

Bladvlekken in zomerbloemen

Inventarisatie van schimmels en bacteriën verantwoordelijk voor bladvlekken in zomerbloemen

Frank van der Helm, Peter Vink, Marjan de Boer, Pim Paternotte en Sabine Böhne

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit
Januari 2009
PPO nr. 32 340465 00

© 2009 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veeelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.



Projectnummer: PPO 32 340465 00
PT 12886

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Bloembollen, Boomkwekerij en 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 : infobollen.ppo@wur.nl

Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING	7
1.1 Aanleiding	7
1.2 Resultaten eerder onderzoek	7
1.2.1 Interviews.....	7
1.2.2 Analyse van bladmonsters	8
1.2.3 Literatuuronderzoek	8
1.3 Onderzoek in 2007 en 2008	8
2 MATERIAAL EN METHODEN	9
2.1 Vaststellen van symptomen	9
2.2 Isoleren van mogelijke ziekteverwekkers.....	10
2.3 Infectieproeven.....	10
2.3.1 Infectieproef in 2006	10
2.3.2 Infectieproef in 2007	11
2.3.3 Infectieproef in 2008	11
3 RESULTATEN	13
3.1 Verzameld ziek materiaal.....	13
3.1.1 Resultaat 2007.....	13
3.1.2 Resultaat 2008.....	13
3.2 Infectieproeven.....	16
3.2.1 <i>Delphinium</i>	16
3.2.2 <i>Chelone</i>	18
3.2.3 <i>Veronica</i>	20
3.2.4 <i>Asclepias</i>	20
3.3 Literatuurstudie	20
3.4 Informatie over <i>Phoma</i> en <i>Botrytis</i>	22
3.4.1 <i>Phoma sp.</i>	22
3.4.2 <i>Botrytis</i>	23
3.4.3 <i>Ethyloma dahliae Syd.</i>	25
4 ALGEMENE DISCUSSIE, CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN.....	27
4.1 Verzameld ziek materiaal.....	27
4.2 Infectieproeven.....	27
4.3 Conclusies	27
4.4 Aanbevelingen voor vervolgonderzoek.....	28
LITERATUURLIJST	29
BIJLAGE 1. ARTIKEL BLADVLEKKEN IN ZOMERBLOEMEN.....	31
BIJLAGE 2. VERZAMELEN, VERPAKKEN IN INZENDEN VAN MONSTERS VOOR DIAGNOSE.....	33
BIJLAGE 3. OPDRACHTFORMULIER BINNEN PROJECT BLADVLEKKEN IN ZOMERBLOEMEN	35
BIJLAGE 4. OPROEP IN GROEIFLITS	37
BIJLAGE 5. OPROEP IN VAKBLAD	39
BIJLAGE 6. HANDOUT VOOR BLADVLEKKEN TIJDENS OPEN DAGEN.....	41

Samenvatting

In 2007 startte PPO met een door het Productschap Tuinbouw gefinancierd onderzoek naar problemen met bladplekken in zomerbloemen. Het doel van het onderzoek is vast te stellen welke ziekteverwekkers verantwoordelijk zijn voor het ontstaan van bladplekken in diverse soorten zomerbloemen. PPO verzamelde daarom bladmateriaal bij kwekers in de praktijk en probeerde na te gaan welke schimmels of bacteriën daarbij een rol spelen. In het seizoen 2008 zijn beduidend meer monsters verzameld dan in 2007. Met name in *Delphinium* hebben bladplekken voor de nodige problemen gezorgd. Uit het onderzoek in 2008 is duidelijk geworden dat de schimmel *Phoma* de oorzaak is geweest van de problemen in *Delphinium*.

Er is bij 30 bloementelers aangetast blad verzameld van iets meer dan 20 soorten zomerbloemen. Dit blad is onderzocht bij diagnostiekservice van PPO in Lisse en Wageningen UR glastuinbouw. Allereerst zijn de symptomen van de aantasting beschreven. Vervolgens zijn uit aangetaste bladeren isolaties gemaakt van schimmels en bacteriën. In de meeste gevallen zijn er voor ieder gewas meerdere schimmels en bacteriën geïsoleerd die ziekteverwekker kunnen zijn.

Met de gevonden schimmels en bacteriën is vervolgens een infectieproef gedaan om de veroorzaker(s) te achterhalen. Dit is gedaan met *Delphinium*, *Chelone*, *Veronica* en *Asclepias*. In de infectieproef zijn gezonde bladeren geïnfecteerd met schimmels en bacteriën die in dit gewas zijn gevonden. Als er in de proef opnieuw bladplekken ontstonden, is opnieuw een isolatie gemaakt. Pas als hieruit dezelfde schimmel of bacterie groeit als waarmee het blad besmet is, is overtuigend aangetoond dat de toegepaste schimmel of bacterie de ziekteverwekker is die de bladplekken heeft veroorzaakt.

Uit bladplekken in *Delphinium* groeiden de schimmels *Cladosporium*, *Alternaria*, *Stemphylium* en *Phoma*. Van al deze schimmels is bekend dat ze soms een rol kunnen spelen bij het veroorzaken van bladplekkenziekten. Ook een opvallende roze bacterie is bij meerdere bedrijven gevonden. In *Delphinium* kan de bacterie *Pseudomonas syringae* ook bladplekken veroorzaken, maar deze is in de bladplekken niet gevonden of aangetoond. In de infectieproef is vastgesteld dat de bladplekken die in het afgelopen seizoen voor problemen hebben gezorgd zijn veroorzaakt door een *Phoma* schimmel. In de literatuur is *Phoma xanthima* en *Phoma delfinii* voor het gewas *Delphinium* beschreven. Na genetisch onderzoek bleek de *Phoma*-schimmel het meest overheen te komen met *Phoma cucurbitacearum*, die in dit geval dus als de boosdoener mag worden bestempeld.

Uit bladplekken in *Chelone* groeiden de schimmels *Colletotrichum*, *Alternaria* en een nog onbekende schimmel uit. De onbekende schimmel kon in de infectieproef opnieuw worden teruggevonden, maar er werden ook andere schimmels teruggevonden. Het blijft dus voorlopig nog onduidelijk welke ziekteverwekker bladplekken in *Chelone* veroorzaken.

Uit bladplekken in *Veronica* groeiden *Ramularia* en *Cylindrocladium*. Bij infectieproeven zijn wel bladplekken ontstaan, maar hieruit kon niet opnieuw dezelfde schimmel geïsoleerd worden. De oorzaak van de gevonden bladplekken in *Veronica* blijft dus ook voorlopig onbekend.

Uit de bladplekken in *Asclepias*, tenslotte, groeiden de schimmels *Alternaria*, *Phoma* en *Cladosporium*. Bij de infectieproeven waren de bladeren te snel verouderd voor het ontstaan van bladplekken, zodat ook bij dit gewas de ziekteverwekker nog onbekend blijft.

De werkwijze voor het verzamelen van bruikbaar ziek materiaal die in 2008 is gebruikt lijkt voldoende effectief. Het isoleren van ziekteverwekkers verloopt goed en er is een voor de meeste gewassen goed functionerende infectieproef beschikbaar. Een goede basis voor een brede inventarisatie naar bladplekken in zomerbloemen is hiermee gelegd.

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

Bladvlekkenziekten veroorzaken steeds meer problemen in de teelten van verschillende soorten zomerbloemen. Om een betrouwbaar en gericht advies te kunnen geven is het van belang om te weten hoe bladvlekkenziekte ontstaat. Problemen met bladvlekkenziekten komen al langer algemeen voor in de teelt van zomerbloemen, maar lijken in omvang toe te nemen. Daarbij kan een gewas in enkele dagen zo zwaar worden beschadigd dat het geen goede handelswaarde meer heeft. De financiële gevolgen voor een getroffen bedrijf kunnen daarom ernstig zijn. Het lijkt erop dat het toepassen van een algemene beheerstrategie voor bovengrondse schimmels in de praktijk steeds vaker in onvoldoende bestrijding resulteert.

In 2006 geven kwekers aan dat bij een zich snel verspreidende bladvlekkenziekte met genetische technieken de schimmel *Ramularia* wordt gevonden. Er is daarop door PPO een kort onderzoek uitgevoerd om deze schimmel te vinden in zieke planten, om dit te bevestigen. Echter, in dit onderzoek uit 2006 is *Ramularia* niet gevonden. Wel werden diverse andere schimmels gevonden, al is van geen van deze schimmels aangetoond dat het ook werkelijk de ziekteverwekker van bladvlekken is geweest. Om dit goed aan te kunnen tonen moest de gehanteerde toetsmethode verbeterd worden. Er bleek tevens een probleem van timing te zijn. Op het moment dat de schimmel is geïsoleerd en vermeerderd is goed bladmateriaal niet meer voorradig voor het uitvoeren van een bevestigende toets. Het was dus moeilijk vast te stellen welke ziekteverwekker actief is. Dat maakt een gerichte bestrijding erg moeilijk.

Wanneer de belangrijkste veroorzakers van bladvlekken in zomerbloemen bekend zijn, de symptomen goed beschreven zijn en een adequate toetsmethode beschikbaar is, dan kunnen ziekten in de praktijk beter en sneller herkend worden. Met meer kennis over de veroorzaker kan ook beter ingeschat worden wanneer bladvlekken kunnen toeslaan en kan gericht bestreden worden. Hierbij valt te denken aan cultuurmaatregelen, tijdstip van bespuitingen en middelenkeuze. Met kennis is het mogelijk om snel en effectief te reageren. Om deze kennis te verwerven is het noodzakelijk van een groot aantal gewassen de ziekteverwekker van bladvlekken te achterhalen. Hiervoor is een efficiënte inzameling van ziek materiaal essentieel. Tevens is een methode noodzakelijk voor het isoleren van schimmels en bacteriën en het toetsen van deze organismen op hun vermogen op gezonde bladeren bladvlekken te veroorzaken. In dit project is dit verwezenlijkt.

1.2 Resultaten eerder onderzoek

De landelijke gewascommissie heeft in 2006 in een consultancy opdracht aan PPO (de Werd et al, 2006) gevraagd om onderzoek te doen naar *Ramularia* als veroorzaker van bladvlekken in zomerbloemen. Dit onderzoek bestond uit een praktijkinventarisatie met interviews en analyse van bladmateriaal met bladvlekken om de ziekteverwekker aan te tonen. Van enkele mogelijke ziekteverwekkers is ook meer informatie in de literatuur opgezocht.

1.2.1 Interviews

Uit de interviews in het onderzoek ontstond de indruk dat grote schade door bladvlekken niet algemeen voorkwam. Echter, de schade per bedrijf kan wel erg groot zijn en het aantal gewassen uit de groep zomerbloemen waarin bladvlekken grote schade kunnen veroorzaken leek toe te nemen. Het is op basis van de beperkte inventarisatie niet goed mogelijk geweest een beeld te schetsen van de schade door bladvlekken in zomerbloemen op landelijk niveau.

Er is naast de omvang van de problematiek ook gekeken naar de omstandigheden waaronder aantasting optreedt. Vooral in perioden dat het gewas niet goed doorgroeit en/of minder vitaal is ontstaan bladvlekken. Verschillen in cultivargevoeligheid bleken in sommige gewassen groot te zijn (o.a. *Alchemilla*, *Paeonia*) en in

andere gewassen (o.a. *Veronica*) klein of niet bekend. Vochtige weersomstandigheden en een hoge gewasdichtheid bevorderen in verschillende zomerbloemen het ontstaan van bladvlekken. Waar problemen met bladvlekken verwacht worden, worden veelal enkele breedwerkende fungiciden afwisselend toegepast. Deels preventief, deels pas bij een beginnende aantasting. Naast chemische bestrijding worden enkele teeltmaatregelen ingezet om (o.a.) bladvlekkenziekte tegen te gaan, namelijk: opruimen van gewasresten, stomen voorafgaande aan een nieuwe teelt en het lostrekken van de looppaden in een meerjarig gewas. Breedwerkende fungiciden moeten in principe werkzaam zijn tegen een grote groep van schimmels die bladvlekken kunnen veroorzaken. Waarom bestrijding hiermee in de praktijk niet altijd effectief is, is niet duidelijk geworden op basis van de interviews.

1.2.2 Analyse van bladmonsters

Er zijn monsters onderzocht van *Carthamus*, *Veronica*, *Alchemilla*, *Eryngium*, *Anethum*, *Paeonia* en *Achillea*. Uit de bladvlekken zijn herhaaldelijk dezelfde ziekteverwekkende schimmels geïsoleerd. Vooral *Alternaria*, *Stemphylium*, *Cladosporium*, *Septoria* en *Botrytis* zijn vaak aangetoond. Deze schimmels kunnen bladvlekken veroorzaken in verschillende gewassen. De gevonden schimmels zijn verwant aan andere schimmels die bladvlekken kunnen veroorzaken: *Ramularia*, *Septoria*, *Phoma*, *Mycosphaerella* en *Cercospora*. Alle maken deel uit van de schimmelgroep Deuteromycota. Met deze schimmels werden bij inoculatie op gezonde bladeren echter niet de oorspronkelijke bladvlekken gevonden. Er is dus niet aangetoond dat met de geïsoleerde schimmels de daadwerkelijke veroorzaker(s) van de bladvlekken in de onderzochte gewassen gevonden zijn.

1.2.3 Literatuuronderzoek

Er is een literatuurstudie uitgevoerd naar *Ramularia* en *Stemphylium*. *Ramularia* kent vele soorten met een eigen waardplantenreeks en kan verschillende zomerbloemen aantasten. Gevoelige gewassen zijn o.a. *Veronica*, *Carthamus* en *Alchemilla*. *Ramularia* is in Nederland echter vooral bekend als één van de veroorzakers van bladvlekken in suikerbieten. Vooral bij wat koelere, vochtige omstandigheden treedt schade op. In dit gewas kunnen bladvlekken chemisch goed bestreden worden. Op basis van de symptomen in het gewas is het niet waarschijnlijk dat *Ramularia* in zomerbloemen steeds de veroorzaker van bladvlekken is en *Ramularia* werd ook bij geen enkel monster uit aangetaste materiaal geïsoleerd. *Stemphylium* veroorzaakt toenemende problemen in de perenteelt, veroorzaakt daarnaast ook bladvlekken in ui en asperge. *Stemphylium* komt ook algemeen voor als secundair pathogeen. Of de schimmels die uit zomerbloemen geïsoleerd zijn het gewas primair aantasten, of pas in een later stadium de bladvlekken koloniseren (secundair pathogeen) is niet duidelijk.

1.3 Onderzoek in 2007 en 2008

Dit rapport bevat rapportage van het onderzoek dat is uitgevoerd in 2007 en 2008. Doelstelling van het onderzoek is als volgt omschreven.

“Inzicht in de belangrijkste veroorzakers van bladvlekken in diverse soorten zomerbloemen. Waar mogelijk zal meteen een gericht bestrijdingsadvies voor de vastgestelde ziekteverwekkers worden opgesteld”

Om dit doel te bereiken is in 2007 en 2008 is de inventarisatie voortgezet en is gewerkt aan een verbeterde toetsmethode. Aanvankelijk zou het onderzoek in december 2007 afgerond worden. In 2007 is echter onvoldoende ziek bladmateriaal verzameld. Het was daardoor niet mogelijk om de toets op een efficiënte manier uit te voeren. Daarom is het onderzoek in 2008 met een andere aanpak voortgezet. Na een beschrijving van de gevolgde methode worden de resultaten toegelicht en aanbevelingen voor vervolgonderzoek gedaan.

Naast dit rapport is ook een artikel geschreven dat in het voorjaar van 2009 aan diverse vakbladen aangeboden zal worden (bijlage 1).

2 Materiaal en methoden

Binnen het onderzoek zijn diverse activiteiten te onderscheiden. Leidraad hierbij waren de postulaten van Koch:

- Vaststellen symptoom
- Isoleren mogelijke ziekteverwekkers
- Reproduceren symptoom met geïsoleerde ziekteverwekker (infectieproef)
- Ziekteverwekker opnieuw isoleren uit het vergelijkbare symptoom

Het succesvol doorlopen van bovenstaande stappen is de enige manier waarop de oorzaak van een plantenziekte met een nog onbekende oorzaak betrouwbaar vastgesteld kan worden. Zeker bij bladvlekken is het vaak lastig onderscheid te maken tussen aantastingen door verschillende ziekteverwekkers.

2.1 Vaststellen van symptomen

Vanaf het begin van het teeltseizoen is aan kwekers gevraagd om bij het vaststellen van de eerste ziekteverschijnselen van bladvlekkenziekte monsters van aangetaste blaadjes te sturen naar PPO in Lisse. Hiervoor zijn speciale enveloppen ontwikkeld. Deze enveloppen bevatten richtlijnen voor het inzenden van monsters en waren reeds aan PPO geadresseerd. Hieronder zijn kort de richtlijnen weergegeven voor het verzamelen en verzenden van monsters met bladvlekken.

Aangehouden richtlijnen voor monsternemen

- Om voldoende materiaal voor het onderzoek te hebben is het gewenst dat een monster is samengesteld uit ongeveer 10 planten of delen daarvan.
- Neem monsters op een plek waar nieuwe symptomen in verschillende gradaties worden aangetroffen. Laboratoriumonderzoek aan volledig afgestorven planten is vaak niet mogelijk.
- Neem een monster voordat een gewasbescherming is uitgevoerd. Bestrijdingsmiddelen doden of maskeren ziekteverwekkers en kunnen laboratoriumtoetsen verstoren.
- Bij onduidelijke symptomen is het van belang om complete planten te verzamelen en op te sturen.
- Een moeilijkheid bij het verzamelen van monstermateriaal vormen vaak de gemakkelijk afbrekende wortels. Bij wortelproblemen enkele planten met grond en al uitsteken om daarmee zoveel mogelijk wortels te sparen. Om de wortels en grond een plastic zak binden om uitdroging te voorkomen.
- Wanneer bollen op kisten of potten zijn geplant dienen deze bij voorkeur in het geheel voor onderzoek te worden aangeboden.
- Voor virusonderzoek is het gewenst om naast zieke planten ook één of twee gezond uitziende planten op te sturen. Verpak de gezond uitziende planten apart en geef op het label aan dat het om gezond materiaal gaat.

Aangehouden richtlijnen voor verzenden

- Voorkom dat bladeren en bloemen verontreinigd worden door meegestuurde aarde of substraat.
- Grond en wortels dienen tegen uitdroging te worden beschermd door deze met een plastic zak te omgeven (nooit water toevoegen!).
- Vouw bladeren en wortels in een krant om uitdroging en rotting te voorkomen.
- Verpak het geheel daarna in plastic of een goed afsluitbare kartonnen doos om verspreiding van ziekten te voorkomen.
- Voeg het opdrachtformulier bij.

De volledige richtlijnen en een opdrachtformulier zijn weergegeven in bijlage 2. Bij monsters die zijn verzameld volgens deze richtlijnen kan al in een vroeg stadium van de aantasting een isolatie gemaakt worden, waardoor de kans op succes toeneemt. Niet alle monsters zijn op deze manier aangeleverd. De

enveloppen zijn verspreid tijdens excursies en bijeenkomsten van zomerbloemenkwekers. Tevens zijn oproepen geplaatst in vakbladen en de nieuwsbrief van LTO groeiservice. Ook is aan verschillende voorlichters in het veld een stapel enveloppen meegegeven. Er is in 2007 ook een telefonische actie georganiseerd. In 2008 zijn monsters meegenomen bij bedrijfsbezoeken en excursies. Tevens is bij iedere excursie een mondelinge oproep gedaan. Op die manier is de zoektocht geïntensiveerd.

De bladmonsters van met bladvlekken aangetaste planten zijn ter onderzoek aangeboden bij diagnostiekservice van PPO in Lisse of onderzoekers van Wageningen UR glastuinbouw in Bleiswijk. Daar zijn de bladmonsters visueel en microscopisch beoordeeld. De symptomen zijn steeds kort beschreven en er is een foto gemaakt. Bij de beschrijving is aandacht besteed aan:

- Kleur
- Vorm
- Plek op het blad/stengel
- Aanwezigheid van schimmelpilus, sporen of vruchtlichamen
- Droog of nat
- Begrenzing met gezond blad
- Geur

Er zijn vele soorten zomerbloemen en bladvlekkenziekten kunnen door verschillende schimmels worden veroorzaakt. Het was niet mogelijk om planten op te kweken voor een toets in alle gewassen. Het onderzoek heeft zich daarom in 2007 in eerste instantie gericht op de gewassen *Carthamus*, *Brassica*, *Alchemilla* en *Phlox*. Gewassen waar volgens de literatuur ook *Ramularia* in voor kan komen. Er is wel van alle soorten zomerbloemen ziek materiaal verzameld en beoordeeld.

2.2 Isoleren van mogelijke ziekteverwekkers

Om na te gaan of er sprake was van een aantasting door schimmel(s) of eventueel andere plantpathogene organismen zijn uit de bladvlekken isolaties gemaakt. Daarbij is het blad vooraf snel afgespoeld met alcohol en daarna diverse keren nagespoeld met steriel water. De gespoelde bladeren zijn daarna voorzichtig afgedept waarna bladvlekken zijn uitgesneden. De uitgesneden stukjes zijn op een voedingsbodem van geplaatst. Als een bacteriële oorzaak vermoed werd is ook op een voor bacteriën geschikte voedingsbodem een isolatie gemaakt.

De petrischalen met zieke bladstukjes zijn in een donkere broedstoof geplaatst. Na 3 en 5 dagen is de uitgroei van schimmels beoordeeld. Als er meerdere schimmels in 1 schaal groeide zijn deze alle overgezet op nieuwe petrischalen met pda + antibiotica om ze op te zuiveren.

Na voldoende uitgroei zijn de gevonden schimmels microscopisch beoordeeld en gedetermineerd tot op geslachtsniveau. Voor zowel het isoleren van schimmels en bacteriën uit bladmonsters vanuit de praktijk als vanuit de infectieproeven is deze methode gebruikt.

2.3 Infectieproeven

2.3.1 Infectieproef in 2006

In 2006 is voor de infectieproef is gebruik gemaakt van bladeren van *Veronica*, *Carthamus*, *Alchemilla* en *Paeonia*. Er zijn gezonde bladeren gebruikt van soorten waarin bladvlekken voorkomen. Om de planten wat te verzwakken en zo mogelijk wat vatbaarder te maken voor infectie, hebben ze een week voor de infectieproef een korte dag behandeling gehad. Losse bladeren van de planten zijn voor besmetting langdurig afgespoeld met water en zeep om op het blad aanwezige micro-organismen zoveel mogelijk te verwijderen. Vervolgens is op één plek op het blad een schimmelsuspensie van één van de gevonden schimmels opgebracht. Ook is een behandeling opgenomen om na te gaan of eventueel een combinatie van

de geïsoleerde schimmels verantwoordelijk is voor de bladvlekken. Daarbij is een mengsel van de geïsoleerde schimmels op het blad aangebracht.

Om de rol van beschadiging te verhelderen is iedere mogelijke ziekteverwekker zowel op een blad met als een blad zonder beschadiging aangebracht. Voor het beschadigen is met een stomp voorwerp op de inoculatieplaats gedrukt, dat is de plek waar de schimmel of bacterie wordt aangebracht. De geïnoculeerde bladeren zijn bij hoge luchtvochtigheid en in een stoof weggelegd. De ontwikkeling van symptomen op het blad is gevolgd, beschreven en fotografisch vastgelegd. Daar waar symptomen zijn ontstaan, zijn opnieuw isolaties uit de rand van het symptoom gemaakt om te bepalen of de opgebrachte ziekteverwekker in het aangetaste weefsel terug te vinden was.

2.3.2 Infectieproef in 2007

Omdat met de methode in 2006 in geen van de gevallen de ziekteverwekker volgens de postulaten van Koch vastgesteld kon worden, is in 2007 een andere strategie gevolgd. Het doel was de schimmels op levende planten te testen. In 2007 zijn van de gewassen waarop het onderzoek zich richtte planten opgekweekt die in september volgroeid zouden zijn. Gedurende het seizoen is ziek materiaal verzameld. Echter er zijn niet voldoende monsters binnengekomen om de proef op efficiënte wijze uit te voeren. Er werden wel wat monsters van andere gewassen opgestuurd. In overleg met de LGC is besloten om het onderzoek daarom een jaar uit te stellen en in het volgende jaar het zoeken te intensiveren. Tevens is de beslissing genomen om de infectieproeven aan te passen, zodat geen planten opgekweekt hoefden te worden.

2.3.3 Infectieproef in 2008

In 2008 is voor de infectieproef voortgeborduurd op het protocol uit 2006. Er zijn echter een aantal wijzigingen aangebracht. De proef is uitgevoerd in afsluitbare plastic bakjes met nat filtreerpapier, er is geen sporensuspensie gebruikt maar een stukje voedingsbodem met schimmel en de bakjes zijn bij een lagere temperatuur weggezet. Om de aangepaste infectieproef te testen is gebruik gemaakt van gezonde bladeren van *Delphinium* die langdurig zijn afgespoeld met water en zeep om op het blad aanwezige micro-organismen zoveel mogelijk te verwijderen.

Op de bodem van plastic bakjes is filtreerpapier aangebracht die daarna is nat gemaakt met steriel water. Het overtollige water is daarna uit de bakjes gegoten. Per bakje zijn twee afgespoelde en voorzichtig afgedepte bladeren op het vochtige filtreerpapier gelegd (1x bovenkant naar boven gericht en 1x onderkant naar boven gericht).

Vervolgens is op vier plaatsen op het blad een stukje schimmelcultuur aangebracht (diameter 4 mm). Als controle zijn ook een paar bladeren in een bakje geïnoculeerd met stukjes voedingsbodem zonder schimmel. Om de rol van beschadiging te verhelderen is ook steeds per schimmelsoort geïnoculeerd op licht beschadigd blad. Voor het beschadigen is met een stomp voorwerp op de inoculatieplaats gedrukt zodat het bladweefsel werd gekneusd.

Alle bakjes zijn na inoculatie afgesloten met een kunststof deksel om een voldoende hoge luchtvochtigheid rond de geïnoculeerde bladeren te creëren. De bakjes zijn daarna weggezet in een laboratoriumruimte bij kamertemperatuur. Warmte en een hoge RV zijn omstandigheden die over het algemeen de groei van schimmels en bacteriën bevorderen.

De ontwikkeling van symptomen op het blad is gevolgd, beschreven en fotografisch vastgelegd. Daar waar symptomen zijn ontstaan, zijn na ontsmetting van het blad opnieuw isolaties gemaakt om te bepalen of de opgebrachte ziekteverwekker in het aangetaste weefsel terug te vinden was.

Ook bij WUR Glastuinbouw in Bleiswijk is deze methode uitgevoerd, maar daar zijn lagere bakjes gebruikt. De ervaringen in Bleiswijk waren minder goed dan in Lisse, er zijn ook andere plantensoorten onderzocht dan in Lisse. In Bleiswijk zijn enkele schimmels die vooraf op het blad zaten tijdens de proef uitgegroeid. Deze zijn geïsoleerd en de isolaten kunnen weer in een nieuwe infectieproef gebruikt worden.

3 Resultaten

3.1 Verzameld ziek materiaal

3.1.1 Resultaat 2007

In 2007 zijn zeer weinig monsters binnengekomen. Het is goed mogelijk dat de klimaatomstandigheden minder gunstig zijn geweest voor het ontstaan van bladvlekken.

3.1.2 Resultaat 2008

In 2008 zijn in totaal 33 monsters binnengekomen en verzameld uit de praktijk. Vooral tussen juni en augustus zijn veel monsters binnengekomen. Een enkel monster kwam in mei of september nog binnen. Tabel 1 geeft een overzicht van de binnengekomen monsters.

Tabel 1. overzicht van monsters met bladvlekken in zomerbloemen verzameld in 2008.

Gewas	Oorsprong	Maand	Symptomen	Geïsoleerde schimmels, bacteriën/diagnose
<i>Achillea</i>	Bollenstreek	sept	Zwarte vlekken op het blad.	<i>Alternaria</i> , <i>Fusarium</i> en <i>Cladosporium</i>
<i>Alchemilla</i>	Veenstreek	Juni	Witte kleine vlekken afgesloten door de nerven.	Valse meeldauw en een onbekende schimmel
<i>Asclepias</i>	Veenstreek	Juli	Rode en donkere vlekken en vergeling op het blad in de kop van de plant. Bladval en afsterven van de plant. Donkere plekken op de stengel.	<i>Alternaria</i> , <i>Phoma</i> en <i>Cladosporium</i>
<i>Aster-novi Belgii</i>	Noord Holland	Aug	Donkerbruine kleine vlekjes met een donkere rand. Soms valt een gat in de vlek.	<i>Fusarium</i> , <i>Alternaria</i> en heel vaak een onbekende grijze schimmel.
<i>Astrantia</i>		Okt	Bruine vlekken, enigszins hoekig en een lichtgele rand	Geen isolaties gemaakt
<i>Campanula</i>	Bollenstreek	sept	Zwarte vlekken op het blad.	<i>Alternaria</i> en 2 onbekende schimmels.
<i>Carthamus</i>	Noord Holland	Aug	Bruine vlekken op blad en bloemkroon. Variërend van klein tot zeer groot.	2 soorten <i>Alternaria</i> . 1 weinig gezien soort is heel vaak gevonden.
<i>Carthamus</i>	Veenstreek	Aug	Grijze bladvlekken, ook op de bloemkelk.	<i>Alternaria</i> en een enkele <i>Fusarium</i> .
<i>Chelone</i>	Veenstreek	Juli	Bruine ingevallen plekken met een zwarte rand erom. Vooral aan uiteinde van het blad. In een zeer vol gewas.	<i>Colletotrichum</i> , <i>Alternaria</i> en onbekende schimmel (Bleiswijk) en <i>Alternaria</i> , <i>Botrytis</i> en een onbekende gele schimmel (Lisse)
<i>Cotinus</i>	Bollenstreek	Mei	Bruine kleine necrotische vlekjes over heel het blad.	Geen ziekteverwekker gevonden. Ziektebeeld en oorzaak niet bekend bij specialisten.
<i>Dahlia</i>	Brabant	Sept	Bruine vlekken op onderste bladeren. Donkerbruine rand en om de vlek lichtgeel weefsel.	<i>Entyloma Dahliae</i>

Gewas	Oorsprong	Maand	Symptomen	Geïsoleerde schimmels, bacteriën/diagnose
<i>Dahlia</i>	Onbekend	Okt	Telefonische melding, monsters niet opgestuurd. Vermoedelijk <i>Entyloma</i>	nvt
<i>Delphinium</i>	Veenstreek	Aug	Donkere paarszwarte kleine vlekjes op blad lager in de plant.	<i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i> , rode bacterie en onbekende schimmel
<i>Delphinium</i>	Bollenstreek	Aug	Donkere paarszwarte kleine vlekjes op blad lager in de plant.	<i>Cladosporium</i> , rode bacterie, <i>Alternaria</i> , <i>Phoma</i> .
<i>Delphinium</i>	Bollenstreek	Aug	Grote bruine vlekken.	Ja, rode bacterie, <i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i> en <i>Stemphylium</i>
<i>Delphinium</i>	Bollenstreek	Aug	Kleine rood achtige donkere vlekken.	Gebreksverschijnselen, Veel <i>Cladosporium</i> en wat <i>Botrytis</i> en <i>Phoma</i>
<i>Delphinium</i>	Via voorlichting	Aug	Donkere paarszwarte kleine vlekjes op blad lager in de plant.	voornamelijk <i>Phoma</i> en ook <i>Cladosporium</i>
<i>Dicentra</i>	Brabant	Sept	Afgestorven blad, vooral aan de randen. Kleine zwarte vlekjes op het blad, maar niet veel. Het blad lijkt afgebrand.	<i>Alternaria</i> en <i>Fusarium</i>
<i>Anethum</i>	Bollenstreek	Juli	Langwerpige onregelmatig gevormde bruine vlekken op de stengel en vlekjes op het blad, verrotte bloemetjes	<i>Alternaria</i> en <i>Stemphylium</i> . Enkele <i>Cladosporium</i> en <i>Botrytis</i> .
<i>Echinaceae</i>	Brabant	Juli	Grote bruine vlekken afgesloten door de nerf	<i>Botrytis</i> , <i>Alternaria</i> , diverse onbekende isolaten
<i>Gentiana</i>	Onbekend	Juni-okt	e-mail contact, geen monster aanwezig	<i>Phoma</i> , door Pd vastgesteld.
<i>Gentiana</i>	Via voorlichting	Sept	Bruine ronde en langgerekte vlekken met zwarte stipjes	<i>Phoma</i> , <i>Septoria</i> en <i>Fusarium</i>
<i>Hypericum</i>	Brabant	Juli	?	<i>Alternaria</i> , diverse onbekende isolaten
<i>Limonium</i>	Veenstreek	Juni	Roodbruine vlekken op blad en stengel	<i>Pestalotia</i>
<i>Phlox</i>	Bollenstreek	Mei	Zwarte vlekken met vertakkingen en kringvormige patronen	diverse o.a. <i>Alternaria</i>
<i>Phlox</i>	Brabant	Juli	1 blad kleine bruine vlekjes. 1 blad was waarschijnlijk gebrek.	Diverse onbekende isolaten
<i>Paeonia</i>	Brabant	Aug	Vrij grote bruine vlekken waarbij soms een gat in het blad valt	2 heel verschillende soorten <i>Alternaria</i>
<i>Rosa</i>	Brabant	Juli	Rode ronde vlekken met vertakkingen	<i>Diplocarpon</i> en nog onbekende schimmel
<i>Rudbeckia</i>	Brabant	Juli	Donkere vlekken	?
<i>Setaria</i>	Via voorlichting	Aug	?	Moeilijk te determineren schimmels
<i>Veronica</i>	Veenstreek	Juli	Donkere paarszwarte kleine vlekjes op blad lager in de plant. Aangetaste stengels kleuren donker.	<i>Ramularia</i> , <i>Cylindrocladium</i>
<i>Veronica</i>	Veenstreek	Juli	Kleine donkere puntjes aan de rand van het blad	Gebreksverschijnselen

In alle gewassen is een grote variatie aan mogelijk schadelijke schimmels gevonden. In het materiaal met bladplekken zijn met name *Alternaria*, *Cladosporium*, *Cylindrocladium* en *Phoma* vaak gevonden. Verder zijn ook *Entyloma*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Stemphyllium*, *Diplocarpon* en *Ramularia* gevonden. In een enkel geval waren gebreksverschijnselen de vermoedelijke oorzaak, soms als gevolg van wortelrot. Alleen bij *Entyloma* in

Dahlia en *Diplocarpon* in roos was geen twijfel over de oorzaak van de bladplekken in alle andere gevallen zijn meerdere schimmels of bacteriën geïsoleerd. Een infectieproef en vervolgens herisolatie moeten daarna nog uitgevoerd worden en duidelijkheid geven. Het is ook mogelijk dat er meerdere veroorzakers van bladplekken per gewas gevonden werden.

Hieronder volgen enkele foto's van de gevonden bladplekken die niet verder beschreven worden bij de infectieproeven.



Figuur 1. *Entyloma* in *Dahlia*



Figuur 2. *Diplocarpon* in Roos



Figuur 3. Bladplekken in *Carthamus*



Figuur 4. Bladplekken in *Phlox*



Figuur 5. Bladplekken in *Echinaceae*



Figuur 6. Bladplekken in *Aster*



Figuur 7. Bladvlekken in Gentiaan



Figuur 8. Gebrekverschijnselen in *Delphinium*



Figuur 9. Bladvlekken in Pioenroos



Figuur10. Bladvlekken in *Dicentra*

3.2 Infectieproeven

In 2007 is besloten met de gevonden schimmels en de opgekweekte planten geen infectieproeven uit te voeren om het budget in 2008 te kunnen gebruiken voor het voortzetten van de inventarisatie en het uitwerken van een efficiëntere toetsmethode.

In het najaar van 2008 was het nog mogelijk infectieproeven uit te voeren met de gewassen *Chelone*, *Delphinium*, *Campanula*, *Veronica* en *Asclepias*. Met deze gewassen is de aangepaste toets getest. De resultaten zijn hieronder weergegeven.

3.2.1 *Delphinium*

De bladvlekken in *Delphinium* zijn als volgt beschreven “Donkere paarszwarte kleine vlekjes op blad lager in de plant” Kwekers geven aan dat het ziektebeeld zich kan uitbreiden tot afgestorven bladranden of hele bladeren en ook de stengel kan uiteindelijk aangetast worden. De volgende beschrijving van de symptomen is opgesteld door Peter Vink van diagnostiek bij PPO in Lisse.

Symptomen:

Van onderaf ontstaan op het blad onregelmatige, niet scherp begrensde, bruinzwarte bladvlekken die vaak omringd zijn met licht vergelend bladweefsel. Soms is het aangetaste bladweefsel meer zwart dan bruin. In



Figuur 11. Vroege symptomen van bladvlekken in *Delphinium*

en op de bladvlekken worden visueel en microscopisch geen duidelijke schimmeldraden, sporulatie of vruchtlichamen van een schimmel gevonden. De bladvlekken zijn zowel aan de bovenzijde als de onderzijde van het blad zichtbaar. Meerdere bladvlekken kunnen aaneengroeien zodat grotere bladvlekken ontstaan en een groot gedeelte van het blad afsterft. Soms ontstaan de zwartbruine vlekken ook op de stengels.

Abbeelding 11 laat een *Delphinium* blad met deze symptomen zien.

Van *Delphinium* zijn 5 monsters binnengekomen, waarvan de meeste deze vlekjes lieten zien. Vanuit alle monsters zijn isolaties gemaakt. Hierin is een grote

diversiteit aan schimmels en bacteriën gevonden die mogelijk de plant kunnen aantasten, waaronder: *Cladosporium*, *Alternaria*, *Phoma*, *Stemphylium* en een rode bacterie. Deze zijn in Lisse getoetst met de infectieproef. Van isolaten van de schimmels *Cladosporium*, *Alternaria*, *Stemphylium* en *Phoma*. zijn 4 herhalingen ingezet, zodat in totaal 16 isolaten getoetst zijn. De isolaten zijn blind genummerd. Zowel infectie via de bovenzijde als de onderzijde van het blad en beschadigd en onbeschadigd blad is uitgevoerd. De resultaten van de infectieproef zijn weergegeven in tabel 2.

Tabel 2. resultaten van de infectieproef met *Delphinium*.

Isolaten	Blad beschadigd	Blad beschadigd	Blad niet beschadigd	Blad niet beschadigd
	Bovenzijde blad	Onderzijde blad	Bovenzijde blad	Onderzijde blad
1	4	4	4	3
2	4	4	0	0
3	1	1	0	0
4	3	4	0	0
5	4	4	0	0
6	4	4	4	4
7	4	4	0	0
8	4	4	0	0
9	4	4	1	0
10	4	4	0	0
11	4	4	1	0
12	4	4	4	4
13	4	4	4	4
14	4	4	0	0
15	4	4	0	0
16	4	4	0	0

Het bleek dat de meeste schimmels in vrijwel alle gevallen in staat waren om bladweefsel van de beschadigde blaadjes te begroeien waardoor bladvlekken ontstonden van verschillende kleur en vorm. Op deze manier kon dus niet aangetoond worden of een schimmel echt de ziekteverwekker is, omdat alle schimmels een reactie op het blad gaven. Het is niet waarschijnlijk dat alle schimmels de oorzaak zijn.

Bij de niet-beschadigde blaadjes bleek dat met de schimmel-isolaten 1, 6, 12 en 13 bladvlekken ontstonden met ongeveer dezelfde symptomen als de oorspronkelijke bladvlekken waaruit de schimmels waren geïsoleerd. De bladvlekken ontstonden op zowel de boven- als onderzijde van het blad. Alle andere schimmels en de bacterie waren niet in staat om bladvlekken te veroorzaken. Het maakte daarbij niet uit of de schimmels of bacterie aan de bovenzijde of onderzijde van het blad waren aangebracht.



Figuur 12. Geen symptomen door schimmel



Figuur 13. Symptomen door *Phoma* schimmel

Uit de bladvlekken zijn opnieuw isolaties gemaakt waarbij dezelfde schimmels werden terug gevonden als waarmee de blaadjes waren geïnoculeerd. Deze schimmels zijn daarna nogmaals microscopisch gedetermineerd waarbij het in alle gevallen om de schimmel *Phoma* ging. Na genetisch onderzoek bleek de *Phoma*-schimmel het meest overheen te komen met *Phoma cucurbitacearum*, die in dit geval dus als de ziekteverwekker mag worden bestempeld. Gezien de zeer grote verscheidenheid van *Phoma* soorten is een zekere mate van onzekerheid in de soortbepaling moeilijk uit te sluiten.

3.2.2 *Chelone*

De bladvlekken in *Chelone* zijn als volgt beschreven "Bruine ingevallen plekken met een zwarte rand erom. Vooral aan uiteinde van het blad. In een zeer vol gewas". Afbeelding 14 laat een *Chelone* blad met deze symptomen zien. Uit de bladvlekken zijn de schimmels



Figuur 14. Symptomen van bladvlekken in *Chelone*

Colletotrichum, *Botrytis*, *Alternaria* en meerdere onbekende schimmels geïsoleerd. Met deze schimmels is een infectieproef ingezet in Bleiswijk. Bij *Chelone* zijn vleeswarenbakjes gebruikt in plaats van Bamibakjes. Verder is de uitvoering gelijk geweest aan de proef met *Delphinium*. De proef had een minder duidelijk resultaat dan de proef met *Delphinium*. De isolaten gaven vaak wel weer opnieuw bladvlekken, maar niet dezelfde als de symptomen van het oorspronkelijke ziektebeeld.

Isolaat F

Isolaat F gaf in eerste instantie vlekjes rondom het opgebrachte ponsje. In een later stadium ontstonden scherp afgetekende vlekken op het blad.

Isolaat F is geïsoleerd uit een plant met verschijnselen die voorlopig waren gediagnosticeerd als *Colletotrichum*. Of isolaat F daadwerkelijk *Colletotrichum* is, is niet duidelijk. Terugisoleren van de opgebrachte schimmel is niet gelukt.

Isolaat K: Onbekende schimmel

Isolaat K gaf zonder kneuzing van het blad stippels of vlekken rondom het agarponsje te zien.

Op het wel gekneusde blad ontstond een snel groter wordende bruine vlek na opbrengen van isolaat K. Terugisoleren van isolaat K is niet gelukt.

Isolaat H: Botrytis

Ook isolaat H gaf op ongekneusd blad van *Chelone* vlekjes en in een later stadium een grillige vlek.

Terugisoleren van isolaat H is succesvol geweest. Er is dezelfde *Botrytis* teruggevonden. Vanwege het iets afwijkende uiterlijk van de bladvlekken in de infectieproef t.o.v. het oorspronkelijke zieke materiaal moet nog wel een slag om de arm gehouden worden. Een sterke overeenkomst waren wel de donkere puntjes voorafgaand aan de infectie en de kleur van het aangetaste weefsel. Er zou nog een tweede infectieproef uitgevoerd moeten worden.



Figuur 15. Isolaat H: Botrytis

Isolaat K onbekende schimmel

Isolaat F. Colletotrichum

3.2.3 *Veronica*

De bladvlekken in *Veronica* zijn als volgt beschreven: “Donkere paarszwarte kleine vlekjes op blad lager in de plant. Later kunnen aangetaste stengels ook donker kleuren”. Uit het blad zijn de schimmels *Ramularia* en *Cylindrocladium* geïsoleerd. Met deze schimmels is in Bleiswijk een infectieproef uitgevoerd op blad van zowel een paarse als een witte *Veronica* soort.

Zowel de paars- als de witbloemige *Veronica* gaf alleen na kneuzing van het blad enige vlekken. Deze leken niet op de originele vlekken. Terugisoleren leverde echter uitsluitend *Cladosporium* op. De werkelijke ziekteverwekker is in *Veronica* dus niet vastgesteld.



Figuur 16. symptomen bij *Veronica*



Figuur 17. Bladvlekken op gekneusd blad van *Veronica*

3.2.4 *Asclepias*

De bladvlekken in *Asclepias* zijn als volgt beschreven: “Rode en donkere vlekken en vergeling op het blad in de kop van de plant. Bladval en afsterven van de plant. Donkere plekken op de stengel”. Uit de bladvlekken zijn de schimmels *Alternaria*, *Phoma* en *Cladosporium* geïsoleerd. Met deze schimmels is een infectieproef uitgevoerd in Bleiswijk.



Figuur 18. Symptomen bij *Asclepias*

Het blad waarop de infectieproef met *Asclepias* is uitgevoerd was van een kasteelt en zeer zacht. Het rotte te snel om effect van de inoculatie te zien. Er zijn geen bladvlekken ontstaan.

3.3 Literatuurstudie

Een relevant overzicht van ziekteverwekkers die voor zomerbloemen relevant kunnen zijn is gegeven in het boek Van Abelia tot zwarte bonenluis (Mertens, 2006). Niet alle voor de boomkwekerij relevante ziekteverwekkers komen ook in zomerbloemen voor, maar een groot deel van de genoemde

ziekteverwekkers is ook in dit onderzoek of in het verleden in zomerbloemen gevonden. De gegeven familie-indeling op basis van Mertens is hieronder in tabelvorm samengevat (Tabel 3).

Tabel 3. Classificatie van schimmels en schimmelachtige levensvormen

Koninkrijk	Phylum	Klasse	Orde	Vorb. Ziekteverwekker	
Protozoa	Myxomycota			alleen saprofieten	
	Plasmodiophoromycota			<i>Polymyxa graminis</i> <i>Plasmodiophora brassicae</i> (knolvoet)	
Chromista	Oomycota		Pythiales	<i>Phytophthora</i> <i>Pythium</i>	
			Peronosporales	Valse meeldauwsoorten : <i>Peronospora</i> <i>Bremia</i> <i>Plasmopara</i>	
Fungi	Zygomycota			<i>Endogone</i> <i>Glomus</i> <i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	
	Ascomycota (zakjeszwammen)	Sacharomycetes		<i>Gisten</i>	
		Taphrinomycetes		<i>Taphrina</i>	
		Ascomycetes	Erysiphales		Echte meeldauwsoorten: <i>Erysiphe</i> <i>Microspora</i> <i>Oidium</i> <i>Podosphaera</i>
			Hypocreales		<i>Claviceps</i> (moederkoren) <i>Verticillium</i> <i>Cylindrocladium</i> <i>Fusarium</i> <i>Cylindrocarpon</i>
			Dothidiales		<i>Phyllostica</i> , <i>Sphaeropsis</i> <i>Stigmia</i> (hagelschot prunus)
			Pleosporales		<i>Phoma</i> , <i>Alternaria</i> <i>Venturia</i> (schurft)
			Helothiales		<i>Diplocarpon</i> , <i>Sclerotinia</i> , <i>Botryotinia</i> (<i>Botrytis</i>), <i>Monilinia</i> (<i>Monilia</i>), <i>Didymascella</i> <i>Ramularia</i>
			Diapothales		<i>Gnomonia</i> <i>Phomopsis</i>
			Xylariales		<i>Pestalotia</i>
			Mycosphaerellales		<i>Septoria</i>
	Microascales		<i>Thielaviopsis</i>		
Niet gespecificeerd		<i>Colletotrichum</i> <i>Pleiochaeta</i>			

Koninkrijk	Phylum	Klasse	Orde	Voorb. Ziekteverwekker
				<i>Pycnostysanus</i>
	Basidiomycota	Ustilaginomycetes		<i>Exobasidium</i> <i>Herpobasidium</i> (kalkvlekken)
		Urediniomycetes	Uredinales	Roesten o.a. <i>Puccinia</i> <i>Melampsora sp.</i> <i>Uromyces</i> <i>Gymnosporangium</i>
		Basidiomycetes	Ceratobasidiales	<i>Rhizoctonia</i>
	Polyporales		<i>Chondrostereum</i> (loodglans)	

De gevonden schimmels in bladvlekken in zomerbloemen zijn ook vanuit de boomteelt bekend. Er zijn echter van de meeste schimmels vele soorten die meer of minder specifiek een gewas aan kunnen tasten. Alle mogelijke veroorzakers behoren tot de klasse van de ascomycetes, maar zijn van verschillende ordes en families.

3.4 Informatie over *Phoma* en *Botrytis*

In het rapport 'Ramularia' in zomerbloemen (de Werd, 2006), is reeds een literatuurstudie beschreven voor *Ramularia* en *Stemphylium* in zomerbloemen. Er zijn hierop geen relevante aanvullingen gevonden.

In deze proeven zijn de schimmels *Phoma* en *Botrytis* (met enige reserve) aangetoonde veroorzakers van bladvlekken in respectievelijk *Delphinium* en *Chelone*. Kennis uit de literatuur over deze 2 schimmels is daarom verder uitgediept.

Daarnaast zijn meerdere meldingen binnengekomen van *Entyloma* in *Dahlia*, daarom wordt ook deze ziekte wat uitgebreider beschreven.

3.4.1 *Phoma* sp.

Phoma is een reeds beschreven ziekte in *Delphinium*. Als ziekteverwekker in *Delphinium* zijn de soorten *P. xanthima* en *P. delphinii* voor het gewas *Delphinium* beschreven in de literatuur. De verscheidenheid aan soorten van *Phoma* is zeer groot. De in dit onderzoek geïsoleerde soort bleek na genetisch onderzoek het meest overheen te komen met *Phoma cucurbitacearum*.

In zomerbloemen is *Phoma* vooral in *Sedum* een gevreesde ziekte. Het betreft dan vaak voetrot met een karakteristieke blauwachtige donkere kleur. Voor de export van snijheesters is *Phoma* een gevreesde schimmel i.v.m. fytosanitaire sancties als deze aangetroffen wordt bij export naar Amerika. In het rapport Vruchtwisseling in zomerbloemen (van der Helm et al, 2008) is een algemene beschrijving gegeven van *Phoma* in zomerbloemen en *Delphinium* in het bijzonder. Deze algemene beschrijving is in dit rapport aangevuld met symptoombeschrijving uit dit onderzoek.

Schadebeeld

Onderin het gewas ontstaan bruinzwarte, soms langgerekte vlekjes op blad, stengel en bloemknoppen. De bruinzwarte bladvlekken kunnen omringd zijn met licht vergelend bladweefsel. In en op de bladvlekken worden geen duidelijke schimmeldraden, sporen of vruchtlichamen van een schimmel gevonden. De bladvlekken zijn zowel aan de bovenzijde als de onderzijde van het blad zichtbaar. Bij een lichte infectie worden onderin het gewas als eerste de bladeren aangetast. Bij zwaardere infectie wordt ook de stengel en daarna de bloemaar aangetast. De bloemaar groeit dan gekromd verder en de bloemknoppen worden zwart. De roze en witte *Delphinium consolida* lijken wat gevoeliger voor deze schimmels te zijn dan andere

kleuren. Bij chrysant geeft *Phoma* bruinzwarte vlekken op de bladeren, stelen en bloemknoppen. Bij een aantasting van de stengel ontstaat dikwijls een misvorming van het groeipunt en/of een mozaïekverkleuring van de topbladeren. De bloembodem is zwart verkleurd.

Levenswijze

Er zijn een zeer groot aantal *Phoma*-soorten bekend. Sommige zijn waardplantenspecifiek, andere hebben een hele reeks van waardplanten. *Phoma* is in de meeste gevallen een zwakteparasiet, zodat hij bijvoorbeeld na vorstschade op de bladeren opgemerkt kan worden. Het schadebeeld hangt af van de soort *Phoma* waarmee we te maken hebben.

Phoma soorten kunnen op gewasresten en op dood materiaal overwinteren. In gehakselde gewasresten zullen de schimmels ondergronds verteren, maar minstens een jaar actief blijven. Ze kunnen zich op of in de zaadhuid bevinden en gaan met het zaad over. Verspreiding vindt plaats via handelingen in het gewas, regendruppels, gereedschappen en werktuigen. Infectie gebeurt via sporen die zich in vruchtlichamen op aangetast materiaal bevinden. Een hoge luchtvochtigheid en voor de plant ongunstige groeiomstandigheden verhogen het infectierisico. *Phoma xanthima* heeft alleen *Delphinium* als waardplant. De schimmel vormt een rond vruchtlichaam (pycnide), hierin worden massaal sporen gevormd die voor de verspreiding zorgen. Lagere temperaturen (circa 15°C) en vochtige omstandigheden bevorderen de ontwikkeling van deze *Phoma* schimmel. *Phoma chrysanthemi* bij chrysant vormt op het aangetaste materiaal vruchtlichamen met ongeslachtelijke sporen. Daarnaast wordt het geslachtelijke stadium (peritheciën) gevormd met daarin de ascosporen. Deze worden gemakkelijk door de lucht verspreid. Voor de kieming van de sporen is een minimale temperatuur van 5°C en vrij water noodzakelijk. Verwondingen bevorderen de kieming en dus de infectie.

Waardplantenreeks

Achillea, *Anthriscum*, *Asclepias*, *Brassica*, *Chrysanthemum*, Chrysant (*P. chrysanthemicola* f.sp. *chrysanthemicola*), *Dahlia*, *Delphinium*, *Dianthus barbatus*, *Echinops*, *Hydrangea*, *Lavandula*, *Limonium*, , *Matthiola*, *Sedum*, *Solidago*, *Tanacetum*, *Trachelium*, *Veronica*, *Viburnum* en vele andere.

Advies ter bestrijding van *Phoma*:

- Gebruik gezonde moerplanten om te vermeerderen.
- Houd een ruime vruchtwisseling aan, ook tussen verschillende families van de buitenbloemen.
- Houd ruimere plantafstanden aan.
- Giet onderdoor zodat het gewas droog blijft.
- Probeer door cultuurmaatregelen natslaan en guttatie (druppelen) te voorkomen. Zorg dat het gewas na een bespuiting droog de nacht ingaat.
- Voer bedrijfshygië strikt door. Het is belangrijk gewasresten te verwijderen, omdat de schimmel hierop kan overleven.
- Wanneer *Phoma* wordt aangetroffen is het beter het volgende jaar geen *Delphinium* op hetzelfde perceel te telen.
- Een advies voor chemische bestrijding van *Phoma* is gegeven in Gewasbescherming Boomteelt en vaste plantenteelt 2008 van DLV (Abeelen en Dorresteijn, 2008). Wissel middelen af om resistentie te voorkomen.

3.4.2 *Botrytis*

De *Botrytis* die in *Chelone* is gevonden is nog niet op soort gedetermineerd. De meest voorkomende soort in cultuurgewassen is *Botrytis cinerea*. Het is geen beschreven ziekteverwekker van bladvlekken in *Chelone*. Het probleem met bladvlekken in *Chelone* speelt al lange tijd. Van Velsen besteedt in zijn artikel over *Chelone* in het vakblad voor de bloemisterij van 1980 reeds aandacht aan bladvlekken. Hierbij noemt hij ook een vol en zwaar gewas al extra risicofactor, zo kan het gewas waar het ziek materiaal gevonden is ook omschreven worden. Tevens wordt een luwe omgeving als risicofactor genoemd. Het gewas stond enigszins in de luwte van een tunnelkas. Van Velsen vermeldt echter geen ziekteverwekker (Van Velsen, 1980). Er is in de beschikbare literatuur geen vermelding van *Botrytis* als veroorzaker van bladvlekken in *Chelone* gevonden.

Alternaria is als veroorzaker van bladvlekken in *Chelone* wel beschreven door Michigan state University, maar het ziektebeeld komt niet overeen met de symptomen die in Nederland gevonden worden. Veel minder nog dan de bladvlekken die in de infectieproef gevonden zijn.

Een samenvatting van literatuur over *Botrytis* in zomerbloemen is gegeven in het rapport Vruchtwisseling in zomerbloemen (van der Helm et.al., 2008).

Schadebeeld

Het schadebeeld dat in *Chelone* is waargenomen komt niet goed overeen met de algemene beschrijving van *Botrytis* in siergewassen. Er is bijvoorbeeld geen grijs/grauw schimmelpluis (stuiwend) op stengel, blad en bloemen waargenomen. Wel zijn er plekken beige-bruin droogrot waargenomen. Het onderliggende vaatweefsel wordt bruin tot ver voorbij de uiterlijke aantasting. *Botrytis* komt normaal vooral voor op wonden, bloemen en op afgestorven plantmateriaal. Op de bloemen ontstaan onder vochtige omstandigheden pokken (kleine lesions) die uit kunnen groeien. Uiteindelijk kan de hele bloem aangetast worden. Dit stadium wordt vooral in het naoogsttraject waargenomen en is bij de kweker met *Chelone* ook niet gezien. Alleen de beschreven bruin beige droogrot komt enigszins overeen met het waargenomen ziektebeeld in *Chelone*.

Levenswijze

Botrytis cinerea is een zeer algemeen voorkomende schimmel die zowel primaire als secundaire veroorzaker van problemen kan zijn. Het is een zwakteparasiet die vooral onder vochtige omstandigheden schade veroorzaakt. *Botrytis*-sporen zijn in grote aantallen in de lucht aanwezig. De sporen kunnen onder vochtige en donkere omstandigheden gedurende meerdere weken kiemkracht houden. In de zomer bij een hoge instraling verliest de spore snel kiemkracht. De schimmel kan in de grond op aangetast plantmateriaal overwinteren.

De sporen zijn klein en bevatten weinig vocht. Bij een relatieve luchtvochtigheid die hoger is dan 93 % kan de spore voldoende vocht opnemen om te kiemen en te infecteren. *Botrytis* kan tussen 2 °C en 30 °C aantasting veroorzaken met een optimum bij 20°C. De schimmel verspreidt zich door sporen via lucht, water, insecten, of door handelingen in het gewas, door schimmeldraden (mycelium) die korte afstanden kunnen overbruggen, en door sclerotiën die achterblijven in plantmateriaal of in de grond. Aantasting vindt vaak eerst plaats op afgestorven materiaal of via wonden, van waaruit gezond materiaal wordt geïnfecteerd. Niet alleen het vochtgehalte en de temperatuur zijn van invloed op de infectiekansen, maar ook de hoeveelheid voedingsstoffen. Naarmate er meer voedingsstoffen aanwezig zijn in de verschillende plantedelen, is de kans op infectie groter. De kleine sporen bevatten weinig eigen voedselreserves en hebben daarom behoefte aan uitwendig voedsel. De afgevallen bloemblaadjes en meeldraden die op het blad terecht komen kunnen de uitvalsbasis vormen voor een infectie. *Botrytis cinerea* kan na het ontstaan van infectie latent worden als de omstandigheden voor de uitgroei van het schimmelweefsel ongunstig zijn. De binnengedrongen schimmel is dan niet dood, maar groeit voorlopig niet verder. Pas bij gunstige omstandigheden kan de schimmel opnieuw actief worden. Zo'n periode kan wel enkele weken duren. *Botrytis cinerea* kan door zaad worden overgedragen maar dit is niet de belangrijkste verspreidingsbron.

Waardplantenreeks

Nagenoeg alle gewassen.

Advies ter bestrijding van *Botrytis*:

- Houd ruimere plantafstanden aan.
- Giet onderdoor zodat het gewas droog blijft.
- Probeer door cultuurmaatregelen ontstaan en guttatie te voorkomen. Zorg dat het gewas na een bespuiting droog de nacht ingaat.
- Zet het gewas niet op een luwe plek, gebruik geen windschermen.
- Voer bedrijfshygiëne strikt door. Het is belangrijk gewasresten te verwijderen of door de grond te werken zodat het bodemleven het plantmateriaal snel af kan breken.

- Een advies voor chemische bestrijding van *Botrytis* is gegeven in Gewasbescherming Boomteelt en vaste plantenteelt 2008 van DLV (Abeelen en Dorresteijn, 2008). Wissel middelen af om resistentie te voorkomen.

3.4.3 *Ethyloma dahliae* Syd.

De diagnose *Ethyloma* in *Dahlia* is vaak vrij gemakkelijk te stellen omdat de bladvlekken vrij karakteristiek zijn en er vooralsnog ook geen andere bladvlekkenziekten in *Dahlia* bekend zijn. Het advies in het boekje 'ziekten en afwijkingen in bolgewassen' is om een aantasting met *Ethyloma* in vaste planten niet direct aan te pakken (Anonymus, 1995). De ziekte komt vaak pas laat in het jaar voor en dit is vaak vlak voor het rooien. Bestrijden is dan niet noodzakelijk. Bij ernstige aantasting wordt geadviseerd minder diep of niet in te maaien. Gewasresten onder te ploegen en afvalhopen niet te lang te laten liggen.

Bij de teelt van *Dahlia* als zomerbloem moet het blad echter tot ver in het najaar gezond blijven om de takken als klasse 1 te blijven verkopen. Het advies voor de plantenteelt voldoet dus niet voor de teelt van *Dahlia* als zomerbloem. Meer kennis over de aanpak is gewenst.

4 Algemene discussie, conclusies en aanbevelingen

4.1 Verzameld ziek materiaal

Er zijn in 2008 totaal meer dan 30 monsters met bladvlekken verzameld. Dit is duidelijk meer dan in 2007. De extra aandacht bij excursies en bedrijfsbezoeken lijkt effectief te zijn. Ook is het klimaat in 2008 wellicht meer geschikt geweest voor het optreden van bladvlekkenziekten. Ook in vergelijking met andere onderzoeken waarbij om ziek materiaal gevraagd wordt, is het aantal monsters dat in 2008 verzameld is relatief groot.

Het is in de meeste gevallen ook gelukt om tenminste enkele schimmels of bacteriën te isoleren die mogelijk de ziekteverwekker kunnen zijn. Dit geeft aan dat de beschrijvingen voor het aanleveren van monsters en de methode van isoleren voldoen.

Er is een grote verscheidenheid van met name schimmels gevonden. Doordat de infectieproef pas later in het seizoen ontwikkeld is, was het voor veel gewassen niet meer mogelijk de schimmels te toetsen. Deze zullen op vers blad getoetst moeten worden in het voorjaar binnen het vervolg van dit project.

4.2 Infectieproeven

De infectieproeven waarbij een ponsje met ziekteverwekker wordt opgebracht op een onbeschadigd blad in een afgesloten plastic bak op een laag vochtig filtreerpapier lijkt goed te werken bij een aantal gewassen. Het aanbrengen van een beschadiging veroorzaakt afsterving en verrotting van het blad bij alle schimmels en ook bij bladponsjes zonder schimmel. Het is dus onwenselijk om bij de proef beschadigd blad te gebruiken en het blad hoeft zeker ook niet bewust beschadigd te worden. Het uitvoeren van de proef bij niet te hoge temperatuur heeft het resultaat mogelijk ook in positieve zin beïnvloed. In het najaar is dit buiten een broedstoof goed te realiseren, maar in de zomer zal dit wellicht kunstmatig ingesteld moeten worden. Er zijn nog enkele beperkingen waargenomen:

Zo was bij *Asclepias* het blad uit de kas te zacht om de proef uit te voeren. Wellicht dat het in het voorjaar of de zomer met blad uit een buitenteelt beter mogelijk is de proef uit te voeren. Dit blad is harder dan blad uit een kasteelt in het najaar.

Bij *Veronica* groeiden andere schimmels uit dan ingezet was. Dit is in 2006 ook regelmatig voorgekomen. Het goed afspoelen en reinigen van het blad kan blijkbaar niet altijd voorkomen dat er toch ziekteverwekkers op het blad achterblijven.

Daarnaast is het niet zeker of de methode effectief is voor het vaststellen van bacteriën als oorzaak van bladvlekken. Er is 1 bacterie uit *Delphinium* getest, deze gaf geen symptomen.

Het is niet altijd mogelijk om gebruik te maken van ponsjes. Obligate parasieten, zoals valse meeldauw, zijn niet op een voedingsbodem te kweken.

4.3 Conclusies

In de literatuur zijn ziekteverwekkers van bladvlekken in zomerbloemen nauwelijks beschreven. In het project is vooral aandacht besteed aan hoe onderzoek naar bladvlekken op efficiënte wijze plaats kan vinden. Het onderzoek naar bladvlekken in zomerbloemen begint nu een pionierende stadium te ontgroeien. De werkwijze voor het verzamelen van bruikbaar ziek materiaal die in 2008 is gebruikt lijkt voldoende effectief. Het isoleren van ziekteverwekkers verloopt goed en er is een voor de meeste gewassen goed functionerende infectieproef beschikbaar. Een goede basis voor een brede inventarisatie naar bladvlekken in zomerbloemen is hiermee gelegd.

Met de infectieproef is al met succes *Phoma* als ziekteverwekker bij bladvlekken in *Delphinium* en met enige slag om de arm *Botrytis* als ziekteverwekker bij bladvlekken in *Chelone* aangetoond. Van zeker 10 gewassen zijn meerdere schimmels geïsoleerd die nog getoetst kunnen worden in het komende voorjaar.

4.4 Aanbevelingen voor vervolgonderzoek

Er is een verzoek in gediend bij het PT om het onderzoek naar bladvlekken voort te zetten. Indien dit vervolgproject wordt gehonoreerd is het plan om alle schimmels die nog niet getest zijn in een infectieproef te testen. Tevens zal de inventarisatie voortgezet worden. Daarnaast zal voor aangetoonde ziekteverwekkers een informatieblad opgesteld worden op basis van resultaat uit het onderzoek en literatuurstudie. De informatiebladen geven informatie over de schimmel en eventuele adviezen voor het voorkomen en/of bestrijden van de schimmel. Voor het vervolg van het onderzoek worden de volgende aanbevelingen gedaan vanuit dit project:

- Geef ruim aandacht aan het onderwerp bladvlekken tijdens bedrijfsbezoeken, lezingen en excursies. Vooral het contactmoment met de kweker is belangrijk voor verzamelen van nieuw ziek materiaal.
- Communiceer duidelijk hoe monsters verzameld en aangeleverd moeten worden
- Maak isolaties kort na binnenkomst van het monster
- Geef kwekers feedback over de gevonden schimmels en/of bacteriën
- Voer infectieproeven uit met alle schimmels die in 2008 verzameld zijn.
- Verzamel voor de infectieproeven gezond, voldoende afgehard en onbeschadigd blad.
- Test de methode van inoculatie met een bekende bladvlekkenbacterie.
- Let bij uitvoeren van de infectieproef op de temperatuur
- Stel van aangetoonde ziekteverwekkers de soort vast via genetische identificatie.

Literatuurlijst

- Abeelen en Dorresteyn, 2008, Gewasbescherming boomteelt en vaste plantenteelt, DLV Plant.
- Mertens P., 2006, Van Abelia tot Zwarte bonenluis, PVOLT West Vlaanderen
- Werd de H.A.E. et al., 2006, "*Ramularia*" in zomerbloemen, PPO Bollenteelt, Boomkwekerij en fruit.
- Helm F.P.M. van der, et al., 2008, Vruchtwisseling in zomerbloemen, PPO Bollenteelt, Boomkwekerij en fruit.
- Anonymus, 1995, Ziekten en afwijkingen bij bolgewassen, PPO Bollenteelt, Boomkwekerij en fruit.

Bijlage 1. Artikel bladvlekken in zomerbloemen

Peter Vink, Frank v.d. Helm, Sabine Böhne en Bob van Holstein
PPO Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit, Lisse

In 2007 startte PPO met een door het Productschap Tuinbouw gefinancierd onderzoek naar problemen met bladvlekken in zomerbloemen. Het doel van het onderzoek is vast te stellen welke ziekteverwekkers bladvlekken in diverse soorten zomerbloemen veroorzaken. PPO verzamelde daarom bladmateriaal bij kwekers in de praktijk en probeert na te gaan welke schimmels of bacteriën daarbij een rol spelen. In het seizoen 2008 zijn beduidend meer monsters verzameld dan in 2007. Met name in Delphinium hebben bladvlekken voor de nodige problemen gezorgd. Uit het onderzoek in 2008 is duidelijk geworden dat de schimmel Phoma de oorzaak is geweest van de problemen in Delphinium.

Het onderzoek

Er is bij 30 bloementelers aangetast blad verzameld van iets meer dan 20 soorten zomerbloemen. Dit blad is onderzocht bij diagnostiekservice van PPO in Lisse en Wageningen UR glastuinbouw. Allereerst zijn de symptomen van de aantasting beschreven. Vervolgens zijn uit aangetaste bladeren isolaties gemaakt van schimmels en bacteriën. In de meeste gevallen zijn er voor ieder gewas meerdere schimmels en bacteriën geïsoleerd die ziekteverwekker kunnen zijn. Met de gevonden schimmels en bacteriën is vervolgens een infectieproef gedaan om de veroorzaker(s) te achterhalen. Dit is gedaan met Delphinium, Chelone, Veronica en Asclepias. In de infectieproef zijn gezonde bladeren geïnfecteerd met schimmels en bacteriën die in dit gewas zijn gevonden. Als er in de proef opnieuw bladvlekken ontstaan, wordt opnieuw een isolatie gemaakt. Pas als hieruit dezelfde schimmel of bacterie groeit als waarmee het blad besmet is, is overtuigend aangetoond dat het de ziekteverwekker is die de bladvlekken heeft veroorzaakt.

Delphinium

Uit bladvlekken in Delphinium groeiden de schimmels Cladosporium, Alternaria, Stemphylium en Phoma. Van al deze schimmels is bekend dat ze soms een rol kunnen spelen bij het veroorzaken van bladvlekkenziekten. Ook een opvallende roze bacterie is bij meerdere bedrijven gevonden. In Delphinium kan de bacterie Pseudomonas syringae ook bladvlekken veroorzaken, maar deze is in de bladvlekken niet gevonden of aangetoond. In de infectieproef is vastgesteld dat de bladvlekken die in het afgelopen seizoen voor problemen hebben gezorgd zijn veroorzaakt door een Phoma schimmel. In de literatuur is Phoma xanthima en Phoma delfinii voor het gewas Delphinium beschreven. Na genetisch onderzoek bleek de Phoma-schimmel het meest overheen te komen met Phoma cucurbitacearum, die in dit geval dus als de boosdoener mag worden bestempeld.

Chelone, Veronica en Asclepias

Uit bladvlekken in Chelone groeiden de schimmels Colletotrichum, Alternaria en een nog onbekende schimmel uit. De onbekende schimmel kon in de infectieproef opnieuw worden teruggevonden, maar er werden ook andere schimmels teruggevonden. Het blijft dus voorlopig nog onduidelijk welke ziekteverwekker bladvlekken in Chelone veroorzaken.

Uit bladvlekken in Veronica groeiden Ramularia en Cylindrocladium. Bij infectieproeven zijn wel bladvlekken ontstaan, maar hieruit kon niet opnieuw dezelfde schimmel geïsoleerd worden. De oorzaak van de gevonden bladvlekken in Veronica blijft dus ook voorlopig onbekend.

Uit de bladvlekken in Asclepias, tenslotte, groeiden de schimmels Alternaria, Phoma en Cladosporium. Bij de infectieproeven waren de bladeren te snel verouderd voor het ontstaan voor

bladvlekken, zodat ook bij dit gewas de ziekteverwekker nog onbekend blijft.

Voortgang

Voor 2009 wordt financiering aangevraagd om met alle gevonden schimmels opnieuw infectieproeven te doen. De proef met Chelone, Asclepias en Veronica zal daarbij nog eens herhaald worden met jonger blad zodat een te snelle veroudering tijdens de proef kan worden voorkomen. Ook zal gedurende 2009 opnieuw ziek materiaal in de praktijk verzameld worden en diagnostisch worden onderzocht op aanwezigheid van schimmels en bacteriën.

Kader 1: Ziektebeeld van Phoma xanthima:

Als eerste op het onderste blad ontstaan niet scherp begrensde, bruinzwarte bladvlekken. De vlekken zijn vaak omringd met licht vergelend bladweefsel. Soms is het aangetaste bladweefsel meer zwart dan bruin. In en op de bladvlekken zijn onder de microscoop geen duidelijke schimmeldraden, sporen of vruchtlichamen te zien. De bladvlekken komen zowel aan de bovenzijde als de onderzijde van het blad voor.

Meerdere bladvlekken kunnen aaneen groeien, zodat grotere bladvlekken ontstaan. Uiteindelijk sterft een groot gedeelte van het blad af. Soms ontstaan ook zwartbruine vlekken op de stengels. Lagere temperaturen (15°C) en vochtige omstandigheden bevorderen het ontstaan van de schimmelziekte

Kader 2 Advies ter bestrijding van Phoma in Delphinium:

- *Gebruik gezonde moederplanten om te vermeerderen.*
- *Houd een ruime vruchtwisseling aan, ook tussen verschillende families van de buitenbloemen.*
- *Houd voldoende ruime plantafstanden aan.*
- *Giet onderdoor zodat het gewas droog blijft.*
- *Probeer door cultuurmaatregelen natstaan en guttatie te voorkomen. Zorg dat het gewas na een bespuiting droog de nacht ingaat.*
- *Voer bedrijfshygiëne strikt door. Het is belangrijk gewasresten te verwijderen, omdat de schimmel hierop kan overleven.*
- *Wanneer Phoma wordt aangetroffen is het beter het volgende jaar geen Delphinium op hetzelfde perceel te telen.*
- *Er is waarschijnlijk verschil tussen gevoeligheid van rassen, kies voor rassen waarvan u weet dat deze minder gevoelig zijn.*
- *Chemische bestrijding kan resultaat hebben, maar is onder zeer vochtige weersomstandigheden niet altijd afdoende. Signaleer een aantasting tijdig. Herhaal de behandeling om de twee weken. Wissel middelen af om resistentie te voorkomen.*

Bijlage 2. Verzamelen, verpakken in inzenden van monsters voor diagnose

Monsternemen

- Om voldoende materiaal voor het onderzoek te hebben is het gewenst dat een monster is samengesteld uit ongeveer 10 planten of delen daarvan.
- Neem monsters op een plek waar nieuwe symptomen in verschillende gradaties worden aangetroffen. Laboratoriumonderzoek aan volledig afgestorven planten is vaak niet mogelijk.
- Neem een monster voordat een gewasbescherming is uitgevoerd. Bestrijdingsmiddelen doden of maskeren ziekteverwekkers en kunnen laboratoriumtoetsen verstoren.
- Bij onduidelijke symptomen is het van belang om complete planten te verzamelen en op te sturen.
- Een moeilijkheid bij het verzamelen van monstermateriaal vormen vaak de gemakkelijk afbrekende wortels. Bij wortelproblemen enkele planten met grond en al uitsteken om daarmee zoveel mogelijk wortels te sparen. Om de wortels en grond een plastic zak binden om uitdroging te voorkomen.
- Wanneer bollen op kisten of potten zijn geplant dienen deze bij voorkeur in het geheel voor onderzoek te worden aangeboden.
- Voor virusonderzoek is het gewenst om naast zieke planten ook één of twee gezond uitzijnde planten op te sturen. Verpak de gezond uitzijnde planten apart en geef op het label aan dat het om gezond materiaal gaat.

Oprachtformulier invullen

- Vul de juiste naam en adres gegevens in op het formulier.
- Verschaf zoveel mogelijk informatie over het monster; dit zal een goede diagnose bespoedigen.
- Geef aan hoe u de uitslag wilt ontvangen. Vul uw e-mail adres of faxnummer in.
- Stuur digitale foto's, indien beschikbaar, naar diagnostiekservice.ppo@wur.nl ; geef dit aan op het opdrachtformulier.

Verpakken

- Voorkom dat bladeren en bloemen verontreinigd worden door meegestuurde aarde of substraat.
- Grond en wortels dienen tegen uitdroging te worden beschermd door deze met een plastic zak te omgeven (nooit water toevoegen!).
- Vouw bladeren en wortels in een krant om uitdroging en rotting te voorkomen.
- Verpak het geheel daarna in plastic of een goed afsluitbare kartonnen doos om verspreiding van ziekten te voorkomen.
- Voeg het opdrachtformulier bij.

Verzenden

- Vestuur het monster naar:
PPO Bloembollen en Bomen
T.a.v. Diagnostiek
Postbus 85 2160AB
Lisse
Afleveradres voor expressdiensten: Prof. van Slogterenweg 2, 2161DW Lisse
- Verstuur het monster zo snel mogelijk ter voorkoming van rotting.
- Wanneer het onmogelijk is om een monster direct te versturen, bewaar het dan koel. Monsters nooit in direct zonlicht plaatsen.
- Zorg er voor dat monsters uiterlijk vrijdagmorgen bij PPO arriveren. Op maandag, dinsdag en woensdag kunnen monsters goed met de gewone post worden verzonden. Verstuur geen monsters op vrijdag en zaterdag i.v.m. de weekend.

PPO voorwaarden

- Opdrachten worden uitgevoerd overeenkomstig de algemene voorwaarden van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. voor levering van diensten en uitvoering van opdrachten.
- Net als iedereen in Nederland is ook PPO verplicht de aanwezigheid van quarantaineorganismen aan de Plantenziektkundige Dienst te melden.

Bijlage 3. Opdrachtformulier binnen project bladvlekken in zomerbloemen

Opdrachtgever:

Bedrijfsnaam:

Contactpersoon:

Straat:

Postcode / Plaats:

Tel:

Fax:

E-mail:

Datum:

Gewasnaam: Carthamus/Brassica/Alchemilla/Veronica

Cultivar:

Vollegrond Kas Container

Ras / Cultivar / Partijnum

Plantdatum:

Gebruikte bestrijdingsmiddelen:

Omschrijving van verloop van ontstaan van bladvlekken (groeistadium, temp, vocht, ziektebeeld):

Overige opmerkingen:

Digitale foto's gestuurd naar: diagnostiekservice.ppo@wur.nl ? Ja / Nee

**Heeft u vragen over het inzenden van plantmateriaal, kijk dan op de site:
www.diagnostiekservice.wur.nl of neem contact met ons op: tel. 0252 - 462121; e-mail:
diagnostiekservice.ppo@wur.nl**

De kosten voor onderzoek naar bladvlekken in Carthamus, Brassica, Phlox en Alchemilla worden door het PT project bladvlekken in zomerbloemen gedragen.

Bijlage 4. Oproep in groeiflits

Bladvlekken in zomerbloemen; stuur PPO een monster.

In 2006 is door PPO een klein onderzoek gedaan naar bladvlekken in zomerbloemen. Doel van dit onderzoek was te achterhalen of de schimmel *Ramularia* of een andere ziekteverwekker de oorzaak was van serieuze problemen met bladvlekken. De rol van *Ramularia*, noch van andere ziekteverwekkers kon in dit onderzoek met zekerheid vastgesteld worden. Het verzamelde bladmateriaal was vaak al redelijk oud. In 2007 is een vervolg op dit onderzoek gestart. Om bladmonsters zo snel mogelijk van kweker bij PPO te krijgen zijn speciale enveloppen gemaakt. De enveloppen bevatten een duidelijke instructie en zijn voorzien van een retouradres. U kunt deze enveloppen bij de PPO receptie opvragen. Ook worden de enveloppen bij excursies van de landelijke zomerbloemen groep en open dagen uitgedeeld.

U kunt uiteraard ook zelf een monster van door bladvlekken aangetast gewas in een envelop doen en verzenden naar PPO op het volgende adres.

*PPO Bloembollen en Bomen
T.a.v. Diagnostiek (bladvlekken)
Postbus 85 2160 AB
Lisse*

Advies voor verzamelen en verzenden van gewasmonsters

Let bij het klaarmaken en verzenden op de volgende zaken:

- PPO doet onderzoek in *Carthamus*, Brassica, *Phlox* en *Alchemilla*.
- Verzamel en verzend geen monsters op vrijdag en zaterdag i.v.m. het weekend.
- Pluk in de ochtend 10 bladeren met bladvlekken die kort geleden zijn ontstaan.
- Leg de bladeren tussen 3 vellen dik krantenpapier en wikkel het in plastic folie of doe er een plastic zakje omheen.
- Doe de verpakte blaadjes in de verstevigde envelop en frankeer voldoende.
- Leg het monster koel weg tot het gepost wordt.
- U kunt de envelop ook afgeven aan de balie bij PPO in Lisse.

Bijlage 5. Oproep in vakblad

Echte oorzaak bladvlekkenziekten in zomerbloemen nog niet bekend

Veel verdachten, maar geen bewijs

Vorig jaar werd onderzoek gedaan naar de oorzaak van bladvlekkenziekten in -zomerbloemen. De hoofdverdachte, de schimmel *Ramularia*, werd niet aangetroffen. Andere schimmels wel. Daarmee blijft de werkelijke oorzaak nog duister. Dit jaar komt er een vervolgonderzoek, hiervoor is ziek blad uit de praktijk nodig.

Bladvlekkenziekten veroorzaken steeds meer problemen in de teelten van verschillende soorten zomerbloemen. Daarbij kan een gewas in enkele -dagen zo zwaar worden beschadigd dat het geen -goede handelswaarde meer heeft. Om een -betrouwbaar bestrijdingsadvies te geven is het van belang om te weten hoe bladvlekkenziekte ontstaat. Op die manier is het mogelijk om er snel en goed op te reageren.

In de praktijk bestaat het vermoeden dat de schimmel *Ramularia* een rol speelt, omdat deze is aangetroffen in een aantal zwaar aangetaste gewassen, waaronder *Carthamus*, Brassica en *Chenopodium*. Toch is het nog niet zeker of deze schimmel echt de oorzaak is.

Tal van schimmels

Vorig jaar heeft PPO Lisse op verzoek van de Landelijke Gewascommissie van LTO Groeiservice een onderzoek uitgevoerd. In de zomer zijn monsters verzameld van zomerbloemen met bladvlekkenziekte. Daaronder waren *Alchemilla*, *Veronica*, *Eryngium*, *Carthamus*, Dille, *Achillea* en *Paeonia*.

In de bladvlekken werden een heleboel schimmels aangetroffen, maar niet de hoofdverdachte, *Ramularia*. De onderzoekers vonden wel *Botrytis*, *-Alternaria*, *Stemphylium*, *Fusarium*, *Phoma* en *Cladosporium*. Ook van deze schimmels is bekend dat ze in cultuurgewassen bladvlekken kunnen veroorzaken.

Daarna hebben de onderzoekers de schimmels aangebracht op gezonde en verwonde bladeren, om te zien of dan dezelfde symptomen zouden ontstaan. Dat bleek niet het geval te zijn. Daardoor blijft de oorzaak van de bladvlekken in -diverse zomergewassen onbekend.

Meedoen aan onderzoek

Er zijn veel soorten zomerbloemen en bladvlekkenziekte kan door verschillende schimmels worden veroorzaakt. Al die gewassen en schimmels onderzoeken is niet te doen. Het onderzoek zal zich daarom in 2007 uitsluitend richten op de gewassen *Carthamus*, Brassica, *Alchemilla* en *Phlox*.

Vanaf het begin van het teeltseizoen zal aan -kwekers met deze gewassen worden gevraagd om monsters van aangetaste blaadjes te sturen naar PPO in Lisse. Het best kan al in een vroeg stadium van de aantasting worden onderzocht welke schimmels in de bladvlekken zitten. Met die schimmels zal een plant van het betreffende gewas opnieuw ziek gemaakt worden, om na te gaan of dezelfde bladsymptomen kunnen worden opgewekt. Daarmee kan worden bewezen welke schimmels echt verantwoordelijk zijn voor bladvlekkenziekte in deze gewassen.

De komende tijd zullen ook zomerbloementelers en adviseurs worden gevraagd om mee te werken aan het onderzoek. Het onderzoek wordt gefinancierd door het Productschap Tuinbouw.

Foto: PPO Lisse

Foto 1901

Door vroegtijdig de juiste diagnose te stellen is beter in te spelen op bladvlekkenziekte.

Foto 1845

Beginnende bladvlekkenziekte bij *Alchemilla*. PPO zoekt blad met bladvlekken in *Carthamus*, Brassica, *Alchemilla* en *Phlox*

Bijlage 6. Handout voor bladvlekken tijdens open dagen



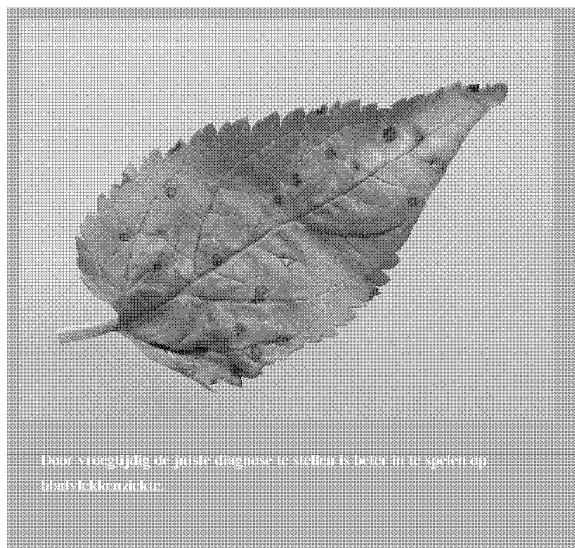
Echte oorzaak bladvlekkenziekten in zomerbloemen vaak niet bekend

Vorig jaar is onderzoek gedaan naar de oorzaak van bladvlekkenziekten in -zomerbloemen. De hoofdverdachte, de schimmel *Ramularia*, werd niet aangetroffen. Andere schimmels wel. Daarmee blijft de werkelijke oorzaak nog duister. Dit jaar komt er een vervolgonderzoek, hiervoor is ziek blad uit de praktijk nodig.

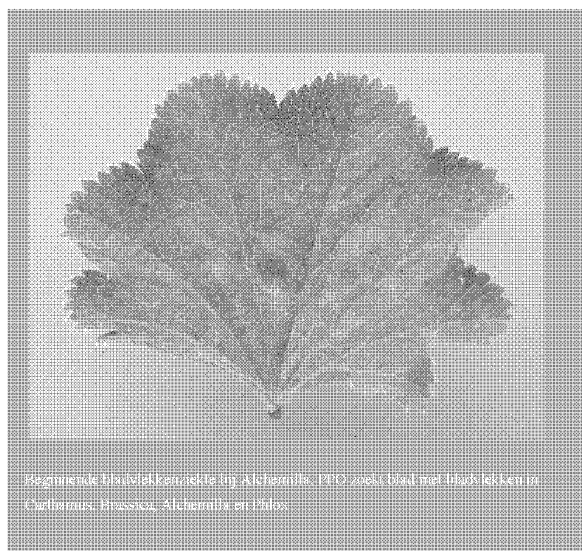
Aanleiding

Bladvlekkenziekten veroorzaken steeds meer problemen in de teelten van verschillende soorten zomerbloemen. Daarbij kan een gewas in enkele dagen zo zwaar worden beschadigd dat het geen goede handelswaarde meer heeft. Om een betrouwbaar bestrijdingsadvies te geven is het van belang om te weten hoe bladvlekkenziekte ontstaat. Op die manier is het mogelijk om er snel en goed op te reageren.

In de praktijk bestaat het vermoeden dat de schimmel *Ramularia* een rol speelt, omdat deze is aangetroffen in een aantal zwaar aangetaste gewassen, waaronder *Carthamus*, *Brassica* en *Chenopodium*. Toch is het nog niet zeker of deze schimmel echt de oorzaak is. Via het productschap tuinbouw is verder onderzoek naar bladvlekken in zomerbloemen mogelijk gemaakt.



Dit is een voorbeeld van de pest 'bladvlekken' op een blad van een zomerbloem.



Beginnende bladvlekkenziekte bij *Alchemilla*. PPO zoekt naar de bladvlekken bij *Carthamus*, *Brassica*, *Alchemilla* en *Phlox*.

Onderzoek

In de zomer zijn monsters verzameld van zomerbloemen met bladvlekkenziekte. Daaronder waren *Alchemilla*, *Veronica*, *Eryngium*, *Carthamus*, *Dille*, *Achillea* en *Paeonia*. In de bladvlekken werden een heleboel schimmels aangetroffen, maar niet de hoofdverdachte, *Ramularia*. De onderzoekers vonden wel *Botrytis*, *Alternaria*, *Stemphyllium*, *Fusarium*, *Phoma* en *Cladosporium*. Ook van deze schimmels is bekend dat ze in cultuurgewassen bladvlekken kunnen veroorzaken.

Daarna hebben de onderzoekers de schimmels aangebracht op gezonde en verwonde bladeren, om te zien of dan dezelfde symptomen zouden ontstaan. Dat bleek niet het geval te zijn. Daardoor blijft de oorzaak van de bladvlekken in diverse zomergewassen onbekend.

Meedoen aan onderzoek

U kunt dit onderzoek vooruit helpen door monsters van aangetaste blaadjes te sturen naar PPO in Lisse. Alle gewassen en schimmels onderzoeken is niet te doen. Het onderzoek zal zich daarom in 2007 uitsluitend richten op de gewassen *Carthamus*, *Brassica*, *Alchemilla* en *Phlox*.

Het best kan al in een vroeg stadium van de aantasting worden onderzocht welke schimmels in de bladvlekken zitten. Met die schimmels zal een plant van het betreffende gewas opnieuw ziek gemaakt worden, om na te gaan of dezelfde bladsymptomen kunnen worden opgewekt. Daarmee kan worden bewezen welke schimmels echt verantwoordelijk zijn voor bladvlekkenziekte in deze gewassen.

Onderzoeksteam: Marjan de Boer, Peter Vink, Frank van der Helm, Rik de Werd en Ineke Pennock.

Contact: Frank van der Helm
Praktijkonderzoek Plant & Omgeving
Postbus 85, 2160 AB Lisse
T 0252 46 21 21 - F 0252 46 21 00
Frank.vanderhelm@wur.nl - www.ppo.wur.nl

Dit project wordt gefinancierd door
Productschap tuinbouw