verwonde courgetteplanten van een maand oud die bespoten werden met een sporensuspensie of verwonde courgetteplanten die aangegoten werden met 35 ml werden even snel en ernstig aangetast.

Ook niet verwonde courgetteplanten werden door het pathogeen aangetast. Eén Maand oude courgetteplanten die bespoten werden met een sporensuspensie, concentratie $1 \times 10^{.6}$ sporen per ml vertoonden na 14 dagen een lichte bruinverkleuring aan de stengelvoet. Drie maanden oude courgetteplanten die werden aangegoten met een sporensuspensie waren na

een maand afgestorven. Bij aanbrengen van de suspensie op stengels van planten waar alle gele en dode bladschijven van verwijderd waren, was de aantasting minder hevig (tabel 3).

Tabel 3. Aantal dode courgetteplanten op diverse tijdstippen na inoculatie met *F. solani* f.sp. *cucurbitae* van 3 maanden oude courgetteplanten. (N = 7).

Behandeling	Aantal dagen na inoculatie				
	9	16	26	33	40
Blad verwijderd, stengel geinoculeerd*	0	0	1	1	1
Blad verwijderd, bijgegoten	2	2	6	7	7
Blad verwijderd, niet geinoculeerd	0	0	0	0	0
Blad niet verwijderd, stengel geinoculeerd*	0	0	3	5	6
Blad niet verwijderd, bijgegoten	0	3	7	7	7
Blad niet verwijderd, niet geinoculeerd		0	0	0	0

* stengel geinoculeerd door aanbrengen van sporensuspensie met behulp van een kwastje

Plantleeftijd

Bij inoculatie van verwonde courgetteplanten van verschillende leeftijd bleef de aantasting wat betreft aantallen zieke planten gelijk maar jonge planten gingen sneller dood (tabel 4).

Tabel 4. Aantallen zieke (z) en dode (+) courgetteplanten cv 'Green' na inoculatie van verwonde planten van verschillende leeftijd door deze na verwonden bij te gieten met een sporensuspensie.

Plantleeftijd in weken	Dagen na inoculatie					
	12		19		26	
2	15+		15+		15+	
4	15+		15+		15+	
6	12 z	3+	8 z	7+	15+	
8	15 z		13 z	2+	2z	13+

Inoculum dichtheid

Cucurbitaceae geïnoculeerd met lagere inoculumdichtheden werden minder snel aangetast. Tabel 5 en 6) en de verschillen tussen de getoetste Cucurbitaceae in gevoeligheid voor het pathogeen waren duidelijker (tabel 6).

Tabel 5. Aantallen zieke (z) en dode (+) courgetteplanten cv 'Green' op verschillende tijdstippen na inoculatie met *F. solani* f. sp. cucurbitae door het wortelstelsel van kiemplanten te dompelen in en de plantvoet te begieten met een sporensuspensie in verschillende inoculumdichtheden (n=20).

Inoculumdichtheden sporen per ml	Dagen na inoculatie							
	15		23		33		42	
6 1x10.	12 z	8+	12 z	8+	3 z	17+	2 z	18+
5 1x10.	14 z	3+	11 z	6+		20+		20+
4 1x10.	6 z		14 z	2+	4 z	16+	3 z	17+
3 1x10.		0	4 z		4 z	12+	5 z	15+
2 1x10.		0	3 z		7 z	6+	3 z	12+

Tabel 6. Aantallen zieke (z) en dode (+) planten van enkele cucurbitaceae 28 dagen na dompelen van het wortelstelsel in een sporensuspensie van *F. solani* f. sp. cucurbitae in verschillende concentraties (n=48).

Toetsplant	Aantal sporen per ml suspensie				
	5 1x10.	4 1x10.	3 1x10.	2 1x10.	
Green	48+	48+	48+	48+	4 z 44+
Gold Rush	48+	48+	48+	48+	3 z 45+
B. hispida (cerifera)	48+	48+	48+	32	43+ 6 z 9+
R.S. 841	48+	1 z 47+	9 z 39+	18 z 18+	-
Farbio	48+	12 z 28+	12 z 18+	7 z 3+	3 z

- geen waarneming

Er is een zeer significante interactie ($P < 0,001$; variantie analyse) tussen concentratie en waard plant

Zaadbesmetting

Twintig procent van het courgettezaad dat uit de besmette courgette werd gewonnen was lichtbruin tot zwart verkleurd. De schimmel kon na een uitwendige zaadontsmetting tot 6 maanden na zaadwinning geherisoleerd worden. Zeven maanden na zaadwinning lukte dit niet meer. Het kiempercentage van deze partij zaad was 7 en 10 maanden na zaadwinning respectievelijk 50 en 67% en van de controlepartij 95%. 30% Van de gekiemde zaden van de besmette partij vertoonden later necrotische plekken op de cotylen. Het lukte echter niet hieruit het pathogeen te isoleren.

Discussie en conclusie

Isolaten van *F. solani* f. sp. *cucurbitae* uit courgette zijn zowel macro als microscopisch van isolaten van *F. solani* uit paprika te onderscheiden. Ook de waardplantenreeks van isolaten uit courgette is verschillend van die uit paprika. Dit bevestigt de mening dat in courgette onder glas een pathogeen is opgetreden verschillend van *F. solani* in paprika. Van *F. solani* f. sp. *cucurbitae* zijn 2 fysio's bekend. Fysio 1 tast wortels, stengels en vruchten aan, fysio 2 alleen de vruchten (Tousson en Snijder, 1960). Dit houdt in dat in Nederland fysio 1 van dit pathogeen geconstateerd is.

Het is niet waarschijnlijk dat dit pathogeen uit de komkommerteelt afkomstig is en wel om verschillende redenen. Het pathogeen is sinds meer dan 20 jaar niet meer in de komkommerteelt in het Zuid-Hollands glasdistrict geconstateerd. Omdat het pathogeen in grond maar enkele jaren kan overleven (Nash en Alexander, 1965; Walker, 1952) lijkt de periode tussen de laatste meldingen uit de komkommerteelt meer dan 20 jaar geleden, en het nieuwe optreden in de courgetteteelt veel te lang om dit in grond te overbruggen. Vooral omdat op deze besmette komkommerbedrijven zwaar werd gestoomd. Verder heeft besmetting van komkommerteelten in het Zuid-Hollands glasdistrict hoogstwaarschijnlijk

uitsluitend plaatsgevonden via de plantenkweker door middel van besmet zaad van *Cucurbita ficifolia*, de onderstam voor komkommer (Kerling en Bravenboer, 1967).

De kans is niet uitgesloten dat de schimmel in de courgetteteelt in het Zuid-Hollands glasdistrict ook is geïntroduceerd door middel van besmet zaad, dat geïmporteerd is door zaadbedrijven. Het zaad van een van de meest geteelde cultivars 'Green' werd in proeven gemakkelijk besmet met het pathogeen. De schimmel kon ondanks een uitwendige zaadontsmetting geïsoleerd worden. Dit duidt erop dat het pathogeen inwendig aanwezig is. Dat het pathogeen door middel van besmet zaad nieuwe gebieden verspreid wordt is bevestigd door Tousson en Snijder (1961).

Het pathogeen lijkt na 8 maanden in/op courgette niet meer levenskrachtig. Dit is in tegenstelling met bevindingen van Gries (1946) en Conroy (1953) die vonden dat de schimmel in zaad 2 jaar en langer levenskrachtig blijft.

Tousson en Snijder (1960) vonden dat de levensvatbaarheid van het geïnfecteerde zaad niet verzwakt en de kiemkracht meestal niet aangetast werd wanneer zaad inwendig besmet was. In onze proeven werd echter een duidelijke reductie in opkomstpercentage gevonden. Dit zou veroorzaakt kunnen zijn door een verschil in inoculatiemethode en daarmee de mate van zaadbesmetting. De verschillen kunnen verder veroorzaakt zijn door de omstandigheden waaronder het besmette zaad gekiemd is (Vannacci en Gambogi, 1980).

Als Cucurbitaceae getoetst worden met hoge inoculumdichtheden van het pathogeen is geen van de getoetste soorten resistent tegen het pathogeen. Bij gebruik van lagere inoculumdichtheden blijken er wel verschillen in mate van gevoeligheid voor het pathogeen te zijn, ook binnen de soort *Cucurbita pepo*. Bij gebruik van andere isolaten kunnen deze verschillen echter weer anders liggen (Vannacci en Gambogi, 1980). De verschillen in mate van gevoeligheid werden ook waargenomen op bedrijven die zwaar met *F. solani* f. sp. *cucurbitae* besmet waren.

Gezien het feit dat bij het kleine aantal soorten van Cucurbitaceae dat getoetst is al minder vatbaar materiaal aanwezig was, is er een kans dat er meer minder vatbaar materiaal bestaat. Bij lage inoculumdichtheden in de grond en bij minder gevoelige Cucurbitaceae kunnen planten ontsnappen aan infectie. Dit werd eerder in komkommer gesignaleerd (Kerling en Bravenboer, 1967).

Bij hoge inoculumdichtheden kunnen noch oudere, noch niet verwonde courgette planten ontsnappen aan infectie.

Het lijkt mogelijk dat door een lage luchtvochtigheid planten kunnen ontsnappen aan stengelaantasting.

Samenvatting

Fusarium solani f. sp. *cucurbitae* bleek de oorzaak te zijn van toenemende problemen met een voetrot in courgette. Het pathogeen was morfologisch en door middel van een waardplantenreeks goed van *Fusarium solani* uit paprika te onderscheiden.

In inoculatieproeven waren alle Cucurbitaceae in meer of mindere mate gevoelig voor *F. solani* f.sp. *cucurbitae*. Bij courgette cv 'Green' werden zowel gedompelde als aangegoten als bespoten planten door het pathogeen aangetast.

Verwonde en niet verwonde courgetteplanten werden aangetast alsook planten van verschillende leeftijd. Niet verwonde en oudere planten stierven enkel iets minder snel af. Bij lagere inoculumdichtheden werden Cucurbitaceae minder snel aangetast en waren de verschillen tussen Cucurbitaceae in gevoeligheid voor het pathogeen duidelijker. Uit courgettezaad dat voor een hoog percentage met het pathogeen besmet was kon de schimmel tot 6 maanden na zaadwinning geherisoleerd worden.

Literatuur

- Conroy, R.J., 1953. *Fusarium* foot rot of cucurbits. Agric. Gaz. N.S.W., 64: 655-658.
- Doidge, E.M., Kresfelder, L.J., 1932. A wilt disease of cucurbits. Fmg. S Afr., 7: 299-300.
- Gries, G.A., 1946. Physiology of *Fusarium* foot rot of squash. Bull. Conn. agric. Exp. Stn., 500.
- Kerling, L.C.P., Bravenboer, L., 1967. Footrot of *Cucurbita ficifolia*, the rootstock of cucumber, caused by *Nectria haematocoea* var. *cucurbitae*. Neth. J. Plant Path. 73: 15-24.
- Nash, S.M., Alexander, J.V., 1965. Comparative survival of *Fusarium*

- solani f. cucurbitae and F. solani f. phaseoli in soil. *Phytopathology*, 55: 963-966.
- Richardson, M.J., 1979. An annotated list of seedborne diseases. 3 Ed., *Phytopathological Papers* n. 23. CMI, Kew, Surrey, England.
- Snyder, W.C., 1938. A *Fusarium* foot rot of *Cucurbita*. *Phytopathology*, 28: 19.
- Snyder, W.C., Hansen, H.W., 1954. Species concept, genetics and pathogenicity in *Hypomyces solani*. *Phytopathology*, 44: 338-342.
- Steeckelenburg, N.A.M. van, Paternotte, S.J., 1979. Schimmelziekten in de paprikateelt in Nederland. *Gewasbescherming*, 10: 69.
- Tousson, T.A., Snijder, W.C., 1960. The pathogenicity, distribution and control of two races of *Fusarium* (*Hypomyces*) *solani* f. *cucurbitae*. *Phytopathology*, 51: 17-22.
- Vannacci, G., Gambogi, P., 1980. *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* razza 1 su semi di *Cucurbita pepo* L.: reperimento del patogeno e influenza di condizioni colturali sull' andamento della malattia. *Phytopath. medit.* 19: 103-114.
- Walker, J.C., 1952. *Diseases of vegetable crops*. Mc Graw-Hill Book Company, New York, p 193.