



Verspreiding van aantasting van *Fusarium foetens* in
recirculerende teeltsystemen van begonia
Onderzoek naar ontwikkeling en bestrijding/beheersing van
Fusarium foetens in Begonia

J.P.Wubben, I. Bosker, C. Lanser

© 2003 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.

Uitgevoerd door Praktijkonderzoek Plant & Omgeving als onderaannemer van DLV Facet.

Projectmanager Helma Verberkt, DLV Facet

In samenwerking met DLV Facet en Naktuinbouw

Gefinancierd door:

Productschap  Tuinbouw

Productschap tuinbouw, Postbus 280, 2700 AG Zoetermeer

Projectnummer: PPO 4110 3204

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Business Unit Glastuinbouw

Adres : Linnaeuslaan 2a
: 1431 JV Aalsmeer
Tel. : 0297 – 35 23 03
Fax : 0297 - 35 22 70
E-mail : jos.wubben@wur.nl

Inhoudsopgave

	pagina
1 INLEIDING	5
2 MATERIAAL EN METHODEN	7
2.1 Schimmelisolaten en inoculum productie.....	7
2.2 Kasinrichting en infectieproeven.....	7
2.3 Waarnemingen.....	8
2.3.1 Aantasting.....	8
2.3.2 Overleving sporen in de voedingsoplossing	8
2.3.3 Identiteit van de herisolaten	8
3 RESULTATEN EN DISCUSSIE	9
3.1 Uitval van begonia in recirculerende teeltsystemen.	9
3.2 Overleving sporen in de voedingsoplossing	10
3.3 Identiteit van herisolaten F. foetens:	10
4 CONCLUSIE.....	11
BIJLAGE 1: PROEFVELDINDELING PROEF 3 (KAS L302).....	13
BIJLAGE 2: GEMIDDELDE DAGTEMPERATUUR EN LUCHTVOCHTIGHEID IN KAS L302.....	14

1 Inleiding

Sinds twee jaar wordt in de begonia-teelt uitval gevonden veroorzaakt door een nieuwe *Fusarium* vaatschimmel welke recentelijk de naam *Fusarium foetens* gekregen heeft. Uitval op verschillende bedrijven is aanzienlijk en aantasting is moeilijk te beheersen en te bestrijden. DLV Facet heeft in samenwerking met Praktijkonderzoek Plant & Omgeving en Naktuinbouw een stappenplan (4 fasen) uitgewerkt waarmee in de praktijk een verbeterde beheersing van de ziekte gerealiseerd moet worden. De volgende vier fasen zijn omschreven:

1. Praktijkinventarisatie.
2. Kennisontwikkeling.
3. Bestrijding en ontsmetting.
4. Implementatie.

Uitvoering van de verschillende onderdelen wordt gecoördineerd door DLV Facet in samenwerking met Naktuinbouw en PPO sector Glastuinbouw.

In dit korte verslag worden de resultaten van enkele proeven beschreven waarbij het effect teeltsysteem en besmettingsbron op verspreiding van aantasting onderzocht wordt.

Doelstelling van dit onderzoek is bepalen van het risico van verspreiding van aantasting van *F. foetens* in begonia in teeltsystemen welke in de praktijk gebruikt worden (onderdeel kennisontwikkeling).

2 Materiaal en methoden

2.1 Schimmelisolaten en inoculum productie

De isolaten voor deze proeven zijn beschikbaar gesteld door R. Hoofman van Naktuinbouw. De volgende isolaten zijn in eerste instantie verkregen: Naktuinbouw 306, 311, 327 en 336. Door Naktuinbouw en de Plantenziektenkundige Dienst is de identiteit van deze isolaten bevestigd als zijnde *Fusarium foetens*. Op basis van uniforme groei op aardappel dextrose agar medium (PDA) is isolaat Naktuinbouw 327 gebruikt voor de infectieproeven.

Voor de infectieproeven is gebruik gemaakt van microsporen van de schimmel. De sporen werden geproduceerd in vloeibaar Czapek Dox medium met gist extract. Het medium werd geënt met een ponsje mycelium van de schimmel en na twee weken groei bij 22°C werden grote hoeveelheden microsporen in het medium geproduceerd. Deze sporen werden door middel van filtratie over glaswol gescheiden van de overige schimmeldeeltjes en verdunningen van deze sporensuspensie in water werden direct gebruikt voor de besmettingen van de planten.

2.2 Kasinrichting en infectieproeven

In kas L302 van PPO Glastuinbouw te Aalsmeer staan 24 onafhankelijk recirculerende teeltsystemen. Voor het onderzoek in het kader van verspreiding van *F. foetens* in Begonia zijn 12 tafels ingericht voor eb en vloed bevoeiing (90 % drain) en 12 tafels voor gebruik van bevoeiingsmatten met druppelsslangen (10 % drain).

Beworteld stek van Berseba werd week 48 - 2002 geleverd, opgepot in 13 cm potten met standaard Begonia potgrondmengsel. Tafel oppervlak is 1,25 m x 1,85 m. Per tafel worden 30 planten geplaatst. Per tafel (eenheid) is een tank voedingsoplossing van 250 liter beschikbaar. Dit is voldoende voor de gehele proefperiode. De voedingsoplossing is gedurende de proef niet aangevuld.

Voor ieder teeltsysteem worden **vijf verschillende besmettingsbehandelingen** uitgevoerd. Behalve behandeling 1 en 5 zijn alle behandelingen in drie herhalingen uitgevoerd)

1. **Controle:** Onbesmette controle (uitgevoerd in een herhaling).
2. **Tank laag:** Besmetting door eenmalig sporen aan de voedingsoplossing toe te voegen bij een lage concentratie (1×10^4 sporen/liter).
3. **Tank hoog:** Besmetting door eenmalig sporen aan de voedingsoplossing toe te voegen bij een hoge concentratie (1×10^6 sporen/liter).
4. **Plant:** Besmetting door op de tafel bij aanvang van de teelt een zestal zieke planten te plaatsen. Deze planten zijn afkomstig uit proef 2 en zijn op 4 september besmet door aangieten van sporen op de potgrond. Om een uniforme verdeling te krijgen is per tafel 6 besmette planten geplaatst welke afkomstig waren van de besmetting onbewortelde stek waarbij voor de hoeveelheden 10^5 , 10^6 en 10^7 ieder 2 planten per tafel gebruikt werden. Planten worden na uitvallen van de tafel verwijderd.
5. **Plant besmet:** zes planten besmet door 10^6 sporen per plant aan te gieten op schotel en deze nog 2 dagen zo te laten staan. Na deze twee dagen wordt de schotel verwijderd en draaien de planten mee in het recirculerende systeem (uitgevoerd in twee herhalingen).

Klimaatinstellingen van de kasruimte zijn gedurende de proefperiodes aangepast:

Belichting: Bij aanvang van de proef werd geen assimilatie belichting toegepast. Vanaf 6 februari 2003 is er 3000 lux boven het gewas gehangen en deze lampen hebben 19 uur per dag aangestaan. Bij een natuurlijke instraling boven 200 Watt gingen de lampen uit.

Temperatuur: Tot 6 februari werd dag/nacht temperatuur van 20/18 °C aangehouden. Vanaf 6 februari zijn de instellingen omgedraaid waarbij dag/nacht temperatuur van 18/20 °C nagestreefd werd. Luchtvochtigheid overdag werd door middel van een nevelinstallatie op peil gehouden waarbij een vochtdeficiet van 3 g/kg nagestreefd werd.

2.3 Waarnemingen

2.3.1 Aantasting

Vanaf het moment dat de besmetting uitgevoerd werd is wekelijks de aantasting van de planten visueel beoordeeld. De mate van aantasting is vastgesteld door middel van onderstaande index.

- 0 geen zichtbare symptomen
- 1 enkel blad vergeeld, niet met zekerheid het gevolg van *F. foetens*
- 2 duidelijke vergeling enkele bladeren, eerste verwelkingsymptomen
- 3 ernstige vergeling en verwelking, circa 50 % plant bovengronds aangetast
- 4 zeer ernstige vergeling en verwelking, meer dan 80 % plant bovengronds aangetast en/of sporulatie op bovengrondse delen
- 5 plant dood

De waarnemingen zijn 2 á 3 maal per week uitgevoerd zodat een goed beeld van ontwikkeling van aantasting in de tijd verkregen werd.

Op 9 april is een eindwaarneming in de proef uitgevoerd. Hierbij is van alle planten de plantvoet doorgesneden en is geconstateerd of de planten al dan niet een vaatverbruining vertoonden welke veroorzaakt zou zijn door *F. foetens*.

Voor behandeling 4 werden de zieke planten welke bij aanvang van de proef op de tafel geplaatst waren niet meegenomen in de eindwaarneming.

2.3.2 Overleving sporen in de voedingsoplossing

Op vrijdag 14 februari is van de voedingsoplossing van de verschillende systemen een monster genomen en hiervan is door Naktuinbouw bepaald welke aantallen *F. foetens* nog in de voedingsoplossing aantoonbaar waren.

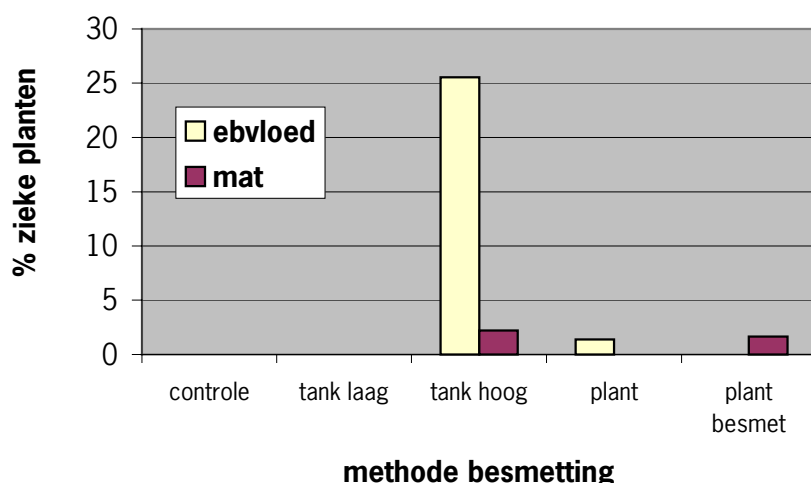
2.3.3 Identiteit van de herisolaten

Van een drietal herisolaten van de aangetaste begonia planten is de identiteit vastgesteld door Naktuinbouw en PD.

3 Resultaten en discussie

3.1 Uitval van begonia in recirculerende teeltsystemen.

De eerste ziekteverschijnselen in de proef werden waargenomen rond 3 februari in de eb en vloed teeltsystemen welke met een hoge sporenconcentratie via de tank besmet waren (behandeling 3). De aantasting trad pas 10 weken na besmetting op. In de daarop volgende periode is bij geen van de andere behandelingen aantasting gevonden terwijl voor behandeling 3 regelmatig planten met ziektesymptomen gevonden werden. Nadat de eerste ziekteverschijnselen waargenomen werden, duurde het enige tijd (weken) voordat een verdere verslechtering van de planten optrad. Hierdoor bestond enige tijd twijfel of hier sprake was van *Fusarium* aantasting of niet. Bij voorgaande proeven was de plant vaak binnen twee weken na de eerste zichtbare symptomen volledig weggevallen. Om een bevestiging te krijgen dat *F. foetens* de oorzaak van de ziektesymptomen was is in een aantal gevallen een herisolatie van de schimmel uit het zieke plantmateriaal uitgevoerd. Hierbij werd in alle gevallen *F. foetens* geïsoleerd (zie ook 3.3). De totale aantasting op het moment van de eindwaarneming (9 april) staat weergegeven in Figuur 1.



Figuur 1. Percentage zieke planten (zichtbaar aangetast en/of met vaatverbruining) bij de vijf verschillende besmettingsbehandelingen in de proef op eb en vloed teeltsystemen of bij bevoeiingsmatten.

Met totale aantasting wordt zowel de zichtbare aantasting als de vaatverbruining genoemd zoals waargenomen bij het doorsnijden van de plantvoet voor de eindwaarneming. Voor behandeling 4 en 5 gold dat uitsluitend aantasting gevonden werd na het doorsnijden van de plantvoet. Voor behandeling 3 was 18% van de planten zichtbaar aangetast terwijl bij 7% van de planten alleen een vaatverkleuring waargenomen werd. Het moge duidelijk zijn dat de meeste aantasting gevonden werd op eb en vloed teeltsystemen wanneer een hoge hoeveelheid sporen aan de voedingsoplossing toegevoegd was. Bij teelt op bevoeiingsmatten met een gelijk besmettingsniveau in de voedingsoplossing is de aantasting ongeveer een factor 10 lager. Bij de behandelingen met een laag niveau besmetting in de tank is gevonden in geen van beide teeltsystemen aantasting gevonden. Het niveau van 10.000 sporen per liter is hier dus onvoldoende geweest om aantasting te veroorzaken. In één geval is er verspreiding van aantasting gevonden vanuit een zieke plant op een eb en vloed teeltsysteem (behandeling 4). Praktijkwaarnemingen door DLV Facet en Naktuinbouw hebben reeds eerder aangetoond dat het lekwater van een potkultuur van een zieke plant grote hoeveelheden *Fusarium* sporen kan bevatten. Deze kunnen zich in het teeltsysteem verspreiden en nieuwe aantasting veroorzaken. Bij behandeling 5 werd eveneens slechts één zieke plant geconstateerd, in dit geval bij teelt op matten. Dit was een plant die bij aanvang van de proef besmet was met een concentratie

van één miljoen sporen per plant. Er is dus geen verspreiding van aantasting aangetoond. De hoeveelheid van één miljoen sporen per plant had bij eerdere proeven waarbij de planten op schotels stonden wel een gemiddelde uitval van meer dan 80 % opgeleverd. Mogelijk dat dit verschil verklaard wordt door uitspoeling van de sporen in het systeem terwijl de bij een voorgaande proef de plant gedurende de gehele proef op een schotel stond en geen uitspoeling van de sporen uit de potkluit mogelijk was.

3.2 Overleving sporen in de voedingsoplossing

Op vrijdag 14 februari is van de voedingsoplossing van de verschillende systemen een enkel monster genomen en hiervan is door Naktuinbouw bepaald welke aantallen *F. foetens* in de voedingsoplossing aantoonbaar waren (Tabel 1).

Tabel 1. Overleving van *F. foetens* in de voedingsoplossing.

teeltsysteem	besmetting	aantal <i>F. foetens</i> / ml
ebvloed	tank hoog	60
ebvloed	tank laag	-
ebvloed	plant	1
ebvloed	plant besmet	-
ebvloed	onbesmet	-
matten	tank hoog	60
matten	tank laag	-
matten	plant	-
matten	plant besmet	-
matten	onbesmet	-

Zowel in het eb en vloed teeltsysteem als in het bevoeiingsmatten teeltsysteem werden 60 sporen/ml gedetecteerd in het systeem dat met een hoge hoeveelheid sporen besmet was (1000 sp/ml = $1 \cdot 10^6$ sp/liter). Dit betekent dat er een overleving van 6 % is op 80 dagen na besmetting van het teeltsysteem. Uitgaande van dit overlevingspercentage van 6 % is het verklaarbaar dat bij de lage tankbesmettingen geen sporen van *F. foetens* aangetoond zijn omdat de aantallen gelijk of kleiner zijn dan het detectie niveau van de toets van Naktuinbouw (0,5 sporen per ml). Daarnaast is het wel opvallend dat in het systeem waarbij aangetaste planten op de tafel geplaatst waren ook *F. foetens* in het water aangetoond werd. Op deze tafel waren 6 aangetaste planten geplaatst. Met een volume in de tank van 250 liter betekent dit dat er maximaal 250.000 sporen van de schimmel in de tank zouden zitten bij een geconstateerde concentratie van 1 spore/ml. Per plant zouden er dus in theorie meer dan 40.000 sporen in het systeem uitgedraineerd kunnen zijn. Deze hoeveelheden zijn voldoende om verspreiding van aantasting te veroorzaken als we veronderstellen dat een hoeveelheid van 1000 sporen per gezonde plant aantasting kan geven (proef 2 in dit project). Deze berekeningen zijn gebaseerd op een enkele waarneming maar ze worden enigszins ondersteund door praktijkwaarnemingen waarbij in drainwater monsters van zieke planten grote hoeveelheden *F. foetens* aangetoond werden.

3.3 Identiteit van herisolaten *F. foetens*:

Gedurende de proef is van een aantal aangetaste planten uit het vaatweefsel opnieuw een *Fusarium* geïsoleerd. Deze isolaten zijn door PD en Naktuinbouw geïdentificeerd. Door beide instanties is aan de hand van morfologische eigenschappen en het DNA profiel van de schimmel vastgesteld dat de isolaten die uit het plantmateriaal geïsoleerd niet verschillen van de het isolaat dat voor aanvang van het onderzoek via Naktuinbouw verkregen is.

4 Conclusie

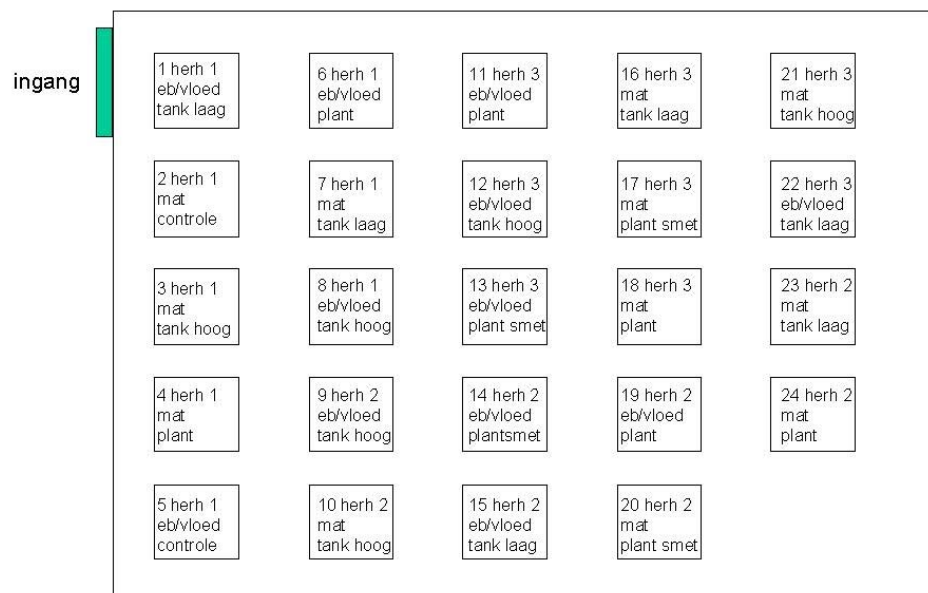
Uit de hierboven beschreven resultaten kunnen een aantal conclusies getrokken. Deze staan hieronder benoemd:

- Bij een besmetting van het recirculatie water is de kans voor aantasting van planten een factor 10 groter wanneer de voedingsoplossing door middel van een eb en vloed systeem bij de planten komt in plaats van wanneer op bevoeiingsmatten geteeld wordt.
- In een eb en vloed teeltsysteem kunnen sporen uit de pot van een zieke plant uitspoelen in het drainwater.
- Er is geen verspreiding van aantasting op bevoeiingsmatten aangetoond. Hiervoor is mogelijk het besmettingsniveau te laag geweest.
- Na 10 weken is nog 6 % van de sporen van *Fusarium* aantoonbaar aanwezig in de voedingsoplossing
- *Fusarium* die uit het vaatweefsel van zieke planten geïsoleerd is is *F. foetens*

Deze resultaten lijken overeen te komen met ervaringen uit de praktijk. Ook daar worden met name bij teelt op eb en vloed systemen relatief veel problemen gemeld met *F. foetens*. Er blijven nog wel een aantal vragen liggen ten aanzien van de proefresultaten en de praktijkwaarnemingen. Bijvoorbeeld wordt er in het drainwater van bedrijven met problemen nauwelijks grote hoeveelheden *F. foetens* aangetoond terwijl er wel snel uitval van planten gevonden wordt. Waar ligt de oorsprong van de besmetting in de praktijk en hoe komt het dat dit nauwelijks aantoonbaar is in de voedingsoplossing? Mogelijk zijn er plaatselijk grote verschillen in sporenhoeveelheid in de voedingsoplossing maar komen deze bij de uitgevoerde bemonsteringen niet naar voren. Anderzijds is ook mogelijk dat onder heersende omstandigheden nog kleinere hoeveelheden sporen (< 1000 per plant) tot aantasting kunnen leiden. Dit geeft nogmaals de noodzaak aan om met name het systeem (inclusief voedingswater) goed te ontsmetten zodat bij aanvang met schoon plantmateriaal geen besmettingsbronnen aanwezig zijn.

Bijlage 1: Proefveldindeling proef 3 (Kas L302)

Kas L302, proefveldindeling 433204_3, Begonia Fusarium foetens



PPO Vertrouwelijk

Bijlage 2: Gemiddelde dagtemperatuur en luchtvochtigheid in kas L302

