

Bloemkool is een van de meest geteelde vollegrondsgroenten in Vlaanderen. Verticilliumverwelking, veroorzaakt door de bodemschimmel *Verticillium longisporum*, is een niet te onderschatten ziekte in deze teelt. *Verticillium tricorpus*, een inheemse antagonist, aanwezig in onze bodems, heeft potentieel om verticilliumverwelking te voorkomen.

– LIEN TYVAERT, WINNAAR BOERENBOND PERSPRIJS - MASTERS –

Biologische bestrijding van verticilliumverwelking bij bloemkool



FOTO: SERAYA FRANÇA, KATRIJN SPIESSENS

Verticilliumverwelking werd de eerste keer bij bloemkool vastgesteld in Californië, in 1994. Ruim 10 jaar geleden werd de ziekte opgemerkt in Klein-Brabant en recent ook in West-Vlaanderen. De geïnfecteerde planten vertonen voornamelijk asymmetrische vergeling van de onderste bladeren (foto boven), vertraagde groei en zwartverkleuring van de vaatbundels. De vaatbundels verstopten, de wateropname neemt af en uiteindelijk verwelkt de plant. De symptomen ontwikkelen zich typisch in de fase van koolvorming. De aantasting leidt tot een kleinere kool van mindere kwaliteit. Veel telers staan er vaak niet bij

stil dat hun kolen aangetast zijn door verticillium omdat ze denken dat hun planten lijden onder droogtestress en afrijpen. Verticilliumverwelking is daarom een onderschat probleem in de bloemkoolteelt. Naast bloemkool tast de schimmel koolzaad en koolsoorten aan zoals witte kool, spruitkool en Chinese kool.

De bestrijding van verticilliumverwelking is niet eenvoudig. Verticillium is een bodempathogeen die overlevingsstructuren vormt op de oogstresten (foto p. 5). Deze overlevingsstructuren, microscleroten genoemd, kunnen meer dan 10 jaar levensvatbaar blijven in de bodem. Een-

maal de plant geïnfecteerd is, zit de schimmel in de vaatbundels waardoor chemische bestrijding geen oplossing biedt. Veel bloemkooltelers hebben een intensief teeltsysteem met een beperkte gewasrotatie, waardoor een hoge besmettingsgraad zich opbouwt in de bodem. Het telen van bloemkool wordt op die percelen steeds moeilijker. Een duurzame oplossing voor de bestrijding van verticilliumverwelking dringt zich dan ook op.

Het pskw (Proefstation voor de Groenteteelt), inagro en het labo Fytopathologie aan de Universiteit Gent zochten samen naar een geïntegreerde bestrijdingsme-

thode voor deze bodemschimmel. Uit dit onderzoek bleek dat er percelen zijn met veel aantasting en percelen met weinig aantasting. In het perceel met weinig aantasting was nochtans voldoende inoculum van de bodempathogeen aanwezig om een hoge aantastingsgraad van verticilliumverwelking te veroorzaken. In de grond van dit perceel werden ook microscleroten van *V. tricolorpus* teruggevonden. *V. tricolorpus* wordt in de literatuur beschouwd als een zwakke pathogeen bij andere gewassen. Mogelijk kan *V. tricolorpus* de plant beschermen tegen verticilliumverwelking. Dit werd al vastgesteld in de literatuur bij aardappel en sla.

Twee hypothesen werden vooropgesteld: (1) *V. tricolorpus* koloniseert de bloemkoolplant zonder de ontwikkeling van symptomen en (2) *V. tricolorpus* is een inheemse antagonist die verticilliumverwelking kan verminderen bij bloemkool. Beide hypothesen werden nagegaan in de thesis 'Rol van *Verticillium tricolorpus* in de interactie van *Verticillium longisporum* met bloemkool'. Om de eerste hypothese te staven, werden de bloemkoolplantjes artificieel geïnoculeerd met *V. tricolorpus*. Om de tweede hypothese te staven, werden de bloemkoolplantjes artificieel geïnoculeerd met *V. tricolorpus* en/of *V. longisporum*.

V. tricolorpus, potentiële biologische bestrijder van verticilliumverwelking?

Er waren in totaal 6 objecten (tabel 1). De wortels van de planten werden in een sporensuspensie gedipt of in steriel water. De antagonist *V. tricolorpus* werd een week voor de bodempathogeen *V. longisporum* geïnoculeerd. De planten van objecten 2, 3 en



Microscleroten gevormd in plantenresten.

Tabel 1 De wortels van de bloemkoolplantjes werden in sporen van de schimmels gedipt. De eerste infectie gebeurde 1 week voor de tweede infectie. De concentratie wordt tussen haakjes weergegeven.

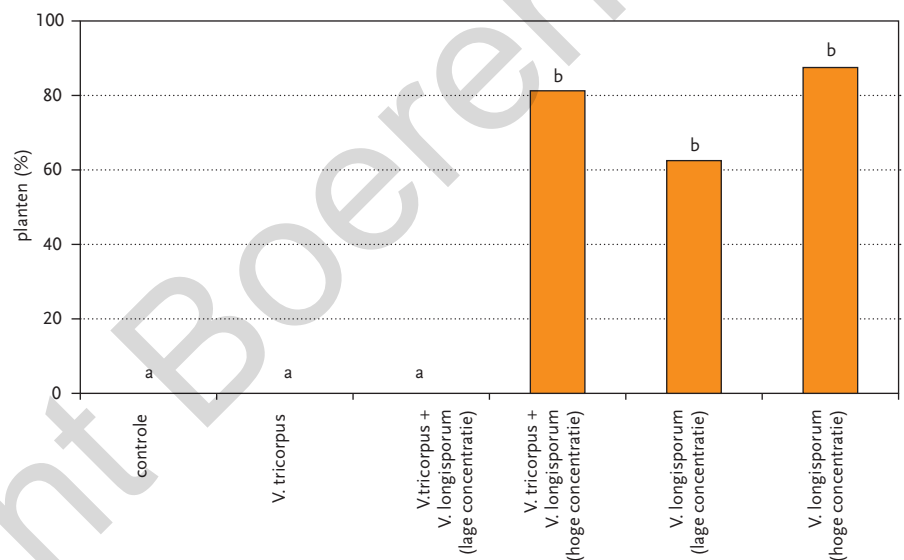
Object	Eerste infectie	Tweede infectie
1	Water	Water
2	<i>V. tricolorpus</i>	Water
3	<i>V. tricolorpus</i>	<i>V. longisporum</i> (lage concentratie)
4	<i>V. tricolorpus</i>	<i>V. longisporum</i> (hoge concentratie)
5	Water	<i>V. longisporum</i> (lage concentratie)
6	Water	<i>V. longisporum</i> (hoge concentratie)

Winnaar Boerenbond Persprijs 2011 – Masters

Deze bijdrage van Lien Tyvaert wint de Boerenbond Persprijs 2011 voor afgestudeerden met de graad van master. Deze wedstrijd geeft recent gepromoveerden de kans om de inhoud en besluiten van hun eindverhandeling over landbouw, tuinbouw, voeding en andere toegepaste biologische wetenschappen via een artikel bekend te maken in de land- en tuinbouwsector. De Boerenbond Persprijs wordt op 10 december uitgereikt tijdens Agribex, in aanwezigheid van tal van stakeholders van de agrarische sector.



Liens eindwerk 'Rol van *Verticillium tricolorpus* in de interactie van *Verticillium longisporum* met bloemkool' bezorgde haar de titel van Master in de bio-ingenieurswetenschappen, landbouwkunde gewasbescherming, aan de faculteit Bio-ingenieurswetenschappen van de Universiteit Gent. Haar promotor was prof. dr. ir. Monica Höfte. Haar tutor was dr. ir. Soraya França.



Figuur 1 Percentage planten met vasculaire verkleuring. Kolommen met eenzelfde letter zijn statistisch niet verschillend ($p = 0,05$) volgens binaire logistische regressie.

4 werden gedipt in de sporensuspensie van *V. tricolorpus*. De sporensuspensie van *V. longisporum* werd in 2 verschillende concentraties gemaakt. Bij objecten 3 en 5 werd *V. longisporum* in lage concentratie (1×10^4 sporen/ml) geïnoculeerd. Bij objecten 4 en 6 werd *V. longisporum* in hoge concentratie (1×10^6 sporen/ml) geïnoculeerd. Door de verschillende concentraties van *V. longisporum* kon men het verschil in ziektedruk bij bloemkool nagaan.

De planten werden voor de koolvorming geoogst: 28, 49, 63 en 77 dagen na infectie. De plantlengte werd bepaald, vergelijking van de bladeren en vasculaire verkleuring werden gescoord. Met kwantitatieve PCR kon de hoeveelheid DNA van *V. tricolorpus* en *V. longisporum* in de wortels en stengels bepaald worden. De kolonisatie in de plant van beide verticilliumspecies kon hierdoor opgevolgd worden.

Artificiële inoculatie is een vrij agressieve vorm van infectie waardoor symptomen voor de koolvorming ontwikkelen. Bij artificiële infectie is dwerggroei een algemeen voorkomend symptoom.

V. tricolorpus veroorzaakte geen symptomen bij bloemkool. Het leek zelfs alsof de plantengroei gestimuleerd werd. *V. tricolorpus* kon in de wortel en stengel gedetecteerd worden met kwantitatieve PCR.

V. longisporum veroorzaakte symptomen bij de bloemkoolplanten. Wanneer enkel

de bodempathogeen geïnfecteerd werd, ontwikkelde bij de hoge concentratie 100% van de planten dwerggroei, bij de lage concentratie was dit 25 à 50%. Inoculatie van *V. tricorpus* in combinatie met *V. longisporum* in lage concentratie veroorzaakte bij geen enkele plant dwerggroei. De combinatie met de hoge concentratie veroorzaakte bij 50 à 75% van de planten dwerggroei.

Vasculaire verkleuring ontwikkelde in hoge mate wanneer *V. longisporum* in hoge concentratie werd geïnfecteerd, zowel alleen als in combinatie met *V. tricorpus*. Er werd bij geen enkele plant vasculaire verkleuring vastgesteld wanneer beide types in lage concentratie werden geïnoculeerd. Dit in tegenstelling tot de inoculatie

met enkel *V. longisporum* in lage concentratie (figuur 1 p. 5).

V. longisporum kon zowel de wortel als de stengel koloniseren. Door *V. tricorpus* samen met *V. longisporum* in lage of hoge concentratie te inoculeren, werd er minder *V. longisporum*-DNA in het plantenmateriaal teruggevonden in vergelijking met enkel inoculatie van respectievelijk *V. longisporum* in lage of hoge concentratie, (figuren 2 en 3). Dit zowel in de wortel als in de stengel. Bij de objecten waarbij *V. longisporum* alleen werd geïnoculeerd was de hoeveelheid *V. longisporum*-DNA opmerkelijk lager in de eerste weken na inoculatie met de laagste concentratie in vergelijking met de inoculatie met de hoogste concentratie.

Besluit

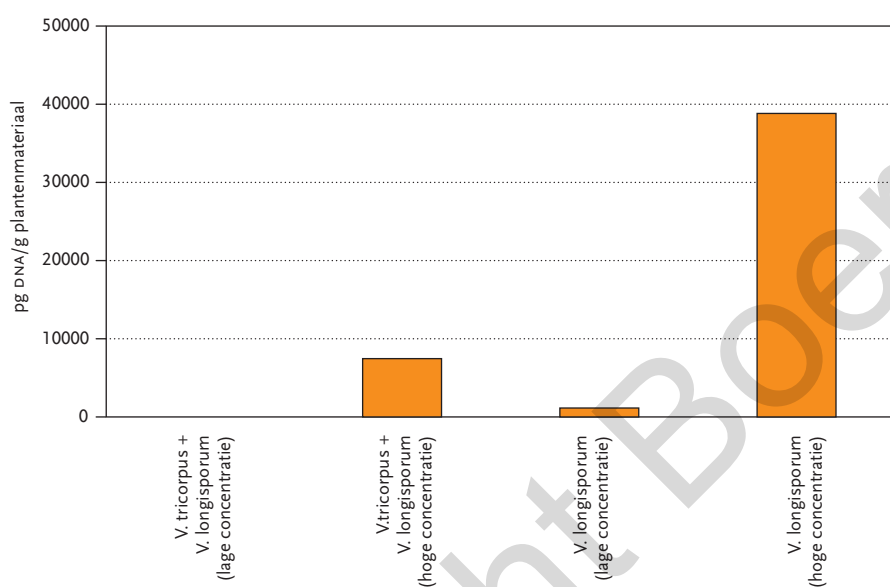
Verticillium tricorpus kan de plant koloniseren zonder de ontwikkeling van symptomen bij bloemkool. De kolonisatie door *Verticillium longisporum* kon voorkomen worden wanneer *V. tricorpus* voor *V. longisporum* in lage concentratie werd geïnoculeerd. Hierbij ontwikkelde geen enkele plant dwerggroei of vasculaire verkleuring. Wanneer *V. tricorpus* voor *V. longisporum* in hoge concentratie werd geïnoculeerd, ontwikkelde de plant toch symptomen en kon *V. longisporum* de plant koloniseren. *V. tricorpus* kan de plant beschermen tegen verticilliumverwelking, maar bij een te zware infectie schiet de schimmel tekort.

Er zijn 2 mogelijke mechanismen waarmee onze potentiële inheemse antagonist de plant kan beschermen: competitie voor plaats en nutriënten op de wortel. Daarnaast is het induceren van een resistentiereactie in de plant een mogelijkheid. In beide gevallen heeft de *V. tricorpus* voldoende tijd nodig om verticilliumverwelking te voorkomen. De biologische bestrijding met *V. tricorpus* zou effectief kunnen zijn wanneer deze vooraf de plant kan koloniseren en als de infectie door de bodempathogeen niet te sterk is.

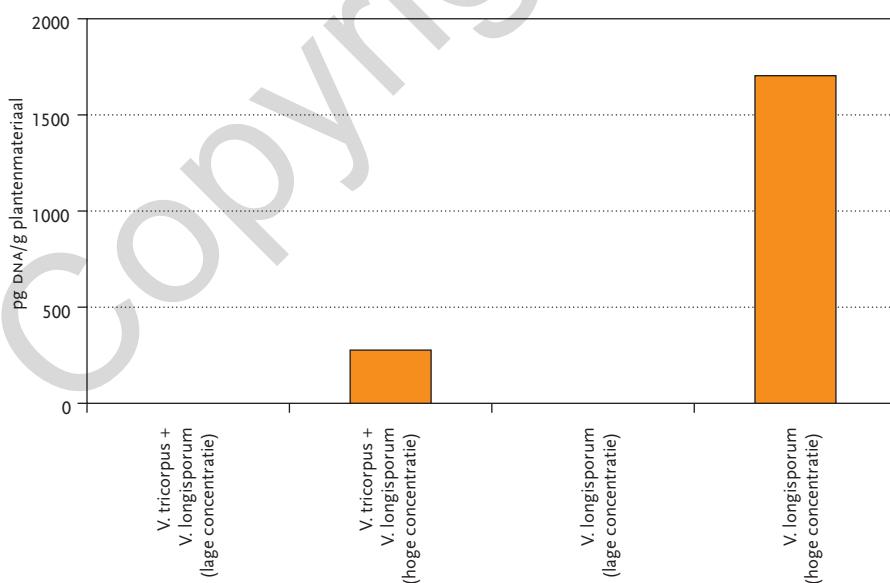
Om een goed inzicht te krijgen in de werking van *V. tricorpus* is verder onderzoek noodzakelijk. Recent werd het IWT-project 'Biologische bestrijding van verticilliumverwelking door de inheemse endofytische schimmel *Verticillium tricorpus*' goedgekeurd. Binnen dit project zal verder onderzoek worden gedaan. Er zullen proeven opgesteld worden waarbij *V. tricorpus* in het substraat of via de zaden van bloemkool zal toegediend worden. Zo kan de schimmel de zaailingen reeds koloniseren. Deze bloemkoolplanten zullen dan in natuurlijk geïnfecteerde grond geplant worden. Op deze wijze kan nagegaan worden of *V. tricorpus* in de praktijk potentieel heeft als biologische bestrijder van verticilliumverwelking.

Er zal onderzocht worden of het mogelijk is om de natuurlijke populatie van *V. tricorpus* die in onze bodems aanwezig is te stimuleren door een rotatie met geschikte waardplanten. Op een perceel in West-Vlaanderen werd vastgesteld dat bij aardappelteelt de hoeveelheid *V. tricorpus*-microscleroten sterk toeneemt. Er zal verder onderzocht worden of een gewasrotatie van aardappel met bloemkool de natuurlijke populatie kan stimuleren.

Tot slot zal men de exacte werking van de inheemse antagonist in de plant bestuderen. Het uiteindelijke doel van dit onderzoek is om van een huidige situatie met veel verticilliumverwelking naar een toekomstige situatie te gaan met weinig aantasting. Dit kan door een reductie van het aantal microscleroten van *V. longisporum* in de bodem en een toename van onze inheemse antagonist *V. tricorpus*. ■



Figuur 2 Hoeveelheid *Verticillium longisporum*-DNA aanwezig in de plantenwortel 28 dagen na inoculatie.



Figuur 3 Hoeveelheid *Verticillium longisporum*-DNA aanwezig in de plantenstengel 28 dagen na inoculatie. Bij het toedienen van *V. longisporum* in de hoogste concentraties werd slechts in 1 van de 4 planten *V. longisporum*-DNA gedetecteerd.