

# Bestrijding van Verticillium in de bodem

In de teelt van laanbomen (klei) en rozen (zand)

J.A. Hiemstra en B.J. van der Sluis


Praktijkonderzoek Plant & Omgeving,  
onderdeel van Wageningen UR  
Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit  
PPO-nr. 32 360745 00/PT nr. 13521.01  
Mei 2014

© 2014 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Praktijkonderzoek Plant & Omgeving. 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 DLO.

Voor nadere informatie gelieve contact op te nemen met: DLO in het bijzonder onderzoeksinstituut Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit.

DLO is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Projectnummer: 3236074500  
PT nr. 13521.01

**De bomen- en vaste plantensector investeert in dit project via het**  **Productschap Tuinbouw**

---

**Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, onderdeel van Wageningen UR  
Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit**

Adres : Postbus 85, 2161 AB Lisse  
: Professor van Slogterenweg 2, 2161 DW Lisse  
Tel. : +31 0252 462107  
E-mail : [infobollen.ppo@wur.nl](mailto:infobollen.ppo@wur.nl)  
Internet : [www.ppo.wur.nl](http://www.ppo.wur.nl)

# Inhoudsopgave

pagina

1	INLEIDING .....	5
1.1	Probleemstelling.....	5
1.2	Doelstelling en opzet.....	5
1.3	Plan van aanpak.....	5
2	FASE 1: TEST OP PPO-PROEFVELDEN.....	7
2.1	Grondbehandelingen .....	7
2.2	Veldproeven .....	9
2.2.1	Laanbomen (Acer) op kleigrond.....	9
2.2.2	Rozen op zandgrond .....	10
2.3	Resultaten laanbomen op kleibodem .....	12
2.3.1	Verticillium en Pratylenchus in de bodem .....	12
2.3.2	Verticillium symptomen .....	12
2.3.3	Groei van het gewas .....	15
2.4	Resultaten rozen op zandgrond.....	16
2.4.1	Verticillium en Pratylenchus in de bodem .....	16
2.4.2	Verticillium-symptomen.....	16
2.4.3	Groei van het gewas .....	17
3	FASE 2: TEST OP PRAKTIJKBEDRIJF .....	19
3.1	Opzet en uitvoering.....	19
3.2	Resultaten.....	19
3.3	Discussie en Conclusies .....	20
5	SAMENVATTING EN CONCLUSIES.....	21
6	PERSPECTIEVEN .....	23
	LITERATUURBRONNEN.....	25
BIJLAGE 1	SAMENSTELLING VAN DE BEGELEIDINGSCOMMISSIE.....	27
BIJLAGE 2	PLANNING VAN DE WERKZAAMHEDEN .....	29
BIJLAGE 3	BEOORDELING CATEGORIEËN VOOR BESMETTING MET <i>VERTICILLIUM DAHLIAE</i> EN <i>PRATYLENCHUS</i> AALTJES.....	31



# 1 Inleiding

## 1.1 Probleemstelling

Verwelkingsziekte als gevolg van *Verticillium* leidt tot uitval in een groot aantal boomkwekerijgewassen. De veroorzaker, de bodemschimmel *Verticillium dahliae*, heeft zeer veel waardplanten en kan bovendien jarenlang in de bodem overleven (Hiemstra 2011a en 2011b). In de afgelopen jaren kwamen uit verschillende deelsectoren signalen dat de problemen door *Verticillium* toenemen. Met name de laanbomen en de rozensector worden hierdoor getroffen (Hiemstra, 2001; Van der Sluis & Meijer, 2008). De ziekte is in alle teeltcentra aanwezig, en in veel gebieden is het moeilijk om nog *Verticillium*-vrije percelen te vinden. *Verticillium* kan in aangetaste planten niet worden bestreden. De enige remedie is dus het voorkomen van aantasting. Dit wordt door het grote aantal waardplanten en de aanwezigheid van de schimmel in de bodem van veel percelen echter steeds moeilijker. Er is daarom grote behoefte aan methoden om de schimmel in de bodem te bestrijden om daarmee de *Verticillium* druk op besmette percelen te verminderen. In de afgelopen jaren zijn hiervoor nieuwe methoden ontwikkeld in andere sectoren en landen (zie Visser *et al.*, 2010). Hiermee is echter nog maar zeer beperkte ervaring in de boomkwekerij.

## 1.2 Doelstelling en opzet

Het doel van het project was:

1. het in kaart brengen van de mogelijkheden die recent ontwikkelde technieken bieden om ook in de boomkwekerij *Verticillium* in de bodem te bestrijden, en
2. het in de praktijk testen van de meest belovende technieken.

De uitwerking van onderdeel 1 is reeds beschreven in het rapport 'Deskstudie naar maatregelen voor de bestrijding van *Verticillium dahliae* en *Pratylenchus penetrans* in vollegrondsteelten (Visser *et al.* 2010).

Het werk aan het tweede doel viel uiteen in twee fasen. In de eerste fase zijn, op basis van de resultaten uit het onderdeel 1, een aantal perspectiefrijke methoden uitgetest op twee proefvelden van PPO. Daarna is de methode met de beste resultaten in samenwerking met telers uit de betreffende deelsector op enkele praktijkbedrijven uitgetest. Daarbij is ook aandacht besteed aan de economische haalbaarheid en de inpasbaarheid in de teelt. Dit rapport beschrijft de resultaten van deze twee fasen.

Onderzoek naar de achtergronden van *Verticillium* aantasting (verspreiding en overleving van de schimmel, infectiewijze, etc.) vormt geen onderdeel van dit project. Hierover is voldoende informatie beschikbaar uit eerder onderzoek. Deze informatie is in 2011 samengevat in twee door het Productschap Tuinbouw uitgegeven informatiebladen "*Verticillium* in de Boomkwekerij: Voorkomen beste bestrijding" en "Tabel voor *Verticillium dahliae* vatbare soorten" (Hiemstra, 2011a en b). Meer uitvoerige informatie over *Verticillium* verwelking bij bomen is te vinden in het Compendium on *Verticillium* wilts of trees (Hiemstra & Harris, 1998).

## 1.3 Plan van aanpak

In overleg met de Begeleidingscommissie is op basis van de deskstudie bepaald welke technieken voor de boomkwekerij de beste perspectieven bieden. Deze methoden zijn in een eerste toets onderling, en met zwarte braak en chemische grondontsmetting als controle methoden, vergeleken op hun effectiviteit in de boomkwekerij. Vanwege de complexiteit en om de proeven zo goed mogelijk te kunnen standaardiseren en daarbij de omstandigheden zo goed mogelijk in de hand te kunnen houden is deze eerste test uitgevoerd op proefvelden van PPO.

Er zijn twee veldproeven uitgevoerd. Eén proef met laanbomen op een kleibodem op het proefterrein van PPO-Fruit in Randwijk en een tweede proef met rozen op zandgrond op een proefterrein van PPO-AGV in Vredepeel; in beide gevallen op percelen met een natuurlijke besmetting met *Verticillium*. In de zomer van 2009 werd hierop een blokkenproef met 4 herhalingen (blokken) aangelegd waarin de gekozen methoden naast elkaar (in wisselende volgorde) werden uitgevoerd. In het daarop volgende voorjaar werden op de behandelde perceeltjes vatbare soorten geplant, respectievelijk *Acer platanoides* en *Rosa canina* 'Pfänder'. Om het effect van de verschillende behandelingen te beoordelen werden de symptoomontwikkeling in het groeiseizoen en de uitval van planten vastgelegd. Daarnaast werd de hoeveelheid *Verticillium* in de bodem gevolgd door grondmonsters te nemen voor en na de behandeling (voorjaar 2009 en voorjaar 2010). Aaltjes, en dan met name *Pratylenchus penetrans* (Hiemstra & Harris, 1998) maar ook *P. fallax* (Goud *et al.*, 2012) kunnen het optreden *Verticillium* verwelking versterken, daarom zijn de grondmonsters ook gebruikt om de aanwezigheid van *Pratylenchus* aaltjes in kaart te brengen. In het eerste groeiseizoen van de testgewassen bleken er nog slechts zeer beperkt symptomen op te treden, ook in de controleveldjes. Daarom is de proef nog een jaar aangehouden en zijn de waarnemingen (symptomen en uitval) herhaald in 2011. De voor de verschillende werkzaamheden gevolgde planning is weergegeven in Bijlage 2.

Voor de tweede fase van het onderzoek was een beperkte praktijkproef met de beste methoden uit de eerste fase voorzien. Om dit bij minimaal 4 bedrijven te kunnen uittesten was aanvullende financiering nodig. Hieraan is in de eerste fase gewerkt, helaas zonder succes. Daarom is de start van de praktijktest eerst een jaar uitgesteld. Toen er daarna nog geen extra financiering was gevonden is in overleg met de Begeleidingscommissie en de opdrachtgever besloten om toch met de tweede fase te starten en het aantal proefpercelen te beperken om binnen het beschikbare (PT) budget te blijven. Op basis van de resultaten in de eerste fase (zie volgend hoofdstuk) werd in overleg met de Begeleidingscommissie tevens besloten om alleen met de Biologische Grondontsmetting (BGO) methode verder te gaan en verdere testen te beperken tot de teelt op zandgrond.

In 2012 moest de planning nogmaals aangepast worden. De bedoeling was om de BGO methode bij twee bedrijven te testen; een laanboombedrijf en een rozenbedrijf. Er werd echter slechts één bedrijf (laanbomenteler) met een geschikt perceel gevonden dat bereid was deel te nemen. Om verdere vertraging te voorkomen werd in overleg met de Begeleidingscommissie en de PT-coördinator besloten om toch van start te gaan met de praktijktest en het resterende budget te gebruiken bij de voorbereidingen voor een praktijknetwerk gericht op de implementatie van de BGO-methode in de praktijk.

De tweede fase is uitgevoerd in samenwerking met Cultus Agro Advies. In 2012 is bij een kweker van laanbomen op zandgrond BGO toegepast op een deel van een door de kweker aangewezen perceel met *Verticillium* problemen. Op het behandelde perceel is in 2013 *Acer platanoides* als testgewas geplant, waarna in de loop van het groeiseizoen eventuele *Verticillium* symptomen en uitval is vastgelegd. Ook van deze activiteiten is de planning in Bijlage 2 opgenomen.

Eveneens in 2012 zijn de voorbereidingen van start gegaan voor het opzetten van een praktijknetwerk gericht op implementatie van BGO in de praktijk. Uiteindelijk zijn in 2013 vier boomkwekerijbedrijven bereid gevonden hierin te participeren en is een subsidieaanvraag voor een praktijknetwerk onder de naam 'Biologisch redmiddel tegen verwelking in de boomkwekerij' ingediend bij de Dienst Regelingen van het Ministerie van Economische Zaken. Dit voorstel waarin wordt samengewerkt door 4 boomkwekerijbedrijven, een loonbedrijf, Cultus Agro Advies WUR-PPO en de studieclub Horst aan de Maas is goedgekeurd en in juli 2013 van start gegaan.

## 2 Fase 1: Test op PPO-proefvelden

### 2.1 Grondbehandelingen

Op beide proefvelden werd een blokkenproef met 4 herhalingen (blokken) aangelegd met in elk blok 6 behandelingen (deelblokken). De behandelingen werden per blok in verschillende volgorde naast elkaar uitgevoerd (geward; zie schema's in volgende paragraaf). Er werden 6 behandelingen uitgevoerd; 3 behandelingen waarvan op basis van de desk studie uitval door *Verticillium* bestreden zou kunnen worden (BG, BF en T&C), en drie behandelingen ter vergelijking (NGO, T&C en ZB). Meer details over de werking en wijze van uitvoering zijn te vinden in de 'Deskstudie naar maatregelen voor de bestrijding van *Verticillium dahliae* en *Pratylenchus penetrans* in vollegrondsteelten (Visser *et al.* 2010).

De volgende 6 behandelingen werden uitgevoerd:

1. Biologische grondontsmetting (BGO). Eind juli werd 40 ton/ha vers gras opgebracht, met diepspitten ingewerkt, beregend en vervolgens afgedekt met plastic.



2. Biofumigatie (BF). Met biofumigatie worden gewassen ingewerkt waarbij gasvormige stoffen (MITC) worden gevormd die een dodende werking hebben op bodemziekten- en plagen (aaltjes, *Verticillium*). Na het inwerken wordt het veld niet afgedekt met folie, zoals bij BGO, maar dichtgerold. Sarepta mosterd (*Brassica juncea* cv. TerraFit) werd eind juni gezaaid. Op beide locaties was de opkomst goed. Half augustus is het gewas verhakseld, ingespit en beregend waarna de bovenlaag werd verdicht met een grondrol.



3. Natte grondontsmetting (NGO). Dit is bedoeld als referentie. Eind september is met een spitinjecteur 750 L/ha Metam Natrium (Monam) ingewerkt. Het hoogste te verwachten effect is 80-85% doding van de aaltjes; de bestrijding van Vercillium zal naar verwachting lager uitvallen (pers. meded. G. Korthals op basis van eerdere ervaringen).



4. Tagetes & Compost (T&C); Tagetes is effectief tegen aaltjes. Als gevolg van de verlaagde aaltjesdruk (minder aanprikken van de wortel) kan het effect van Vercillium worden verminderd. De organische stof stimuleert het bodemleven. Het te kiezen Tagetes ras is erg belangrijk. *Tagetes patula* 'Ground Control' is eind juni gezaaid en op beide locaties goed opgekomen. Chemische onkruidbestrijding was met een eenmalige bespuiting voldoende. De Tagetesbezetting van de veldjes was (zeer) goed. Half november is de Tagetes met aangeënte compost (75 ton/ha) ingewerkt. In overleg met Van Iersel Compost (Biezenmortel) is gekozen voor compost bestaande uit drie componenten, nl. groencompost, humuscompost en protozoa compost.



5. Witte Klaver (WK); Deze behandeling is bedoeld als negatieve referentie. De verwachting is dat klaver als waardplant van Vercillium leidt tot een toename van Vercillium in de bodem. Op beide locaties was sprake van een goede opkomst en ontwikkeling van de klaver (ras: Alice).



6. Zwarte braak (ZB). Ook deze behandeling is bedoeld als referentie. De onbehandelde veldjes zijn gedurende het groeiseizoen chemisch en mechanisch onkruidvrij gehouden.



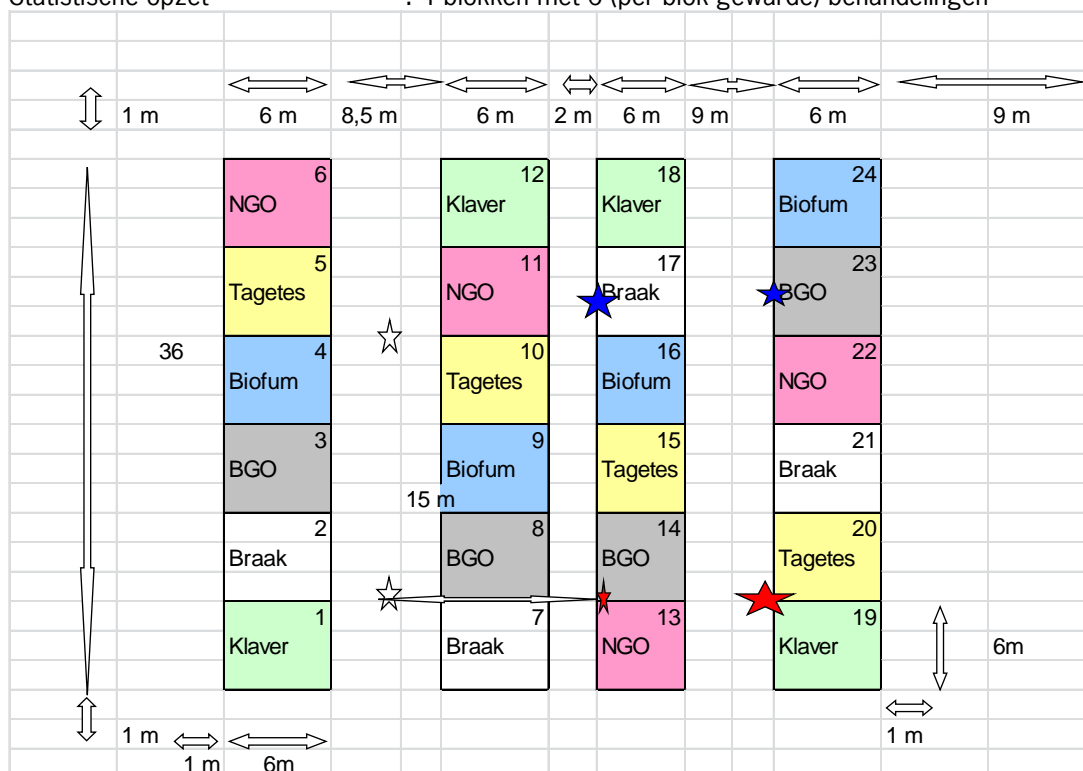
## 2.2 Veldproeven

De proeven voor de sector laanbomen zijn op kleigrond op de locatie van PPO in Randwijk uitgevoerd en voor roos op zandgrond op de proeflocatie in Vredepeel. Op beide proefvelden was reeds besmetting met *Verticillium dahliae* en *Pratylenchus spp.* vastgesteld.

### 2.2.1 Laanbomen (Acer) op kleigrond

Grondsoort	: klei, afslibbaar 20-40%
Grondbehandeling	: groeiseizoen 2009, zie proefschema,
Proefgewas laanbomen	: <i>Acer platanoides</i> (relatief veel geteeld)
Opweekpercelen	: Verticillium-vrij (getoetst).
Plantjaar toetsgewas	: voorjaar 2010
Controle plantmateriaal	: aansnijden en visueel beoordeeld
Uitgangsmateriaal	: eenjarige zaailingen (wortelgoed uit Bos- en Haagplantsoen)
Plantverband	: 1.35 meter x 0.35 meter
Bruto veldgrootte	: 36 m <sup>2</sup> (incl. randrij rondom)
Netto veldgrootte	: ca. 23 m <sup>2</sup> (4 rijen, excl. randrij)
Aantal planten bruto per veld	: 103
Aantal planten netto per veld	: ca. 50
Aantal behandelingen	: 6
Aantal herhalingen (blokken)	: 4
Rondom blokken:	: gras (kort gemaaid)

Statistische opzet : 4 blokken met 6 (per blok gewarde) behandelingen



NB. Sterren geven positie van beregeningsinstallatie aan.

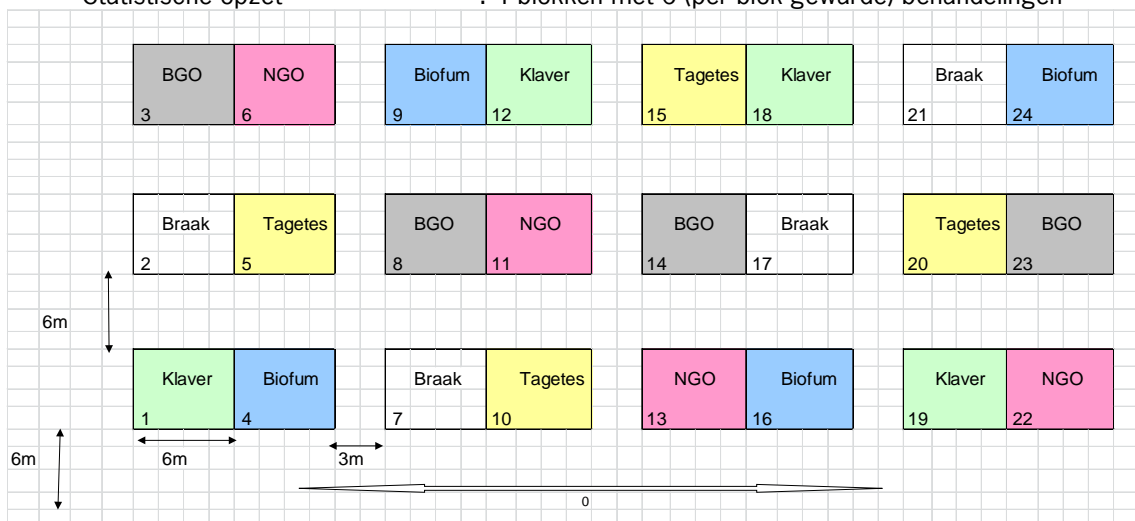


Afbeelding 1: Het proefveld in Randwijk na aanleg van de verschillende behandelingen (zomer 2009; links) en tijdens de teelt van *Acer platanoides* als testgewas (zomer 2010, rechts).

## 2.2.2 Rozen op zandgrond

Grondsoort	: zandgrond,
Grondbehandeling	: groeiseizoen 2009, zie schema
Proefgewas roos	: <i>Rosa canina</i> 'Pfänder' <sup>1)</sup>
Opweekepercelen	: vrij van <i>Verticillium</i> (getoetst).
Plantjaar	: voorjaar 2010
Uitgangsmateriaal	: plantgoed (30 cm, hals + wortel: 18 cm, tak 12 cm).
Controle plantmateriaal	: aansnijden en visueel beoordeeld
Plantverband	: 0.7 meter x 0.2 meter
Bruto veldgrootte	: 36 m <sup>2</sup>
Netto veldgrootte	: 13.5 m <sup>2</sup>
Aantal planten bruto per veld	: 258
Aantal planten netto per veld	: 110
Aantal behandelingen	: 6
Aantal herhalingen (blokken)	: 4
Rondom de blokken	: braak, kaal gehouden

Statistische opzet : 4 blokken met 6 (per blok gewarde) behandelingen



<sup>1</sup> Hoewel de onderstam *R. multiflora* gevoeliger voor *Verticillium* is dan 'Pfänder', is door de begeleidingscommissie gekozen voor de laatste omdat deze in de stamrozen veel gebruikt wordt.



Afbeelding 2: Het proefveld in Vredepeel tijdens de uitvoering van de grondbehandelingen (zomer 2009, links) en tijdens de teelt van het testgewas *Rosa canina* 'Pfänder' (zomer 2011, rechts).

## 2.3 Resultaten laanbomen op kleibodem

### 2.3.1 Verticillium en Pratylenchus in de bodem

De resultaten van de bepaling van de hoeveelheid *Verticillium dahliae* (Vd) en *Pratylenchus penetrans* (Pp) in de bodem voor en na de behandelingen zijn weergegeven in tabel 2.3.1. Hoewel de gemiddelde hoeveelheid Vd in de bodem wel omlaag ging, waren de verschillen tussen de behandelingen door de grote spreiding in de waargenomen aantallen statistisch niet significant.

Wat betreft het effect op Pp waren de verschillen tussen de behandelingen duidelijker. Hier resulteerden de natte grondontsmetting (NGO) en de biologische grondontsmetting (BGO) in statistisch significant lagere aantallen. Ook na Tagetes + compost, biofumigatie en zwarte braak waren de gemeten aantallen Pp lager, maar door de grote spreiding waren ook deze verschillen statistisch niet significant.

Tabel 2.3.1 Hoeveelheid *Verticillium dahliae* en *Pratylenchus penetrans* in de bodem van het proefveld in Randwijk (klei) voor en na behandeling.

Grond-behandeling	<i>Verticillium</i> besmetting (ms/10gr)		<i>Pratylenchus</i> besmetting (L/100gr)	
	Voor behandeling	Na behandeling	Voor behandeling	Na behandeling
BGO	12	14 (a) <sup>1)</sup>	215	40 (bc) <sup>2)</sup>
Biofumigatie	36	16 (a)	345	140 (d)
NGO	34	8 (a)	313	26 (b)
Tagetes_compost	30	19 (a)	293	102 (cd)
Witte_klaver	14	16 (a)	422	584 (ef)
Zwarte_braak	22	15 (a)	335	156 (cd)
Gemiddeld	24	15	320	174

<sup>1)</sup> ANOVA, log 10 transformatie, mediaan zonder covariantie

<sup>2)</sup> ANOVA, mediaan met covariantie (nov 2009)

### 2.3.2 Verticillium symptomen

De aantallen planten met uitwendige symptomen van *Verticillium* (verwelking, bladverlies, necrose van het blad, twijgsterte, afsterven) waren na het eerste jaar in alle behandelingsgroepen beperkt. In het tweede jaar nam dit toe (Tabel 2.3.2), maar de verschillen tussen de herhalingen waren dusdanig groot dat de verschillen tussen de behandelingen statistisch niet significant zijn.



Afbeelding 3: uitwendige symptomen van *Verticillium* in *Acer platanoides*.

Tabel 2.3.2 Percentage planten met uitwendige symptomen (*A. platanoïdes* op kleibodem in Randwijk)

Grondbehandeling	% aangetaste planten in 2010	totaal % aangetaste planten in 2010 + 2011
BGO	5.2	15.2
Braak	8.5	21.1
NGO	10.7	24.8
Biofumigatie	14.6	29.5
Klaver	12.7	32.5
Tagetes & compost	14.6	39.1
Gemiddeld	11.1	27.0

Alle planten in blok 2 (25% van het totale proefveld, 305 bomen) zijn na het tweede groeiseizoen beoordeeld op inwendige symptomen (houtverkleuring, afbeelding 4).

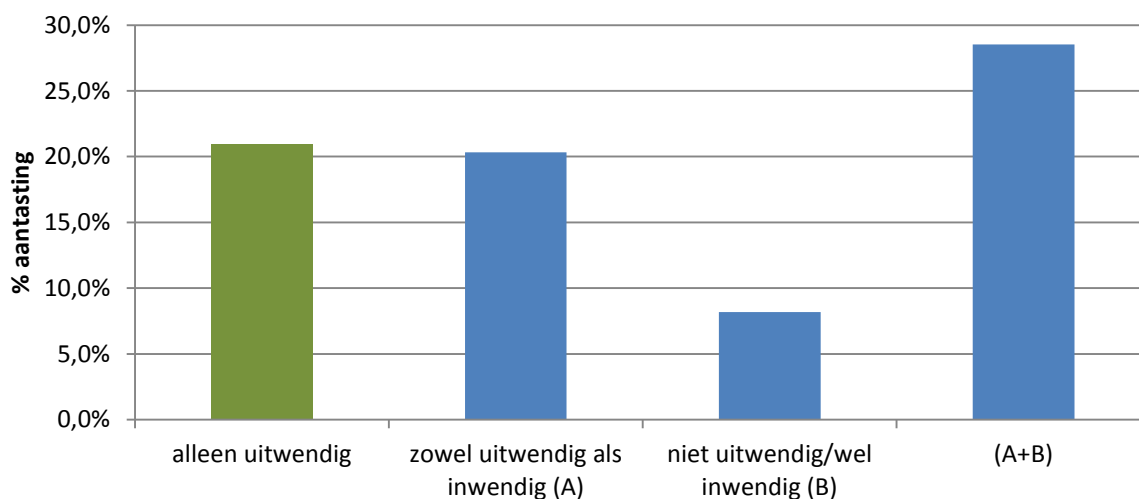
Daarbij bleek (zie figuur 2.1) dat:

- Bij 21,0% van de planten werden uitwendige symptomen vastgesteld. Dit was de uitgangssituatie;
- Ruim 20% van de planten vertoont naast uitwendige, ook inwendige symptomen;
- 8,2% van de bomen vertoont alleen inwendige symptomen (en geen uitwendige).
- 2,6% van de bomen vertonen alleen uitwendige symptomen (en geen inwendige).



Afbeelding 4: Inwendige verkleuring van de stam van een jonge *A. platanoïdes* plant als gevolg van aantasting door *V. dahliae*.

Figuur 2.1 In- en uitwendige symptomen (over 2 groeiseizoenen) bij 305 bomen op het proefveld in Randwijk.

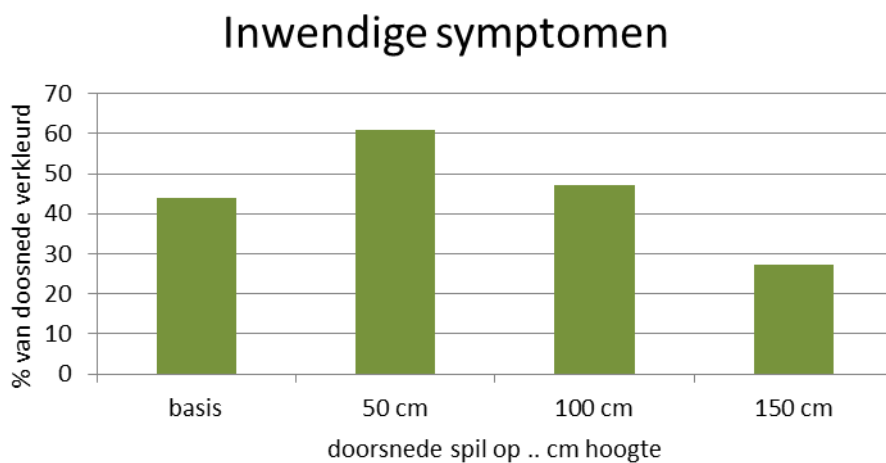


Een beoordeling op alleen uitwendige Verticillium symptomen resulteert dus in een onderschatting van het aantal geïnfecteerde planten. Indien de bovenstaande getallen als maatstaf worden gebruikt dan zou na een uitwendige beoordeling 5-10 % bij het ziektepercentage opgeteld moeten worden. In het hier beschreven experiment resulteert dit in 28.5 % aangetaste bomen

Verder bleek uit deze waarnemingen dat bij vrijwel alle bomen die aanvankelijk hersteld leken (in eerste groeijaar wel uitwendige symptomen en in tweede groeijaar niet meer) inwendige symptomen zijn waargenomen. Deze bomen zijn bij de eindbeoordeling daarom als ziek (geïnfecteerd) aangemerkt.

De houtverkleuring (percentage verkleuring van de dwarsdoorsnede) laat een bepaald patroon zien (Figuur 2.2). Vanaf de stambasis neemt het oppervlak van het verkleurde deel toe tot op ca. 50 cm hoogte, waarna het verkleurde deel van het oppervlak geleidelijk weer kleiner wordt. De toename van de verkleuring met toenemende hoogte in de plant is waarschijnlijk gerelateerd aan het feit dat *V. dahliae* vaak via een beperkt deel van het wortelstelsel binnenkomt en zich in het vaatnetwerk in de stam geleidelijk verder lateraal verspreidt. Dit verklaart ook het vaak – zeker in een vroeg stadium - éénzijdig optreden van de symptomen van Verticillium verwelking. De afname van het verkleurde oppervlak verder naar boven is minder makkelijk te verklaren. Mogelijk heeft dit te maken met de reactie van de boom; hoewel de afweer reactie in esdoorn niet echt afdoende is, ziet de boom na het op gang komen van de afweer reactie blijkbaar wel kans om de verspreiding van Verticillium enigszins te begrenzen.

Figuur 2.2 Inwendige verkleuring in *A. platanooides* proefplanten op het proefveld in Randwijk beoordeeld op verschillende hoogtes in de stam.



### 2.3.3 Groei van het gewas

In het begin van de tweede groeiseizoen (mei 2011) is de groei van het gewas beoordeeld. Hiervoor is de diameter (40 cm vanaf de grond) en de totale lengte van de bomen gemeten (50 planten per veld). Opvallend is dat de spullen na grondbehandeling BGO hoog scoren, zowel wat betreft diameter als lengte. De verschillen tussen de planten op veldjes met verschillende behandelingen zijn echter niet significant (ANOVA).

Tabel 2.3.3 Groei van *A. platanoïdes* testplanten na de verschillende behandelingen op het proefveld in Randwijk.

Grondbehandeling	Diameter (mm)	Lengte (m)
Biologische grondontsmetting	12.0	1.62
Zwarte braak (ref.)	11.8	1.62
Tagetes + compost	11.8	1.57
Natte grondontsmetting (ref.)	11.4	1.57
Biofumigatie	11.0	1.48
Witte klaver	10.6	1.42
Gemiddeld	11.4	1.55

## 2.4 Resultaten rozen op zandgrond

### 2.4.1 Verticillium en Pratylenchus in de bodem

Het blijkt dat er op zandgrond wel duidelijke - en deels statistisch significante - verschillen zijn tussen de behandelingen. De effecten van de verschillende behandelingen op de hoeveelheden Vd en Pp in de bodem zijn samengevat in Tabel 2.4.1.

Het bestrijdende effect van biologische grondontsmetting (BGO) op de hoeveelheid *Verticillium dahliae* (Vd) in de bodem was significant beter dan dat van de andere behandelingen, inclusief natte grondontsmetting (NGO). Het effect van NGO op Vd in de bodem op haar beurt was weer significant beter dan dat van de overige behandelingen waarvan de effecten niet significant van elkaar verschillen.

Ook bij de effecten op *Pratylenchus penetrans* (Pp) zijn de waargenomen verschillen zeer groot. Het effect van biologische grondontsmetting en NGO op Pratylenchus besmetting van de grond was significant beter dan dat van de andere behandelingen. Daarna volgde Tagetes + compost en daarna Biofumigatie en zwarte braak. Witte klaver veroorzaakte een aantoonbare toename van aaltjes in de grond.

Tabel 2.4.1 Effect van de verschillende behandelingen op de hoeveelheid *V. dahliae* en *P. penetrans* in de bodem van het proefveld in Vredepeel.

Grondbehandeling	Verticillium besmetting (ms/10gr)		Pratylenchus besmetting (L/100gr)	
	Voor behandeling	Na behandeling	Voor behandeling	Na behandeling
Biologische grondontsmetting	228	0 (a) <sup>1)</sup>	828	1 (a) <sup>1)</sup>
Biofumigatie	252	67 (c)	876	174 (cd)
Natte grondontsmetting (ref.)	251	12 (b)	704	0 (a)
Tagetes + compost	270	85 (c)	951	77 (b)
Witte klaver	232	89 (c)	486	863 (f)
Zwarte braak (ref.)	282	122 (c)	712	251 (de)
Gemiddeld	252	62	759	228

<sup>1)</sup> ANOVA, nov. 2009 (+mediaan met covariantie)

Op de zandgrond in Vredepeel betekenen deze resultaten dat BGO en NGO de hoeveelheden aaltjes en Verticillium in de bodem zeer sterk reduceren. De Tagetes + compost behandeling doet dit ook – zij het in wat mindere mate – voor aaltjes, maar niet voor Verticillium. Hiermee lijkt biologische grondontsmetting in een teelt op zandgrond een goed alternatief voor natte grondontsmetting. De andere geteste methoden bieden duidelijk minder perspectief voor de bestrijding van *V. dahliae* in de bodem.

### 2.4.2 Verticillium-symptomen

In het eerste groeiseizoen (2010) werden in het veld geen duidelijke symptomen van aantasting door *V. dahliae* (afbeelding 5) geconstateerd. Er werden slechts enkele 'verdachte' planten waargenomen. Volgens de praktijk komen symptomen ook veelal pas in het tweede groeiseizoen van de teelt van *R. canina* 'Pfänder' aan het licht.

In het tweede groeiseizoen zijn op vier momenten (augustus-oktober) waarnemingen uitgevoerd. Het aantal planten met uitwendige Vd-symptomen was daarbij steeds laag, gemiddeld slechts 2,4%.

Gemiddeld werden de minste zieke planten gevonden op de BGO-veldjes. De verschillen tussen de behandelingen waren echter klein en statistisch niet aantoonbaar (Tabel 2.4.2).

Aan het einde van het tweede groeiseizoen zijn 28 planten per veld (112 per behandeling) onderzocht op inwendige verkleuring. De inwendige symptomen bleken echter onduidelijk. Daarbij was niet met zekerheid vast te stellen of het in alle gevallen om verkleuring als gevolg van Verticillium-aantasting gaat. Met de uitplaatmethode van 'verdacht' materiaal werd echter geen Verticillium aangetoond. Bovendien wijken de percentages planten met verkleuring (Tabel 3.4.3) sterk af van het aandeel planten met uitwendige symptomen van Verticillium.





Afbeelding 5: Uitwendige symptomen van aantasting door *V. dahliae* in roos.

Tabel 2.4.2 Percentage planten met symptomen van *Verticillium* aantasting na de verschillende behandelingen op het proefveld in Vredepeel.

Grondbehandeling	% aangetaste planten*
Biologische grondontsmetting	0.4%
Biofumigatie	1.3%
Natte grondontsmetting (ref.)	1.8%
Tagetes + compost	1.8%
Witte klaver	4.8%
Zwarte braak (ref.)	4.2%
Gemiddeld	2.4%

\* Verschillen tussen behandelingen statistisch niet significant (ANOVA)

Tabel 2.4.3 Inwendige verkleuring in het testgewas *R. canina* 'Pfänder' op het proefveld in Vredepeel aan het einde van het tweede groeiseizoen

Grondbehandeling	Inwendige verkleuring
Biologische grondontsmetting	8.9%
Natte grondontsmetting (ref.)	8.9%
Witte klaver	7.1%
Tagetes + compost	6.3%
Biofumigatie	5.4%
Zwarte braak	3.0%
Gemiddeld	6.6%

### 2.4.3 Groei van het gewas

In december 2010 zijn de planten gesnoeid en is de hoeveelheid snoeisel gewogen (100-120 planten per veld) om een eventueel effect van de grondbehandeling op de groei in het eerste groeiseizoen vast te stellen. In december 2011 zijn circa 80 planten per veld gerooid en gewogen. Opvallend is dat de planten na grondbehandeling BGO hoog scoren, zowel het eerste als het tweede groeiseizoen. De planten (en het snoeisel) van de onbehandelde grond bleken gemiddeld het minst zwaar.

Tabel 2.4.4. Snoei en opbrengstgegevens in het testgewas *R. canina* 'Pfänder' op het proefveld in Vredepeel in 2010 en aan het einde van het tweede groeiseizoen (2011).

Grondbehandeling	Snoeimassa (totale gewicht in kg) Dec 2010	Gemiddelde gewicht per plant (g) Dec 2011
Biologische grondontsmetting	8.7	544
Natte grondontsmetting (ref.)	6.7	520
Witte klaver	7.0	458
Tagetes + compost	8.8	529
Biofumigatie	6.7	451
Zwarte braak	5.8	405
Gemiddeld		484

## 3 Fase 2: Test op praktijkbedrijf

### 3.1 Opzet en uitvoering

In 2012 is een begin gemaakt met het implementatietraject van de bestrijdingsmethode BGO op een laanboombedrijf in een regio met veel problemen met *Verticillium* (geen aardappelteelt verbod in dit gebied).

Voor het onderzoek werd door het bedrijf in mei 2012 een perceel ter grootte van 1 hectare beschikbaar gesteld. Dit was een perceel, egaal en aaneengesloten met gelijke teelt-voorgeschiedenis (laanbomen). Het perceel werd gesplitst in twee blokken van 2.500 m<sup>2</sup> voor Biologische grondontsmetting (BGO) en twee referentieblokken. Voor de BGO behandeling werd in mei 2012 raaigras ingezaaid. In het groeiseizoen is berekend voor een goede opkomst en ontwikkeling van het gras. Op de twee referentieblokken is *Tagetes* cv. Ground Control ingezaaid en geteeld.

In week 34 (half augustus) bleek de grasontwikkeling nog te beperkt. Na overleg is afgesproken om het gras nog enige tijd door te laten groeien tot het gewenste niveau van 40 ton/ha. Hierdoor en door drukke werkzaamheden bij de loonwerker werd de BGO-behandeling verder uitgesteld dan gewenst. Eind augustus/begin september loopt de grondtemperatuur namelijk terug. Dit is ongewenst voor BGO omdat daardoor de verterings- omzettingsprocessen in de bodem mogelijk minder effectief worden. In week 37 (half september) is besloten extra gras aan te voeren om voldoende biomassa te hebben en is de BGO uiteindelijk uitgevoerd. Het veld is tot week 48 afgedekt met plastic.

In overleg met de kweker is in het voorjaar van 2013 als toetsgewas *Acer platanoides* (zaailingen) ingeplant:

- 1 rij van 200 planten op één *Tagetes* blok (*Tagetes*-1)
- 1 rij van 200 planten op een BGO blok (BGO-1)

### 3.2 Resultaten

Voor en na de grondbehandeling is een grondbemonstering uitgevoerd. Deze monsters zijn geanalyseerd op de aanwezigheid van *V. dahliae* door het laboratorium van Naktuinbouw (tabel 3.1).

Tabel 3.1 Aanwezigheid van *Verticillium* in de bodem van de verschillende blokken op het teeltperceel van het praktijkbedrijf voor en na de BGO behandeling (2 blokken) of een seizoen *Tagetes* (2 referentie blokken).

Grondbehandeling	Besmetting voor behandeling (microsclerotia/10 gr grond)	Besmetting na behandeling (microsclerotia/10 gr grond)
Biologische grondontsmetting -1	3	0
<i>Tagetes</i> -1	7	0
Biologische grondontsmetting -2	10	0
<i>Tagetes</i> -2	3	3

Op basis van de bemonstering (uitplaatmethode) is vastgesteld dat de grond bij de start van het experiment licht besmet was met *Verticillium dahliae* (zie besmettingsklassen indeling in Bijlage 3). Na de behandeling is geen *Verticillium* meer aangetoond in de met BGO behandelde blokken. In een van de met *Tagetes* behandelde blokken werd nog wel *Verticillium* aangetoond, maar de hoeveelheid was laag en lag dicht bij de detectiegrens die op 3 microsclerotia/10 gram grond ligt.

In september en oktober 2013 is het toetsgewas vier keer beoordeeld op de aanwezigheid van (uitwendige) *Verticillium* symptomen (Tabel 3.2).

Tabel 3.2 Waargenomen (uitwendige) *Verticillium* symptomen in *Acer platanoides* na een BGO of een Tagetes behandeling op een teeltperceel van een praktijkbedrijf (2013)

Datum	Toetsrij BGO				Toetsrij Tagetes			
	19-9	8-10	21-10	30-10	19-9	8-10	21-10	30-10
Totaal aantal planten	204	204	204	204	202	202	202	202
Planten met duidelijke symptomen (aantal)	2	7	14	14	11	10	25	24
Planten met onduidelijke symptomen (aantal)	3	1	2	2	6	11	8	9
% planten met duidelijke symptomen	1.0	3.4	6.9	6.9	5.4	5.0	12.4	11.9
% planten met onduidelijke symptomen	1.5	0.5	1.0	1.0	3.0	5.4	4.0	4.5
% totaal	2.5	3.9	7.8	7.8	8.4	10.4	16.3	16.3

In september 2013 werden in de BGO-rij nog slechts zeer beperkt symptomen van aantasting door *Verticillium* gevonden. Dit liep in oktober op tot 7.8 % (incl. onduidelijke symptomen). In de met Tagetes behandelde blokken was het percentage planten met symptomen in september al 8.4 % (incl. onduidelijke symptomen); in oktober liep dit op naar 16.3 %.

### 3.3 Discussie en Conclusies

De detectiegrens voor de uitplaatmethode die gebruikt wordt om *Verticillium dahliae* in grondmonsters aan te tonen (Zaayen, 1997) ligt op 3 microsclerotia per 10 gram grond. Indien er minder microsclerotia in de bodem aanwezig zijn is het testresultaat: niet aangetoond. In een dergelijk geval ligt het aantal microsclerotien dus tussen 0 en 3 per 10 gram grond. In veldexperimenten met *Acer platanoides* en *Catalpa speciosa* hebben Goud *et al.* (2012) laten zien dat *Verticillium* concentraties op en rond de detectiegrens bij zeer vatbare boomsoorten al tot een aanzienlijk aantastingspercentage kunnen leiden. Dit verklaart waarom – ondanks dat met de uitplaatmethode nog voor de behandeling een laag besmettingsniveau werd gemeten – een deel van *Acer platanoides* planten op het veld toch ziek kan worden. Blijkbaar was er in de bodem toch nog voldoende *Verticillium* aanwezig om symptomen in een deel van de planten te veroorzaken. Wel was het zo dat zelfs bij een dergelijk lage infectiegraad aan het begin van de proef er op het deel van het perceel waar biologische grondontsmetting heeft plaatsgevonden ongeveer 50% minder planten met *Verticillium*-symptomen werden waargenomen dan op het controledeel waar Tagetes werd geteeld.

De aanwezigheid van grote aantallen aaltjes, en dan met name *Pratylenchus* soorten, kan het optreden van *Verticillium* versterken (Hiemstra & Harris, 1998). In theorie zou daarom de teelt van Tagetes ook bij kunnen dragen aan het verminderen van het optreden van *Verticillium*. Uit de resultaten blijkt echter dat dit effect in de praktijk niet afdoende is en veel minder dan dat van de BGO. In het testgewas op Tagetes-blok van de proef vertoonde ruim 16 % van de planten uiteindelijk symptomen van *Verticillium*.

De resultaten van deze (beperkte) praktijkproef vormen een sterke aanwijzing dat BGO in de teelt van laanbomen op zandgrond het optreden van *Verticillium* sterk kan beperken. Mogelijk kan dit effect nog worden versterkt door de behandeling van de bodem eerder in het groeiseizoen (bij hogere bodemtemperaturen) te starten. Voor een betere onderbouwing van dit effect is het echter nodig om BGO op grotere schaal in de praktijk te testen, daarbij kan dan ook meer aandacht geschonken worden aan de economische haalbaarheid en de praktische inpasbaarheid in de bedrijfsvoering.

## 5 Samenvatting en conclusies

De in dit rapport beschreven experimenten werden opgezet om een aantal nieuwe methoden (alternatieven voor chemische bodemontsmetting) te testen op hun werkzaamheid voor wat betreft bestrijding van *Verticillium dahliae* (Vd) en daarnaast ook nematoden (*Pratylenchus penetrans*: Pp) in de bodem. De aandacht ging daarbij m.n. uit naar biologische grondontsmetting (BGO) en in mindere mate naar biofumigatie (Biofum) omdat op basis van beschikbare ervaringen en literatuur de verwachtingen van de eerste methode het hoogst waren. Op twee proeflocaties (Randwijk: klei, Vredepeel: zand) werden twee veldexperimenten opgezet waarbij beide methoden in een aantal herhalingen werden vergeleken met enkele andere methoden en controlebehandelingen.

Op het proefveld op een zandbodem bleek het effect van BGO even sterk of zelfs nog beter dan dat van natte grondontsmetting, gemeten aan de hoeveelheid Vd en Pp in de bodem na behandeling. Ook Biofum had op zandgrond een zeer sterk bestrijdingseffect, zij het iets minder dan BGO. Dat het effect van beide methoden niet zichtbaar werd in een verminderde aantasting door *Verticillium* van het testgewas roos (in vergelijking met de niet behandelde veldjes) komt waarschijnlijk doordat voor de proef in Vredepeel op verzoek van de Begeleidingscommissie gebruik is gemaakt van het in de praktijk veel gebruikte ras 'Pfänder'. Dit ras bleek onder de omstandigheden op het proefveld, ook op de niet behandelde veldjes, ondanks de hoge inoculumdruk van zowel Vd als Pp, in de twee jaar van het experiment weinig zichtbaar zieke planten te geven.

In het proefveld op kleigrond hadden beide methoden veel minder effect, zeker wat betreft de hoeveelheid Vd in de bodem. Weliswaar was het aantal zieke planten in het testgewas esdoorn (*A. platanoides*) na BGO het laagst, maar de verschillen tussen de behandelingen bleken statistisch niet significant en in de twee groeiseizoenen na de behandeling werd nog een substantieel deel van de planten ziek. De oorzaak van de mindere werking van BGO (en Biofum) op een kleibodem is niet geheel duidelijk, mogelijk heeft het echter te maken met verschillen in de poriënstructuur waardoor deze vrij zware kleibodem veel moeilijker doordringbaar was voor de bij de toepassing van BGO en Biofum gevormde toxische producten. Over het algemeen werkt chemische grondontsmetting op kleigronden sowieso minder goed dan op zandgrond. Dit wordt ook in dit experiment geïllustreerd door het feit dat natte grondontsmetting een beperkte werking had.

Een opvallende waarneming ten slotte was dat niet alle door Vd geïnfecteerde esdoorns duidelijke bladsymptomen ontwikkelen. Bij een deel van de bomen bleek de schimmel aanwezig in het hout van de stam zonder zichtbare uitwendige symptomen. Waarneming van bladsymptomen alleen kan dus een onderschatting van het aantal geïnfecteerde bomen geven.

Een tweede, voor de teelt interessante waarneming, is dat toepassing van BGO zeker geen negatief effect op de groei van het daarna geteelde gewas heeft. Hoewel de verschillen statistisch niet significant waren, waren de planten op de met BGO behandelde veldjes zowel op zand als op klei bij de sterkste groeiers.

Tot slot werd een beperkte praktijkproef met BGO uitgevoerd bij een laanboomkweker op zandgrond. De resultaten hiervan vormen een sterke aanwijzing dat BGO in de teelt van laanbomen op zandgrond het optreden van *Verticillium* sterk kan beperken. In het met BGO behandelde blok was het aantal *A. platanoides* met symptomen circa 50% lager dan in het referentieblok. Voor een betere onderbouwing van dit effect is het echter nodig om BGO op grotere schaal, onder meer optimale omstandigheden in de praktijk te testen. Daarbij kan dan ook meer aandacht geschonken worden aan de economische haalbaarheid en de praktische inpasbaarheid in de bedrijfsvoering. Een praktijknetwerk wat zich hier op richt is inmiddels van start gegaan.



## 6 Perspectieven

Tot hoever dient een besmetting met *Verticillium* door een behandeling teruggedrongen te worden voordat het resultaat voor de praktijk voldoende is? Dat verschilt per deelsector. In veel regio's in Brabant en Limburg is het vrijwel onmogelijk om nog gronden zonder besmetting met *Verticillium* te vinden. In de praktijk gaan de kwekers er daar dan ook vanuit dat percelen besmet zijn en gebruiken op de zandgronden natte grondontsmetting om dit tegen te gaan. In de rozenteelt moet het effect van BGO daarom in kosten en resultaat minimaal vergelijkbaar zijn met de NGO.

Voor laanboomkwekers is het bij een zware besmetting met Vd tot nog toe mogelijk om een ander perceel te kiezen of minder gevoelige cultivars te planten. Maar ook in deze deelsector zal het in de toekomst steeds lastiger en duurder worden om *Verticillium* vrije percelen te vinden. Bovendien kan in gevoelige gewassen zoals verschillende *Acer* en *Catalpa* soorten al bij een lichte *Verticillium* besmetting in de bodem aanzienlijke schade optreden. Hierdoor wordt ook voor laanboomkwekers bestrijding van *Verticillium* in de bodem steeds meer een noodzaak.

Rozenkwekers zijn op zoek naar een verbetering of alternatief voor NGO. Als dat alternatief hetzelfde effect geeft en niet duurder is, biedt dit zeker perspectieven. De resultaten met biologische grondontsmetting op het proefveld in Vredepeel en bij een eerste test op twee bedrijven zijn veelbelovend. Daarmee is de tijd rijp om de bruikbaarheid van deze methode nu ook breder in de praktijk bij de teelt van rozen op een zandbodem uit te testen. Een praktijknetwerk wat zich hier op richt is in 2014 van start gegaan.

Laanboomkwekers zoeken een alternatief voor de noodzaak om besmette percelen te vermijden. Dit betekent dat voor een succesvolle behandeling *Verticillium* in de bodem (nagenoeg) geheel zal moeten worden bestreden. De voorlopige resultaten in Randwijk zijn daarom onvoldoende om op klei met biologische grondontsmetting op praktijkschaal verder te gaan. De resultaten in het proefveld op zand (rozen) en bij een praktijkbedrijf op zand (laanbomen) zijn echter hoopgevend. Het bovengenoemde praktijknetwerk richt zich behalve op rozen daarom ook op de verdere implementatie van biologische grondontsmetting in de teelt van laanbomen op zand.





## Literatuurbronnen

- Goud, J.C.; Termorshuizen, A.J.; van Bruggen, A.H.C., 2012: *Verticillium* wilt in nursery trees: damage thresholds, spatial and temporal aspects. *Eur. J. Plant Pathol.* 131: 451-465.
- Hiemstra, J.A., 2011a. *Verticillium* in de boomkwekerij: voorkomen beste bestrijding. Infoblad Productschap Tuinbouw.
- Hiemstra, J.A., 2011b. Tabel voor *Verticillium dahliae* vatbare soorten. Infoblad Productschap Tuinbouw.
- Hiemstra, J.A., 2001. *Verticillium* en siergewassen. DWK 364 Innovatie in siergewassen, rapport deelproject 1.1 Ketenstudies. 15 blz.
- Hiemstra, J.A.; Harris, D.C., 1998. A compendium of *Verticillium* wilts in trees. CPRO-DLO / HRI-EM, Wageningen/East-Malling, 80 blz.
- Van der Sluis, B.J.; Meijer, H., 2008. Schade door *Verticillium* in de laanbomen en rozen. Notitie PPO, 3 blz.
- Visser, J.H.M.; Korthals, G.W., 2010. Deskstudie naar maatregelen voor de bestrijding van *Verticillium dahliae* en *Pratylenchus penetrans* in vollegrondsteelten. PPO-AGV, 36 blz.
- Zaayen, A. van, 1997. *Verticillium* bedreiging voor laanboomteelt. De NAKB-krant, september 1997:3.



## BIJLAGE 1 Samenstelling van de Begeleidingscommissie

A.J.C.M Mouwen	Boomkwekerij Westelaar VOF	Wouwse Plantage
J.J. van den Brandhof	Keurmeester Naktuinbouw	Hemmen
A.C.M. Michels	Rozenkwekerij	Sambeek
D. van Wijk (Cultus)	Cultus Agro Advies	Lottum
J. Visser	PPO-AGV	<a href="#">Lelystad</a>
G. Korthals	PPO-AGV	<a href="#">Lelystad</a>
A. Smits	PPO-BBF	Lisse
B.J. van der Sluis	PPO-BBF	Lisse
J. Hiemstra	PPO-BBF	Lisse
H. van Gent <sup>1</sup>	Productschap Tuinbouw	Zoetermeer

<sup>1</sup> agendalid



## BIJLAGE 2 Planning van de werkzaamheden

<b>Jaar + Maand</b>	<b>2009</b> jfmamjjasond	<b>2010</b> jfmamjjasond	<b>2011</b> jfmamjjasond	<b>2012</b> jfmamjjasond	<b>2013</b> jfmamjjasond
<b>Aktiviteiten</b>					
<u>Fase 1</u>					
Start project	x				
Samenstellen overzicht potentiële maatregelen	xxx				
Keuze maatregelen voor 1° fase	x				
Nemen grondmonsters	x	x			
Uitvoering maatregelen op proefveld	xxxxx				
Planten van laanbomen/rozen op behandelde proefveld		x			
Teelt van laanbomen/rozen		xxxxxxxx	xxxxxxxx		
Waarnemingen Verticillium symptomen /uitval planten		x x x	x x		
Open middagen	x	x			
Tussentijdse evaluatie			x		
<u>Fase 2</u>					
Start fase 2			x		
Keuze maatregelen voor 2° fase			x		
Nemen grondmonsters				x x	
Uitvoering maatregelen op perceel bij telers				xxxxx	
Planten van laanbomen op behandelde perceel					x
Teelt van laanbomen					xxxxxxxx....
Waarnemingen Verticillium symptomen en of uitval					x x
Open middag/presentatie brochure					x
Eindrapportage					x



## BIJLAGE 3 Beoordeling categorieën voor besmetting met *Verticillium dahliae* en *Pratylenchus* aaltjes

Beoordeling *Verticillium* besmetting van de bodem in de boomkwekerij volgens de door Naktuinbouw gehanteerde klassenindeling:

Niet besmet:	< 3 ms / 10 g grond
Licht besmet:	3 - 10 ms / 10 g grond
Besmet:	10 - 100 ms / 10 g grond
zwaar besmet	> 100 ms / 10 g grond

Beoordeling aanwezigheid *Pratylenchus* aaltjes in de boomkwekerij (op basis van aantal aaltjes/100 ml grond)

Besmettings- klasse	Rosaceae		overige gevoelige boomkwekerijgewassen		coniferen	
	Pp	Pv	Pp	Pv	Pp/Pv	Rr
Licht	1-10	1-25	1-25	1-50	1-25	1-100
Matig	11-50	26-100	26-75	51-100	26-75	101-400
Zwaar	>50	>100	>75	>150	>75	>400