

Ecologie en beheersing van *Pythium* wortelrot in de teelt van bloembollen

Gera J. van Os

Op 5 november 2003 verdedigt Gera van Os haar proefschrift 'Ecology and control of *Pythium* root rot in flower bulb culture' aan de Universiteit van Leiden. Promotor is Prof. dr. J.A. van Veen (Universiteit Leiden) en co-promotor is Dr. J. van Aartrijk (Koninklijke Algemeene Vereniging voor Bloembollencultuur). Gera van Os is sinds 1990 wetenschappelijk onderzoekster bodemgebonden schimmels bij het huidige Praktijkonderzoek Plant & Omgeving sector Bollen en Bomen (PPO-b&b) te Lisse.

Inleiding

Het merendeel van de voorjaars-bloeiende bolgewassen wordt in Nederland geteeld op zandgrond, in een vruchtwisseling met uitsluitend bolgewassen. Wortelrot veroorzaakt door *Pythium* spp. is een van de belangrijkste ziekten op deze grondsoort. Aantasting kan leiden tot 40% financiële opbrengstderving. In het proefschrift wordt het onderzoek beschreven naar de ontwikkeling van alternatieve bestrijdingsmethoden om het gebruik en de afhankelijkheid van chemische middelen tegen *Pythium* wortelrot te verminderen. Hierbij is gekeken naar effecten van diverse teeltmaatregelen op de aantasting en op de ziektevering door de bodemmicroflora, en naar het voorkomen en de pathogeniteit van *Pythium* soorten in bollenpercelen. Iris en krokus zijn gebruikt als toetsgewas.

Ziekteontwikkeling

Tot 1990 was er weinig bekend over het moment van infectie en de daaropvolgende ziekteontwikkeling in bolgewassen. Uit veldwaarnemingen bleek dat de plant-

datum een effect zou kunnen hebben op de schade door *Pythium*, hetgeen mogelijk was gerelateerd aan de bodemtemperatuur. Om na te gaan of de infectie en de daaropvolgende ontwikkeling van wortelrot in iris en krokus wordt beïnvloed door de plantdatum en de bodemtemperatuur, zijn beide bolgewassen op twee data in het najaar geplant in met *Pythium* spp. besmette grond. De ziekteontwikkeling in krokus was opvallend anders dan in iris. In krokus was er een sterke toename van de aantasting vlak na het planten, terwijl dit in iris vooral in het voorjaar en de zomer optrad. In beide gewassen verliep de ziekteontwikkeling elk jaar hetzelfde, ongeacht de *Pythium* soort waarmee de grond was besmet. De verschillen in de ziekteontwikkeling tussen iris en krokus leken afhankelijk van het gewas en niet van het pathogeen. Het verloop van de ziekteontwikkeling kon voor beide gewassen worden verklaard op basis van de wortelontwikkeling en de aard van aantasting. In iris werden het hele groeiseizoen nieuwe wortels gevormd en wortelpunten van zowel hoofd- als zijwortels waren altijd vatbaar. De aantasting nam toe gedurende het groeiseizoen en correleerde met de toename van het

aantal wortelpunten. In krokus ontwikkelden alle wortels zich gelijktijdig en waren uitsluitend gedurende een korte periode na planten vatbaar voor *Pythium*. Wortelpunten die niet werden aangetast bleken na twee maanden ongevoelig te zijn geworden. Bij geen van beide gewassen is er een verband gevonden tussen de ziekteontwikkeling en de bodemtemperatuur tijdens het groeiseizoen. Laat planten resulteerde in een vertraagde wortelontwikkeling en in uitstel van de aantasting en ziekteontwikkeling in beide gewassen. In krokus resulteerde de combinatie van een beperkte vatbare periode met uitstel van infectie in minder aantasting. In dit opzicht leek laat planten een aanzienlijk voordeel op te leveren voor krokus. Voor iris was het voordeel slechts beperkt. Of laat planten voor de teler rendabel is hangt af van de vatbaarheid van het gewas voor *Pythium*, maar ook van de gevoeligheid voor diverse fysiologische effecten op de bolopbrengst en bolkwaliteit als gevolg van laat planten.

Teeltmaatregelen en ziektevering

Teeltmaatregelen beïnvloeden de plantengroei en ziekteontwikkeling. In de bloembollenteelt op zandgrond worden chemische grondontsmetting en inundatie toegepast ter bestrijding van diverse ziekten en onkruiden. *Pythium* spp. kunnen overleven of worden geherintroduceerd na deze behan-

PROMOTIE

delingen, terwijl vele andere micro-organismen sterk in aantal teruglopen of verdwijnen. *Pythium* zou hierdoor meer kans kunnen krijgen om aantasting te veroorzaken. Grondontsmetting en inundatie hebben een verschillend werkingsmechanisme en verschillende soorten van het bodemleven sterven als gevolg van deze maatregelen. Om te bepalen of deze cultuurmaatregelen een averechts effect kunnen hebben op het optreden van *Pythium* wortelrot, zijn de effecten van inundatie en ontsmetting met cis-dichloorpropeen of methylisothiocyanaat (metam-Na) getest op de ziektevering tegen *Pythium* spp. in pot- en veldexperimenten. Zowel inundatie als grondontsmetting leidden tot een verminderde ziektevering en een verhoogde aantasting en opbrengstderving in iris en krokus. Het is aangetoond dat de ziektevering biologisch van aard was en dat de mate van aantasting meer werd beïnvloed door het effect van de grondbehandelingen op de bodemmicroflora dan door de besmettingsdruk van *Pythium*. Na de inundatiebehandeling herstelde de ziektevering zich binnen een periode van twee jaar. Na grondontsmetting was de ziektevering binnen deze periode slechts gedeeltelijk hersteld en blijvende effecten kunnen niet worden uitgesloten. Een zorgvuldige planning van deze maatregelen binnen het bouwplan kan van groot belang zijn. Een minimale periode van twee jaar tussen de behandeling en de teelt van een vatbaar gewas kan de gelegenheid bieden aan andere micro-organismen om de grond te koloniseren en zodoende de kansen voor *Pythium* te verkleinen.

Compost en ziektevering

Onderzocht is of toevoeging van compost het herstel van de bodemmicroflora en de ziektevering na grondontsmetting en inundatie zou kunnen versnellen door de



Veldproef met krokus 'Golden Bunch' in ingegraven lange plastic buizen (foto: G.J. van Os, PPO).

(her-) introductie van specifieke antagonisten of door een overmaat aan concurrerende micro-organismen. Toepassing van compost kan de plantgezondheid direct en indirect beïnvloeden door veranderingen in de fysische, chemische en biologische eigenschappen van de grond. Het is bekend dat bodempathogenen, waaronder *Pythium* spp., kunnen worden onderdrukt door compost. In de bollenteelt op zandgrond is de toepassing van nutriëntarme organische stof, zoals compost, essentieel om het organisch stofgehalte op peil te houden. Compost van groente-, fruit- en tuinafval (GFT-compost) is in Nederland

alom beschikbaar. Toepassing van deze compost in het veld is echter beperkt tot zes ton droge stof per hectare per jaar, of twaalf ton droge stof per hectare per twee jaar (ca. 1% w/v), vanwege het gehalte aan zware metalen. In kas- en veldproeven is onderzocht of verrijking van de grond met kleine hoeveelheden (0.5%-5% w/v) gereijpte GFT-compost effect had op de onderdrukking van *Pythium* wortelrot in iris en krokus. Beide toetsgewassen, iris en krokus, reageerden opnieuw heel verschillend. In potexperimenten met iris resulteerde toevoeging van compost aan geïnundeerde en ontsmette grond tot minder aantast-

PROMOTIE

ting, terwijl toevoeging van compost aan onbehandelde grond geen effect had op de aantasting. Het effect van de compost op de ziektevermindering werd niet beïnvloed door de rijpingstemperatuur van de compost (10°C of 20°C) voorafgaand aan de toediening, of door de temperatuur tijdens de teelt (9°C of 18°C). In potexperimenten met krokus leidde de compostbehandeling tot verhoging van de aantasting in onbehandelde, geïnundeerde en ontsmette grond. In veldexperimenten met krokus resulteerde toevoeging van compost aan onbehandelde en ontsmette grond ook in meer aantasting en minder opbrengst in de met *Pythium* besmette veldjes. Er is geconcludeerd dat het gewas de doorslaggevendende factor is tussen ziekteonderdrukking of ziektestimulering als gevolg van verrijking met GFT-compost. Het mechanisme dat hiervoor verantwoordelijk is, is tot nu toe onduidelijk. Factoren die van invloed zouden kunnen zijn, zijn bijvoorbeeld aan- of afwezigheid van geïnduceerde resistentie door de micro-organismen uit de compost of verschillen tussen iris en krokus in wortelontwikkeling, exudatie en micro-organismen in de rhizosfeer. Het onderzoek in dit proefschrift heeft zich geconcentreerd op de mechanismen van ziektevermindering, zonder verder in te gaan op de verschillen in respons tussen de gewassen.

Mechanismen van ziektevermindering

Om inzicht te krijgen in de aard van de ziektevermindering tegen *Pythium* en de effecten van grondbehandelingen zoals grondontsmetting, inundatie en de toepassing van compost, is het effect bepaald van deze behandelingen op een aantal microbiële parameters en de microbiële soortensamenstelling. Onderzocht is of er een verband bestaat tussen de ziektevermindering tegen *Pythium* en de activiteit

van de bodemmicroflora en/of de aanwezigheid van specifieke groepen. Parameters zoals microbiële biomassa, dehydrogenase activiteit, glucoseopname en ademhaling, waren negatief gecorreleerd met de groeisnelheid van *Pythium* door grond. Dit geeft aan dat een hoge microbiële biomassa en -activiteit de groei van *Pythium* door grond onderdrukt. Ondanks dat kon met geen enkele combinatie van microbiële parameters de ziektevermindering (aantasting in iris) worden verklaard. De waarde van de microbiële parameters als maat voor de ziektevermindering bleek sterk afhankelijk van de gegevensset (grondbehandelingen) die gebruikt werd in de statistische analyse. Met name de compostbehandeling, met relatief hoge waarden, had een zeer grote invloed op de correlatie tussen de microbiële parameters en de ziektevermindering. Concurrentie om koolstof was niet het belangrijkste mechanisme voor de ziektevermindering, aangezien er geen correlatie is gevonden tussen de glucoseopname en aantasting. Andere aspecten van de pathogeenontwikkeling moeten dus van invloed zijn, zoals interacties op het worteloppervlak. Daar komt nog bij dat de verschillende grondbehandelingen via verschillende mechanismen de ziektevermindering kunnen beïnvloeden. Veranderingen in de soortensamenstelling en de diversiteit van de microflora als gevolg van de grondbehandelingen zouden deze mechanismen verder kunnen ophelderen.

Samenstelling microflora

Om te analyseren of de samenstelling van de microbiële gemeenschap is gerelateerd aan de ziektevermindering tegen *Pythium* zijn profielen gemaakt van bacterie- en schimmelgemeenschappen in de grond met behulp van denaturatie gradient gel electrophoresis (DGGE) van PCR-geamplificeerde riboso-

male RNA genen. Vier PCR-DGGE strategieën (twee gericht op bacteriën en twee gericht op schimmels) zijn gebruikt om de microbiële gemeenschappen in onbehandelde, ontsmette, geïnundeerde grond en met compost verrijkte, gesteriliseerde grond te vergelijken. De dominante groepen zijn geïdentificeerd door de DGGE-banden te sequencen. Deze gemeenschapsprofielen, gebaseerd op microbiële DNA, waren slechte indicatoren voor de ziektevermindering tegen *Pythium*. De dominante microbiële populaties waren consistent aanwezig in de profielen, zelfs na rigoureuze behandelingen zoals ontsmetting en inundatie. Het meest uitgesproken effect op de dominante populaties in de grond is gevonden bij de compostbehandeling in gesteriliseerde grond. Het herstel van de ziektevermindering tegen *Pythium* in de met compost verrijkte grond was geassocieerd met een geheel andere microbiële gemeenschap dan de ziektevermindering in onbehandelde grond. Dus, microbiële gemeenschappen van verschillende samenstelling kunnen resulteren in vergelijkbare niveaus van ziektevermindering tegen *Pythium*.

Inventarisatie van *Pythium* soorten

Vruchtwisseling is over het algemeen een methode om de besmettingsdruk van bodempathogenen te verlagen. Het succes van deze methode wordt mede bepaald door factoren zoals het voorkomen en de waardplantenreeks van de ziekteverwekker. Om te bepalen of detectie en identificatie van *Pythium* spp. kan helpen bij de gewaskeuze in de vruchtwisseling is een inventarisatie gemaakt van *Pythium* soorten in bollenpercelen in vijf belangrijke regio's voor de bollenteelt in het westen van Nederland. *Pythium*-isolaten zijn geïdentificeerd met behulp van PCR-RFLP analyse. Uit vijfen-

dertig percelen zijn 163 *Pythium*-isolaten geïdentificeerd tot zestien verschillende soorten. De meerderheid van de bemonsterde percelen bevatte een mengsel van soorten en elk perceel bevatte één of meer potentieel pathogene soorten. De meest algemeen voorkomende soorten waren *P. sylvaticum*, *P. ultimum*, *P. intermedium* en *P. hetero-thallicum*. Een selectie van de geïdentificeerde isolaten is getest op pathogeniteit voor vijf vatbare bolgewassen (iris, krokus, hyacint, tulp en lelie). Bij alle geteste *Pythium* soorten waren er verschillen in waardplantenreeks en agressiviteit tussen isolaten van dezelfde soort. Binnen soorten varieerde de waardplantenreeks van individuele *Pythium*-isolaten van géén tot alle vijf van de geteste gewassen. Gebaseerd op deze resultaten lijkt het bemonsteren en

identificeren van *Pythium* spp. in bollenpercelen geen zinvolle bijdrage te kunnen leveren aan de gewaskeuze in een vruchtwisseling met bolgewassen. Uit de resultaten blijkt echter ook dat iris, krokus, hyacint, tulp en lelie verschillen in hun vatbaarheid voor *Pythium*-isolaten, hoewel tulp en lelie nauw verwant bleken. Vruchtwisseling met iris, krokus, hyacint en tulp of lelie zou daarom nog steeds effectief kunnen zijn om de besmettingsdruk van *Pythium* te beperken.

Implementatie in de praktijk

In het proefschrift is een aantal agronomische benaderingen voorgesteld om *Pythium* wortelrot in

de bloembollenteelt te beheersen. Omdat de voorgestelde methoden afhankelijk zijn van levende organismen, kan de effectiviteit variëren onder invloed van vele omgevingsfactoren. Het beste resultaat mag worden verwacht wanneer verschillende strategieën worden gecombineerd. De verkregen kennis heeft bijgedragen aan een beter inzicht in *Pythium* wortelrot in de bloembollenteelt en het heeft een geleidelijke mentaliteitsverandering teweeggebracht bij telers met betrekking tot de mogelijkheden voor verminderd gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen. In navolging van de resultaten uit het onderzoek hebben telers de implementatie van een aantal beheersmaatregelen binnen het bouwplan aangepast.

PROMOTIE