

Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente
Vestiging Aalsmeer
Linnaeuslaan 2a, 1431 JV Aalsmeer
Tel. 0297-352525, fax 0297-352270

ISSN 1385 - 3015

ONDERZOEK AAN *MYROTHECIUM RORIDUM* IN BOUVARDIA

Overleving, verspreiding en bestrijding in de stekfase

Project 1630

J.J. Amsing
C. Jilesen
W. Schuring
Aalsmeer, januari 2000

Rapport 249
Prijs f 20,00

Rapport 249 wordt u toegestuurd na storting van f 20,00 op banknummer
300 177 976 ten name van Proefstation Aalsmeer onder vermelding van 'Rapport
249, ONDERZOEK AAN *MYROTHECIUM RORIDUM* IN BOUVARDIA'.

INHOUD

SAMENVATTING	5
1. INLEIDING	7
1.1 Probleemstelling	7
1.2 Doelstelling	8
2. AANGETASTE MOERPLANTEN	9
2.1 Materialen en methoden	9
2.2 Resultaten en discussie	10
2.3 Conclusie	10
3. OVERLEVING SPOREN OP MOERPLANTEN	11
3.1 Inleiding	11
3.2 Doel	11
3.3 Materialen en methoden	11
3.4 Resultaten en discussie	13
3.5 Conclusies	14
4. VERSPREIDING VIA BESMETTE HANDEN	15
4.1 Inleiding	15
4.2 Doel	15
4.3 Materialen en methode	15
4.4 Resultaten en discussie	16
4.5 Conclusie	16
5. BESTRIJDING IN DE STEKFASE	17
5.1 Doel	17
5.2 Materiaal en methode	17
5.3 Resultaten en discussie	18
5.4 Conclusies	18
LITERATUUR	19
BIJLAGE 1. STEKSNIJDEN EN -STEKEN	20

SAMENVATTING

In 1999 is onderzoek gedaan naar de overleving, verspreiding en bestrijding van de bodemschimmel *Myrothecium roridum* in de stekfase van Bouvardia. *M. roridum* is een algemeen voorkomende saprofytisch levende schimmel, die in staat is planten aan te tasten. In de stekfase gaat het met name om aantasting van de plantvoet. In dit onderzoek is onder andere gekeken of aangetaste moerplanten aanleiding zijn voor het ontstaan van *Myrothecium* in de stekfase. Er zijn twee proeven uitgevoerd. Op twee tijdstippen zijn stekken genomen van geïnoculeerde moerplanten. Ook zijn er stekken genomen van niet-aangetaste moerplanten die gedompeld werden in een sporensuspensie. Twaalf weken na het steken van de kunstmatig geïnoculeerde stekken was 30 en 35% van de stekken aangetast. In de twee proeven is echter nooit aantasting ontstaan bij de stekken die afkomstig waren van de aangetaste moerplanten. De schimmel komt dus niet via een aangetaste plantvoet boven in de plant terecht.

Verder is onderzocht hoe lang sporen kunnen overleven op moerplanten *in vivo* en *in vitro*. Bij de *in vivo*-proef werden moerplanten op verschillende tijdstippen voor stek nemen geïnoculeerd. Het percentage door *Myrothecium* aangetaste stekken zes weken na het steksteken was in alle behandelingen hoog. Zelfs als de moerplanten zeven dagen voor het steknemen werden geïnoculeerd, was na zes weken nog 76% van de stekken aangetast door *Myrothecium*. De infectieuze periode van *Myrothecium roridum* bedraagt onder praktijkomstandigheden dus minimaal zeven dagen. Bij de *in vitro*-proef werden de moerplanten geïnoculeerd met *Myrothecium*. Op verschillende tijdstippen na inoculatie werden bladeren geplukt en uitgelegd op een voedingsbodem. Uit deze proef bleek dat onder laboratoriumomstandigheden *Myrothecium roridum* tot vier weken na inoculatie nog kiemkrachtig kan zijn.

Ook is gekeken of het mogelijk is door middel van besmette handen de schimmel te verspreiden. Vier en nul dagen voor het steknemen werden handschoenen geïnoculeerd met *Myrothecium*. Met de besmette handschoenen werd vervolgens stek gesneden en gestoken. Zes weken na het steksteken werden de stekken beoordeeld. De gevonden aantastingspercentages waren laag, respectievelijk 5 en 9% bij inoculatie vier en nul dagen voor het stekken. Bewezen is echter wel dat *Myrothecium* door besmette handen overgebracht kan worden. Voorzichtigheid blijft dus geboden.

Tot slot is getoetst of met chemische middelen *Myrothecium* in de stekfase te bestrijden is. De proef werd uitgevoerd met zes behandelingen in viervoud. In geen enkele behandeling werd een goed bestrijdingsresultaat gevonden.

1. INLEIDING

1.1 PROBLEEMSTELLING

Myrothecium roridum is een algemeen voorkomende saprofytisch levende bodemschimmel, die in staat is planten aan te tasten. In de stekfase gaat het met name om aantasting van de plantvoet. Een aantasting wordt gekenmerkt door donkerbruin tot zwarte weefselgedeelten. Hierop ontstaan afgeronde, glimmende olijfgroene tot zwarte sporendozen, de zogenaamde sporodochiën. Deze sporodochiën zijn met een loep duidelijk waar te nemen. Rond de sporodochiën is een witte krans van schimmelpluis zichtbaar. Bij Bouvardia is een grijsverkleuring van de stengel op 1-10 cm boven de grond te zien, verwelkingsverschijnselen en roestbruine vlekken op de bladeren (Cevat, 1993). Het plantenweefsel wordt van buitenaf aangetast, waarna de schimmel verder het weefsel binnendringt en vernietigt. Vooral in de opkweekfase zijn de plantjes zeer kwetsbaar. Temperaturen van 25-30°C en relatieve luchtvochtigheden van meer dan 90% werken een aantasting van *M. roridum* in de hand (Anonymus, 1992).

Aangetast stek kan voor de teler een belangrijke besmettingsbron zijn waardoor de ziekte in de kas wordt gebracht. Indien ervan wordt uitgegaan dat ook Bouvardia-stek kan zijn aangetast door de schimmel *Myrothecium roridum*, dan doet zich de vraag voor hoe het stek besmet is geraakt. Dit kan op verschillende manieren gebeuren. Op de eerste plaats zou de ziekte direct vanuit een aangetaste moerplant op het stek kunnen worden overgedragen. Hiermee wordt bedoeld dat de schimmel inwendig in de plant naar boven groeit en zo in de top waarvan later stek wordt gesneden, terechtkomt. De tweede mogelijkheid van besmetting bestaat eruit dat de schimmel van buitenaf in de toppen van de moerplanten terechtkomt. Dit kan bijvoorbeeld gebeuren doordat het stekgedeelte van de moerplanten wordt aangeraakt met besmette handen en gereedschap of wordt bevlogen door insecten, die verontreinigd zijn met sporen van *M. roridum*. Zo zouden bijvoorbeeld varenrouwmuggen een bron van verspreiding kunnen zijn. Deze insecten bevinden zich namelijk onder in het gewas en kunnen daar in aanraking komen met de vruchtlichamen (sporodochiën) die zich op de plantvoet van een aangetaste plant bevinden. Een sporodochium bevat al gauw een miljoen sporen. Na verstoring vliegen de muggen op en kunnen dan eventjes boven in het gewas plaatsnemen en zodoende dit gedeelte besmetten. Ook tijdens het steksnijden en -steken kunnen de stekken worden besmet door besmette handen en gereedschap.

Wanneer het stek van buitenaf wordt besmet, wat kan er dan aan worden gedaan om aantasting in de stekfase te voorkomen? Uit onderzoek in de teeltfase is gebleken dat de middelen maneb, thiram, prochloraz-Mn en een experimenteel middel het meest effectief zijn om aantasting te voorkomen (Amsing, 1999). Of deze middelen ook in de stekfase effectief zijn, is onderzocht.

1.2 DOELSTELLING

Het onderzoek aan de bestrijding van *Myrothecium roridum* in de stekfase van Bouvardia heeft het volgende tot doel:

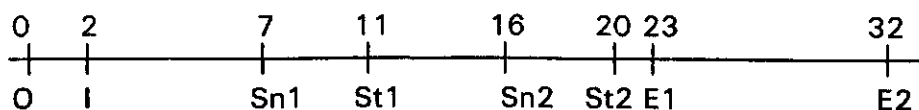
1. Nagaan of aangetaste moerplanten oorzaak zijn van het ontstaan van aangetast stek.
2. Vaststellen of het aanbrengen van sporen bovenin de moerplanten aangetaste stekken oplevert.
3. Nagaan hoe lang sporen van *M. roridum* op de bladeren van moerplanten na inoculatie kiemkrachtig en infectieus blijven.
4. Nagaan of het mogelijk is dat *M. roridum* tijdens het steknemen wordt overgebracht als de handen besmet zijn met de schimmel.
5. Bepalen in welke mate het dompelen van besmette stekken in een fungicidenoplossing aantasting kan voorkomen.

2. AANGETASTE MOERPLANTEN

In dit onderzoek is nagegaan of de ziekte *M. roridum* via aangetaste moerplanten op de stekken kan overgaan. Er zijn twee proeven uitgevoerd.

2.1 MATERIALEN EN METHODEN

Om aangetaste moerplanten te verkrijgen, zijn bewortelde Bouvardia-stekken twee weken na het oppotten geïnoculeerd met 0, 10, 10^3 , 10^5 , 10^7 en 10^9 sporen van *M. roridum* per plant (Figuur 1). Daarvoor is elke plantvoet aangegoten met 25 ml sporensuspensie. De relatie tussen de hoeveelheid sporen (inoculumdichtheid) en de aantasting is beschreven in hoofdstuk 3 van rapport 169 (proef 4) (Amsing, 1999). Om na te gaan of de ziekte van de moerplanten overgedragen kan worden op de stekken, zijn op twee tijdstippen stekken genomen van de moerplanten, namelijk 9 en 18 weken na het inoculeren. Bij de hoogste inoculumdichtheid van 10^9 sporen per plant was toen respectievelijk 70 en 79% van de moerplanten aangetast. Vier weken voor het steksnijden zijn de moerplanten teruggesnoeid. Het steksnijden en -steken is gebeurd volgens de methode die is beschreven in Bijlage 1. Om na te gaan of de omstandigheden voor *M. roridum* om tot aantasting te komen gunstig waren, zijn ook stekken genomen van niet-aangetaste moerplanten. Direct voor het steken is de onderste 1 cm van deze stekken gedompeld in een sporensuspensie van *M. roridum*, die 10^8 sporen/ml bevatte. Nadat de stekken na vier weken onder het plastic vandaan kwamen, bedroeg de teelttemperatuur overdag 23°C en 's nachts 21°C. Tot twaalf weken na het steken zijn de stekken beoordeeld op aanwezigheid van aantasting door *M. roridum*. De beoordeling in de kas was visueel. Indien werd getwijfeld of er sprake was van aantasting, dan werd de plantvoet op vochtig filtreerpapier in een petrischaal bij 26°C weggezet. Na maximaal vijf dagen werden de plantvoeten beoordeeld op de aanwezigheid van sporodochiën. Dit zijn ongeslachtelijke vruchtlichamen, die zich altijd op aangetaste plantendelen ontwikkelen. De proeven zijn in vijfvoud uitgevoerd met twintig stekken per herhaling.



Figuur 1 - Uitvoeringsschema (weken). O = oppotten; I = inoculeren
Sn = snoeien moerplanten; St = steksnijden en -steken;
E = eindbeoordeling; 1 en 2 = proef 1 en 2

2.2 RESULTATEN EN DISCUSSIE

Bij de stekken waarvan het ondereinde voor het steken in een sporensuspensie is gedompeld, is aantasting ontstaan. Twaalf weken na het steken van de kunstmatig geïnoculeerde stekken was in proef 1 en 2 respectievelijk 30 en 35% van de stekken aangetast. Hoewel de omstandigheden om tot aantasting te komen dus gunstig zijn geweest, is er in de twee proeven bij de stekken die afkomstig waren van de aangetaste moederplanten nooit enige aantasting ontstaan. Dit betekent in ieder geval dat de schimmel niet via een aangetaste plantvoet bovenin de plant terechtkomt. Van een inwendige besmetting is dus geen sprake. Strikte hygiënische maatregelen kunnen dan verdere verspreiding voorkomen.

Dat er geen aantasting is ontstaan houdt niet automatisch in dat het stek niet van buitenaf besmet is geweest. Heeft deze vorm van besmetting zich wel voorgedaan, dan betekent het in ieder geval dat de sporen niet tot aantasting zijn gekomen. In vervolgonderzoek is nagegaan hoelang sporen op een plant tot kieming en aantasting in staat zijn.

2.3 CONCLUSIE

Uit dit onderzoek is gebleken dat aangetaste moederplanten geen oorzaak hoeven te zijn van het ontstaan van aangetast stek. In ieder geval vindt er in een aangetaste moederplant geen inwendige verspreiding van de schimmel plaats naar de toppen van de plant.

3. OVERLEVING SPOREN OP MOERPLANTEN

3.1 INLEIDING

Er is op twee manieren gekeken naar de overleving van sporen op moerplanten, namelijk *in vitro* en *in vivo*. In de *in vitro*-proef is bekeken hoe lang na inoculatie van moerplanten sporen van *M. roridum* nog kiemkrachtig kunnen zijn. In de *in vivo*-proef is bekeken hoe lang sporen van *M. roridum* nog kiemkrachtig en infectieus kunnen zijn in de stekfase. Voor de proeven werd gebruik gemaakt van Bouvardia-cultivar Royal Roxanne. De bewortelde stekken werden opgepot in 12 cm-potten en weggezet in kas L119. De opgepote planten stonden op een bevoeiingsmat via welke de planten dagelijks van water en voeding werden voorzien. In de proeven is gebruik gemaakt van een isolaat van *M. roridum*, afkomstig uit Bouvardia. Voor het bereiden van de sporensuspensies is gebruik gemaakt van twee weken oude reïncultures van *M. roridum* op PDA (aardappelzetmeel-agar). Met behulp van kraanwater en een spatel zijn de sporen op de kunstmatige voedingsbodem losgewreven. De concentratie sporen is geteld met een haemocytometer. Door middel van verdunnen is de gewenste concentratie verkregen.

3.2 DOEL

Het doel van deze proeven was aan te tonen hoe lang na inoculatie van moerplanten sporen van *M. roridum* nog kiemkrachtig (*in vitro*-proef) en infectieus (*in vivo*-proef) kunnen zijn.

3.3 MATERIALEN EN METHODEN

- *Materiaal en methode in vivo-proef*

De stekken zijn opgepot op 8 februari 1999 en twee weken later (23 februari) getopt op het eerste bladpaar. Op 25 februari begonnen de Bouvardia's te schuiven, dat wil zeggen de knoppen begonnen uit te lopen.

De proef werd uitgevoerd met vijf behandelingen in vier herhalingen. Per herhaling werden twintig stekken gebruikt. De moerplanten werden op vier verschillende tijdstippen voor het stek nemen geïnoculeerd (Tabel 1). Op 12 maart 1999, twee weken na het toppen en zeven dagen voor het stek nemen, werden de eerste moerplanten geïnoculeerd. Dit werd gedaan door de moerplanten te bespuiten met $2,5 \cdot 10^7$ sporen per milliliter met behulp van een handspuit. De moerplanten werden bespoten tot het afdruipt stadium. Dit is buiten de kas gebeurd, zodat er geen besmetting plaatsvond naar andere moerplanten. Achtereenvolgens werden ook vier, één en nul dagen voor het stek nemen moerplanten geïnoculeerd. Na iedere inoculatie werden steeltjes van de moerplanten uitgelegd op PDA. Dit gebeurde om te controleren of de sporen waarmee geïnoculeerd werd kiemkrachtig waren op het moment van inoculeren. Bij alle inoculaties bleken de sporen kiemkrachtig.

Tabel 1 - Tijdstippen waarop moerplanten van Bouvardia geïnoculeerd zijn met *Myrothecium roridum* ($2,5 \cdot 10^7$ sporen/ml) in dagen voor het stek nemen

Behandeling	Inoculatietijdstip (aantal dagen voor stek nemen)
1	7
2	4
3	1
4	0
5	Controle, niet geïnoculeerd

Op de laatste inoculatie dag (dag 0) werden van alle behandelingen stekken genomen. De stek werd geplukt op 2-3 mm onder het tweede bladpaar. Het onderste bladpaar werd vervolgens verwijderd. De stek werden behandeld met stekpoeder Rhizopon A 1% en vervolgens gestoken in trays die gevuld waren met stekgrond met perlite (EGO flush fijn). Per tray werden twintig stekken gestoken. De stekken die niet geïnoculeerd waren (controle), werden als eerste gesneden en gestoken om besmetting te voorkomen. Bij iedere behandeling werden bij het steksnijden schone handschoenen gebruikt om onderlinge beïnvloeding te voorkomen. De stekken werden in een stektent gezet bij een relatieve luchtvochtigheid van ongeveer 95-100%. Van de moerplanten die op de verschillende tijdstippen zijn geïnoculeerd werden op dag 0 tevens bladmonsters genomen om te controleren of de sporen nog kiemkrachtig waren. In alle gevallen bleek de *Myrothecium* nog kiemkrachtig. Zes weken na het steksteken werd vastgesteld hoeveel stekken waren aangetast.

- *Materiaal en methode in vitro-proef*

Voor de proef werden de moerplanten gebruikt die bij de *in vivo*-proef als onbehandelde controle gebruikt waren. Op 18 november werden de moerplanten geïnoculeerd met $2,5 \cdot 10^7$ sporen per milliliter met behulp van een handspuit. De moerplanten werden bespoten tot het afdruipt stadium. De moerplanten werden buiten de kas geïnoculeerd zodat er geen besmetting plaats vond naar andere planten. Nadat de planten opgedroogd waren, werden ze teruggezet in de kas. De planten werden getopt, zodat gedurende het onderzoek duidelijk te zien bleef welke bladeren geïnoculeerd waren (oude bladeren) en welke bladeren niet geïnoculeerd waren (jonge bladeren). Op 18 november werden de eerste bladeren geplukt. Per waarneming werden twintig bladeren geplukt. Verder werden 4, 7, 14, 21, 28 en 35 dagen na inoculatie bladeren geplukt en uitgelegd op een voedingsbodem (PDA). De schalen met de bladeren werden weggezet in een klimaatkast bij een temperatuur van 26°C. Zeven dagen na het plukken van de bladeren werden de schalen beoordeeld op aanwezigheid van *Myrothecium*.

3.4 RESULTATEN EN DISCUSSIE

- *Resultaten en discussie in vivo-proef*

In Tabel 2 staan de resultaten van de beoordeling weergegeven.

Tabel 2 - Percentage aangetaste stekken door *Myrothecium roridum* zes weken na het stek steken

Inoculatie-tijdstip (aantal dagen voor stek nemen)	% aangetaste stekken
7	76
4	81
1	74
0	80
Controle, niet geïnoculeerd	0

Uit Tabel 2 blijkt duidelijk dat het percentage aangetaste stekken zeer hoog was in alle behandelingen. Stekken die zeven dagen voor het steksteken werden geïnoculeerd gaven een gemiddeld percentage aantasting te zien van 76%, terwijl stekken die op dag 0 geïnoculeerd werden een gemiddeld percentage aantasting te zien gaven van 80%. Dit verschil is verwaarloosbaar. De omstandigheden in de stektent waren natuurlijk wel ideaal voor de schimmel. De stekken die niet geïnoculeerd werden, gaven echter geen enkele aantasting te zien.

- *Resultaten en discussie in vitro-proef*

In Tabel 3 staan de resultaten van de beoordelingen weergegeven.

Tabel 3 - Percentage geïnfecteerde bladeren met *Myrothecium roridum* (n = 20)

Aantal dagen na inoculatie	% geïnfecteerde bladeren
0	100
4	100
7	85
14	85
21	85
28	35
35	0

Zoals in Tabel 3 te zien is, was de *Myrothecium roridum* drie weken na inoculatie nog steeds in staat om te kiemen. In 85% van de schalen werd *M. roridum* waargenomen. Vier weken na inoculatie was nog maar in 35% van de gevallen *Myrothecium* aanwezig. Na vijf weken werd in geen enkele schaal *Myrothecium* waargenomen. Hieruit kan afgeleid worden dat *Myrothecium* zo'n drie tot vier weken op een blad kan overleven. De omstandigheden waarbij de bladeren werden weggezet waren natuurlijk wel ideaal. De temperatuur en de luchtvochtigheid waren hoog en er waren voldoende voedingsstoffen

aanwezig. Gezien het hoge percentage zal men er toch rekening mee moeten houden dat *Myrothecium* zeker drie weken op een moerplant kan overleven. Als van deze besmette moerplanten stekken worden genomen, is de kans groot dat er een groot aantal stekken aangetast worden door deze schimmel. Dit wordt mede veroorzaakt door de omstandigheden in de stektent (hoge temperatuur en R.V.) die voor de schimmel ideaal zijn.

3.5 CONCLUSIES

De infectieuze periode van *Myrothecium roridum* bedraagt onder praktijkomstandigheden minimaal zeven dagen;

Onder laboratoriumomstandigheden kunnen sporen van *Myrothecium roridum* zelfs vier weken na inoculatie nog kiemen.

4. VERSPREIDING VIA BESMETTE HANDEN

4.1 INLEIDING

Bij het verwijderen van besmette planten worden de planten vaak onder bij de plantvoet aangepakt. Hier bevindt zich echter ook de aantasting en daarmee de hoogste concentratie sporodochiën. Eén sporodochium bevat al gauw enkele miljoenen sporen. De sporen laten zich moeilijk met water en zeep van de handen verwijderen. Als men later op de dag stek gaat snijden met besmette handen zijn de voor stek bestemde scheuten gemakkelijk met sporen te besmetten. Dit kan tot aantasting leiden.

4.2 DOEL

Het doel van deze proef was na te gaan of *Myrothecium roridum* door middel van besmette handen kan worden verspreid en ook tot uitval kan leiden.

4.3 MATERIALEN EN METHODE

De stekken zijn opgepot op 8 februari 1999 en twee weken later (23 februari) getopt op het eerste bladpaar. Op 25 februari begonnen de Bouvardia's te schuiven, dat wil zeggen de knoppen begonnen uit te lopen.

De proef werd uitgevoerd met twee behandelingen in vier herhalingen. Per herhaling werden twintig stekken gebruikt. Op twee verschillende tijdstippen voor het stekken, namelijk vier en nul dagen, werden handschoenen geïnoculeerd door ze in een sporensuspensie ($2,5 \cdot 10^7$ sporen) te dompelen.

Op 16 maart 1999, vier dagen voor het stekken, werden de eerste handschoenen geïnoculeerd. De handschoenen werden afgedekt en in de koelkast weggelegd tot het moment van stekken. Op het moment van stekken waren de handschoenen droog. Op 19 maart 1999, nul dagen voor het stekken, werden nogmaals handschoenen geïnoculeerd. Direct na inoculatie werd hiermee stek gesneden. Op het moment van steksnijden waren de handschoenen dus nat. De stek werd geplukt op 2-3 mm onder het tweede bladpaar. Het onderste bladpaar werd vervolgens verwijderd. De stek werd behandeld met stekpoeder Rhizopon A 1% en vervolgens gestoken in trays die gevuld waren met stekgrond met perlite (EGO flush fijn). Per tray werden twintig stekken gestoken. De stekken werden in een stektent gezet bij een relatieve luchtvochtigheid van 95-100%). Zes weken na het steksteken werd waargenomen hoeveel stekken waren aangetast.

4.4 RESULTATEN EN DISCUSSIE

In Tabel 4 staan de resultaten van de beoordeling weergegeven.

Tabel 4 - Percentage aangetaste stekken door *Myrothecium roridum* zes weken na het stek nemen

Inoculatie aantal dagen voor stek nemen	% aangetast
4	5
0	9

Uit Tabel 4 blijkt dat het aantal aangetaste stekken niet boven de 10% uitkwam. Het feit dat er aangetaste stekken gevonden werden, wijst er echter wel op dat een besmetting over is te brengen met besmette handen. Ook als met handschoenen gestekt werd die vier dagen daarvoor geïnoculeerd waren, werden aangetaste stekken gevonden. De sporen kunnen dus ook overleven. De aangetaste stek is weer een besmettingsbron voor een verdere uitbreiding. Hygiënische maatregelen zijn dan ook van groot belang. Bij het verwijderen van besmette planten worden de planten vaak onder bij de plantvoet aangepakt. Hier bevindt zich echter ook de aantasting en daarmee de hoogste concentratie sporodochiën. Eén sporodochium bevat al gauw enkele miljoenen sporen. De sporen laten zich moeilijk met water en zeep van de handen verwijderen. Als men later op de dag stek gaat snijden met besmette handen zijn de voor stek bestemde scheuten gemakkelijk met sporen te besmetten. Dit kan tot aantasting leiden. Geadviseerd wordt dan ook om aangetaste planten met handschoenen aan te verwijderen en de handschoenen na gebruik goed te reinigen of te vernietigen of alleen te bestemmen voor het verwijderen van zieke planten.

4.5 CONCLUSIE

Myrothecium roridum kan door middel van besmette handen verspreid worden.

Besmette planten dienen met handschoenen aan verwijderd te worden om besmetting te voorkomen.

5. BESTRIJDING IN DE STEKFASE

5.1 DOEL

Toetsen van de effectiviteit van vier verschillende fungiciden ter bestrijding van *M. roridum* in de stekfase van Bouvardia.

5.2 MATERIAAL EN METHODE

Voor de proef werd gebruik gemaakt van Bouvardia-cultivar Royal Roxanne. De bewortelde stekken werden opgepot in 12 cm-potten en weggezet in kas L119. De opgepotte planten stonden op een bevoeiingsmat via welke de planten dagelijks van water en voeding werden voorzien. In de proef is gebruik gemaakt van een isolaat van *M. roridum*, afkomstig uit Bouvardia. Voor het bereiden van de sporensuspensies is gebruik gemaakt van twee weken oude reïncultures van *M. roridum* op PDA. Met behulp van kraanwater en een spatel zijn de sporen op de kunstmatige voedingsbodem losgewreven. De concentratie sporen is geteld met een haemocytometer. Door middel van verdunnen is de gewenste concentratie verkregen. Op 7 september 1999 werden de eerste moerplanten geïnoculeerd. Dit werd gedaan door de moerplanten te bespuiten met $2,5 \cdot 10^7$ sporen per milliliter met behulp van een handspuit. De moerplanten werden bespoten tot het afdruiptadium. De moerplanten werden buiten de kas geïnoculeerd zodat er geen besmetting plaats vond naar andere moerplanten.

Tabel 5 - Overzicht van de behandelingen

No.	Behandeling	Actieve stof	Dosis per 100 l
1.	Onbesmet	---	---
2.	Onbehandeld	---	---
3.	Luxan Maneb 80 WP 0,2%	maneb	200
4.	Luxan TMTD 80 WDG 0,2%	thiram	200
5.	Sporgon 50 WP 0,1%	prochloraz-Mn	100
6.	Experimenteel middel	---	200

Het onderzoek bestond uit zes behandelingen in vier herhalingen. De verschillende behandelingen staan weergegeven in Tabel 5. Twee dagen na het inoculeren werd er stek genomen van de moerplanten. De stek werd geplukt op 2-3 mm onder het tweede bladpaar. Het onderste bladpaar werd vervolgens verwijderd. De stekken werden vervolgens geheel ondergedompeld in de verschillende fungiciden-oplossingen met uitvloeier (0,01% Tween). Nadat de stekken opgedroogd waren, werden ze gestoken in trays die gevuld waren met stekgrond met perlite (EGO flush fijn). Per tray (herhaling) werden twintig stekken gestoken. Omdat een aantasting wordt bevorderd door een hoge luchtvochtigheid en om de stekken goed te laten wortelen, werden de planten na het stekken gedurende vier weken afgedekt met plastic. Zes weken na de behandelingen werden de stekken beoordeeld op het voorkomen van *Myrothecium*.

5.3 RESULTATEN EN DISCUSSIE

In Tabel 6 staan de resultaten van de beoordelingen weergegeven.

Tabel 6 - Resultaten bestrijdingsproef

Behandeling	Percentage aangetaste planten
Onbehandeld	38,8
Onbesmet	0
Maneb	50,0
TMTD	42,5
Sporgon	40,0
Experimenteel middel	16,3

Uit bovenstaande tabel is af te lezen dat het percentage aangetaste planten in bijna alle gevallen boven het percentage aangetaste planten in de onbehandelde controle ligt. De behandelingen lijken de aantasting dus eerder te verergeren dan te verminderen. Wellicht worden de stekken door het gebruik van de chemische middelen zwakker en dus vatbaarder voor een aantasting met *Myrothecium*. Alleen bij de behandelingen met het experimentele middel is sprake van een lager aantastingspercentage. Dit middel is echter een kanalisatiestof en zal dus op termijn verdwijnen.

5.4 CONCLUSIES

Geen van de geteste middelen gaf een goed bestrijdingseffect.

LITERATUUR

Amsing, J.J., 1999. Onderzoek aan *Myrothecium roridum* in Bouvardia. Rapport 169, PBG.

Anonymus, 1992. Vlekkenziekte: *Myrothecium roridum*. *Vakblad voor de Bloemisterij Plus 47 (21)*: 59.

Cevat, H.N., 1993. *Myrothecium roridum* tast steeds meer bloemisterijgewassen aan: Fungiciden worden vlekkenziekten niet de baas. *Vakblad voor de Bloemisterij 48 (45)*: 34.

BIJLAGE 1. STEKSNIJDEN EN -STEKEN

Het steksnijden en -steken is volgens onderstaande procedure gebeurd.

- Vier weken na het terugsnoeien van de moerplanten steksnijden
- Stekken afsnijden op 2-3 mm onder het tweede bladpaar
- (Indien niet direct gestoken, dan stek in plastic bewaren bij 2°C)
- Onderste bladpaar verwijderen
- Ondereinde stek dompelen in stekpoeder Rhizopon A 1%
- Stek \pm 15 mm diep in de grond steken
- Stektrays (Teku JP3050/42) afdekken met plastic
- Temperatuur aanhouden van 18 tot 21°C
- Relatieve luchtvochtigheid: 95 tot 100%
- In de vierde week geleidelijk afharderen