

BODEMGEBONDEN SCHIMMELZIEKTEN

Identificatie en detectie van *Rhizoctonia solani*

Projectleider: J.H.M. Schneider

1. Inleiding

De bodemschimmel *Rhizoctonia solani* vormt in toenemende mate een bedreiging voor de bietenteelt. Ook in 1999 heeft de ziekte op 13-15% van de bietenpercelen in Oost-Brabant en de Achterhoek zware schade veroorzaakt. Op 80% van de percelen in die gebieden is de schimmel aanwezig, maar veroorzaakt slechts geringe schade.

R. solani is een complex van soorten, die wetenschappers anastomosegroepen (AG) noemen. Anastomosereren is het versmelten, van schimmeldraden, wat onder de microscoop te zien is. Isolaten waarvan de schimmeldraden met elkaar versmelten, behoren tot een zelfde groep. Isolaten waarvan de schimmeldraden niet met elkaar versmelten, worden tot verschillende groepen gerekend. De landbouwkundige betekenis van deze AG's is dat de verschillende groepen verschillen in waardplantenreeks en ecologie, bijvoorbeeld optimale temperatuur voor aantasting. Zo veroorzaakt *R. solani* AG 3 stolonaantasting en lakschurft in aardappelen, maar veroorzaakt geen problemen in suikerbieten. Het is dus van belang te weten welke AG's suikerbieten aantasten en welke andere gewassen ook waardplanten zijn voor de 'suikerbietengroep'.

R. solani kan al vroeg in het seizoen de jonge bietenplanten aantasten. De symptomen lijken op wortelbrand. Wortelbrand wordt echter ook veroorzaakt door *Aphanomyces cochlioides* en *Pythium ultimum*. De veroorzaker van wortelbrand kan alleen in het laboratorium eenduidig worden vastgesteld, door de schimmel te isoleren en op te kweken. *R. solani* kan ook later in het groeiseizoen bieten aantasten. Symptomen zijn onder andere verwelking, koprot, rot aan de basis van de stengels, bruin en zwart wortelrot.

Een voorspelling van de kans op schade draagt bij tot een duurzame en rendabele beheersing van de ziekte. Een eenduidige identificatie van het schimmelcomplex en een detectiemethode voor de belangrijkste ziekteverwekker zijn daarom onontbeerlijk.

2. Werkwijze

2.1 Identificatie en pathogeniteit

Evenals in 1997 en 1998, werden uit proefvelden en praktijkpercelen isolaten van *R. solani* verkregen van aangetaste suikerbieten. Daarnaast werden er isolaten verkregen van andere gewassen uit praktijkpercelen. Via veredelingsbedrijven en de IIRB-projectgroep *Rhizoctonia solani* (zie project 12-04) werden eveneens isolaten afkomstig van suikerbieten verkregen. Isolaten werden geïdentificeerd met behulp van de microscoop (AG-bepaling) en door pectine zymogram-

men (PZ). Dit zijn patronen van pectine afbrekende enzymen die door de schimmel worden uitgescheiden en die waarschijnlijk de schimmel helpen de plant aan te tasten. Van een representatief aantal isolaten uit 1997 en 1998 werd de pathogeniteit vastgesteld bij 10°C en 23°C in de klimaatkast.

2.2 Identificatie en detectie

R. solani is in een biotoets met jonge suikerbietjes in een grondmonster aan te tonen. Jonge suikerbietenplanten zijn echter gevoelig voor een complex aan pathogenen, zoals aphanomyces, pythium en verschillende AG's. Bij het gebruik van een biotoets zal dus altijd de veroorzaker eenduidig aangetoond moeten worden. DNA-technieken zijn hiervoor bij uitstek geschikt. *R. solani* is een complexe schimmelgroep. Ook binnen AG's komt veel (genetische) variatie voor. Voor een eenduidige detectiemethode moet deze variatie bekend zijn.

Van de verschillende proefvelden (zie project 12-04) werd bij zaaien een grondmonster genomen. In de kas werd getracht door middel van een grondverduunningsreeks (mpn-methode) het aantal infectieuze eenheden van *R. solani* te schatten. De uitkomst van de biotoets werd vergeleken met de visuele schade in het proefveld.

3. Resultaten

3.1 Identificatie en pathogeniteit

Evenals in 1997 en 1998, bleek de meerderheid van de verzamelde isolaten tot *R. solani* AG 2-2IIIB te behoren (tabel 42). Verder werden isolaten van AG 2, AG 2-1, AG 3, AG 5 en een aantal nog nader te identificeren isolaten verkregen. *R. solani* AG 2-2IIIB-isolaten bleken in een biotoets in de klimaatkast ziekteverwekkend bij 23°C en niet ziekteverwekkend bij 10°C (tabel 43).

Tabel 42. Anastomosegroepen van *Rhizoctonia solani* geïsoleerd van suikerbiet in 1999.

AG	aantal	procentueel
2-2IIIB	76	81
3	6	6
onbekend	3	3
2-1?	3	3
3?	2	2
2-2?	2	2
5	1	1
5?	1	1
totaal	94	100%

Tabel 43. Pathogeniteit van *Rhizoctonia solani*-

isolaten bij 10°C en 23°C.
Isolaten verzameld in 1997-1999.

AG	aantal isolaten	pathogeniteit bij 23°C	pathogeniteit bij 10°C
2-2IIIB	59	++	-
2	7	++	-
?	3	++	-
2-2IIIB	8	-	-
2-1	1	-	-
2-1	1	+	-
?	9	-	-
5	4	-	-
3	3	-	-
2	2	-	-
1-IC	1	-	-
totaal	98		

pathogeniteit: - niet ziekteverwekkend; + matig ziekteverwekkend; ++ sterk ziekteverwekkend.

Dit ondersteunt de veldwaarnemingen dat bij oplopende bodemtemperaturen in het voorjaar de ziekte om zich heen grijpt. Verder wijzen deze waarnemingen erop dat het vroeg zaaien van bieten de aantasting in het jonge stadium kan beperken. De groep AG-2-IIIB heeft vele waardplanten en werd ook dit jaar weer van verschillende gewassen uit praktijkpercelen geïsoleerd (tabel 44).

Tabel 44. Gewassen waarvan *Rhizoctonia solani* AG 2-IIIB is geïsoleerd in 1999.

gewas	aantal isolaten	aantal percelen
suikerbiet	47	42
maïs	7	4
gladiool	1	1
lelie	1	1
aardappel (opslag)	3	2
waspeen	9	6
schorseneer	4	3
voederbiet	1	1
maggi	1	1
engelwortel	2	1

De schimmel tast wortels van maïs aan, vaak zonder bovengronds waarneembare schade. Na een rotatie met maïs komt de schade in bieten dan ook dikwijls als een verrassing. AG 2-IIIB werd ook van aardappelen ge-

ïsoleerd, maar dit betrof aardappelopslag (als gevolg van het natte jaar 1998) in bietenvelden met rhizoctonia-aantasting. Isolaten van AG 2-IIIB verschillen in agressiviteit. Enkele isolaten (8) waren in deze kastoets zelfs helemaal niet ziekteverwekkend (tabel 43). Verder onderzoek moet uitwijzen of deze isolaten wel ziekteverwekkend zijn op oudere planten, of dat de identificatie op basis van pectine zymogrammen juist is geweest.

Het aardappelpathogeen AG 3 werd van jonge suikerbieten geïsoleerd, maar veroorzaakte geen schade van betekenis te velde. Verder werd AG 3 gevonden als sclerotien op volwassen bieten of als schimmelpluis op de basis van de bladstengel. In een kastoets was AG 3 ook niet ziekteverwekkend in jonge suikerbieten (tabel 43).

3.2 Identificatie en detectie

Van schimmels gekweekt in het laboratorium en plantjes gekweekt in de kas, al dan niet geïnfecteerd met *R. solani*, werd DNA geïsoleerd door middel van vier verschillende methoden van DNA-extractie (commerciële kits). Via deze methoden kan gemakkelijk DNA worden verkregen voor identificatie van de AG en de detectie van de schimmel in aangetast plantmateriaal. Aantasting door aphanomyces en pythium in een biotoets kan worden beperkt door toevoegen van 50 ppm hymexazool aan de toetsgrond. De fungiciden hymexazool, IRS 638 en IRS 639 werden in verschillende concentraties aan de grond toegevoegd om aantasting door aphanomyces en pythium te onderdrukken. IRS 638 en IRS 639 bleken al bij 50 ppm fytotoxisch voor bietenplantjes, terwijl hymexazool bij 150 ppm geen fytotoxische verschijnselen opwekte bij de zaailingen. In grondmonsters genomen bij het zaaien van de proefvelden (project 12-04), kon *R. solani* worden aangetoond. De hoeveelheid aangetroffen rhizoctonia vertoonde geen eenduidige relatie met het schadebeeld te velde. Er zijn aanwijzingen dat in de loop van augustus de populatiedichtheid van rhizoctonia op zijn hoogst is. Daarom werd in augustus van een proefveld bij Bergen op Zoom met natuurlijke aantasting een aantal veldjes verschillend in mate van aantasting bemonsterd. Nu bleek een duidelijkere relatie tussen de uitslag van de biotoets en de schade te velde. Voor een veldje waarbij nagenoeg alle bieten waren verdwenen door (vroeg) aantasting werd in de biotoets geen rhizoctonia gevonden. Een voorlopige conclusie is dat, om rhizoctonia efficiënt te kunnen aantonen, er in een gewasperiode bemonsterd dient te worden. Bemonstering kan wellicht in een gewas voorafgaand aan een bietengewas. Deze hypothese zal in 2000 verder worden onderzocht.