

Preventieve en curatieve bestrijding van Botrytis stengelaantasting in tomaat met chemische en niet-chemische middelen

Jantineke Hofland-Zijlstra, Jürgen Köhl & Sabine Böhne





WAGENINGEN **UR**

For quality of life

Preventieve en curatieve bestrijding van Botrytis stengelaantasting in tomaat met chemische en niet-chemische middelen

Jantineke Hofland-Zijlstra, Jürgen Köhl & Sabine Böhne

© 2009 Wageningen, Wageningen UR Glastuinbouw

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, 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 Wageningen UR Glastuinbouw

Dit onderzoek werd gefinancierd door het Productschap Tuinbouw.



PT nummer: 13351

Projectnummer WUR Glastuinbouw: 3242050300

Wageningen UR Glastuinbouw

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk
Tel. : 0317 - 48 56 06
Fax : 010 - 522 51 93
E-mail : glastuinbouw@wur.nl
Internet : www.glastuinbouw.wur.nl

Inhoudsopgave

	pagina
Samenvatting	1
1 Inleiding	3
1.1 Aanleiding en aanpak van het onderzoek	3
1.2 Leefwijze van Botrytis	4
2 Materiaal en Methode	7
2.1 Preventieve bestrijding van stengelbotrytis	7
2.1.1 Proefopzet	7
2.1.2 Behandelingen en toedieningsmethode	7
2.1.3 Waarnemingen	8
2.2 Curatieve bestrijding van stengelbotrytis	9
2.2.1 Proefopzet	9
2.2.2 Behandelingen en toedieningsmethode	9
2.2.3 Waarnemingen	10
2.3 Statistische analyse	10
3 Resultaten	11
3.1 Preventieve bestrijding van stengelbotrytis	11
3.2 Curatieve bestrijding van stengelbotrytis	12
4 Discussie en Conclusies	13
4.1 Ontwikkeling van nieuwe en snelle toetsmethode van middelen tegen stengelbotrytis in tomaat	13
4.2 Effect van middelen tegen Botrytis	13
4.2.1 Effect van niet-chemische middelen	13
4.2.2 Effect van chemische middelen	14
4.3 Conclusies	15
5 Aanbevelingen	17
5.1 Aanbevelingen voor telers	17
5.2 Aanbevelingen voor verder onderzoek	17
Literatuur	19
Bijlage I. Foto impressie van de derde preventieve toets	3 pp

Samenvatting

Aanleiding en aanpak van het onderzoek

Uitval door stengelbotrytis is een terugkerend probleem in de tomatenteelt. Op dit moment zijn er geen chemische bestrijdingsmiddelen voor de bestrijding van Botrytis beschikbaar. In een kasproef die werd uitgevoerd in een tomatenteelt in het najaar van 2008 zijn een aantal middelen getest als alternatief om stengelbotrytis te bestrijden. De nadruk lag hierbij op de preventieve werking, waarbij eerst een middel wordt aangebracht alvorens Botrytis-sporen op het wondvlak aan te brengen. In de praktijk gaan telers vaak over op bestrijdingsmaatregelen wanneer Botrytis al zichtbaar op de stengels aanwezig is, daarom is van vijf middelen ook de curatieve werking getest. De getoetste middelen waren: twee chemische middelen, drie biologische middelen (twee schimmelantagonisten en Enzicur), drie wondafdekmiddelen (krijt, Scania Vital Silica en Botri-spray) en een behandeling waarbij het wondvlak versneld werd gedroogd met behulp van föhn.

Preventieve werking van getoetste middelen

De meeste middelen hadden een goede preventieve werking op het voorkomen van Botrytis-stengelaantasting. Twee biologische middelen op basis van *Trichoderma harzianum* of *Gliocladium catenulatum*, welke nog niet toegelaten zijn voor deze toepassing, zijn erg effectief en geven geen fytoxische reactie op het behandelde stengeloppervlak. Van de wondafdekmiddelen bleek het insmeren met kalk goed te werken ter voorkoming van infectie. Botri-spray werkte eveneens goed, alleen het middel geeft een sterke fytoxische reactie op de stengel, waardoor deze eerst verkurkt en later openbarst. Scania Vital Silica gaf in eerste instantie een goede bescherming, maar door het openbarsten van het materiaal ontstaan er toch weer nieuwe invalsporten voor Botrytis-sporen om te kiemen. Het versneld drogen van het wondvlak gaf evenveel aangetaste wondvlakken als de onbehandelde, besmette controlebehandeling. De twee geteste chemische middelen, die nog geen toelating hebben voor deze toepassing, werkten beiden goed. Eén ervan is de opvolger van Scomid met de werkzame stof imazalil, deze gaf echter wel een verbruining/verkurking van de stengel. Het andere middel met de werkzame stof menapyrim gaf geen verkleuring op de stengel. Voor dit middel loopt een aanvraag voor toepassing tegen Botrytis in vruchtgroenten.

Curatieve werking van getoetste middelen

Als Botrytis eenmaal de plant is ingegroeid, zijn de middelen ontoereikend om de aantasting nog voldoende in te dammen. Het geeft hooguit een vertraging van de lesiegroei met maximaal 30% en kan een snelle verspreiding van de sporen voorkomen. Van alle geteste middelen gaf het chemische middel op basis van Imazalil de meeste remming op de ontwikkeling van de lesie en de sporen. Opvallend was dat één van de getoetste biologische middelen eveneens een remmende werking gaf te zien, maar de preventieve behandeling was wel duidelijk effectiever dan de curatieve behandeling. Van de wondafdekmiddelen viel de curatieve werking tegen en werd er in deze proef weinig remming op de Botrytis-ontwikkeling waargenomen.

Conclusie

Preventieve bestrijding van stengelbotrytis werkt duidelijk effectiever dan curatieve bestrijding van al zichtbaar geïnfecteerde plekken. Bij preventieve behandeling van wondvlakken zijn een aantal middelen effectief. Dit betreft zowel chemische middelen, maar ook biologische middelen op basis van schimmels. Van de wondafdekmiddelen waren kalk en Botri-spray het meest effectief.

Aanbevelingen

Bij de gewasverzorging is het belangrijk om bladstengels netjes af te snijden, zonder loshangende stengelstukjes. Dit kan infectie van Botrytis voorkomen, omdat deze schimmel een plant vaak pas infecteert als er afstervend weefsel aanwezig is. Preventieve bestrijding en maatregelen tegen Botrytis werken effectiever dan wanneer er

ingegrepen wordt als er al sporulatie zichtbaar is. Handhaaf een strikte hygiëne voor reductie van de sporendruk en verwijder al het aangetast bladmateriaal en de bladeren die met het bladplukken- of snijden verwijderd worden zoveel mogelijk. Ook een droog klimaat ($rv < 87\%$) en een goede ventilatie verminderen de kans op infectie. Licht (met UV-straling) heeft een remmende werking op de kieming van Botrytis, zorg dus voor een open gewas zonder teveel bladmassa. Preventieve behandelingen kosten tot dusver vaak meer arbeid. Er is meer onderzoek nodig naar hoe de verschillende middelen toch preventief toegepast kunnen worden en tegelijkertijd goed inpasbaar zijn in het huidige teeltsysteem zonder al te veel extra arbeid te vergen.

1 Inleiding

1.1 Aanleiding en aanpak van het onderzoek

Aanleiding van het onderzoek

Aantasting van stengels door Botrytis is een groot probleem in tomaat, met name in de zomer- en herfstperiode. Vooral bij het breken van bladeren of slordig afsnijden van bladstengels ontstaan er makkelijk afstervende stengelstukjes waarop de schimmel zich bij vochtige omstandigheden makkelijk kan ontwikkelen. Om het risico van aantasting te verkleinen zijn verschillende telers gaan blad snijden in plaats van breken om het ontstaan van wondvlakken met afstervend weefsel zoveel mogelijk te beperken. Bij behandeling van aangetaste stengels door Botrytis werden voorheen veel chemische middelen gebruikt. De bestrijding met chemische gewasbeschermingsmiddelen en via klimaatsinstellingen is echter niet altijd afdoende om plantuitval te voorkomen, doordat telers pas ingrijpen als de Botrytis al zichtbaar op de stengel aanwezig is. Meestal is de schimmel dan al de plant in gegroeid en zal deze alsnog - hoewel vertraagd - afsterven. Daarnaast zijn een aantal Botrytis-herkomsten inmiddels al resistent geworden tegen middelen gebaseerd op ondermeer benzimidazolen en dicarboximiden (Aerts & Seels, 2008). Bij de herbeoordeling van de middelen zijn in de afgelopen jaren alle chemische producten ter bestrijding van Botrytis en werkzaam op basis van de stoffen carbendazim en azaconazool inmiddels komen te vervallen voor toepassing in de teelt van tomaat. Vanaf 25 juni 2007 werd ook het laatste toegelaten middel, Scomid (werkzame stoffen imazalil en azaconazool) aan deze lijst toegevoegd, zodat er nu helemaal geen chemische middelen meer voorhanden zijn in de bestrijding van Botrytis in tomaat. De verwachting is wel dat in 2009 een vervangend product met alleen de werkzame stof imazalil toegelaten gaat worden voor bestrijding van botrytis in tomaat (Certis, Dennis Eekhoff, pers. comm). Echter, terugdringing van het gebruik van chemische middelen blijft van groot belang, omdat de afzetkanalen steeds hogere eisen stellen aan de afwezigheid van residu op het product en steeds strengere MRL's hanteren, soms liggen die tussen 50-70% van de wettelijke norm. Bovendien blijft het gevaar van resistentieopbouw in Botrytis-soorten aanwezig bij frequent gebruik.

Niet-chemische middelen in de strijd tegen stengelbotrytis

In de afgelopen jaren zijn er als alternatief voor het wegvallen van de chemische middelen, nieuwe niet-chemische middelen op de markt beschikbaar gekomen om Botrytis-stengelaantasting te bestrijden of te voorkomen. Voorbeelden hiervan zijn middelen gebaseerd op Scania Vital Silica (Scaniavital van Biobest) , krijt - soms in combinatie met steenwol (Anoniem, 2008) en een aantal natuurlijke wondafdekmiddelen, zoals Botri-spray . Een aantal wondafdekmiddelen die gebaseerd zijn op natuurproducten claimen een curatieve werking te hebben op schimmels, maar het effect op Botrytis-stengelaantasting is niet duidelijk door onafhankelijk onderzoek aangetoond.

De rol van luchtventilatie

Botrytis kiemt vooral in klimaatcondities met een relatief hoge luchtvochtigheid (> 87%). De kas droogstoken om het vocht beter af te voeren is in de afgelopen jaren door de sterk gestegen energieprijzen steeds minder toegepast. Door deze ontwikkeling zijn recent diverse alternatieve luchtventilatiemethoden ontwikkeld, zoals de Aircobreeze en horizontale ventilatie onder de teeltgoten om op een energiebesparende manier planten toch minder vochtig te telen. Een belangrijk effect hiervan is dat door de verbeterde afvoer van vochtige lucht wondvlakken sneller opdrogen en minder kans geven voor kieming van Botrytis-sporen (Seels *et al.*, 2007).

Biologische middelen ter voorkoming van stengelbotrytis

Uit de literatuur is bekend dat een aantal antagonistische schimmels zeer effectief de kieming van Botrytis-sporen kunnen voorkomen en daarmee een preventieve werking kunnen bieden. Bijvoorbeeld in de teelt van cyclaam bleek *Ulocladium atrum* zeer effectief te zijn tegen Botrytis (Köhl *et al.*, 1998). Een onderzoeksrapport van een Franse promovendus, Laetitia Fruit (2001) en onderzoek van Dik & Elad (1999) laten zien dat deze schimmel ook zeer

effectief is in het bestrijden van stengelaantasting in tomaat. Daarbij was een preventieve toepassing wel effectiever dan een curatieve behandeling. Ook de antagonistische schimmels *Clonostachys rosea* (eerder bekend als *Gliocladium roseum*) en *Gliocladium catenulatum* hebben een goede potentie om Botrytis-sporulatie op afgebroken bladstengels te voorkomen (Dik *et al.*, 1999). In het onderzoek van Sutton *et al.* (2002) werd aangetoond dat *C. roseum* Botrytis-sporulatie goed kon onderdrukken voor een periode van tenminste 11 weken. Ditzelfde geldt ook voor een preventieve behandeling van besmette wondvlakken in tomaat met *G. catenulatum*, die ten opzichte van besmette controleplanten de uitval door stengelbotrytis sterk verminderde (Utkhede & Mathur, 2006). *G. catenulatum* is inmiddels opgenomen op de Annex 1 lijst bij richtlijn 91/414, waardoor registratie van een product in Nederland sneller kan verlopen. In Finland wordt het product als Prestop® op de markt gebracht en effectief als preventief middel ingezet tegen stengelbotrytis. Ook van *Trichoderma harzianum* T39 is bekend dat deze een goede preventieve werking heeft tegen stengelbotrytis, zowel in labtesten als onder kasomstandigheden (Dik *et al.*, 1999, Dik & Elad, 1999). Het belangrijkste werkingsmechanisme voor de antagonistische werking van deze schimmels op wondvlakken is waarschijnlijk gebaseerd op concurrentie met Botrytis om het beschikbare voedsel (water, suikers en koolhydraten) en in mindere mate op de directe remming van andere schimmels door afscheiding van antibiotische stoffen (Hjeljord & Tronsmo, 1998).

Doel van het onderzoek

Testen welke niet-chemische en chemische middelen Botrytis-stengelaantasting kunnen voorkomen als preventief middel of bestrijden als curatief middel.

Aanpak

Bij de aanpak van dit onderzoek ligt de nadruk op preventie, omdat dit de plant effectiever beschermt tegen Botrytis-infectie dan een curatieve behandeling. Een aantal van de gekozen middelen is echter ook getest op hun curatieve werking, dat wil zeggen op hun remmende werking op plekken waar de Botrytis-sporen al zichtbaar zijn. Dit was om na te gaan of de middelen curatief even effectief werken als preventief en in hoeverre ze dan een infectie van een stengel kunnen vertragen en de sporendruk kunnen reduceren.

1.2 Leefwijze van Botrytis

Hoe overleeft Botrytis in tomaat?

Botrytis is een schimmel die op verschillende manieren aanwezig kan zijn in een tomatengewas. De schimmel heeft veel waardplanten en de sporen, die zich makkelijk via lucht laten verspreiden, komen vrijwel overal voor. Zo kan Botrytis eenvoudig via luchtstromen van buitenaf en via beluchting de kas binnenkomen. Sporen kunnen vervolgens bij voldoende vochtige condities gaan kiemen op bladeren, deze binnendringen en vervolgens hele plantdelen doen afsterven. De aanwezigheid van bladbotrytis vormt een belangrijke bron van de sporendruk die later ook verantwoordelijk is voor de aantasting van stengeldelen (Aerts *et al.*, 2008). Het is ook een signaal dat het gewas op een bepaalde manier verzwakt is geraakt en de weerstand niet optimaal is. Voor het terugdringen van de sporendruk is het verwijderen van aangetast bladmateriaal dan ook belangrijk. Stengelaantasting begint meestal via wondvlakken die aanwezig zijn op resten van blad- en vruchtstelen. Tussen het aanwezig zijn op een wondvlak en de eerste zichtbare symptomen van lesies en sporenvorming kunnen enkele weken passeren (Dik *et al.*, 1999). Behandeling is dan veelal te laat, omdat de schimmel dan al diep in het weefsel is binnen gedrongen en moeilijk meer is te bereiken door de meeste middelen. Door de afscheiding van verschillende verteringsenzymen worden de vaatbundels langzaam afgebroken. De sapstroom wordt hierdoor geblokkeerd, de plant stopt met produceren en sterft vervolgens helemaal af. Op aangetaste plekken gaat de schimmel weer flink sporen produceren die weer zorgen voor verhoging van de sporendruk in de lucht. Botrytis kan onder bepaalde omstandigheden ook ruststructuren vormen die meerdere jaren in de grond kunnen overleven. Deze vorm komt in een kas met substraatteelt echter nauwelijks voor.

Wanneer infecteert Botrytis een plant?

De sporen van *Botrytis* kunnen bij veel temperaturen gaan kiemen, bij lage temperaturen al vanaf 2°C tot aan maximum temperaturen van 30°C. De optimale temperatuur voor snelle vermenigvuldiging en verspreiding ligt tussen 20-25°C. Een hoge sporendruk hoeft echter niet altijd te leiden tot aangetaste planten. Dit hangt mede af van een voldoende vochtig kasklimaat, de weerstand van het gewas en aanwezigheid van afstervende plantedelen die nog aan levende planten zitten (Köhl *et al.*, 2006). *Botrytis*-sporen hebben als belangrijke voorwaarde om te kiemen dat er voldoende vocht aanwezig moet zijn. Dit vocht kan aanwezig zijn als de relatieve vochtigheid in het microklimaat rondom de plant hoger is dan 87% (Salinas & Verhoeff, 1995) en door vocht dat uit de plant zelf naar wondvlakken toestroomt. De schimmel tast bij voorkeur verzwakt weefsel aan door wonden die door (verkeerde) gewasverzorging ontstaan zijn of via afstervende weefsel en zal pas daarna ook het gezonde plantenmateriaal binnen dringen.

Bestrijdingsmaatregelen van Botrytis

Door te zorgen dat wondvlakken zo kort mogelijk vochtig blijven is infectie te voorkomen. Een droger kasklimaat in combinatie met een goede ventilatie kan hieraan bijdragen. Goede gewasverzorging is tevens van groot belang, omdat vlak afgesneden wondvlakken zonder uitstekende plantendelen sneller opdrogen en minder snel geïnfecteerd raken ook al is er een hoge sporendruk aanwezig. Als *Botrytis* eenmaal de plant is binnengedrongen is het lastig om deze te bestrijden. Curatieve behandelingen waarbij geïnfecteerde plekken worden uitgesneden en behandeld zorgen meestal voor een vertraging van het infectieproces. Ze kunnen niet voorkomen dat de plant alsnog afsterft, maar kunnen wel een snelle verspreiding van sporen verminderen. In het geval van een *Botrytis*-aantasting is voorkomen van een infectie altijd beter dan bestrijding.

2 Materiaal en Methode

2.1 Preventieve bestrijding van stengelbotrytis

2.1.1 Proefopzet

De verschillende proeven werden gestart in week 42 in twee kassen waarin al tomatenplanten stonden van het grove ras Idool (Seminis). Deze plantingen waren op dat moment 25 weken oud. In beide kassen was het gewas aangetast door het pepinomozaïekvirus en in sommige planten was eveneens *tomato spotted wilt virus* (TSWV) aangetoond. Voor aanvang van de proef zijn daarom alle planten met duidelijke virussymptomen verwijderd en werden alleen groen en gezond uitziende planten gebruikt voor de proef. Ook Botrytis was al bij aanvang van de proef in beide kassen aanwezig.

Om de preventieve werking van de middelen te testen zijn in vijf teeltrijen elk 10 planten geselecteerd om elke behandeling in vijfvoud te herhalen. In week 50 vonden de laatste waarnemingen plaats. Alle behandelingen zijn drie keer in de proefperiode op verschillende planten herhaald. De eerste twee testen vonden plaats in de eerste kas (6.08) en zijn ingezet op 14 en 28 oktober. De derde test werd in de tweede kas (6.10) uitgevoerd op 11 november. De klimaatsinstellingen waren erop gericht om vochtige teeltcondities te handhaven (RV > 90%), om het ontstaan van nieuwe Botrytis-infecties zoveel mogelijk te bevorderen. Om deze reden is geen minimumbuis in de ochtend ingezet. Bij de derde test was tevens besloten om het wondvlak wel vlak af te snijden, maar extra te beschadigen door er kerven in te maken. Hierdoor ontstaat er afstervend stengelweefsel waar de Botrytis-sporen beter op kunnen kiemen om vandaar uit het gezonde weefsel binnen te dringen.



Figuur 1. Behandelde tomatenplant met twee wondvlakken. Van het bovenste wondvlak werd na twee dagen een ponsafdruk genomen en van het onderste wondvlak werd de ongestoorde lesie-ontwikkeling van Botrytis gevolgd gedurende enkele weken.

2.1.2 Behandelingen en toedieningsmethode

De volgende behandelingen zijn uitgetest volgens de dosering zoals die door de fabrikanten werd aangegeven

(* = middel heeft voor deze toepassing nog geen toelating):

- A. Besmette controle (geen toediening van middelen, maar wel besmet met Botrytis)
- B. Chemische referentie 1, werkzame stof imazalil (Certis)*

- C. Chemische referentie 2, werkzame stof mepanipyrim (Certis)*
- D. Scania Vital Silica (Scaniavital Silica, Biobest)
- E. Krijt (kalk)
- F. Antagonistische schimmel, *Gliocladium catenulatum* (Verdera)*
- G. Antagonistische schimmel, *Trichoderma harzianum* Rifai stam T-22 (Koppert)*
- H. Versnelde droging van het wondvlak met föhn
- I. Curatief biologisch middel Enzicur (Koppert)
- J. Curatief wondafdekkingsmiddel, Botri-spray (Ecoprotecta)

Bij elke behandelde plant zijn twee bladstengels afgesneden die zich vlak bij elkaar bevonden (Figuur 1). Voor de toediening van de preventieve middelen werd het wondvlak eerst bespoten met het middel en daarna met de *Botrytis*-sporensuspensie ($6,4 \cdot 10^5$ kve/ml). Voor de optimale werking van de middelen I en J werd eerst de *Botrytis*-sporensuspensie aangebracht en pas daarna het middel opgespoten. De behandelingen C, E en H zijn door omstandigheden niet in de eerste test opgenomen, maar waren wel aanwezig bij de tweede en derde test. Bij de behandelingen met Scania Vital Silica en krijt werd de sporensuspensie pas na droging van het materiaal opgebracht (ca. 30 minuten). De versnelde droging van het wondvlak (H) werd bewerkstelligd door het wondvlak gedurende vier minuten te drogen met een föhn. De mate van droging werd gecontroleerd met behulp van vochtindicatorpapier. Na het aanbrengen van de middelen is het wondvlak dichtgeseald met luchtdoorlatend plastic met daarin een vochtig watje om de relatieve vochtigheid rondom het wondvlak zo hoog mogelijk te houden (> 87%) en om de sporenkieming van *Botrytis* zo goed mogelijk te bevorderen. Na 48 uur is bij alle behandelingen het plastic verwijderd en begonnen de eerste waarnemingen.

2.1.3 Waarnemingen

Uitgroei van levende botrytis-sporen op specifiek voedingsmedium

Na verwijderen van het plastic omhulsel wordt van het bovenste wondvlak voorzichtig een ponsafdruk gemaakt om het aantal sporulerende eenheden van *Botrytis* te bepalen die op een specifieke groeimedium kunnen uitgroeien. Zeker bij de middelen met de antagonistische schimmels is de verwachting dat deze door de concurrentie om plek en voedsel minder levende sporen op het wondvlak overlaten ten opzichte van de controlebehandelingen waar *Botrytis* ongestoord kan groeien. De petrischaaltjes met ponsafdrukken werden in plastic bewaard en weggezet in een broedstof bij 20 °C. Na 7-10 dagen waren de eerste kolonies zichtbaar. Doordat het medium ondermeer tannines bevat, zijn de meeste schimmels niet in staat erop te groeien. *Botrytis* weet echter deze tannines wel te benutten en dit is te zien doordat de kleur van het voedingsmedium verandert van lichtbruin naar donkerbruin-zwart (Figuur 2).



Figuur 2. *Uitgroei van Botrytis-sporen op specifiek voedingsmedium.*

Botrytis lesies en sporenvorming op wondvlak

Het onderste wondvlak is ongemoeid gelaten om gedurende enkele weken de vorming van lesies en sporen te kunnen volgen. Elke 3-4 dagen zijn de wondvlakken beoordeeld op de aanwezigheid van lesies. Daarbij werd als index gebruikt:

- 0 – niet aanwezig
- 1 – alleen bruine rand om wondvlak heen
- 2 – bruine verkleuring aan de buitenkant van het wondvlak
- 3 – sporulatie op het wondvlak
- 4 – sporulatie buiten het wondvlak

Fytotoxiciteit

Symptomen van fytotoxiciteit zijn eveneens genoteerd en bijgehouden in hoeverre deze toenamen gedurende de proefperiode. Hierbij werd gelet op effecten zoals verkleuring en indroging van de stengel, openbarsten van het behandelde wondvlak, e.d.

2.2 Curatieve bestrijding van stengelbotrytis

2.2.1 Proefopzet

In de derde preventieve test waren er drie behandelingen waarbij Botrytis na zes dagen duidelijk zichtbaar op de meeste wondvlakken groeide. Deze plekken waren gelijkmatig gaan sporuleren, zodat ze een goede uitgangspositie gaven om de effectiviteit van curatieve behandelingen uit te testen (Figuur 3). In de praktijk gaan telers meestal ook pas tot het behandelen van een wondvlak over als er al duidelijk zichtbare sporulatie aanwezig is. Alle behandelingen zijn getest in vier herhalingen.

2.2.2 Behandelingen en toedieningsmethode

Bij de keuze van de te behandelen wondvlakken is bewust rekening gehouden dat de middelen elkaar zo min mogelijk zouden beïnvloeden. De behandelingen zijn direct verspoten op de geïnfecteerde wondvlakken.



Figuur 3. Uitgroei van Botrytis-sporen op wondvlak van een controlebehandeling na zes dagen.

De volgende behandelingen zijn uitgetest:

- A. Besmette controle (geen toediening van middelen, maar wel besmet met Botrytis)
- B. Chemische referentie 1, werkzame stof imazalil (Certis)
- C. Chemische referentie 2, werkzame stof mepanipyrim (Certis)
- F. Antagonistische schimmel, *Gliocladium catenulatum* (Verdera)
- I. Curatief biologisch middel Enzicur (Koppert)
- J. Curatief wondbehandelingsmiddel, Botri-spray (Ecoprotecta)

2.2.3 Waarnemingen

Botrytis lesies en sporenvorming op wondvlak

Voordat de curatieve test werd ingezet zijn alle wondvlakken gefotografeerd en zijn de lengtes van de lesies opgemeten. Daarna zijn twee keer per week de wondvlakken opnieuw beoordeeld op de aanwezigheid van lesies en doorgroei van de omvang en de sporulatie.

Fytotoxiciteit

Symptomen van fytotoxiciteit zijn eveneens genoteerd en bijgehouden in hoeverre deze toenamen gedurende de proefperiode. Hierbij werd gelet op effecten zoals verkleuring en indroging van de stengel, openbarsten van het behandelde wondvlak, e.d.

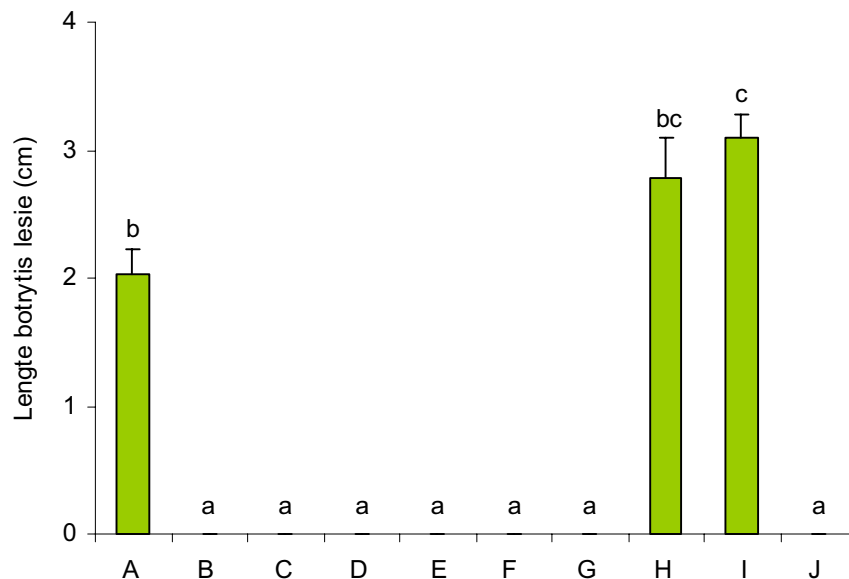
2.3 Statistische analyse

Voor de beoordeling van betrouwbare verschillen tussen de behandelingen is gewerkt met de methode van variantie-analyse (ANOVA) in SPSS. Hiervoor zijn alle data eerst getoetst op een normale verdeling met behulp van de Kolmogorov-Smirnov-test en indien nodig log-getransformeerd. Als de variatie tussen de behandelingen groter is dan de variatie binnen een behandeling dan is er sprake van een significant verschil tussen behandelingen. Dit werd geanalyseerd met een post-hoc test (Tukey, $P < 0.05$). In de grafieken van de resultaten zijn deze betrouwbare verschillen door verschillende letters boven de balken weergegeven.

3 Resultaten

3.1 Preventieve bestrijding van stengelbotrytis

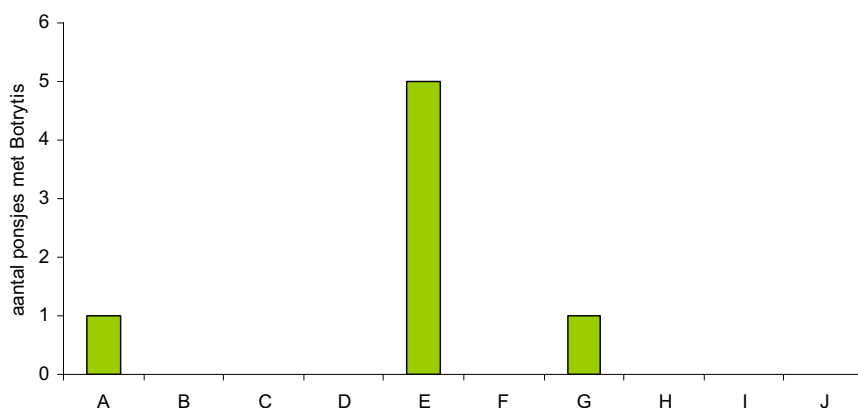
Bij de eerste twee testen raakten de controlebehandelingen niet zichtbaar aangetast door de aangebrachte Botrytis-suspensie. Ook alle andere behandelingen bleven ongeïnfecteerd en vertoonden geen lesies. De wondvlakken waren vlak afgesneden, waardoor de sporen kennelijk toch niet goed konden binnendringen. Daarom werd besloten in de derde test de wondvlakken te kerven, zodat er wel meer afstervend weefsel zou ontstaan. Dit pakte beter uit voor het infectieproces, want in de derde test waren er bij alle vijf controleplanten wel zichtbare lesies gevormd inclusief grijze sporenmassa (Figuur 3). Ook is er een duidelijk verschil te zien tussen de behandelingen (Figuur 4). De behandelingen H (droging met föhn) en I (Enzicur) blijken in deze test niet effectief te werken in het voorkomen van Botrytis-infectie. Bij eenmalige droging van het wondvlak met een föhn is dit te verklaren doordat het wondvlak steeds opnieuw door de sapstroom herbevochtigd wordt. Wat verder opvalt is dat de behandelingen met antagonistische schimmels (F en G) net zo effectief zijn als de chemische referentiemiddelen en geen enkel spoor van fytotoxiciteit vertonen. Ditzelfde geldt ook voor de behandeling met krijt. In bijlage I zijn foto's te zien van alle behandelingen en de effecten op het wondvlak en het stengelweefsel rondom. Behandeling D met Scania Vital Silica oogt effectief, maar na een week wordt het materiaal broos en begint het af te brokkelen van het wondvlak, waardoor er weer nieuwe kans op infectie ontstaat. Bij behandeling J (Botry-spray) was gedurende de hele waarnemingsperiode ook geen Botrytis-infectie te zien, maar het wondvlak droogt wel sterk in, verkurkt en scheurt open na een aantal weken.



Figuur 4. Resultaten van de derde preventieve toets. Ontwikkeling van Botrytis lesies (cm) 6 dagen na het aanbrengen van de behandelingen vlak voor of na de Botrytis-sporensuspensie. Gelijke letters in de balken geven aan welke behandelingen niet significant van elkaar verschillen.

De resultaten van de ponsafdrukken zijn niet in overeenstemming met de infectie van de wondvlakken op de planten (Figuur 5). In de controlebehandeling was slechts één van de vijf ponsjes begroeid door een Botrytis kolonie, terwijl alle wondvlakken wel geïnfecteerd waren geraakt en lesies vertoonden. Bij behandeling G (*Trichoderma harzianum*) was eveneens op één van de vijf ponsjes Botrytis aanwezig, terwijl er op geen enkel wondvlak een infectie aanwezig

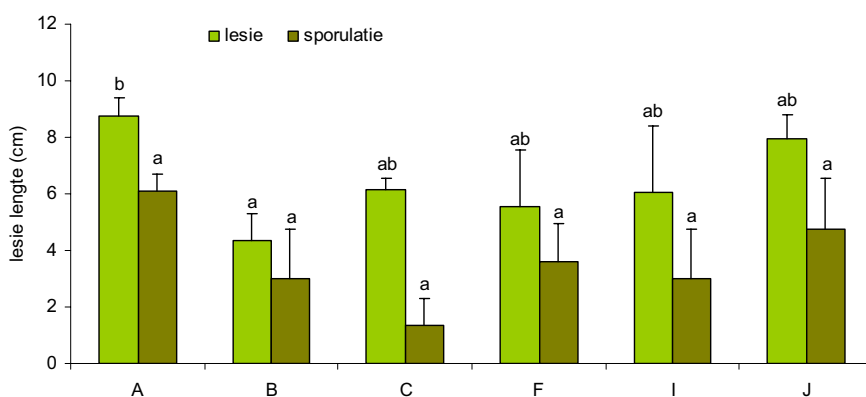
was. Behandeling E (kalk) liet daarentegen bij alle vijf ponsjes een aanwezigheid van *Botrytis*-sporulatie zien, terwijl ook deze wondvlakken niet geïnfecteerd werden door de schimmel.



Figuur 5. Resultaten van de derde preventieve toets. Ontwikkeling van aantal ponsjes met *Botrytis*-kolonies. Van elke herhaling (vijf per behandeling) is één ponsafdruk gemaakt.

3.2 Curatieve bestrijding van stengelbotrytis

Als er al een bestaande *Botrytis* lesie zichtbaar is met beginnende aanwezigheid van een grijze sporenmassa dan zijn er duidelijke verschillen in effectiviteit tussen middelen in vergelijking met de controlebehandeling (Figuur 6). Het chemische middel B (imazalil) heeft de sterkste remmende werking, alhoewel de lesie nog wel doorgroeit, gaat dit toch de helft langzamer in vergelijking met de onbehandelde controle. Het andere chemische middel C die preventief evengoed werkte als middel B, lijkt bij een curatieve behandeling minder effectief in het remmen van de lesiegroei. Middel C, F met de antagonistische schimmel *Gliocladium catenulatum*, middel I en J reduceren op sommige wondvlakken wel de doorgroei van de lesie soms tot 30%, maar gemiddeld genomen is dit niet betrouwbaar verschillend van de controlebehandeling.



Figuur 6. Resultaten van de curatieve bestrijding van *Botrytis*-stengelaantasting. Ontwikkeling van *Botrytis* lesie en lengte van sporenvorming na drie weken nadat deze met middelen zijn behandeld op plekken waar de *Botrytis*-sporulatie al duidelijk zichtbaar was bij aanvang van de test. Gelijke letters in de balken geven aan welke behandelingen niet significant van elkaar verschillen.

4 Discussie en Conclusies

4.1 Ontwikkeling van nieuwe en snelle toetsmethode van middelen tegen stengelbotrytis in tomaat

De incubatiemethode zoals die in deze proef ontwikkeld is om wondvlakken op een regelmatige manier te besmetten met *Botrytis* bleek effectief. Alle wondvlakken van de besmette controlebehandeling vertoonden na zes dagen sporulatie van de schimmel op het wondvlak. Dit was wel pas in de derde test, waar de wondvlakken werden ingekerfd voordat besmetting met sporen plaatsvond. Vanuit de literatuur is bekend dat deze schimmel afstervend, zwak weefsel nodig heeft om een plant binnen te kunnen dringen. Dat werd door deze ervaring nogmaals bevestigd. Ook werd bevestigd dat het netjes afsnijden van bladstengels minder snel (in onze proef zelfs geen enkele) infectie geeft dan wanneer er toch nog lipjes of stukjes loshangend weefsel aan het wondvlak achterblijven. Dit komt goed overeen met de bevindingen van Belgische onderzoekers (Aerts *et al.*, 2008). *Botrytis*-metingen via sporenvangers toonden tevens aan dat de natuurlijk aanwezige sporendruk in kas 6.10 drie keer hoger was ten opzichte van de kas 6.08 waar de eerste twee proeven hebben plaatsgevonden. Door de vochtige klimaatsinstellingen lukte het in een proef op kleine schaal ook om bladstengels geïnfecteerd te krijgen zonder het aanbrengen van de plastic incubatiezakjes en een kunstmatige sporensuspensie. Echter deze methode bleek minder zekerheid van besmetting te geven doordat niet alle herhalingen van de controlebehandeling besmet waren geraakt met *Botrytis*. Dit kan de oorzaak zijn van lokale verschillen in het microklimaat. Om te weten te komen in hoeverre de nieuwe incubatiemethode ook werkzaam is in een gezond gewas onder normale (minder vochtige) klimaatcondities is nog vervolgonderzoek nodig.

4.2 Effect van middelen tegen *Botrytis*

4.2.1 Effect van niet-chemische middelen

Antagonistische schimmels

Beide geteste schimmels bleken een goede preventieve werking te hebben tegen *Botrytis*. Eén voordeel van de middelen is dat ze geen fytotoxiciteit vertonen op de plant, waardoor de wondvlakken ook mooi en ongeschonden blijven zelfs enkele weken na toepassing. *Gliocladium catenulatum* bleek eveneens in staat om op sommige plekken een bestaande aantasting de lesievorming en sporulatie van *Botrytis* te remmen. Deze onderzoeksresultaten komen overeen met de bevindingen van Utkhede & Mathur (2006). Zij vonden eveneens dat deze antagonistische schimmel zeer effectief is in het bestrijden van stengelaantasting in tomaat, maar dat daarbij een preventieve toepassing wel effectiever is dan een curatieve behandeling. Dit kan worden verklaard doordat de werking van dit soort schimmels vooral is gericht op het aangaan van plek- en voedselconcurrentie met *Botrytis*. Zodra de antagonistische schimmel-sporen eerder op een plek aanwezig zijn dan *Botrytis* dan is er geen ruimte meer voor de ziekteverwekker om te kiemen. Daarnaast wordt het beperkt beschikbare voedsel en water ook weggekaapt zodat *Botrytis*-sporen zowel verhongeren als verdrogen. Voor zowel *Trichoderma harzianum* als *G. catenulatum* geldt echter dat ze nog niet toegelaten zijn om op deze manier ingezet te worden tegen *Botrytis*-stengelaantasting. De positieve uitkomsten van deze proeven dragen hopelijk bij aan een versnelde toelatingsprocedure van het product met *Gliocladium catenulatum* en een uitbreiding van de toelating voor *Trichoderma harzianum*. Eén van de toepassingsmogelijkheden zou zijn om de middelen gericht op het wondvlak aan te brengen met behulp van mesjes die in vloeistofdispensers zijn te steken waarbij na iedere snijbeweging vloeistof met biologisch middel over het mes heen glijdt en vervolgens over het wondvlak bij elke volgende snijbeweging.

Enzicur

Het curatief biologisch middel Enzicur heeft een sterkere curatieve dan preventieve werking op *Botrytis*. Het reageert specifiek op aanwezige sporen die via een oxidatieproces vernietigd worden. Dit werd ook duidelijk doordat in de curatieve test op een al aanwezige aantasting de lesie-ontwikkeling op sommige wondvlakken tot 30%

verminderd werd ten opzichte van de onbehandelde controle. Meer onderzoek met meer herhalingen is echter nodig om betrouwbare verschillen beter in kaart te brengen.

Wondafdekkingsmiddelen

Als kleireferentie is het middel Scaniavital Silica gebruikt. Dit is een wondafdekkingsmiddel gebaseerd op fijne kleideeltjes. Het product bestaat verder uit silicium, kalium, kalk, jodium en een verdikker op basis van gefermenteerde druivenpitten. Het vormt een fysische barrière die verder verdamping van wonden voorkomt en het indringen van deeltjes van buitenaf tegengaat. Uit de proeven blijkt dat Scania Vital Silica een goede preventieve werking heeft tegen Botrytis. Het enige nadeel is dat het materiaal scheurt na verloop van tijd en dan opnieuw een invalspoor kan vormen voor een Botrytis-infectie. Dit gebeurde echter niet tijdens de proefduur van de preventieve proeven. In de praktijk wordt het veelal gebruikt als curatief middel op wonden die al door Botrytis zijn aangetast. De werking is dan vaak minder goed, omdat de lesie onder de Scania Vital Silica uitgroeit en onvoldoende wordt geremd.

Het smeren van krijt op besmette wondvlakken wordt in de praktijk succesvol toegepast (Anoniem, 2008). Krijt heeft als eigenschap dat het een basische werking heeft en de pH verhoogt. Hierdoor wordt de kieming van Botrytis-sporen geremd. Ook in deze proeven werkte krijt goed als preventief middel tegen Botrytis-aantasting.

Botri-spray is een natuurlijk wondafdekmiddel gebaseerd op plantaardige zeep en plantaardige extracten. De actieve stoffen zijn: kaliumzouten, etherische oliën van natuurlijke oorsprong, blauwe kleurstof en calciumcarbonaat. De werking van het carbonaat zorgt voor een hogere zuurgraad waardoor Botrytis-sporen geremd worden in de kieming. In de proeven die gedaan zijn lijkt er een sterkere preventieve werking te zijn dan op plekken die al zichtbaar sporulatie van Botrytis-aantasting vertonen. Het wondweefsel droogt sterk in, verkurkt en barst na enkele weken open. Gedurende de proefperiode van de preventieve testen vond er echter geen herbesmetting plaats met Botrytis (ondanks de hoge natuurlijke ziektedruk).

De behandeling van versnelde droging van het wondvlak bleek geen goede preventieve werking te hebben. Waarschijnlijk is dit te verklaren doordat eenmalige droging van het wondvlak wel zorgt voor een tijdelijke opdroging, maar dat de sapstroom vanuit de plant steeds opnieuw zorgt voor herbevochtiging. Hierdoor krijgen de Botrytis-sporen toch opnieuw een kans om te gaan kiemen. Een frequentere droging van het wondvlak zal hoogstwaarschijnlijk effectiever zijn in het voorkomen van Botrytis. Onderzoek verricht door Belgische onderzoekers laat eveneens zien dat een grotere luchtstroom onder de plantengoot minder Botrytis-aantasting geeft dan een luchtbehandeling die verspreid wordt door ventilatoren die boven het gewas hangen (Seels *et al.*, 2007). Daarnaast vinden de onderzoekers dat de gemiddelde nattewondperiode 4-9 dagen bedraagt en daarmee veel langer duurt dan voorheen werd verondersteld (Aerts *et al.*, 2008).

4.2.2 Effect van chemische middelen

In deze proef zijn twee chemische middelen getest. Eén daarvan is de toekomstige vervanger van het vervallen middel Scomid met de werkzame stof Imazalil. Imazalil is een systemische fungicide dat behoort tot de chemische groep van imidazolen en heeft als eigenschap het membraan van schimmels te verstoren door remming van de biosynthese van ergosterol. Hierdoor zijn vele ziekteverwekkende schimmels niet meer in staat om te groeien. In verschillende proeven blijkt dat Imazalil een goede preventieve werking heeft, waarbij Botrytis dus geen kans krijgt om - ondanks gunstige kiemingscondities - het wondweefsel binnen te dringen. Daarnaast heeft het van alle geteste middelen de sterkste curatieve werking op plekken die al besmet zijn met Botrytis, hetgeen te verklaren is door de systemische werking. Het middel geeft wel een zekere fytoxische reactie op de stengel en kleurt deze sterk donkerbruin tot zwart. Daarnaast verkurkt het behandelde weefsel in lichte mate.

Het andere middel met als werkzame stof mepanipyrim blijkt eveneens effectief een Botrytis-infectie tegen te kunnen gaan. Het is een preventief werkend fungicide dat ingrijpt op diverse stadia van het infectieproces van de schimmel. De behandeling gaf geen symptomen van fytoxiciteit. In de aardbeienteelt heeft het een toelating als bestrijdingsmiddel tegen Botrytis, waarbij de resultaten positief zijn (Miura *et al.*, 1994). Tevens is het voordeel van dit middel

dat het nog effectief is tegen benzimidazole en dicarboximide resistente stammen van *Botrytis cinerea*. Er is door de toelatingshouder een aanvraag ingediend bij het Ctgb voor uitbreiding van de toelating in de vruchtgroenteteelt. Doordat de chemische middelen snel gevoelig zijn voor resistentieontwikkeling is het verstandig om te onderzoeken in hoeverre deze behandelingen te combineren zijn met biologische middelen. In Israël is er positieve ervaring opgedaan met *Trichoderma harzianum* T-39 waarbij de behandeling waarin de schimmel werd afgewisseld met diverse chemische middelen effectiever waren dan een biologisch of chemisch middel dat alleen werd toegediend (Elad *et al.*, 1994).

4.3 Conclusies

Het preventief inzetten van middelen tegen *Botrytis*-stengelaantasting werkt veel effectiever dan het toepassen van middelen als er al een duidelijke aantasting zichtbaar is. Bij alle middelen die curatief waren ingezet, waren de stengels na een paar weken evengoed doorgerot en beschadigd, terwijl de planten die in de eerste proeven al preventief waren behandeld nog steeds niet aangetast waren. Bij het preventief toepassen van middelen is het belangrijk dat dit geen al te zware arbeidsbelasting oplevert. Middelen die bijvoorbeeld verspoten kunnen worden of via dispensers gericht kunnen worden aangebracht zijn hierbij in het voordeel. Tevens is het een voordeel als de middelen een zo laag mogelijke belasting voor het milieu met zich mee brengen en geen snelle resistentie bewerkstelligen van *Botrytis cinerea*. De eerste positieve ervaringen met het toepassen van krijt op de stengels zijn al opgedaan. Meer onderzoek is nodig in hoeverre de antagonistische schimmels ook effectief zijn op wondvlakken als ze niet gespoten, maar via snijvlakken van mesjes worden opgebracht. Op korte termijn komen er weer chemische middelen beschikbaar die eveneens een goede preventieve werking hebben tegen *Botrytis*-stengelaantasting, maar deze zullen toch vooral ingezet worden voor curatief gebruik en daarbij veel afgewisseld moeten worden met andere middelen. Het is in het toekomstig belang van een duurzame tomatenteelt om de integratie van niet-chemische middelen zoveel mogelijk in te passen in de huidige gewasbeschermingsmaatregelen, ook om de beperkte beschikbare chemische middelen zolang mogelijk effectief te houden. Verdiepend onderzoek is nodig naar het afwisselen van verschillende chemische en niet-chemische middelen gedurende een hele teeltperiode om effectief stengel-aantasting door *Botrytis* te kunnen bestrijden.

5 Aanbevelingen

5.1 Aanbevelingen voor telers

- Botrytis kan een plant pas infecteren als er afstervende stengeldelen aanwezig zijn. Zorg dus voor nette, afgesneden wondvlakken die snel kunnen opdrogen zonder loshangende stengelstukjes.
- Zorg voor een preventieve bestrijding van Botrytis om effectiever de planten te beschermen dan pas in te grijpen wanneer de sporulatie al zichtbaar is. Effectieve middelen hiervoor zijn: kalk, Scania Vital Silica en Botri-spray .
- Handhaaf een strikte hygiëne en verwijder aangetast bladmateriaal en de bladeren die met het bladplukken- of snijden verwijderd worden zoveel mogelijk.
- Zorg voor een droog klimaat ($rv < 87\%$) en een goede ventilatie op de hoogte waar de bladstelen gesneden worden.
- Licht (met UV-straling) heeft een remmende werking op de kieming van Botrytis, zorg dus voor een open gewas zonder teveel bladmassa. Een open gewas zorgt tevens voor meer luchtbeweging en een droger klimaat.

5.2 Aanbevelingen voor verder onderzoek

- Preventieve behandelingen kosten tot dusver vaak meer arbeid. Verdere inspanningen zijn nodig om een methode te ontwikkelen hoe de verschillende middelen toch preventief toegepast kunnen worden en tegelijkertijd goed inpasbaar zijn in het huidige teeltsysteem zonder al te veel extra arbeid te vergen.
- Om de chemische middelen die nieuw op de markt komen zo lang mogelijk effectief te houden is onderzoek nodig naar geschikte combinaties met biologische middelen en natuurlijke wondafdekkingmiddelen.

Literatuur

- Aerts, R. & B. Seels, 2008.
Resistentie van *Botrytis* tegen fungiciden bij tomaat. Proeftuinnieuws 3: 24-25.
- Aerts, R., K. Heyens, B. Seels, L. Vogels, K. Goen & L. Wittemans, 2008.
Beheersing van *Botrytis* in tomaat., gewijzigd basisadvies. Proeftuinnieuws 4: 10-11.
- Anoniem, 2008.
Steenwol en krijt tegen stengelbotrytis. Groente en Fruit. Week 29, p. 12.
- Dik, A.J. & Y. Elad, 1999.
Comparison of antagonists of *Botrytis cinerea* in greenhouse-grown cucumber and tomato under different climatic conditions. European Journal of Plant Pathology 105: 123-137.
- Dik, A.J., G. Koning & J. Köhl, 1999.
Evaluation of microbial antagonists for biological control of *Botrytis cinerea* stem infection in cucumber and tomato. European Journal of Plant Pathology 105: 115-122.
- Elad, Y., M.L. Gullino, D. Shtienberg & C. Aloï, 1994.
Managing *Botrytis cinerea* on tomatoes in greenhouses in the Mediterranean. Crop Protection 14: 105-109.
- Hjeljord, L.G. & A. Tronsmo, 1998.
Trichoderma and Gliocladium in biological control: an overview. *In*: Trichoderma & Gliocladium, Vol. 2. Enzymes, biological control and commercial applications. CRC Press. Eds. G.E. Harman & C.P. Kubicek. Chapter 6, p.131-152.
- Köhl, J., P.H.B. de Visser & J. Wubben, 2006.
Optreden van *Botrytis* bij gerbera: inventarisatie van de huidige kennis. Rapport PRI en Wageningen UR Glastuinbouw. Nota 430.
- Miura, I., T. Kamakura, S. Maeno, S. Hayashi & I. Yamaguchi, 1994.
Inhibition of enzyme secretion in plant pathogens by mepanipirim, a novel fungicide. Pesticide biochemistry and physiology 48: 222-228.
- Salinas, J. & K. Verhoeff, 1995.
Microscopical studies of the infection of gerbera flowers by *Botrytis cinerea*. European Journal of Plant Pathology 101: 377-386.
- Seels, B., R. Aerts, L. Beirinckx & I. Spruyt, 2007.
Invloed ventilatoren op *Botrytis*-infecties in tomaat. Proeftuinnieuws 14-15, p. 25.
- Sutton, J.C., D-W Li, G. Peng, H.Yu, P. Zhang & R.M. Valdebenito-Sanhueza, 1997.
Gliocladium roseum, a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. Plant Disease 81: 316-328.
- Uthede, R.S. & S. Mathur, 2006.
Preventive and curative biological treatments for control of *Botrytis cinerea* stem canker of greenhouse tomatoes. Biological Control 51: 363-373.

Bijlage I.

Foto impressie van de derde preventieve toets



Figuur 1. Controlebehandeling besmet met Botrytis. Duidelijk zichtbare lesie op en rondom het wondvlak en zichtbare sporenvorming (grijs schimmelpluis).



Figuur 2. Behandeling B (imazalil). Geen sporulatie van Botrytis, maar wel indroging van het wond- en stengelweefsel.



Figuur 3. Behandeling C (mepanipyrim). Geen sporulatie van Botrytis, schoon wondvlak zonder fytotoxiciteit.



Figuur 4. Behandeling D (klei). Geen sporulatie van Botrytis, Scania Vital Silica heeft indrogende werking op stengelschors en brokkelt na een week af.



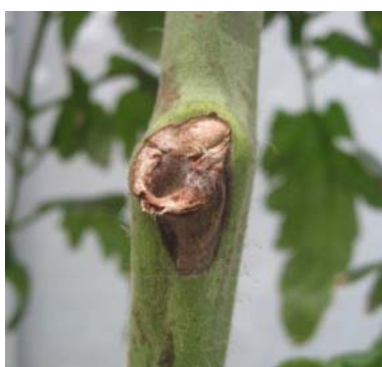
Figuur 5. Behandeling E (kalk). Geen sporenvorming van Botrytis. Wondvlak blijft goed bedekt gedurende enkele weken.



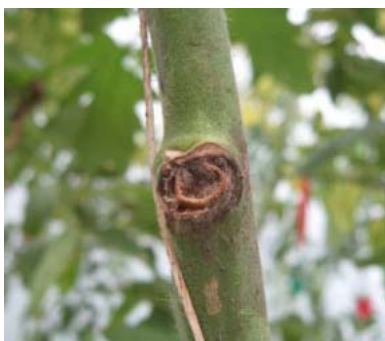
Figuur 6. Behandeling F (Gliocladium catenulatum). Geen sporenvorming van Botrytis, schoon wondvlak zonder fytotoxiciteit.



Figuur 7. Behandeling G (Trichoderma harzianum). Geen sporenvorming van Botrytis, schoon wondvlak zonder fytotoxiciteit.



Figuur 8. Behandeling H (droging wondvlak). Duidelijk zichtbare lesie op en rondom het wondvlak en zichtbare sporenvorming (grijs schimmelpuis).



Figuur 9. Behandeling I (wondafdekmiddel KBV 99-01). Duidelijk zichtbare lesie op en rondom het wondvlak en zichtbare sporenvorming (grijs schimmelpluis).



Figuur 10. Behandeling J (Botri-spray). Geen sporulatie van Botrytis, maar wel sterke verkurking van het wond- en stengelweefsel. Na een week komen de eerste barsten in het wondvlak en in de stengel, echter zonder herbesmetting van Botrytis.

