

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

ISSN 1385 - 3015

PREVENTIE EN BEHEERSING VAN WORTELZIEKTEN IN DE TEELT VAN CYCLAMEN

Project 1638

A. Numansen
J.P. Wubben
W.C.H. Verberkt
J.J. Amsing
A. Kerssies
N. Joosten
A. Dalmeyer
L. Kok
Aalsmeer, juni 2000

Rapport 266
Prijs f 30,00

ISBN: 971364

INHOUD

INHOUD	3
VOORWOORD	5
SAMENVATTING	7
1. INLEIDING EN DOEL	11
1.1 INLEIDING	11
1.2 DOEL VAN HET PROJECT	12
2. INVENTARISATIE BELANGRIJKSTE WORTELPATHOGENEN	13
2.1 INVENTARISATIE LITERATUURONDERZOEK EN PRAKTIJK	13
2.1.1 Inventarisatie literatuuronderzoek	13
2.1.2 Inventarisatie praktijk	13
2.1.3 Conclusie/discussie	14
2.2 ONDERZOEK DOOR MIDDEL VAN INFECTIEPROEVEN IN DE ZOMER	14
2.2.1 Materialen en methoden	15
2.2.2 Resultaten	16
2.2.3 Conclusie/discussie	19
2.3 ONDERZOEK DOOR MIDDEL VAN INFECTIEPROEF IN HET NAJAAR EN DE WINTER	20
2.3.1 Materialen en methoden	20
2.3.2 Resultaten	22
2.3.3 Conclusie/discussie	24
3. VERSCHILLENDE INOCULUMDICHTHEDEN VAN PHYTOPHTHORA EN ERWINIA	26
3.1 MATERIALEN EN METHODEN	26
3.2 RESULTATEN	28
3.3 CONCLUSIE/DISCUSSIE	31
4. VERSCHILLENDE PHYTOPHTHORA-SOORTEN	33
4.1 MATERIALEN EN METHODEN	33
4.2 RESULTATEN	33
4.3 CONCLUSIE/DISCUSSIE	34
5. SYMPTOMEN VAN AANGETASTE CYCLAMEN DOOR FUSARIUM, PHYTOPHTHORA EN ERWINIA	35
5.1 MATERIALEN EN METHODEN	35
5.2 RESULTATEN	35
5.3 CONCLUSIE/DISCUSSIE	38
6. INVLOED TEMPERATUUR OP DE AANTASTING	40
6.1 MATERIALEN EN METHODEN	41
6.1.1 Labproef	41
6.1.2 Kasproef	41
6.2 RESULTATEN	42
6.3 CONCLUSIE/DISCUSSIE	44
7. MINIMALE INFECTIEUZE EENHEDEN NODIG VOOR AANTASTING DOOR FUSARIUM, PHYTOPHTHORA EN ERWINIA	46

7.1	MATERIALEN EN METHODEN	46
7.2	RESULTATEN	46
7.3	CONCLUSIE/DISCUSSIE	48
8.	OVERLEVING PATHOGENEN	50
8.1	MATERIALEN EN METHODEN	50
8.2	RESULTATEN	52
8.3	CONCLUSIE/DISCUSSIE	54
9.	VERSPREIDING VAN FUSARIUM, PHYTOPHTHORA EN ERWINIA	56
9.1	MATERIALEN EN METHODEN	56
9.2	RESULTATEN	56
9.3	CONCLUSIE/DISCUSSIE	57
10.	ONTSMETTING/OVERLEVING VAN FUSARIUM, PHYTOPHTHORA EN ERWINIA	60
10.1	MATERIALEN EN METHODEN	60
10.2	RESULTATEN	61
10.3	CONCLUSIE/DISCUSSIE	63
11.	BESTRIJDING WORTELZIEKTEN CYCLAMEN	65
11.1	LITERATUURONDERZOEK BESTRIJDING	65
11.2	BIOLOGISCHE BESTRIJDING PRAKTIJK	68
11.2.1	Materialen en methoden	68
11.2.2	Resultaten	70
11.2.3	Conclusie/discussie	72
12.	EINDCONCLUSIE/DISCUSSIE	73
12.1	CONCLUSIES	73
12.2	MAATREGELEN OM VERSPREIDING EN INTRODUCTIE VAN WORTELZIEKTEN IN EB/VLOEDSYSTEMEN BEHEERSBAAR TE MAKEN	75
12.3	AANBEVELINGEN VERVOLGONDERZOEK	77
	LITERATUURLIJST	78
	BIJLAGEN	80

VOORWOORD

Het project is opgestart onder leiding van Albert Kerssies waarna Jos Wubben het heeft overgenomen. De programmaleider was Nico van Steekelenburg. De volgende projectmedewerkers hebben aan het project meegewerkt: Jan Amsing, Helma Verberkt, Jan Benninga, Nina Joosten, Aly Dalmeijer en Laxmi Kok. Gewasverzorging is uitgevoerd door Johan Meijvogel, Jacques van Zoest, Peter Schrama en Jules van Kerckhoven. Verder hebben Ineke Bosker en Conny Lanser geholpen als we in tijdnood zaten.

Twee maal per jaar is het verloop en zijn de resultaten van de onderdelen besproken met een begeleidingscommissie. In deze begeleidingscommissie hadden zitting: Arno Vollebregt, Bart Kuijer en Wil Jorink (zaadleveranciers en vermeerderers), Nico Zandvliet en Dion ten Have (telers van Cyclamen), Annemarie van Zaaijen en Jan Westerhof (Naktuinbouw). Vanuit het PBG waren de deelnemers: Nico van Steekelenburg (voorzitter), Albert Kerssies en later Jos Wubben (Projectleider), Abdullah Numansen, Helma Verberkt, Jan Amsing en Jan Benninga (projectmedewerkers), Nina Joosten, Aly Dalmeijer en Laxmi Kok (assistenten). Als agendalid was J. de Vries van Productschap Tuinbouw bij dit project betrokken. Ik wil hierbij Jos Wubben en Helma Verberkt bedanken voor hun positieve bijdragen aan het schrijven van dit rapport. Ook de overige begeleidingscommissieleden wil ik bedanken voor hun kritische opmerkingen tijdens de vergaderingen en het verloop van het project. Verder wil ik Jan Amsing bedanken voor zijn deskundige hulp bij de herkenning van de ziektesymptomen.

SAMENVATTING

In dit rapport wordt onderzoek beschreven van het driejarig project 1638 'Preventie en beheersing van wortelziekten in de teelt van Cyclamen'. De doelstelling van dit project was kennis te verzamelen over gedrag, herkenning, detectie, ontsmetting en bestrijding van de pathogenen die in een eb/vloedsysteem bij Cyclamen voor problemen zorgen.

Als eerste is er een inventarisatie in de literatuur en de praktijk gedaan naar de belangrijkste wortelpathogenen voor Cyclamen. Uit de inventarisatie kwamen de volgende wortelpathogenen van Cyclamen naar voren: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*, *Nectria radicola*, *Colletotrichum acutatum*, *Chalara elegans*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Erwinia chrysanthemi* en *Pythium*. *Phialophora fastigiata* en *Phytophthora capsici* waren bij de Plantenziektenkundige dienst (PD) ook geïsoleerd uit Cyclamen, maar niet zeker was of deze pathogenen de planten ziek konden maken. Volgens opgave van de verschillende onderzoeks- en voorlichtingsinstanties waren er enkele verschillen in de rangschikking van de pathogenen ten aanzien van de schade in de teelt. Dat was niet verwonderlijk omdat de verschillende instanties in verschillende fasen in het teeltproces van de Cyclamenteelt actief zijn.

Om te achterhalen welke de belangrijkste pathogenen zijn in de Cyclamenteelt, zijn infectieproeven uitgevoerd met negen verschillende pathogenen. Uit deze proeven kwamen drie belangrijke pathogenen naar voren. Deze waren: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*, *Phytophthora* en *Erwinia*. Uit de infectieproeven kwam naar voren dat het percentage aantasting hoger ligt bij plantinoculatie dan bij tankinoculatie. De kans op verspreiding was bij *Fusarium* het grootst, gevolgd door *Phytophthora* en het minst bij *Erwinia*. *Phytophthora* bleek een nieuw pathogeen te zijn voor Cyclamen. Bij *Erwinia* konden zowel *Erwinia chrysanthemi* als *Erwinia carotovora* Cyclamen aantasten. *Nectria radicola* is met name in een vroeg stadium in de opkweekfase een probleem. Aantasting door *Nectria* was alléén bij de geïnoculeerde planten mogelijk en bij grotere planten was de aantasting minimaal. *Colletotrichum acutatum* kon zowel via plantinoculatie als via tankinoculatie Cyclamen aantasten. Door zaadontsmetting en andere bestrijdingsmethoden is *C. acutatum* goed te bestrijden en geen probleem meer in de praktijk. Daarom was er geen verder onderzoek aan *C. acutatum* nodig. *Chalara elegans*, *Pythium* en *Phialophora fastigiata* konden de planten niet ziek maken.

Phytophthora en *Erwinia* werden verder onderzocht op twee verschillende inoculumdichtheden. Bij een hoge inoculumdichtheid werden meer planten ziek dan bij een lage inoculumdichtheid. Bij *Erwinia* was het verschil groter dan bij *Phytophthora*. Bij verhoging van de temperatuur bleek dat de aantasting door *Phytophthora* versneld verliep. In deze proef kwamen ook verschillen in aantasting van verschillende cultivars naar voren.

Phytophthora was tot op heden niet bekend als een pathogeen voor Cyclamen. Omdat *Phytophthora capsici* de Cyclamen wel kon aantasten, was het nodig om te weten of ook andere *Phytophthora*-soorten Cyclamen kunnen ziek maken. Daarvoor zijn verschillende *Phytophthora*-soorten bij Cyclamen geïnoculeerd. Hieruit bleek dat meerdere *Phytophthora*-soorten Cyclamen konden aantasten. *Phytophthora*-soorten uit andere waardplanten konden ook Cyclamen ziek maken.

Bij Phytophthora was er een verschil in aantasting geconstateerd tussen de F1-hybriden en de zaadvaste Cyclamen. De F1-hybriden werden sterker aangetast. Deze verschillen in aantasting kan een aantal oorzaken hebben. Gedacht wordt ondermeer aan verschillen in opkweek van het uitgangsmateriaal. De zaadvaste Cyclamen zijn biologisch bestreden, waardoor deze een bescherming met zich mee namen. Of het nu fysiologisch/biologisch of genetisch verklaard kan worden, moet verder worden onderzocht.

In dit rapport zijn de belangrijkste symptoomverschillen van de drie pathogenen vermeld. Hoewel deze symptoomverschillen de vaststelling van het pathogeen een heel eind op weg helpen, is het toch raadzaam om het pathogeen te laten isoleren uit de plant. Het hangt van het stadium van de infectie af of bepaalde karakteristieke kenmerken zichtbaar worden. Bij menginfecties is het heel moeilijk om onderscheid te maken. Daarom is het raadzaam om het pathogeen door een diagnostisch lab te laten isoleren.

Om de invloed van temperatuur op de aantasting te achterhalen zijn infectieproeven met Phytophthora en Erwinia bij verschillende temperaturen uitgevoerd. Fusarium was niet onderzocht omdat er al voldoende gegevens te halen waren uit de literatuur. Temperatuur was van invloed op de aantasting van Cyclamen. Bij Fusarium oxysporum f. sp. cyclaminis ligt de optimale temperatuurgroei bij 27,5°C en bij 5°C of lager is er geen groei meer. Bij Phytophthora capsici ligt de optimum-groeitemperatuur bij 30°C. Ook de optimumtemperatuur voor de aantasting ligt bij 30°C. De optimumgroei voor de sporangievorming ligt bij 25°C. Daardoor zal de verspreiding bij 25°C sneller plaatsvinden. Bij Erwinia is er geen duidelijke optimumtemperatuur voor de aantasting geconstateerd. Er vormt zich een plateau tussen 15°C en 27°C en bij hogere temperaturen is er meer aantasting.

Om te achterhalen bij welke minimale aantallen infectieuze eenheden de planten ziek worden door Fusarium, Phytophthora en Erwinia, zijn er bij Cyclamen verschillende inoculumdichtheden van Phytophthora en Erwinia geïnoculeerd. Van Fusarium was uit de literatuur informatie te halen. Bij Fusarium is bij 100 sporen/liter voedingsoplossing nog aantasting van Cyclamen gevonden. Bij Phytophthora ligt de grens voor aantasting tussen 10^3 en 10^4 zoösporen/liter en bij Erwinia tussen 10^6 en 10^7 bacteriën/liter.

De overleving van Fusarium, Phytophthora en Erwinia in de voedingsoplossing is tot 32 weken na bewaring van de verschillende micro-organismen onderzocht. Er vond een snelle afname plaats van de infectieuze eenheden in de tijd. Bij Phytophthora en Erwinia was dertien weken na bewaring weinig risico meer voor aantasting. Er werden bij Phytophthora vijftien weken na bewaring geen levende zoösporen meer gevonden. De voedingsoplossing werd regelmatig bij planten gegoten. Door Phytophthora was na acht weken geen aantasting meer en door Erwinia na twee weken. Dat geeft aan dat voor Erwinia grote aantallen bacteriën nodig zijn om Cyclamen ziek te maken.

Voor Fusarium daalden tot zeven weken na bewaring de infectieuze eenheden tot een concentratie van 2×10^5 sporen/liter. Deze aantallen bleven gedurende 32 weken van bewaring constant. Kennelijk zijn in de voedingsoplossing microchlamydosporen gevormd die heel lang kunnen overleven. De ondergrens voor aantasting van 100 sporen/liter voor Fusarium wordt gedurende de proef niet bereikt. De kans op aantasting van Cyclamen door Fusarium blijft dus heel lang aanwezig.

Voor Phytophthora en Erwinia is twee keer gekeken of hergebruik van een tank met infectieuze eenheden nog aantasting van Cyclamen gaf. De tijd tussen verwijdering van planten en opnieuw oppotten was drie weken en de Cyclamen werden bij hergebruik van de tankinhoud niet ziek.

Bij de ontsmetting van het teeltsysteem voor Phytophthora en Erwinia zijn geen problemen ondervonden. De ontsmetting kan hier goed gewerkt hebben of de drempel voor aantasting voor Phytophthora en Erwinia is zo hoog dat als er niet voldoende werd ontsmet, de planten toch niet ziek konden worden.

De ontsmetting van Fusarium is moeizaam gebleken. Ontsmetting werd onderzocht door zes tafels te ontsmetten met chloor en daarop weer gezonde planten te plaatsen. Drie van de tafels werden één keer ontsmet en de andere drie werden twee keer ontsmet. Bij beide behandelingen vond aantasting door Fusarium plaats. Bij de twee keer ontsmette tafels begon de aantasting vijf weken later. Hogere concentraties van de ontsmettingsmiddelen en langere inwerktijden verminderen de kans op overleving, maar hebben niet afdoende gewerkt. De aantasting van de planten verliep langzamer (20 weken), maar de planten werden daarna toch ziek.

Om biologische bestrijding te onderzoeken is er een literatuurstudie verricht en zijn vier biologische bestrijdingsmiddelen onderzocht. In de literatuur zijn voor Fusarium, Phytophthora en Erwinia artikelen gevonden waarbij reductie van aantasting is gevonden. Deze worden in hoofdstuk 11 beschreven.

De vier geteste biologische middelen hebben niet goed gewerkt. De verhouding pathogeen ten opzichte van de bestrijder was waarschijnlijk te hoog. Als de verhouding te hoog is geeft dat weinig bestrijding. Het tijdstip van toediening en effectiviteit van het middel is belangrijk. Er is meer onderzoek nodig om goede middelen te vinden. De goede middelen zijn niet of nauwelijks beschikbaar.

Mede aan de hand van de resultaten beschreven in dit rapport en verkregen uit het boek 'Herkennen van ziekten en plagen in Cyclamen (Verberkt et al, 1997)' is door Het PBG een checklist en een handboek gemaakt. Het handboek geeft een duidelijke beschrijving van alle relevante zaken die in de Cyclamenteelt voorkomen. De checklist wordt gebruikt om de oorzaak van de problemen die in een Cyclamenteelt kunnen voorkomen, te vinden. De checklist, het handboek en dit rapport kunnen elkaar goed aanvullen bij de oplossing van de problemen die ontstaan in de Cyclamenteelt.

Trefwoorden

Cyclamen; wortelziekten; wortelpathogenen; pathogenen; bacteriën; schimmels; Fusarium oxysporum f.sp. cyclaminis; Nectria radicicola; Chalara elegans; Colletotrichum acutatum; Pythium spp.; Phytophthora capsici; Erwinia carotovora subsp. carotovora; Erwinia chrysanthemi, Phialophora fastigiata.

1. INLEIDING EN DOEL

1.1 INLEIDING

De scherpere milieu-eisen van de laatste jaren heeft veel Cyclamentelers doen besluiten over te gaan naar gesloten teeltsystemen met recirculerende voedingsoplossing. Deze overgang brengt voordelen met zich mee, maar ook nadelen. De voordelen zijn dat geen verlies van nutriënten meer optreedt. Een belangrijke naddeel van gesloten teeltsystemen is echter dat door hergebruik van de voedingsoplossing het risico van verspreiding van ziekten groter wordt. Met name wortelpathogenen, waarvan een aantal gemakkelijk verspreid worden via de voedingsoplossing, spelen daarbij een belangrijke rol.

Wortelpathogenen kunnen door allerlei oorzaken in het teeltsysteem worden geïntroduceerd en verspreid. Introductie van wortelpathogenen kan onder meer plaatsvinden door zaad, plantmateriaal, mensen, potgrond en fust. Als een pathogeen zich eenmaal in een gesloten teeltsysteem bevindt, kan het zich bij planten vermeerderen en verder verspreiden naar andere planten. Verspreiding kan onder andere plaatsvinden door teelthandelingen, spatwater, insecten en voedingsoplossing. De schade door deze verspreiding kan aanzienlijk zijn.

Om meer inzicht te verkrijgen over de verschillende wortelpathogenen bij Cyclamen is vanaf 1 maart 1997 een driejarig project gestart met de titel: **'Preventie en beheersing van wortelziekten in de teelt van Cyclamen'**. De teelt van Cyclamen wordt bedreigd door verschillende schimmels en bacteriën.

De belangrijkste bodemschimmels in de Cyclamenteelt zijn:

- *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*
- *Phytophthora capsici*
- *Nectria radicola* (*Cylindrocarpon destructans*)
- *Colletotrichum acutatum* (*Gloeosporium cyclaminis*)
- *Chalara elegans* (*Thielaviopsis basicola*)
- *Phialophora fastigiata*
- *Pythium* spp.

De belangrijkste bacteriën die bacterieknolrot veroorzaken zijn:

- *Erwinia chrysanthemi*
- *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*

Het is in eerste instantie belangrijk te inventariseren welke organismen tijdens welke fase in het teeltproces de grootste bedreiging vormen. Deze inventarisatie heeft plaats gevonden door middel van een literatuurstudie en een inventarisatie in de praktijk. Middels een vergelijkend onderzoek tussen de verschillende pathogenen is inzicht verkregen in het belang van de verschillende wortelpathogenen van Cyclamen. Hierna zijn diverse onderzoeken verricht om te komen tot preventie en beheersing van wortelziekten in de teelt van Cyclamen.

In de volgende hoofdstukken van dit rapport worden de verschillende resultaten van de onderzoeken beschreven.

In hoofdstuk 2 wordt de inventarisatie beschreven welke is uitgevoerd om inzicht te krijgen in het belang van de verschillende wortelpathogenen. Daaropvolgend wordt in hoofdstuk 3 het effect van inoculumdichtheid van *Phytophthora* en *Erwinia* op de aantasting beschreven. Omdat *Phytophthora* een nieuw pathogeen is van Cyclamen, worden in hoofdstuk 4 verschillende *Phytophthora*-soorten onderzocht. Hoofdstuk 5 beschrijft de symptomen van aantasting van de belangrijkste wortelpathogenen. Hoofdstuk 6 gaat over de invloed van temperatuur op de aantasting door de belangrijkste wortelpathogenen. In hoofdstuk 7 wordt het onderzoek beschreven waarbij gekeken is naar de minimale hoeveelheid sporen die nodig is voor de aantasting. Hierbij is de overleving van de pathogenen van belang, hetgeen in hoofdstuk 8 wordt beschreven. Verder wordt verspreiding in hoofdstuk 9 en ontsmetting van teeltsystemen in hoofdstuk 10 beschreven. Daaropvolgend wordt bestrijding in hoofdstuk 11 beschreven.

Delen van het in dit verslag beschreven onderzoek zijn reeds eerder gepubliceerd. Inventarisatie van de belangrijkste wortelpathogenen in de literatuur en in de praktijk is in een rapport verschenen (Numansen, 1998). Verder zijn er twee artikelen geschreven in het Vakblad voor de Bloemisterij (Numansen, et al, 1998 en Numansen, 2000). Als onderdelen van dit project zijn een checklist en handboek opgesteld. Aan de hand hiervan kan een Cyclamenteler risico's voor optreden en verspreiden van wortel pathogenen bij Cyclamen tot een minimum beperken.

Mede aan de hand van de resultaten beschreven in dit rapport en verkregen uit het boek 'Herkennen van ziekten en plagen in Cyclamen (Verberkt et al, 1997)' is door Het PBG een checklist en een handboek gemaakt. Het handboek geeft een duidelijke beschrijving van alle relevante zaken die in de Cyclamenteelt voorkomen. De checklist wordt gebruikt om de oorzaak van de problemen die in een Cyclamenteelt kunnen voorkomen, te vinden. De checklist, het handboek en dit rapport kunnen elkaar goed aanvullen bij de oplossing van de problemen die ontstaan in de Cyclamenteelt.

1.2 DOEL VAN HET PROJECT

De doelstelling van dit project is kennis te verzamelen over gedrag, herkenning, detectie, ontsmetting en bestrijding van de pathogenen die in een eb/vloedsysteem bij Cyclamen voor problemen zorgen. Door het opstellen van een checklist en een handboek met een risico-analyse kunnen de telers worden geholpen bij de vaststelling van het probleem.

2. INVENTARISATIE BELANGRIJKSTE WORTELPATHOGENEN

Om inzicht te krijgen in de problematiek van de wortelpathogenen van Cyclamen, is een inventarisatie uitgevoerd naar deze pathogenen in de literatuur en in de praktijk. Deze inventarisatie wordt in paragraaf 2.1 en in een eerder verschenen rapport (Numansen, 1998) uitvoerig behandeld. Aan de hand van deze inventarisatie is middels infectieproeven onderzocht welke wortelpathogenen bij Cyclamen het meest van belang zijn. De infectieproef wordt herhaald om de invloed van het seizoen te onderzoeken. Deze proeven worden in paragraaf 2.2 en 2.3 besproken.

2.1 INVENTARISATIE LITERATUURONDERZOEK EN PRAKTIJK

2.1.1 Inventarisatie literatuuronderzoek

Aan de hand van diverse verschenen publicaties, is het mogelijk belang van de verschillende wortelpathogenen bij Cyclamen in kaart gebracht. Volgens Westerhof zijn de belangrijkste pathogenen van Cyclamen *Cylindrocarpon*, *Colletotrichum* en *Fusarium* (Westerhof, 1993 en 1994). Volgens Corts en Didden zijn de belangrijkste pathogenen van Cyclamen *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*, *Nectria radicicola*, *Chalara elegans* en *Colletotrichum acutatum* (Corts en Didden, 1993). In een brief van de Landelijke Cyclamencommissie NTS van 1 december 1993, gericht aan het Proefstation wordt vermeld dat bacterieknolrot een belangrijke veroorzaker is voor de uitval bij Cyclamen (Anonymous, 1993).

Om een indruk te krijgen wat het belang van de verschillende pathogenen is, is het aantal internationale artikelen over pathogenen van Cyclamen geteld. Dit bleek 106 te zijn. Deze aantallen zijn omgezet in percentages ten opzichte van het totaal aantal publicaties over wortelpathogenen bij Cyclamen: *Fusarium* 54%, *Nectria* 11%, *Colletotrichum* 13%, *Chalara* 11%, *Erwinia* 2% en *Pythium* 2%. Hieruit blijkt dat *Fusarium oxysporum* f.sp. *cyclaminis* één van de belangrijkste pathogenen is waarover veel gepubliceerd is.

2.1.2 Inventarisatie praktijk

Er is een inventarisatie gedaan bij de Plantenziektenkundige Dienst (PD), De Landbouw Voorlichting (DLV) en Nederlandse Algemene Keuringsdienst voor Bloemisterij- en Boomkwekerijgewassen (NAKB) om te achterhalen welke pathogenen in de praktijk de belangrijkste zijn. De pathogenen zijn uitvoerig besproken met de verschillende instanties en door iedere instantie is aangegeven welke pathogenen volgens hen de meeste problemen geven. De volgorde van de belangrijkste pathogenen volgens de diverse instanties wordt in Tabel 1 weergegeven. Zoals te zien zijn er enkele verschillen in de rangschikking van de pathogenen ten aanzien van de schade in de teelt.

Tabel 1 - Volgorde van belangrijkheid volgens diverse instanties

PATHOGEEN	PD	DLV	Naktuinbouw
Fusarium	1	3	1
Nectria	2	1	2
Colletotrichum	4	5	3
Chalara		4	4
Erwinia carotovora	3	2	5
Erwinia chrysanthemi	3	2	5
Pythium		6	6

Naast het inventariseren van de belangrijkste wortelpathogenen zijn er isolaten verzameld die uit Cyclamen zijn geïsoleerd. De meeste isolaten zijn verkregen van de PD en Naktuinbouw (voorheen NAKB). Naast de isolaten die genoemd zijn in Tabel 1, waren er bij de PD ook isolaten beschikbaar van *Phytophthora capsici* en *Phialophora fastigiata*.

2.1.3 Conclusie/discussie

Uit Tabel 1 blijkt dat er enkele verschillen zijn over welke pathogenen volgens de verschillende instanties de meeste problemen geven. Dit is niet verwonderlijk omdat de diverse instanties in verschillende fasen in het teeltproces van de Cyclamenteelt actief zijn. Het belang van de verschillende pathogenen moet met infectieproeven worden bepaald. De volgende pathogenen zijn voor de uitvoering van de infectieproeven gewenst.

- *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*
- *Nectria radicicola*
- *Colletotrichum acutatum*
- *Chalara elegans*
- *Pythium* spp.
- *Erwinia chrysanthemi*
- *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*

Afhankelijk van de ruimte en technische mogelijkheden worden ook *Phytophthora capsici* en *Phialophora fastigiata* meegenomen in de infectieproeven.

2.2 ONDERZOEK DOOR MIDDEL VAN INFECTIEPROEVEN IN DE ZOMER

Aan de hand van praktijkgegevens en een literatuurstudie is een lijst opgesteld voor de bodempathogenen waarvan bekend is dat deze in de teelt van Cyclamen uitval kunnen veroorzaken. Het economische belang van de verschillende bodempathogenen hangt onder meer samen met het voorkomen van deze ziekteverwekker in de praktijk en het vermogen om Cyclamen ziek te maken. In een vergelijkend onderzoek is met name dit laatste onderdeel bestudeerd. De uitvoering van deze proef en de resultaten worden in deze paragraaf behandeld.

In dit hoofdstuk worden hoge aantallen bacteriën besproken. Daarom wordt hieronder uitgelegd wat men zich moet voorstellen bij deze hoge aantallen bacteriën. Wat is nu een bacterie-concentratie van 10^7 bacteriën/liter? Pure bacteriën die op

een voedingsbodem zijn gegroeid bereiken een concentratie van 10^{10} bacteriën/ml. dit zijn 10.000.000.000 bacteriën per ml. Gaat daarvan een druppel (= 50 µl) over op een andere tafel dan bevat die druppel 5×10^8 bacteriën. Als deze druppel in 50 liter belandt, ontstaat een concentratie van 10^7 bacteriën/liter. Dus één druppel van het pure bacterie-oplossing kan in 50 liter voedingsoplossing voor aantasting van Cyclamen zorgen.

2.2.1 Materialen en methoden

Voor deze proef zijn negen organismen gebruikt. De Cyclamen zijn met deze wortelpathogenen op twee manieren geïnoculeerd, namelijk door ze in het hart van de plant en in de voedingsoplossing te gieten. Bij de plantinoculatie zijn negen (20%) van de 45 planten geïnoculeerd. Bij de tankinoculatie zijn de pathogenen in de tank gegoten en hebben de tafels dezelfde dag een vloedbeurt gekregen.

Omdat van *Phytophthora capsici* en *Pythium splendens* geen zoösporen konden worden verkregen, zijn er schalen van twee weken oud mycelium fijn gemalen met een mixer en vermengd met water. Deze suspensie is toegevoegd aan de planten of in de tank gegoten. De andere pathogenen konden wel sporen vormen. Deze sporen zijn verzameld, geteld en verdund tot de juiste hoeveelheid zoals vermeld in Tabel 2 en toegevoegd aan de planten of in de tank gegoten.

Samengevat zijn er negen pathogenen en twee inoculatiemethoden. Verder is één behandeling als controle meegenomen waarmee er in totaal $9 \times 2 + 1 = 19$ behandelingen uitgevoerd zijn. Iedere behandeling is in drie herhalingen uitgezet, behalve voor de pathogenen *Phytophthora capsici*, *Phialophora fastigiata* en *Pythium splendens*. Deze zijn voor de tankinoculatie in twee herhalingen en voor de plantinoculatie in één herhaling uitgezet. Deze keuze is genomen omdat niet verwacht werd dat deze drie pathogenen de planten zouden aantasten.

De verschillende pathogenen en de inoculumdichtheid worden in Tabel 2 weergegeven.

Tabel 2 - De hoeveelheid sporen of schalen van elk pathogeen die zijn toegevoegd aan de planten of in de tank

Isolaat	Pathogeen	aantal sporen per plant (50 ml)	aantal sporen per liter in tank
NAKB 96/C341	<i>F. oxysporum</i> f.sp. cyclaminis	1,00E+06	1,00E+06
NAKB 94/232	<i>Colletotrichum acutatum</i>	1,00E+06	1,00E+06
NAKB 93/196	<i>Nectria radicola</i>	1,00E+06	1,00E+06
NAKB 95	<i>Chalara elegans</i>	1,00E+06	1,00E+06
PD 93/74	<i>Phialophora fastigiata</i>	1,00E+06	1,00E+06
PD 593	<i>Erwinia chrysanthemi</i>	1,00E+08	3,43E+07
NAKB 96/91	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	1,00E+08	4,62E+07
		aantal schalen per plant (50 ml)	aantal schalen per liter in tank
PD 96/12146	<i>Phytophthora capsici</i>	0,6	0,1
PD 96/6081	<i>Pythium splendens</i>	0,6	0,1

De infectieproef is uitgevoerd in de kassen L202 en L302 op het PBG-Aalsmeer. Deze bevatten elk 24 eb/vloedtafels met een oppervlak van 2 m² en een tankinhoud van 300 liter. Voor aanvang van de proef zijn de kassen en tafels ontsmet met 0,2% actief chloor met een inwerktijd van 5 minuten. Op elke tafel zijn 45 planten in rijen van 5x9 gezet. Van deze planten zijn 20 planten (rijen van 5x4) van de cultivar 'Rondo L. Scharlaken' (F1) en 25 planten (rijen van 5x5) van de cultivar 'Midi Super serie' (zaadvast). Van de F1 zijn vier planten geïnoculeerd en van de zaadvaste vijf planten per tafel. De planten zijn opgepot in rode potten met een diameter van 12 cm en een volume van 0,8 liter. De grondsoort is Flus fijn, 85% turfstrooisel en 15% perlite.

Hieronder worden de belangrijkste teelt- en behandelingsfactoren opgesomd.

Proefperiode	9-6-1997 t/m 29-9-1997 week 24-40 1997 (13 weken)
Oppotdatum	9-6-1997; week 24
Inoculatie datum	3-7-1997; week 27
Einde proef	29-9-1997; week 40
Kasluchttemperatuur	Eerste 2 weken 17°C dag en nacht en daarna 15°C
Luchtvochtigheid	Vernevelen onder de 70%
Schermen	Eerste 2 weken boven de 350W/m ² en daarna boven de 600W/m ² ; licht krijten op dek.
Watergift	Eerste 2 weken één tot twee keer per week en daarna naar behoefte

Er is beoordeeld op het aantal zieke planten. Dit werd iedere week op dezelfde dag gedaan. De planten zijn dertien weken vanaf de inoculatie gevolgd.

2.2.2 Resultaten

Het aantal planten dat niet geïnoculeerd is bij de plantinoculatie maar wel aangetast, is een maat voor de verspreiding. Hoewel tankinoculatie ook een maat voor de verspreiding is, is daarvoor niet gekozen omdat het meestal van de hoeveelheid inoculum afhangt of de planten ziek worden. Verspreiding vanuit een aangetaste plant benadert de praktijk het meest.

Het gemiddelde percentage van de aangetaste planten bij de tankinoculatie is voor iedere week berekend. Daarna is bij de plantinoculatie het gemiddelde percentage van de aangetaste planten berekend. Van de verspreiding is ook het gemiddelde berekend. Bij elk pathogeen waar aantasting was opgetreden, zijn de resultaten van de tankinoculatie, plantinoculatie en de verspreiding in Figuur 1 weergegeven. Bij *Nectria radicicola*, *Chalara elegans*, *Phialophora fastigiata* en *Pythium splendens* zijn de planten niet ziek geworden. Wel zijn er planten aangetast op de *Pythium*-tafels door *Colletotrichum acutatum*.

Fusarium oxysporum f. sp. *cyclaminis* gaf het hoogste aantastingpercentage en de meeste verspreiding (Figuur 1A). De tank- en plantgeïnoculeerde Cyclamen vertoonden vijf weken na inoculatie de eerste symptomen van aantasting en twaalf weken na inoculatie waren alle planten ziek. De verspreiding begon acht weken na inoculatie en dertien weken na inoculatie was 57% van de planten aangetast.

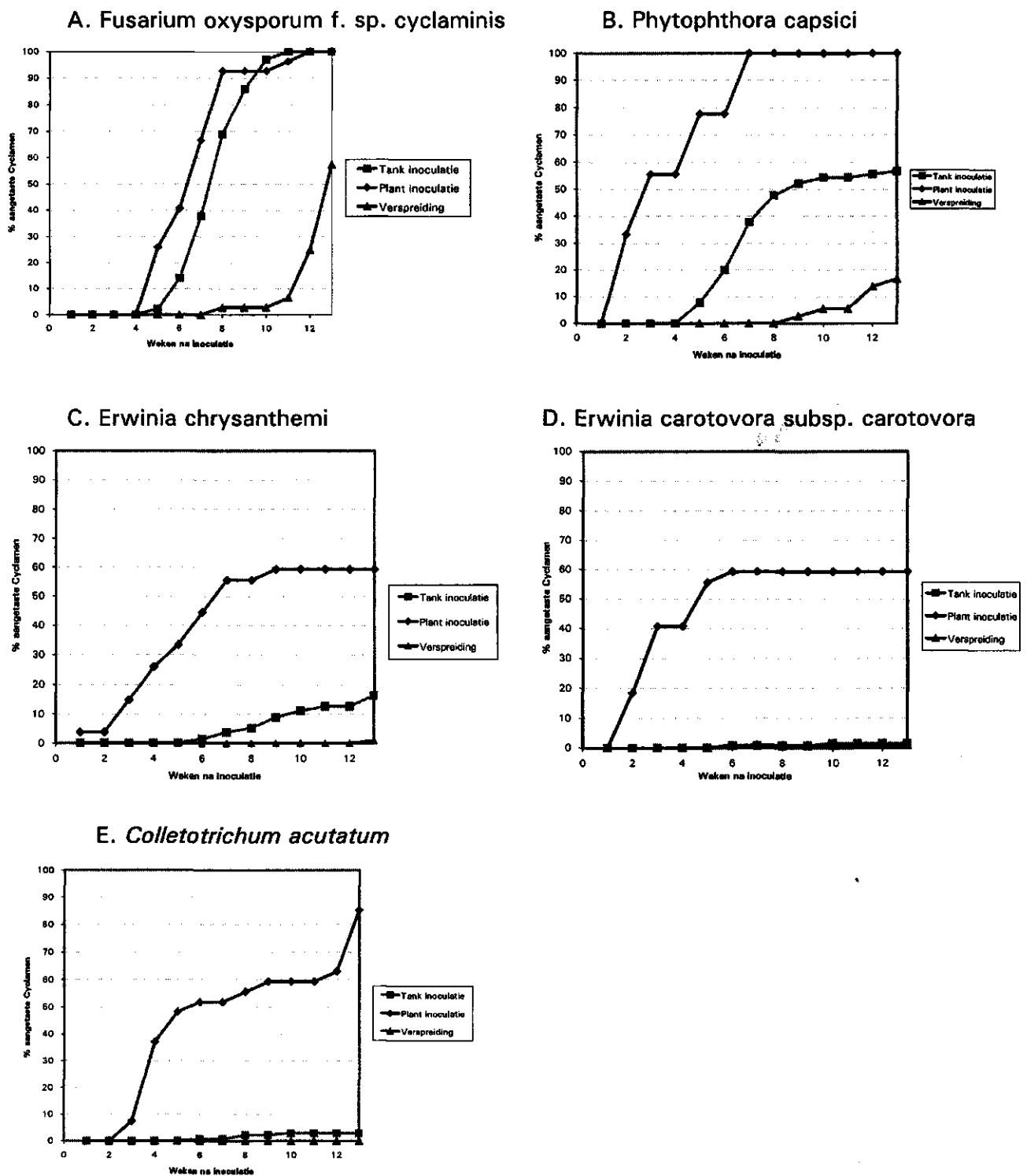
Op de tweede plaats kwam *Phytophthora capsici* (Figuur 1B). Bij de tankinoculatie waren de eerste symptomen vijf weken na inoculatie zichtbaar en dertien weken na inoculatie was 57% van de planten ziek. Bij de plantinoculatie waren de eerste symptomen twee weken na inoculatie zichtbaar en zeven weken na inoculatie wa-

ren alle geïnoculeerde planten ziek. De verspreiding begon negen weken na inoculatie en dertien weken na inoculatie was 17% van de planten ziek geworden.

Op de derde plaats kwam *Erwinia chrysanthemi* (Figuur 1C). Bij de tankinoculatie waren de eerste symptomen zes weken na inoculatie zichtbaar en dertien weken na inoculatie was 16% van de planten ziek. Bij de plantinoculatie waren de eerste symptomen één week na inoculatie zichtbaar en dertien weken na inoculatie was 59% van de geïnoculeerde planten aangetast. Er was nauwelijks verspreiding. Bij dertien weken na inoculatie was 1% van de planten ziek geworden.

Op de vierde plaats kwam *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Figuur 1D). Bij de tankinoculatie was van zes tot dertien weken na inoculatie slechts 1% van de planten ziek. Bij de plantinoculatie waren de eerste symptomen twee weken na inoculatie zichtbaar en dertien weken na inoculatie was 59% van de planten aangetast. Er was nauwelijks verspreiding. Bij zes tot dertien weken na inoculatie was slechts 1% van de planten ziek geworden.

Op de vijfde plaats kwam *Colletotrichum acutatum* (Figuur 1E). Bij de tankinoculatie begon de aantasting zes weken na inoculatie en dertien weken na inoculatie was slechts 3% van de planten ziek. Bij de plantinoculatie waren de eerste symptomen drie weken na inoculatie zichtbaar en dertien weken na inoculatie was 85% van de planten aangetast. Er was helemaal geen verspreiding opgetreden.



Figuur 1. Aantasting door *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* (A), *Phytophthora capsici* (B), *Erwinia chrysanthemi* (C), *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (D) en *Colletotrichum acutatum* (E) bij Cyclamen, waarbij het percentage aantasting bij de tankinoculatie(■), plantinoculatie(◆) en verspreiding vanuit aangetaste planten(▲) wordt weergegeven.

2.2.3 Conclusie/discussie

De percentages aangetaste Cyclamen voor de verschillende pathogenen bij de tankinoculatie, plantinoculatie en verspreiding vanuit de plant, dertien weken na inoculatie, zijn in Tabel 3 samengevat. Uit deze eerste proef kan de volgorde van belang van de pathogenen bepaald worden. Hierbij is verspreiding vanuit de geïnoculeerde planten als eerste criterium gebruikt. Daarna de tankinoculatie en als laatste de plantinoculatie.

Tabel 3 - Percentages aangetaste Cyclamen door de verschillende pathogenen bij de verspreiding vanuit plant, tankinoculatie en plantinoculatie, dertien weken na inoculatie

Rangnummer	Pathogeen	Tank	Plant	Verspreiding plant
1	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cyclaminis</i>	100%	100%	57%
2	<i>Phytophthora capsici</i>	57%	100%	17%
3	<i>Erwinia chrysanthemi</i>	16%	59%	1%
4	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	1%	59%	1%
5	<i>Colletotrichum acutatum</i>	3%	85%	0%

Het is gebleken dat *Fusarium* de belangrijkste ziekteverwekker is. Alle planten die zijn geïnoculeerd worden aangetast en de verspreiding is ook zeer hoog. Dat was door Stelder eerder onderzocht (Stelder, 1994).

Phytophthora capsici blijkt verrassend op de tweede plaats te komen. Deze ziekteverwekker wordt in de praktijk niet als probleem ervaren. De symptomen van aantasting zijn gemakkelijk te verwarren met andere pathogenen, waardoor het mogelijk is dat *P. capsici* wel een probleem is, maar tot heden onder een andere noemer wordt geschaard. Omdat in het begin niet verwacht werd dat *Phytophthora* de planten zou aantasten, zijn ook weinig tafels gebruikt voor dit pathogeen. De resultaten van deze proef laten zien dat *P. capsici* wel degelijk van belang is en dat verder onderzoek noodzakelijk is.

Omdat bij *Erwinia chrysanthemi* ook via de tank besmetting plaats vindt, wordt deze bacterie verder onderzocht. *Colletotrichum acutatum* is geen probleem, want er zijn goede bestrijdingsmogelijkheden tegen deze schimmel.

Nectria radicola, *Phialophora fastigiata*, *Pythium splendens*, en *Chalara* tasten de planten niet aan. Dit kan een aantal oorzaken hebben. Het zijn of geen belangrijke pathogenen of de juiste isolaten zijn niet gebruikt. Om erachter te komen welke oorzaak de juiste is, moet er naar andere isolaten worden gezocht en deze dienen in de herhaling te worden gebruikt.

Deze proef is uitgevoerd in de zomer. Daarin konden de ingestelde temperaturen van 15°C 's nachts en 17°C overdag niet gehandhaafd worden. Er werden gemiddelde weektemperaturen bereikt van 24°C met pieken overdag rond 30°C. Deze hoge temperaturen hebben invloed op de snelheid van aantasting. Het is daarom nodig om de proef te herhalen in een periode waarbij de ingestelde temperaturen wel te handhaven zijn (herfst en winter).

2.3 ONDERZOEK DOOR MIDDEL VAN INFECTIEPROEF IN HET NAJAAR EN DE WINTER

De vorige proef was uitgevoerd in de zomer in de maanden juni tot oktober. Dat zijn periodes geweest waarbij de klimaatinstelling niet te handhaven was. Daarom is de proef nogmaals uitgevoerd in een andere periode namelijk oktober tot maart. De herfst en de winter zijn periodes waarbij de temperatuur wel goed in de hand te houden is. Om bacterieknolrot te bestuderen, moest iets eerder (in augustus) met deze proef worden gestart. Periodes met relatief hoge temperaturen en relatieve luchtvochtigheden komen met name in augustus en september (zwoele nachten) voor. Echter in oktober, november en december kan de relatieve luchtvochtigheid ook hoog zijn. Dit zou met name bacterieknolrot in de hand werken. Omdat de kassen pas in oktober vrij waren, kon de proef niet eerder gestart worden. In deze paragraaf worden de resultaten van deze proef besproken.

2.3.1 Materialen en methoden

Er zijn in deze proef een aantal wijzigingen voor teelt en behandelingsfactoren ten opzichte van de eerste proef doorgevoerd.

Voor *Fusarium* zijn in deze proef geen nieuwe inoculaties uitgevoerd. De tafels die bij de vorige proef door plantinoculatie met *Fusarium* besmet zijn, zijn voorafgaande aan deze proef één keer ontsmet met 0,2% actief chloor en een inwerktijd van 10 minuten. De planten die op deze tafels gezet werden, werden niet verder besmet zodat het effect van de ontsmetting bestudeerd kon worden.

Omdat bij de eerste proef maar drie tafels gebruikt zijn voor *Phytophthora capsici*, zijn nu de andere drie tafels van *Fusarium* voor *Phytophthora* gebruikt. De tafels van *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* bij de tank zijn twee keer ontsmet en voor *Phytophthora capsici*-plantinoculatie gebruikt. Eén tafel van *Phytophthora*-plantinoculatie van de vorige proef is voor *Phytophthora* tankinoculatie gebruikt. Bij *Nectria* en *Chalara* zijn de planten in de eerste proef niet aangetast. Waarschijnlijk is *Nectria* bij heel jonge planten een probleem. Bij opotbare planten is het geen probleem. *Chalara elegans* is waarschijnlijk een zwakteparasiet. Omdat sommige isolaten agressiever zijn dan andere, zijn in de volgende proef andere isolaten meegenomen. De isolaatnummer voor *Nectria* is dan PD 91/921 en voor *Chalara* NAKB 93/219. Van *Pythium* en *Phialophora fastigiata* konden geen andere isolaten verkregen worden. Daarom zijn deze hetzelfde gebleven.

Voor deze proef zijn acht organismen gebruikt. De Cyclamen zijn met deze wortelpathogenen op twee manieren geïnoculeerd, namelijk door ze in het hart van de plant en in de tank met voedingsoplossing te gieten. Bij de plantinoculatie zijn negen (20%) van de 45 planten geïnoculeerd. Bij de tankinoculatie zijn de pathogenen in de tank gegoten en hebben de tafels dezelfde dag een vloedbeurt gekregen. Omdat van *Phytophthora capsici* en *Pythium splendens* geen zoösporen konden worden verkregen, zijn er schalen van twee weken oud mycelium fijn gemalen met een mixer en vermengd met water. Deze suspensie is toegevoegd aan de planten of in de tank gegoten. De andere pathogenen konden wel sporen vormen. Deze sporen zijn verzameld, geteld en verdund tot de juiste hoeveelheid zoals vermeld in Tabel 4 en toegevoegd aan de planten of in de tank gegoten.

Samengevat zijn er acht pathogenen en twee inoculatiemethoden. Om het effect van ontsmetting te testen zijn drie tafels die in de vorige proef voor plantinoculatie van *Fusarium* waren gebruikt deze keer voor ontsmetting gebruikt. Verder is één behandeling als controle meegenomen waarmee er in totaal 19 behandelingen uitge-

voerd zijn. Iedere behandeling is in drie herhalingen uitgezet, behalve voor *Phialophora fastigiata* en *Pythium splendens*. Deze zijn voor de tankinoculatie in twee herhalingen en voor de plantinoculatie in één herhaling uitgezet. Deze keuze is genomen omdat niet verwacht werd dat deze twee pathogenen de planten zouden aantasten.

De verschillende pathogenen en de inoculumdichtheid worden in Tabel 4 weergegeven.

Tabel 4 - De hoeveelheid sporen of schalen van elk pathogeen die zijn toegevoegd aan de planten of in de tank

Isolaat	Pathogeen	aantal sporen per plant (50 ml)	aantal sporen per liter in tank
NAKB 96/C341	F. oxysporum f.sp. cyclaminis	zeer laag na ont-smetting	zeer laag na ont-smetting
NAKB 94/232	Colletotrichum acutatum	1,00E + 06	1,00E + 06
PD 91/921	Nectria radicicola	1,00E + 06	1,00E + 06
NAKB 93/219	Chalara elegans	1,00E + 06	1,00E + 06
PD 93/74	Phialophora fastigiata	1,00E + 06	1,00E + 06
PD 593	Erwinia chrysanthemi	1,00E + 08	3,43E + 07
NAKB 96/91	Erwinia carotovora subsp. carotovora	1,00E + 08	4,62E + 07
		aantal schalen per plant (50 ml)	aantal schalen per liter in tank
PD 96/12146	Phytophthora capsici	0,6	0,1
PD 96/6081	Pythium splendens	0,6	0,1

De infectieproef is uitgevoerd in de kassen L202 en L302 op het PBG-Aalsmeer. Deze bevatten elk 24 eb/vloedtafels met een oppervlak van 2 m² en een tankinhoud van 300 liter. Voor aanvang van de proef zijn de kassen en tafels ontsmet met 0,2% actief chloor met een inwerktijd van 10 minuten. De tafels voor Phytophthora plantinoculatie zijn twee keer ontsmet, omdat deze in de vorige proef voor Fusarium waren gebruikt. Op elke tafel zijn 45 planten in rijen van 5x9 gezet. Van deze planten zijn 28 planten van de cultivar 'Rondo wit met oog' (F1) en 17 planten van de cultivar 'Concerto rose Figaro' (F1). De twee cultivars zijn in rijen van vijf om en om geplaatst. De planten zijn opgepot in rode potten met een diameter van 12 cm en een volume van 0,8 liter. De grondsoort is Flus fijn, 85% turfstrooisel en 15% perlite.

In onderstaand overzicht zijn de belangrijkste teelt- en behandelingsfactoren opgenomen. Alleen de verschillen met de eerste proef worden vermeld.

Proefperiode	08/10/1997 t/m 30/03/1998; week 41-1997 tot week 14 1998
Oppotdatum	08/10/1997; week 41
Inoculatie datum	10/10/1997; week 41
Temperatuur	10-02-1998: 19 weken na inoculatie:
verhoging	In kas L202 is de temperatuur verhoogd van 17°C naar 24°C
Einde proef	30/03/1998; week 14
Plantmateriaal	Cyclamencultivars: 'Rondo wit met oog' en 'Concerto rose Figaro'
Ontsmetting	0,2 % actief chloor 10 minuten

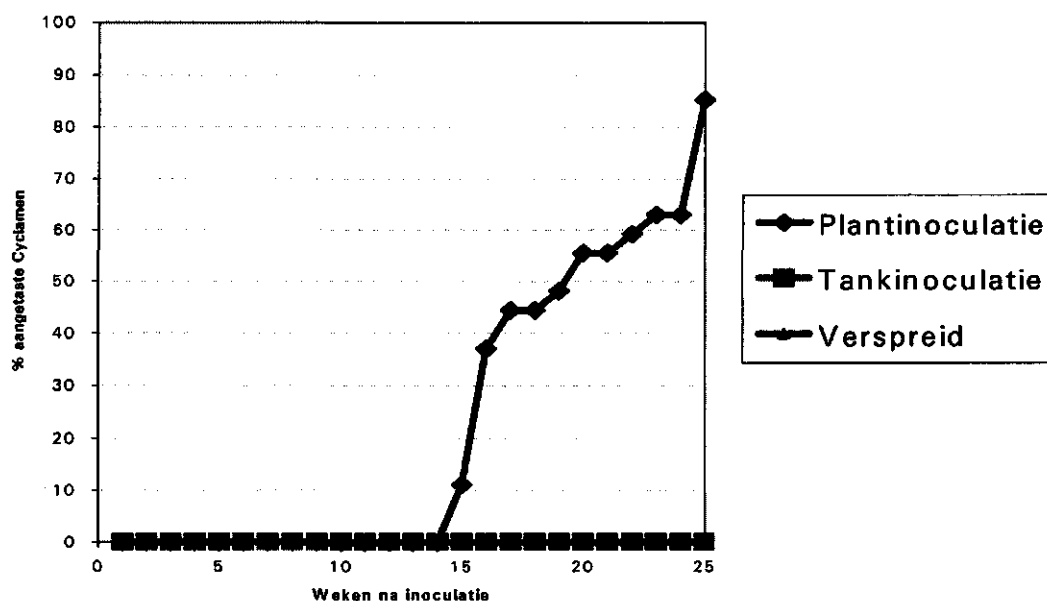
Er is beoordeeld op het aantal zieke planten. Dit werd iedere week op dezelfde dag gedaan. De planten zijn 25 weken vanaf de inoculatie gevolgd.

2.3.2 Resultaten

Het gemiddelde percentage van de aangetaste planten bij de tankinoculatie is voor iedere week berekend. Daarna is bij de plantinoculatie het gemiddelde percentage van de aangetaste planten berekend. Het aantal planten dat niet geïnoculeerd is maar wel aangetast, is een maat voor de verspreiding. Van de verspreiding is ook het gemiddelde berekend. Bij elk pathogeen waar aantasting was opgetreden, zijn de resultaten van de tankinoculatie, plantinoculatie en de verspreiding in Tabel 5 weergegeven. Bij *Chalara elegans*, *Phialophora fastigiata* en *Pythium splendens* zijn de planten niet ziek geworden. Voor *Nectria radiculicola* zijn alleen de geïnoculeerde planten ziek geworden (Figuur 2). De aantasting voor *Nectria* is 15 weken na inoculatie begonnen en 25 weken na inoculatie was 85% van de geïnoculeerde planten ziek.

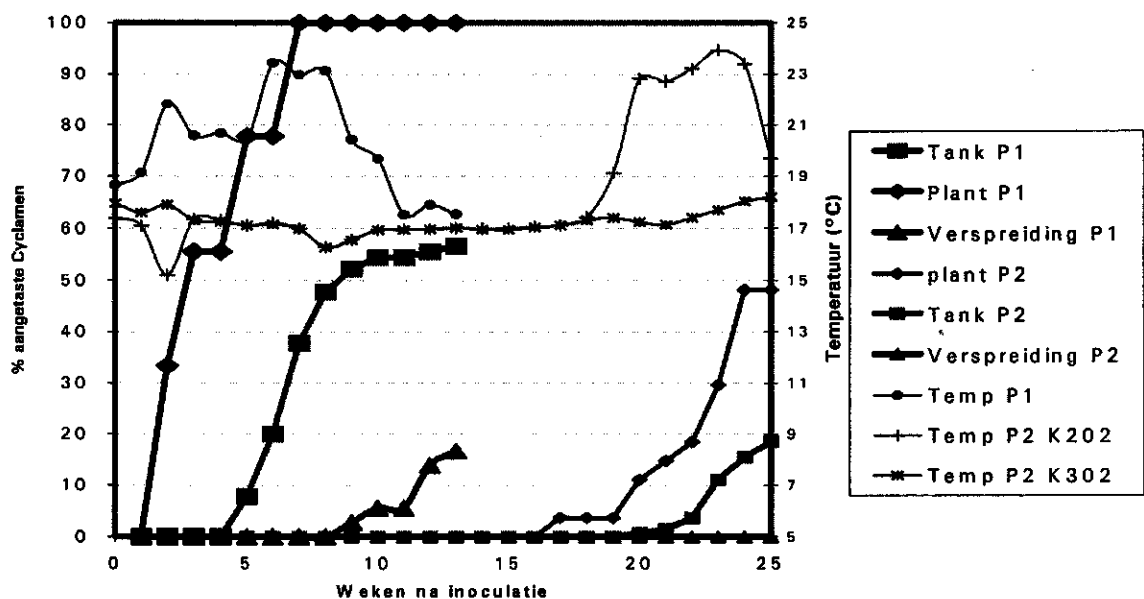
Tabel 5 - Percentages aangetaste Cyclamen door de verschillende pathogenen bij de verspreiding vanuit plant, tankinoculatie en plantinoculatie

Pathogeen	Tank	Plant	Verspreiding plant
<i>Phytophthora capsici</i>	19	48	0
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	0	52	0
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	0	37	1
<i>Colletotrichum acutatum</i>	0	81	0
<i>Nectria radiculicola</i>	0	85	0



Figuur 2. Het percentage aangetaste Cyclamen door *Nectria radiculicola* waarbij de tankinoculatie(■), plantinoculatie(◆) en verspreiding vanuit aangetaste planten(▲) wordt weergegeven.

Aantasting van de planten bleef tot negentien weken na inoculatie (10-2-1998) erg laag. Daarom is besloten om in de kas L202 de temperatuur te verhogen van 17°C naar 24°C. Dit is gedaan om te onderzoeken wat het effect is van de temperatuurverhoging. De aantasting door met name *Phytophthora* ging veel sneller. Het verschil in aantasting tussen de twee proeven en het effect van de temperatuurverhoging op aantasting door *Phytophthora* wordt daarom in Figuur 3 geïllustreerd. Bij de eerste proef waren bij de tankinoculatie de eerste symptomen vijf weken na inoculatie zichtbaar en dertien weken na inoculatie was 57% van de planten ziek. Bij de plantinoculatie waren de eerste symptomen twee weken na inoculatie zichtbaar en zeven weken na inoculatie waren alle planten ziek. De verspreiding begon negen weken na inoculatie en dertien weken na inoculatie was 17% van de planten ziek geworden. Bij de tweede proef echter begonnen de eerste symptomen pas zeventien weken na inoculatie en de aantallen zieke planten namen snel toe nadat de temperatuur werd verhoogd. Bij de geïnoculeerde planten was 25 weken na inoculatie 48% ziek. Bij de tankinoculatie begon de aantasting pas twintig weken na inoculatie en 25 weken na inoculatie was 19% van de planten ziek. In de tweede proef was er geen verspreiding vanuit geïnoculeerde planten voor *Phytophthora* gevonden.



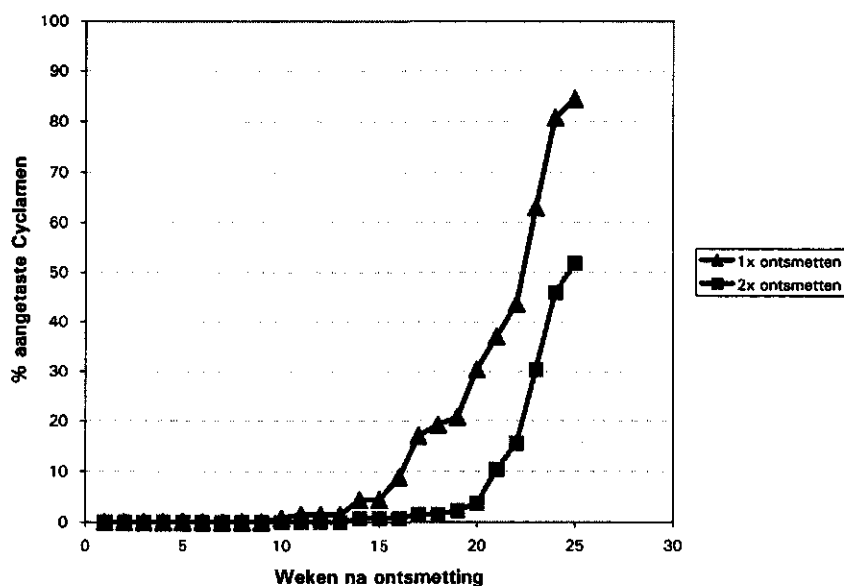
Figuur 3. Het percentage aangetaste Cyclamen door *Phytophthora capsici* en de bijbehorende temperatuurrealisatie voor proef 1 en proef 2; Tankinoculatie proef 1 (■), plantinoculatie proef 1 (◆), Verspreiding vanuit geïnoculeerde planten proef 1 (▲), Tankinoculatie proef 2 (■), plantinoculatie proef 2 (◆), Verspreiding vanuit geïnoculeerde planten proef 2 (▲), Temperatuur proef 1 (●), Temperatuur proef 2 kas K202 (+), Temperatuur proef 2 Kas K302 (*).

Een ander effect dat getest is, was het ontsmetten met chloor. Het ontsmetten is getest door drie tafels die in de eerste proef waren gebruikt voor *Fusarium* te ontsmetten met 0,2% actief chloor en daarop planten te zetten. Daarnaast waren ook drie tafels twee keer ontsmet met chloor; deze zijn gebruikt voor *Phytophthora*. Gedurende de proef waren zowel bij één keer ontsmette als bij de twee keer ont-

smette tafels planten ziek geworden door Fusarium (Figuur 4). Bij de één keer ontsmette tafels begon de eerste aantasting tien weken na ontsmetting en na 25 weken was 84% van de planten ziek. Bij de twee keer ontsmette tafels begon de eerste aantasting veertien weken na ontsmetting en na 25 weken was 52% van de planten ziek.

Doordat de ontsmetting niet voldoende was, waren er bij de meeste tafels planten ziek geworden door Fusarium terwijl er met een ander pathogeen was geïnoculeerd. De planten die door Fusarium ziek waren, waren bij de Erwinia-tafels makkelijk te onderscheiden, maar bij Phytophthora niet. Daarom is bij twijfelgevallen het pathogeen uit de plant geïsoleerd. In sommige gevallen waren er ook menginfecties. De resultaten van de diverse pathogenen zijn daarom gecorrigeerd voor de aantastingen door Fusarium.

Door het verhogen van de temperatuur in kas L202 waren er ook meer Fusarium-aantastingen te zien, terwijl in de andere kas de Fusarium-aantastingen beduidend lager waren.



Figuur 4. Aantasting door Fusarium na ontsmetting met 0,2% actief chloor en 10 minuten inwerktijd, één (▲) en twee keer (■) ontsmet

2.3.3 Conclusie/discussie

De temperatuur heeft invloed op de aantasting. In de herfst en winter is de buitentemperatuur laag en daarom kunnen de ingestelde temperaturen eenvoudig gerealiseerd worden. Door de lage teelttemperaturen worden de planten minder snel ziek. Dit geldt met name voor Phytophthora. Echter in het voorjaar en de zomer kunnen de ingestelde temperaturen niet in de hand worden gehouden en daardoor zullen de symptoomontwikkelingen bij een ziekte sneller tot uiting komen.

Bij Phytophthora is de temperatuur erg belangrijk. Bij lage temperaturen rond 17°C zijn er geen symptomen van aantasting, maar wordt de temperatuur verhoogd, dan zijn de symptoomontwikkelingen veel sneller zichtbaar.

Bij infectieproeven is de keuze van het isolaat dat genomen wordt heel erg belangrijk. Bepaalde isolaten kunnen hun pathogeniteit verliezen door het steeds overen. Zo is dat naar voren gekomen bij *Nectria radicola*. In de eerste proef is er een isolaat gebruikt dat niet meer infectieus was, maar in de tweede proef wel. Alleen de geïnoculeerde planten werden ziek door *Nectria radicola*. Uit eerder gedaan onderzoek door Amsing en ook in de praktijk wordt steeds gevonden dat *Nectria radicola* problemen geeft in de opkweekfase. Als de plant groot genoeg is, heeft *Nectria radicola* geen greep meer op de plant.

Het één of twee keer onsmetten van Fusarium met 0,2% actief chloor en een inwerktijd van 10 minuten is niet toereikend om Fusarium te doden. Daarom moet er naar andere ontsmettingsmogelijkheden worden gezocht. In hoofdstuk 10 wordt onderzoek naar ontsmettingsmogelijkheden beschreven.

Aan de hand van de resultaten die in dit hoofdstuk verkregen zijn, is een keuze gemaakt met welke pathogenen verder onderzoek wordt uitgevoerd. Deze zijn *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*, *Phytophthora capsici* en *Erwinia chrysanthemi*.

3. VERSCHILLENDE INOCULUMDICHTHEDEN VAN PHYTOPHTHORA EN ERWINIA

Aan de hand van de resultaten die in hoofdstuk 2 beschreven staan, is een keuze gemaakt met welke pathogenen wel en met welke niet verder onderzoek wordt uitgevoerd. *Chalara elegans*, *Pythium* en *Phialophora fastigiata* konden geen Cyclamen ziek maken. Ook tijdens de inventarisatie in de literatuur en in de praktijk werden deze pathogenen als niet belangrijk aangemerkt. *Colletotrichum acutatum* heeft de planten wel ziek gemaakt, maar van verspreiding via de voedingsoplossing was geen sprake. Door het ontsmetten van zaad kan *Colletotrichum acutatum* voor een groot deel in de praktijk worden voorkomen. Bij *Nectria radiculicola* zijn alleen de planten die geïnoculeerd waren ziek geworden. Ook hier vindt geen verspreiding plaats. *Nectria radiculicola* is voornamelijk in een vroeg stadium een probleem. Als tijdens het zaaien en verspenen schoon wordt gewerkt en het uitgangsmateriaal is schoon, worden weinig problemen verwacht. Aan bovenstaande pathogenen wordt in eerste instantie geen nader onderzoek verricht.

Uit het vergelijkend onderzoek in hoofdstuk 2 blijkt dat Fusarium, Phytophthora en Erwinia de belangrijkste wortelpathogenen zijn. Over de epidemiologie van Fusarium is in de literatuur veel bekend. Vergelijkbare informatie ontbreekt echter van Phytophthora en Erwinia. De inleidende proeven uit hoofdstuk 2 laten zien dat van Erwinia en Phytophthora zowel bij plant- als tankinoculaties planten ziek worden. Bovendien kon Phytophthora zich goed verspreiden. Deze twee pathogenen worden daarom in dit hoofdstuk uitvoerig onderzocht op inoculumdichtheid en verspreiding.

Van de twee Erwinia-soorten wordt gekozen voor Erwinia chrysanthemi. Deze keuze is gemaakt omdat er door de PD wordt beweerd dat Erwinia chrysanthemi nooit is gevonden in Cyclamen. Verder wordt in de literatuur beschreven dat Erwinia chrysanthemi soms een primaire parasiet is terwijl Erwinia carotovora geen primaire parasiet is. Bovendien blijkt uit de resultaten dat Erwinia chrysanthemi in geringe mate wordt verspreid.

3.1 MATERIALEN EN METHODEN

In dit hoofdstuk staan twee proeven beschreven. Proef 1 is uitgevoerd in augustus t/m februari, Proef 2 is uitgevoerd van maart t/m juli. Hiermee kunnen eventuele seizoenseffecten waargenomen worden. Een aantal proeffactoren die in proef 1 weinig resultaat opleverden zijn in proef 2 weggelaten.

Proef 1

Voor deze proef zijn twee organismen gebruikt, namelijk Phytophthora capsici (PD 96/12146) en Erwinia chrysanthemi (PD 593). De Cyclamen zijn op twee manieren geïnoculeerd: via de tank en door middel van plantinoculatie. De inoculumdichtheid is gevarieerd in een hoge- en een lage inoculumdichtheid. Bij Phytophthora is het verschil tussen hoge en lage inoculumdichtheid een factor 4 en bij Erwinia is dat een factor 100. Verder is een controle meegenomen. In totaal zijn er negen behandelingen ($2 \times 2 \times 2 + 1$). Ieder behandeling is in twee herhalingen uitgevoerd. In Tabel 6 is te zien hoeveel van elk organisme is geïnoculeerd.

Tabel 6 - Inoculatie schema van Phytophthora en Erwinia

Beh.	Pathogeen	Inoculatie wijze	Inoculum dichtheid
1	Phytophthora capsici	tank	0,025 schaal/liter
2	Phytophthora capsici	tank	0,1 schaal/liter
3	Phytophthora capsici	plant	0,15 schaal/plant
4	Phytophthora capsici	plant	0,6 schaal/plant
5	Erwinia chrysanthemi	tank	10 ⁷ bacteriën/liter
6	Erwinia chrysanthemi	tank	10 ⁸ bacteriën/liter
7	Erwinia chrysanthemi	plant	10 ⁷ bacteriën/plant
8	Erwinia chrysanthemi	plant	10 ⁸ bacteriën/plant
9	Controle	geen	geen

Dit onderzoek is gedaan in kas K19 waarin achttien eb/vloedtafels zijn met elk een oppervlakte van 12,5 m²/tafel en een tankinhoud van 1400 liter. Er komen op elke tafel 144 planten (6x24). Hiervan zijn 72 planten (6x12) van de cultivar 'Rondo L. Scharlaken' (F1) en 72 zaadvast. De zaadvaste Cyclamen bestaan uit 42 planten 'Super zalm' (6x7) en 30 planten 'Midi superserie gemengd' (6x5). Voor de plantinoculatie worden twaalf planten (8%) gebruikt. zes planten (2x3) worden gebruikt voor F1 en de andere zes voor zaadvast (2x3) waar vier van de cultivar 'Super zalm' zijn en twee van de cultiver 'Midi super serie gemengd' zijn. Vijftien weken na inoculatie is voor iedere behandeling bij één tafel (= één herhaling) de potgrondtemperatuur verhoogd van 17°C naar 24°C. De belangrijkste teelt- en behandelingsfactoren worden hieronder opgesomd:

Proefperiode	4-8-1997 t/m 16-2-1998 (week 32-1997 t/m week 7-1998)
Oppotdatum	4-8-1997; week 32
Inoculatiedatum	22-9-1997; week 38
Einde proef	16-2-1998; week 7 (21 weken na inoculatie)
Kasluchttemperatuur	17°C dag en 15°C nacht.
Schermen	Eerste 2 weken boven de 350W/m ² en daarna boven de 600W/m ² ; licht krijten op dek.
Watergift	Eerste 2 weken één tot twee keer per week en daarna naar behoefte

Er is één keer per week beoordeeld op het aantal zieke planten. De planten zijn tot 21 weken na de inoculatie gevolgd.

Proef 2

Om het seizoenseffect te onderzoeken is de proef bij paragraaf 3.1 herhaald met een aantal wijzigingen. De vorige proef was uitgevoerd in de herfst en winter, terwijl deze proef is uitgevoerd in lente en zomer.

Omdat bij de lage inoculumdichtheid het aantal zieke planten in de vorige proef niet hoog was, is deze keer alleen een hoge inoculumdichtheid genomen. Bij de vorige proef was bij de plantinoculatie 8% van de planten geïnoculeerd, hetgeen resulteerde in weinig verspreiding, vooral bij Erwinia. Om het effect van verspreiding te onderzoeken zijn deze keer 22 en 44% van de planten geïnoculeerd.

Om te onderzoeken of bij hergebruik van de tankinhoud met daarin de ziekteverwekkers nog infecties optreden, zijn daarvoor bij deze proef twee tafels gebruikt.

Omdat bij de vorige proef temperatuur invloed had op de aantasting en verspreiding, is ook deze keer de laatste vier weken de temperatuur verhoogd van 17°C naar 24°C.

Het was eerst de bedoeling dat bij *Phytophthora* zoösporen zouden worden geïnoculeerd. De zoösporenproductie was echter niet succesvol waardoor alsnog overgegaan is op inoculatie met mycelium. De *Phytophthora*-proef is hierdoor twee weken later gestart.

De cultivars in de eerste proef waren voor de tweede proef niet beschikbaar. Op elke tafel zijn er 144 planten (6x24) geplaatst. Hiervan zijn 72 planten (6x12) van de cultivar 'Concerto Dieprose Julia' (F1) en 72 planten 'Schoneveld Super Serie' (zaadvast).

De belangrijkste verschillen in de teelt- en behandelingsfactoren met de vorige proef worden hieronder opgesomd:

Proefperiode	04-03-1998 (week 10) t/m 27-07-1998 (week31)
Oppotdatum	04-03-1998; week 10
Inoculatie datum	Erwinia 16-03-1998; week 12 <i>Phytophthora</i> 30-03-1998; week 14
Einde proef	Erwinia 27-07-1998; week 31 (19 weken na inoculatie) <i>Phytophthora</i> 27-07-1998; week 31 (17 weken na inoculatie)

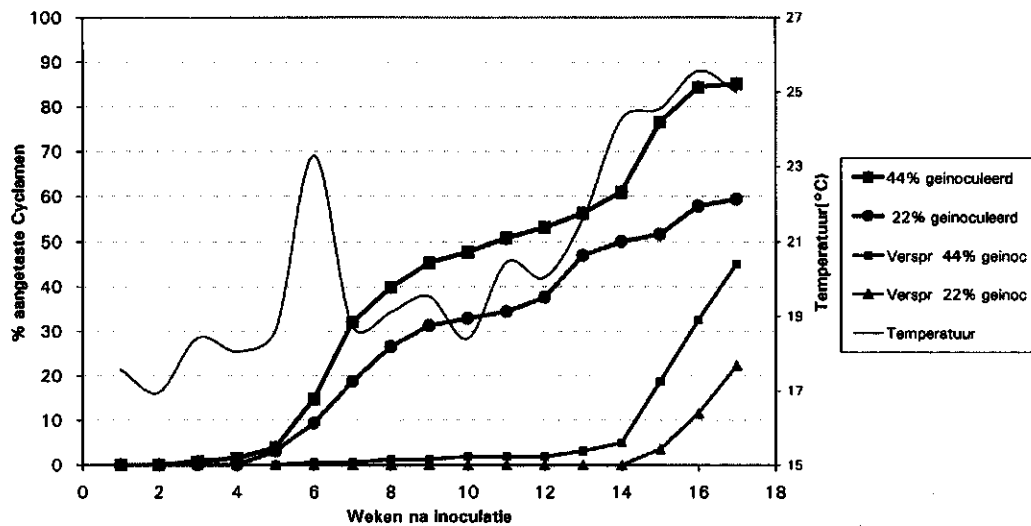
Er is één keer per week beoordeeld op het aantal zieke planten.

3.2 RESULTATEN

Phytophthora

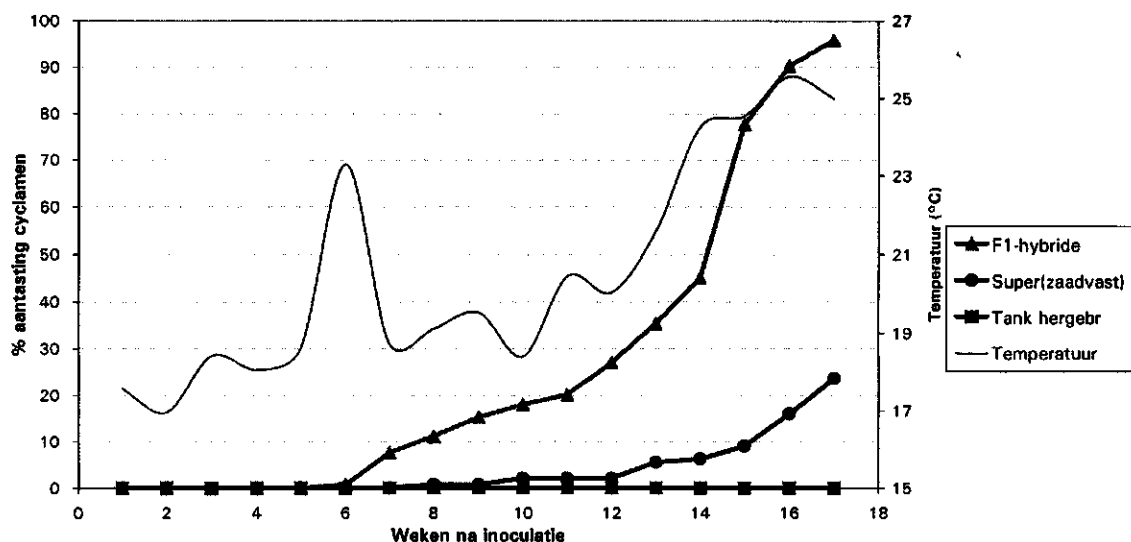
Er zijn twee proeven uitgevoerd waarbij gekeken is naar inoculumdichtheid en mogelijkheden voor verspreiding. Bij de eerste proef was van de geïnoculeerde planten na 21 weken zowel bij hoge- als lage inoculumdichtheid 17% aangetast. Van de niet-geïnoculeerde planten was na 21 weken bij hoog 1% en bij laag 0% aangetast. Bij deze proef is de verspreiding van plant naar plant laag geweest.

Bij de tweede proef is alleen uitgegaan van hoge inoculumdichtheid en zijn er per tafel 22% of 44% van de 144 planten geïnoculeerd. Bij de 22%-geïnoculeerde planten werd 59% van de geïnoculeerde planten en 22% van de niet-geïnoculeerde planten ziek. Bij de 44%-geïnoculeerde was dat resp. 85% en 48%. Hier is duidelijk te zien dat verspreiding van plant naar plant heel goed mogelijk is en dat de kans op verspreiding toeneemt naarmate er meer zieke planten op de tafel staan. Zie Figuur 5.



Figuur 5. Percentage aantasting en verspreiding door *Phytophthora capsici* na plantinoculatie; % aantasting waarbij 44% van de planten zijn geïnoculeerd (■), % aantasting waarbij 22% van de planten zijn geïnoculeerd (●), % verspreiding vanuit de 44% geïnoculeerd planten (*), % verspreiding vanuit de 22% geïnoculeerd planten (▲), temperatuur (-).

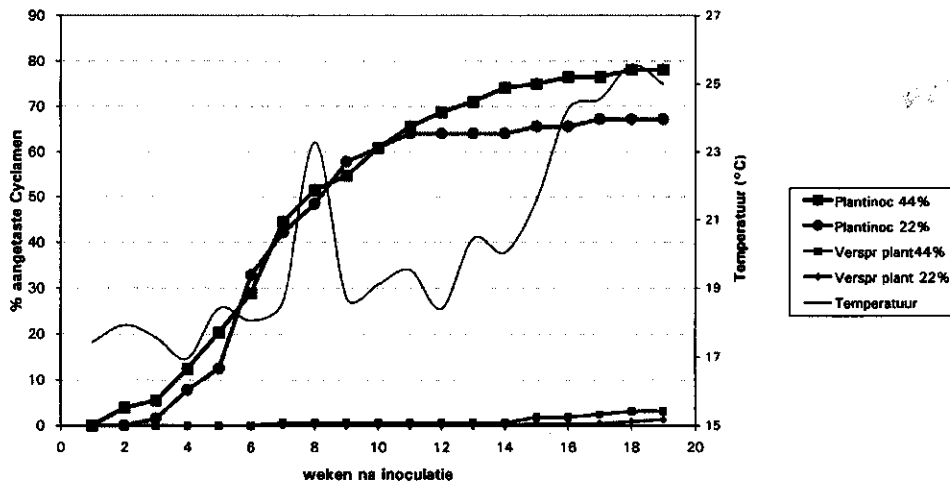
Bij de tankinoculatie in de eerste proef is het verschil in aantasting tussen de hoog en laag geïnoculeerde planten laag. Wel komt bij *Phytophthora* steeds naar voren dat er een verschil is in aantasting tussen de verschillende cultivars. F1-hybriden worden bij tankinoculaties meer aangetast dan de zaadvaste. Dit komt duidelijk naar voren in Figuur 6. Dit verschil wordt bij plantinoculatie niet gevonden.



Figuur 6. Verschil tussen F1-hybriden en zaadvaste cultivars bij een tankinoculatie met een hoog inoculum aan *Phytophthora*; % aantasting van de F1-hybriden (▲), % aantasting van 'Super' (zaadvast) (●), % aantasting na hergebruik tankinhoud (■), temperatuur (-).

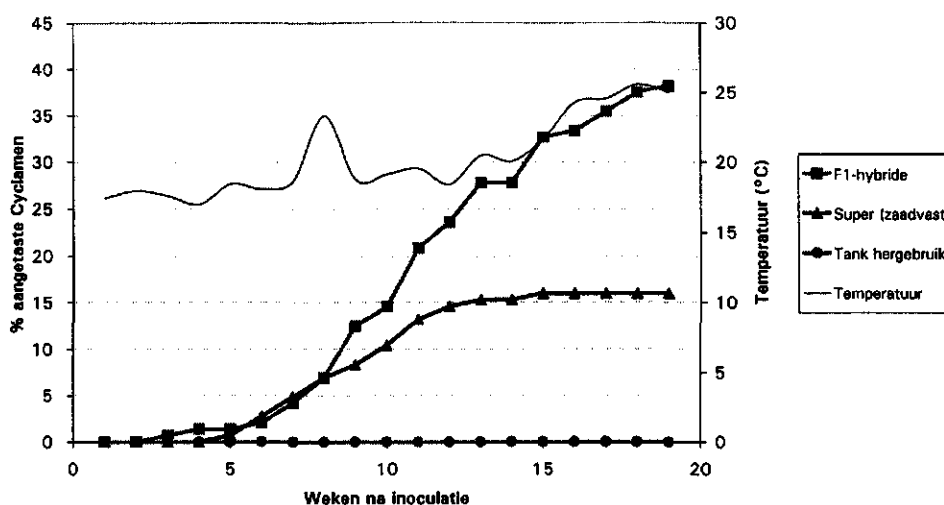
Erwinia

Voor *Erwinia* zijn dezelfde proeffactoren bestudeerd als bij *Phytophthora*. Bij de eerste proef is te zien dat bij de plantinoculatie 92% bij hoge en 29% bij lage inoculumdichtheid ziek worden. Van de niet-geïnoculeerde planten is dit percentage na 21 weken 1% en 0% voor respectievelijk de hoge en de lage inoculumdichtheid. Voor de tweede proef zijn verschillende aantallen planten (22% en 44%) met een hoge inoculumdichtheid aangevoten. Hierbij zijn 67% en 78% van de geïnoculeerde planten en 1% en 3% van de niet-geïnoculeerde planten aangetast. De verspreiding van zieke naar gezonde planten is in beide proeven zeer laag, ondanks het feit dat er een groot aantal van de geïnoculeerde planten ziek geworden zijn. De resultaten van de plantinoculatie bij de tweede proef zijn te zien in Figuur 7.



Figuur 7. Percentage aantasting en verspreiding door *Erwinia* bij *Cyclamen* na plantinoculatie; % aantasting waarbij 44% van de planten zijn geïnoculeerd (■), % aantasting waarbij 22% van de planten zijn geïnoculeerd (●), % verspreiding vanuit de 44% geïnoculeerd planten (▲), % verspreiding vanuit de 22% geïnoculeerd planten (◆), temperatuur (-).

Bij de tankinoculatie wordt in beide proeven aantasting van de planten gevonden. Deze is bij de eerste proef bij een hoge inoculumdichtheid hoger (88%) dan bij een lage inoculumdichtheid (10%). Ook bij *Erwinia* is een verschil te zien in de aantasting tussen een F1-hybride en een zaadvaste. Dat is in de tweede proef duidelijk te zien (Figuur 8).



Figuur 8. Verschil in aantasting van Cyclamen door *Erwinia* bij een hoge inoculumdichtheid; % aantasting van de F1-hybriden (■), % aantasting van 'Super' (zaadvast) (▲), % aantasting na hergebruik tankinhoud (●), temperatuur (-).

Hergebruik tank

Bij de tweede proef is gekeken of hergebruik van de voedingsoplossing in de tank aantasting geeft (Figuur 6 en 8). Dit is bij dit experiment zowel bij *Erwinia* als bij *Phytophthora* niet gevonden. Het verschil in tijd tussen de eerste proef tot het oppotten van de planten in de tweede proef was drie weken. Het lijkt erop dat het aantal infectieuze deeltjes in de tank in deze periode afneemt en niet voldoende is om planten ziek te maken.

Temperatuur

Voor beide proeven is aan het eind van de proefperiode de teelttemperatuur verhoogd. Bij de eerste proef was van iedere behandeling een tafel in temperatuur verhoogd en bij de tweede proef waren alle tafels in temperatuur verhoogd. Dit gaf met name bij *Phytophthora* een sterke toename van de aantallen zieke planten te zien.

3.3 CONCLUSIE/DISCUSSIE

Phytophthora

Effect inoculumdichtheid op aantasting

De verwachting voor deze proef was een toename in aantasting van planten bij een toenemende inoculumdichtheid. Dit is bij proef 1 bij de plantinoculatie niet waargenomen. De hoeveelheid inoculum is bij hoog vier keer hoger dan bij een laag inoculum. Waarschijnlijk is het verschil in inoculumdichtheid niet voldoende, waardoor ook weinig verschil in aantasting te zien is.

Bij de tank-inoculatie zie je tot veertien weken na inoculatie geen verschil. Wanneer de temperatuur van één herhaling verhoogd wordt, ontstaat een klein verschil. Als naar de F1-hybride wordt gekeken, is bij de hoog-geïnoculeerde planten 26% aangetast en bij de laag-geïnoculeerde planten 22% aangetast. Waarschijnlijk is ook hier het verschil in inoculumdichtheid niet voldoende om een duidelijk verschil in aantasting te geven. Bij de tankinoculaties worden pas vijftien weken na

inoculatie planten ziek. Er was in die tussentijd wel een latente infectie aanwezig. Pas bij het verhogen van de temperatuur van 17°C naar 24°C werd de aantasting zichtbaar.

Verspreiding

Bij proef 2 zien we dat de verspreiding het hoogst is wanneer er veel zieke planten op de tafel staan. Het is dus altijd belangrijk om zieke planten te verwijderen om verspreiding te voorkomen.

Cultivarverschillen?

Bij de tankinoculatie wordt verschil in aantasting door *Phytophthora* tussen cultivars gevonden en bij de plantinoculatie niet. Een mogelijke oorzaak kan het volgende zijn. De F1-Cyclamen waren bij de kwekers preventief behandeld met chemische middelen en de zaadvaste met een biologisch middel. De werking van het biologisch middel kan nadat de planten in onze proeven zijn opgepot doorgaan, maar die van de chemische bestrijders niet. Doordat het biologisch middel zich aan de wortels koloniseert, kan dit middel enige bescherming geven wanneer het pathogeen via de wortels de plant wil binnendringen. Dit is het geval bij tankinoculatie. Bij de plantinoculatie wordt het pathogeen direct in het hart van de plant gegoten en deze komt direct in contact met de knol en steeltjes. Deze worden door het biologisch middel niet beschermd en worden dan ook direct aangetast.

In de praktijk zijn er voorbeelden waarbij meerdere cultivars op één voedingsoplossing zijn aangesloten en dat er maar een soort cultivar wordt aangetast. Kennelijk zijn er wel verschillen in gevoeligheid. Om daar achter te komen moeten er proeven worden uitgevoerd met een andere opzet.

Erwinia

Zowel bij de tankinoculatie als bij de plantinoculatie is er een duidelijk verschil in aantasting als gevolg van inoculumdichtheid. Bij een lage inoculumdichtheid worden voor tank- en plantinoculaties respectievelijk 10% en 29% van de planten aangetast, en bij een hoge inoculumdichtheid worden 88% en 92% van de planten aangetast. Dit is te verklaren, omdat het verschil tussen hoge en lage inoculumdichtheid een factor 100 is.

Bij de plantinoculatie is er weinig tot geen verspreiding. Kennelijk is de drempel om planten ziek te maken hoger dan de productie van de bacteriën door de aangetaste planten.

Hergebruik tankinhoud

De tijd tussen verwijderen van de aangetaste planten en het inzetten van de nieuwe proef is drie weken geweest. Deze tijd is waarschijnlijk voldoende om de aantallen bacteriën en zoösporen zodanig te doen afnemen dat de aantastingsdrempel niet meer wordt gehaald om planten ziek te maken. Nader onderzoek wordt in hoofdstuk 8 beschreven.

Temperatuur

Een verhoging van de temperatuur van 17°C naar 24°C zorgt er voor dat bij *Phytophthora* een sterke toename in aantasting optreedt. Bij *Erwinia* heeft deze toename in temperatuur een geringere uitwerking. Uitgebreid onderzoek over de invloed van de temperatuur wordt beschreven in hoofdstuk 6.

4. VERSCHILLENDE PHYTOPHTHORA-SOORTEN

Er is tot heden in Nederland voornamelijk *Phytophthora capsici* gevonden bij de aantasting van Cyclamen. Ook wordt incidenteel een hybride gevonden van *Phytophthora nicotianae/cactorum*. Deze hybride ontstaat door samensmelting van de twee *Phytophthora*-soorten tot een nieuw organisme. De hybride heeft dan eigenschappen van beide ouders. In Duitsland wordt *Phytophthora* spp. gevonden (Idczak et al, 1998). Het is belangrijk om te achterhalen of ook andere *Phytophthora*-soorten Cyclamen ziek kunnen maken. Verschillende *Phytophthora*-soorten zijn uit de praktijk verzameld en getoetst op pathogeniteit (= infecterend vermogen).

4.1 MATERIALEN EN METHODEN

Voor deze proef zijn zestien isolaten van verschillende *Phytophthora*-soorten gebruikt. Voor elke isolaat zijn 25 planten geïnoculeerd door deze aan te gieten met één schaal fijngemalen mycelium. Dit onderzoek is gedaan in kas L122 waarin zestien eb/vloedtafels staan met elk een oppervlakte van 2 m²/tafel en een tankinhoud van 300 liter. De gebruikte isolaten zijn te vinden in Tabel 7. Er komen op elke tafel 25 planten. Ze zijn van de cultivar 'F1 Rondo L. Scharlaken'.

De belangrijkste teelt- en behandelingsfactoren worden hieronder opgesomd:

Proefperiode	01-04-1998; week 14 t/m 03-08-1998; week 32
Oppotdatum	01-04-1998; week 14
Inoculatie datum	17-04-1998; week 16
Einde proef	03-08-1998; week 32 (16 weken na inoculatie)
Kasluchttemperatuur	24°C dag en nacht.
Schermen	Eerste 2 weken boven de 350W/m ² en daarna boven de 600W/m ² ; licht krijten op dek.

Er is één keer per week beoordeeld op het aantal zieke planten.

Hergebruik tankinhoud

Na afloop van deze proef zijn de zieke planten verwijderd en opnieuw 25 planten op de tafels gezet. Dit is gedaan om te achterhalen of door hergebruik van de tankinhoud de planten weer ziek worden. De proef is daarna negentien weken gevolgd.

4.2 RESULTATEN

De resultaten van de aangetaste planten door de verschillende *Phytophthora*-soorten worden weergegeven in Tabel 7. Zo is te zien dat meerdere *Phytophthora*-soorten Cyclamen ziek kunnen maken. Zowel het isolaat (PD 96/12146) dat wij gebruiken voor inoculatieproeven als het isolaat (1809) dat in Duitsland is gevonden bij aantasting van Cyclamen, maken alle planten ziek. Verder is te zien dat *P. capsici* uit andere waardplanten eveneens Cyclamen ziek kunnen maken. Ook is te zien dat de hybriden die uit Cyclamen zijn geïsoleerd, de Cyclamen meer aantasten dan die uit *Spathiphyllum* zijn geïsoleerd.

Tabel 7 - Percentage aangetaste planten zestien weken na inoculatie door elke Phytophthora-isolaat die bij Cyclamen is geïnoculeerd

tafel nr.	Isolaat nr.	Naam (waardplant)	aantal ziek	% ziek
2	PD 96/12146	<i>P. capsici</i> (Cyclamen)	25	100
6	1809	<i>P. citrophthora?</i> (Cyclamen)	25	100
12	PD 97/11132	<i>P. capsici</i> (Roos)	24	96
15	PD 93/1354	<i>P. capsici</i> (Epipremnum)	19	76
1	PD 92/989	<i>P. capsici</i> (Cyclamen)	18	72
4	PD 97/10235	<i>P. nicotianae/cactorum</i> (Cyclamen)	11	44
5	AN 97/1 AN 97/2	<i>P. sp.</i> (Spathiphyllum)	8	32
3	CBS 128.23	<i>P. capsici</i> (Capsicum)	5	20
14	PD 97/6360	<i>P. capsici</i> (paprika)	4	16
7	PD 93/1339	<i>P. nicotianae/cactorum</i> (Spathiphyllum)	3	12
10	PD 94/844	<i>P. palmivora</i> (Rhododendron)	3	12
8	PD 94/1166	<i>P. nicotianae/cactorum</i> (Spathiphyllum)	1	4
9	PBG 96/4	<i>P. nicotianae</i> (Spathiphyllum)	1	4
13	PD 94/355	<i>P. capsici</i> (Capsicum annum)	1	4
11	CBS 292.35	<i>P. drechsleri</i> (Beta vulgaris var..)	0	0
16	PD 92/1753	<i>P. capsici of citrophthora</i> (Alstroemeria)	0	0

De tankinhoud is daarna hergebruikt en de planten zijn negentien weken gevolgd. Bij alle tafels zijn er geen planten ziek geworden door Phytophthora. Er zijn wel enkele planten ziek geworden, maar die werden door Fusarium aangetast.

4.3 CONCLUSIE/DISCUSSIE

Uit de resultaten in Tabel 7 blijkt dat meerdere Phytophthora-soorten Cyclamen kunnen aantasten. Verder komt naar voren dat Phytophthora capsici uit andere waardplanten ook Cyclamen aantast. Deze Phytophthora-soorten zijn dus niet waardplant-specifiek. Hieruit blijkt dat er extra moet worden opgelet bij teeltwisselingen en bij meerdere gewassen die tegelijkertijd met Cyclamen worden geteeld. Er kan namelijk nog een ziekteverwekkende Phytophthora in het teeltsysteem zitten. Oösporen kunnen in de plantresten ontstaan en lang overleven. Bij teeltwisselingen moeten de systemen daarom goed schoon zijn. Er mogen geen plantresten en organisch materiaal achterblijven.

Hergebruik van de tankinhoud met infectieuze deeltjes is ook eerder in hoofdstuk 3 onderzocht. De voedingsoplossing kon de planten toen niet ziek maken. Ook in deze proef kon de voedingsoplossing met de verschillende zoösporen van de verschillende Phytophthora-soorten de planten niet ziek krijgen. Hier blijkt weer dat hergebruik van de voedingsoplossing niet meer infectieus is. Zoals in hoofdstuk 7 wordt besproken, zijn waarschijnlijk het aantal infectieuze eenheden zodanig afgenomen dat infectie niet meer optreedt.

5. SYMPTOMEN VAN AANGETASTE CYCLAMEN DOOR FUSARIUM, PHYTOPHTHORA EN ERWINIA

Alertheid op ziektes is erg belangrijk. Het vaststellen van de veroorzaker van de ziekte is de eerste stap voor een goede bestrijding van het probleem. Voor iemand die niet geoefend is, blijft het moeilijk om vast te stellen om welke ziekteverwekker het gaat. Om enigszins te helpen bij het vaststellen van de ziekte worden de kenmerken van de belangrijkste ziekteverwekkers in dit hoofdstuk beschreven.

5.1 MATERIALEN EN METHODEN

Voor de waarneming van de ziekteverschijnselen zijn gedurende het project planten ziek gemaakt door *Fusarium*, *Phytophthora* en *Erwinia*. De planten zijn gedurende de ziekteperiode goed gevolgd en alle karakteristieke kenmerken zijn vastgelegd met behulp van foto's. Deze zijn bij de resultaten weergegeven.

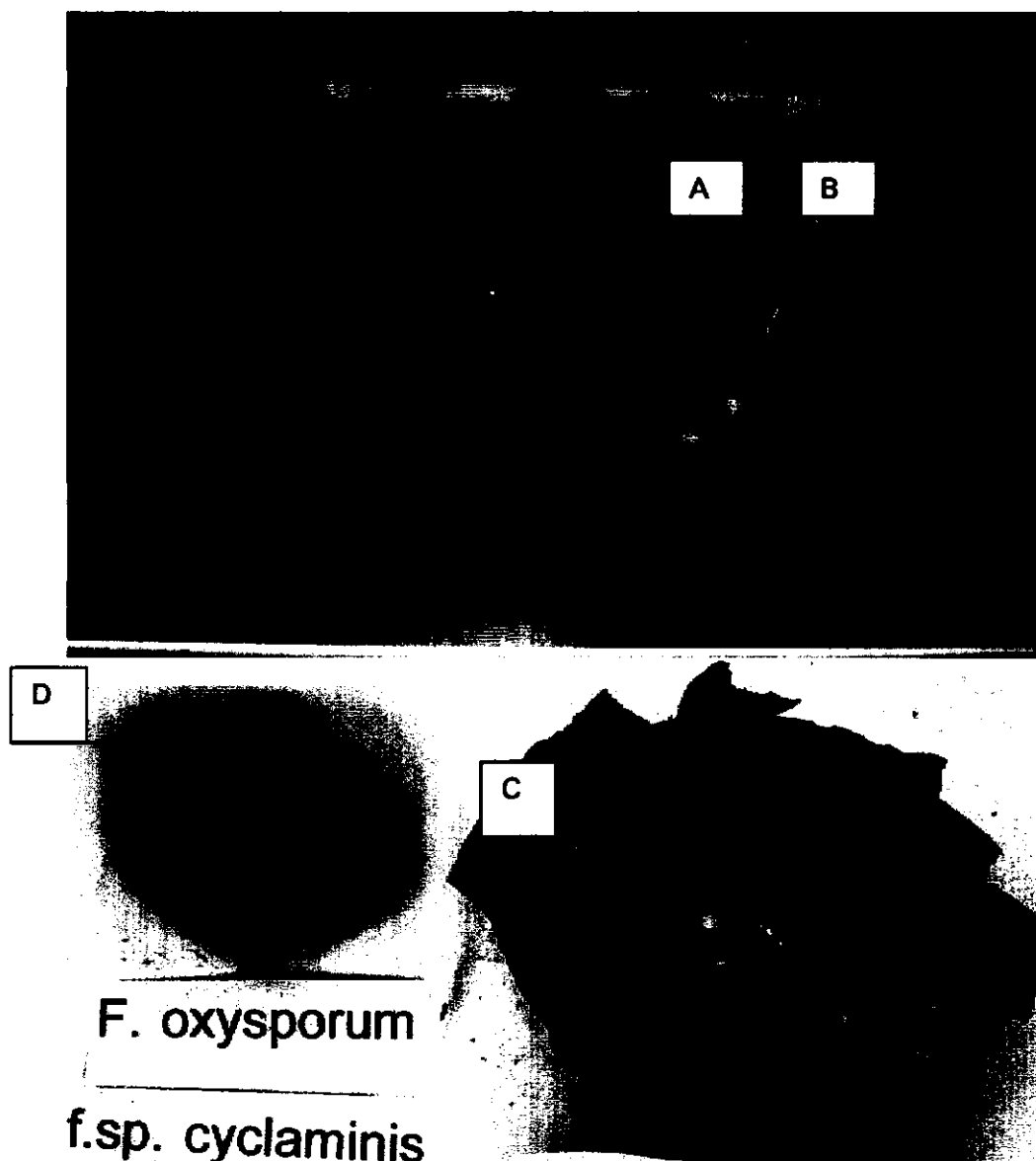
5.2 RESULTATEN

Fusarium

De bodemschimmel *Fusarium oxysporum* f.sp. *cyclaminis* tast alleen Cyclamen aan en dringt de plant binnen via de wortels, welke vrij lang intact blijven. De vaatbundels worden aangetast en raken verstopt, waardoor water- en voedseltransport stagneren. De snelheid waarmee vervolgens de bovengrondse symptomen ontstaan (incubatietijd), is sterk afhankelijk van temperatuur, luchtvochtigheid en infectiedruk. Bij jonge planten is de incubatietijd significant lager dan bij oude planten. Incubatietijden van twee tot dertien weken zijn mogelijk. De optimale groeitemperatuur van de schimmel ligt bij 27,5°C. Bij deze temperatuur treedt het snelst uitval op. Aanvankelijk verkleuren één of enkele van de oudste bladeren geel. Meestal begint de vergeling aan de bladbasis en breidt zich van daar uit over het gehele blad (Figuur 9A). Aangetaste bladeren verwelken en worden bruin. Ook blad- en bloemstelen gaan slap en kunnen geheel verbruinen. Gaandeweg vertonen steeds meer bladeren dergelijke symptomen, vaak eenzijdig (Figuur 9B). Een dwarsdoorsnede van de knol laat roodbruin verkleurde vaatbundels zien (Figuur 9D). Deze corresponderen met het zichtbaar aangetaste deel boven de grond. Bij een geringe aantasting blijft de verkleuring beperkt tot enkele vaatbundels, terwijl een zware aantasting een groot gedeelte van de knol doet verkleuren. In de lengterichting vertoont de doorsnede van de plant een doorlopende vaatverkleuring vanuit de wortels, door de knol, naar de bladstelen van de aangetaste bladeren. Op de verwelkte stelen is soms roze-achtig wit mycelium met sporendragers aanwezig (Figuur 9C).

Phytophthora

Meerdere *Phytophthora*-soorten kunnen Cyclamen aantasten. Doordat er meerdere soorten zijn, kunnen de uitwendige ziekte-verschijnselen op het blad verschillen.

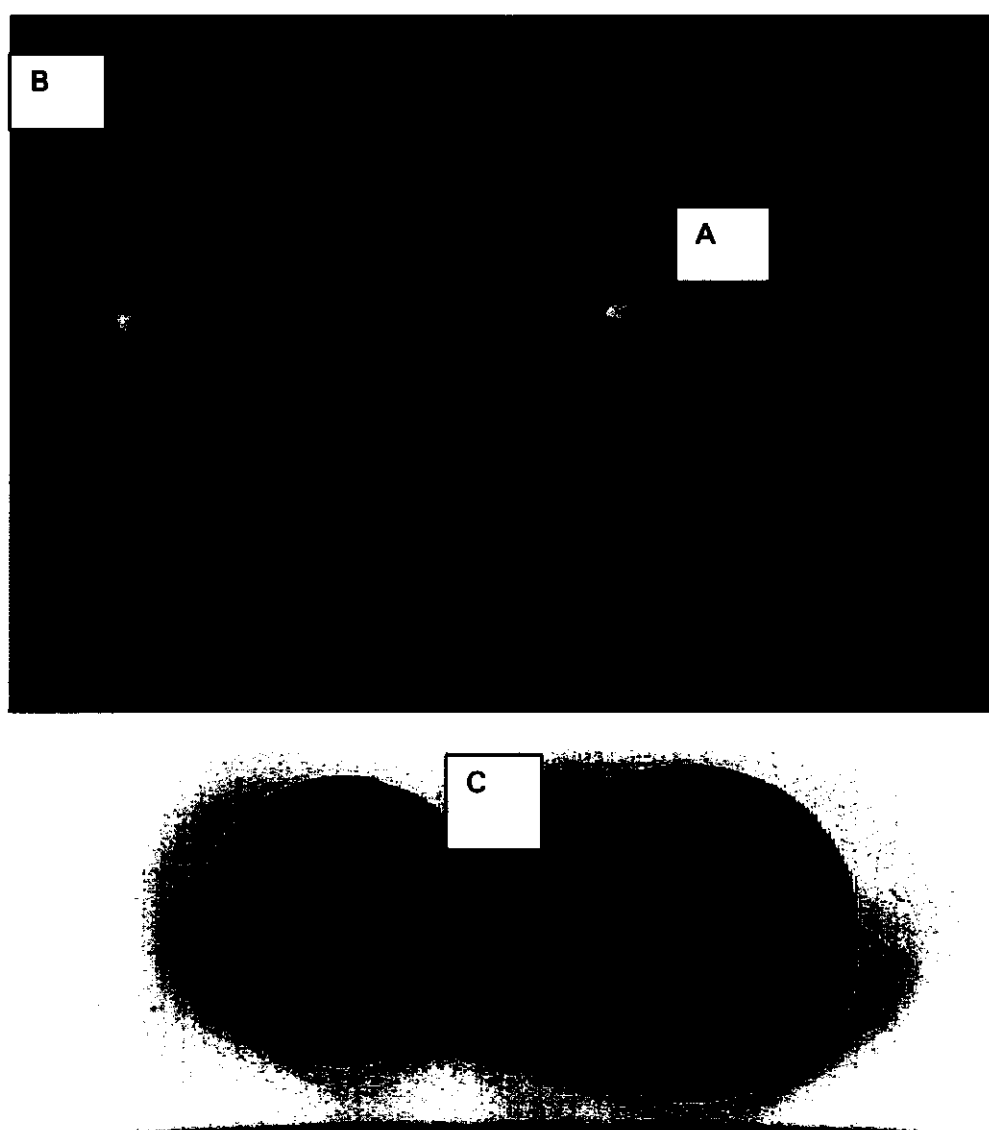


Figuur 9. Symptomen en karakteristieke kenmerken van Fusarium-aantasting; (A) begin vergeling bladbasis, (B) éézijdige aantasting, (C) wit pluizig mycelium-groei in het hart en oranje sporendragers aan de verdroogde steeltjes, (D) roodbruine vaatbundels in de knol

Zo kunnen sommige Phytophthora-soorten op bladeren symptomen veroorzaken die een gespikkelde vergeling geven, terwijl andere grote vergeelde vlekken laten zien vanaf de rand van het blad (Figuur 10B). In dit project is met name Phytophthora capsici onderzocht. Deze geeft grote vergeelde vlekken vanaf de rand van het blad.

Phytophthora dringt de plant binnen via de wortels, welke vrij lang intact blijven. De hoofdwortels worden gaandeweg houtachtig-verhard en krijgen een donkerbruin-zwarte kleur. De vaatbundels worden daarna aangetast en raken verstopt, waardoor water- en voedseltransport stagneren. De snelheid waarmee vervolgens de bovengrondse symptomen ontstaan (incubatietijd), is sterk afhankelijk van temperatuur, luchtvochtigheid en infectiedruk. Incubatietijden van één tot zestien weken en misschien zelfs veel langer zijn mogelijk. Meestal verloopt de infectie bij Phytophthora langzamer dan bij Fusarium. De optimale groeitemperatuur van de

schimmel ligt bij 30°C, maar de optimale temperatuur voor verspreiding en groei van zoösporen ligt bij 25°C. Bij deze temperatuur treedt het snelst uitval op. Aanvankelijk beginnen de stelen van de plant slap te hangen, daarna beginnen de bladeren pas te vergelen vanaf de rand van het blad (2). Opvallend bij *Phytophthora* is de insnoering van de stelen vanaf de knol richting het blad (Figuur 10A). Uiteindelijk breidt de insnoering en verbruining richting blad uit totdat het hele blad afsterft. De aantasting van de bladeren is meestal niet eenzijdig zoals bij *Fusarium*, maar de gehele plant gaat slap hangen. Een dwarsdoorsnede van de knol laat bruin verkleurde vaatbundels zien (Figuur 10C). In een vroeg stadium van de infectie is de kleur van de knol soms licht-paars.

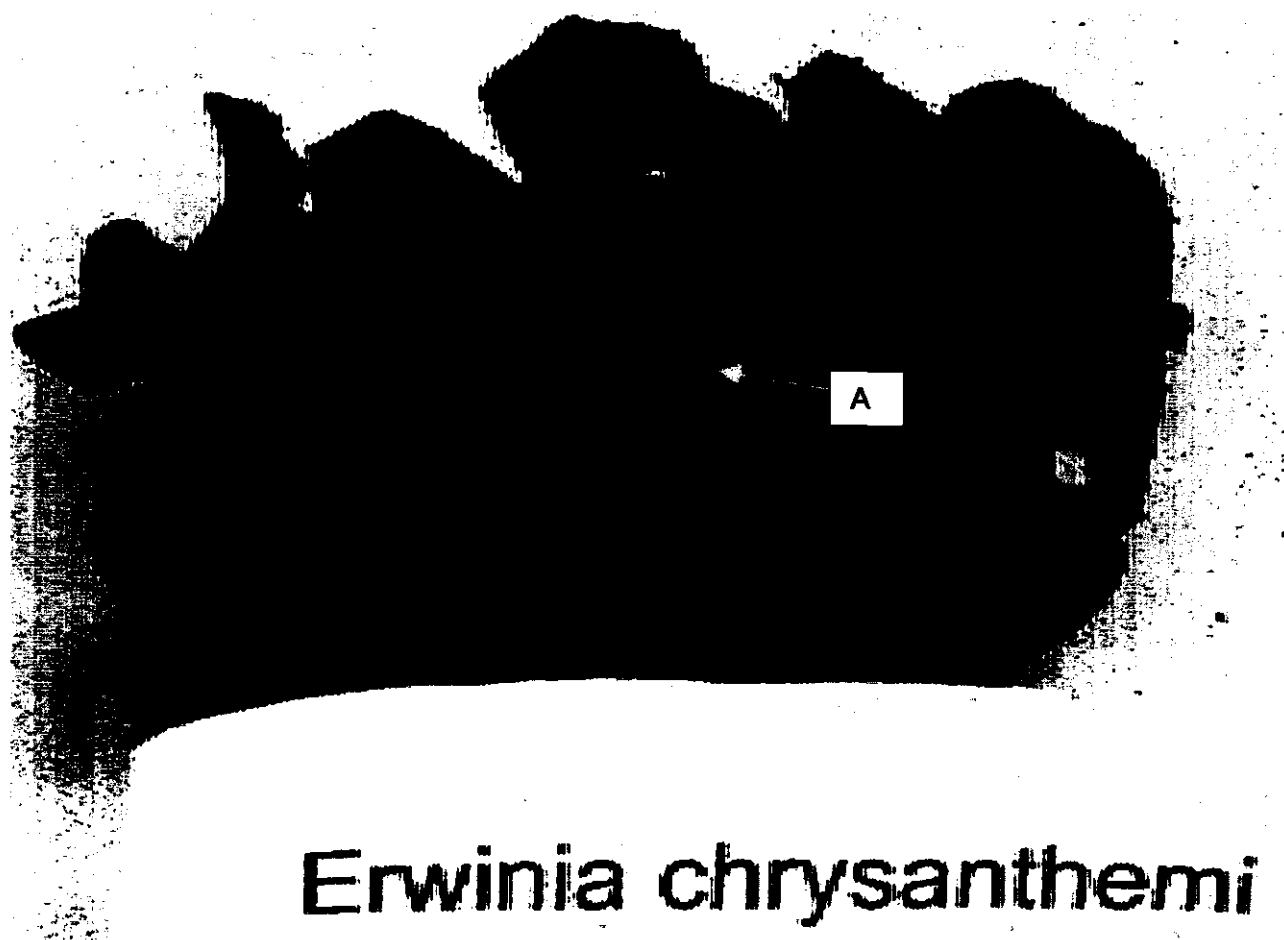


Phytophthora capsici

Figuur 10. Symptomen en karakteristieke kenmerken van *Phytophthora*-aantasting; (A) ingesnoerde donkerbruine stelen, (B) vergeling bladeren vanaf de zijkant richting steel, (C) bruine knol, soms in het begin van de infectie lichtpaars

Erwinia

Erwinia verstopt de vaatbundels waardoor water- en voedseltransport worden belemmerd. Een gedeelte of de hele plant verwelkt (bacterieknolrot). Dit gaat gepaard met vergeling en afsterving van de bladeren. Het verwelkingsproces kan zo snel verlopen dat de bladeren van de ene op de andere dag over de potrand hangen (Figuur 11). Deze verwelking kan gemakkelijk worden verward met die welke door *Fusarium oxysporum* f.sp. *cyclaminis* wordt veroorzaakt. In geval van bacterieknolrot verslijmen de onderreinden van de stelen, worden glazig bruin en later zwart van kleur. Dit rottingsproces trekt door in de richting van het blad (Figuur 11A). Inwendig verslijmt de knol, wordt zacht en bruin tot zwartachtig bruin van kleur. Soms is witachtig bacterieslijm op de knol aanwezig. Is de knol eenmaal zacht, dan is het bovengrondse deel van de plant gemakkelijk los te trekken. De wortels blijven over het algemeen lang intact, maar kunnen ook worden aangetast. De knol is inwendig rot. Infectie vindt vooral plaats door beschadiging van de knol.



Figuur 11. Symptomen en karakteristieke kenmerken van *Erwinia*-aantasting; (A) glazige steeltjes.

5.3 CONCLUSIE/DISCUSSIE

Omdat de symptomen van de *Phytophthora*-aantasting veel lijken op die van *Fusarium* kan het zijn dat er in het verleden wel *Phytophthora*-problemen waren, maar dat deze voor *Fusarium*-problemen werden aangezien. In Tabel 8 zijn een aantal verschillen vermeld die kunnen helpen bij het onderscheid tussen deze twee ziek-

teverwekkers. Er kunnen ook menginfecties ontstaan. Deze kunnen alleen aan het licht komen als de ziekteverwekkers uit de plant worden geïsoleerd. Bij twijfel is het beter om de zieke plant te laten toetsen door DLV, PBG, PD of een ander diagnostisch laboratorium.

Tabel 8 - Verschil in symptomen tussen Phytophthora- en Fusarium-aantasting

Cyclamen	Phytophthora (Figuur 10)	Fusarium oxysporum f. sp. cyclaminis (Figuur 9)
Wortels	Houtachtig verhard donkerbruin/zwart	Bruin
Doorsnede knol	Bruin en vaak over de hele knol (Figuur 10C)	Rood/bruin, (karakteristiek) vaak eenzijdig (Figuur 9D)
Hart	Bruine insnoering vanaf de knol richting blad (Figuur 10A)	Wit/roze mycelium met sporendragers (karakteristiek) (Figuur 9C)
Bladeren	Vergeling bladeren, vanaf de zijkant richting steel (Figuur 10B). De grootte van de gele vlek is afhankelijk van de soort Phytophthora. Meestal wordt de hele plant slap en hangt over de pot (Figuur 10).	Aanvankelijk verkleuren één of enkele van de oudste bladeren geel (Figuur 9A). Meestal begint de vergeling aan de bladbasis en breidt zich van daaruit over het gehele blad. Vaak is de aantasting in het begin eenzijdig (Figuur 9B).

6. INVLOED TEMPERATUUR OP DE AANTASTING

De temperatuur kan van invloed zijn op de aantasting door de ziekteverwekkers. Als de temperatuur nog niet het optimum heeft bereikt geldt de volgende regel: hoe hoger de temperatuur, hoe sneller de aantasting. In de praktijk komt dat ook naar voren, want bij warm weer vindt in de praktijk meer uitval plaats. In de proeven die besproken worden in hoofdstuk 2 en 3 is dit ook gevonden, met name voor *Phytophthora*. Het is belangrijk om te weten wat de optimale temperatuur voor de groei van de verschillende pathogenen is omdat dit een indicatie kan zijn voor de optimale temperatuur voor aantasting. Nog belangrijker is om te weten bij welke temperatuur de planten het snelst aangetast worden door de ziekteverwekker.

Van de drie belangrijkste pathogenen in *Cyclamen* is in de literatuur het meest bekend over *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*. De optimale groeitemperatuur voor *Fusarium* ligt bij 27,5° en bij 5°C of lager is er geen groei meer. Een aantasting bij 17°C begint 4,5 weken na inoculatie en na acht weken zijn alle planten ziek. Een aantasting bij 15°C verloopt langzamer en bij 23°C veel sneller (Rattink, 1986). Tien dagen is de kortste incubatietijd bij een hoge inoculumdichtheid en bij 27°C. 115 dagen is de langste incubatietijd bij een lage inoculumdichtheid (de temperatuur wordt hierbij niet genoemd). Temperatuurwisselingen hebben geen grote invloed op de ontwikkeling van de symptomen. De eerste symptomen beginnen bij de som van de gemiddelde dagtemperatuur van 400°C. Dit betekent dat bij een dagtemperatuur van 20°C na 20 dagen (400/20) de eerste symptomen zichtbaar zijn. Verhoging van de temperatuur naar 27°C geeft een verkorting van de incubatietijd (Koch, 1993). Een hogere temperatuur leidt eveneens tot een snellere symptoomontwikkeling. Het waterverbruik van de planten is dan ook groter waardoor verwelkingsverschijnselen bij de plant versneld optreden (Stelder, 1994).

Over *Erwinia chrysanthemi* is minder bekend. Voor *Erwinia carotovora* is de optimale groeitemperatuur 28-30°C (Smith en Bartz, 1990; Boonstra H, 1990). Aantasting door *Erwinia carotovora* wordt bevorderd bij hoge temperaturen (25-30°C) in combinatie met een hoge luchtvochtigheid of vrij water, en wordt vaak voorafgegaan door andere plantenparasitaire aantastingen (Verberkt et al, 1997).

Phytophthora capsici bij *Cyclamen* wordt pas sinds 1995 in Nederland gevonden. Daarvoor was er weinig bekend over *Phytophthora* bij *Cyclamen*. In de literatuur wordt *Phytophthora capsici* uitvoerig beschreven. De minimum groeitemperatuur is 10°C, het optimum 28°C en het maximum 35°C. Sommige artikelen geven andere waarden aan, dus mogelijk is het niet bij alle isolaten gelijk. Temperaturen tussen 18 en 30°C zorgen voor een snelle aantasting van tomaat en zwarte peper. Symptoomontwikkeling wordt vertraagd boven een temperatuur van 28°C (Erwin en Ribeiro, 1996; p. 262-268).

Omdat over *Phytophthora capsici* en *Erwinia chrysanthemi* bij *Cyclamen* weinig bekend is, zijn er laboratoriumproeven en kasproeven uitgevoerd om de invloed van temperatuur op de aantasting van *Cyclamen* te bepalen. Bij de laboratoriumproeven is bij *Phytophthora capsici* de radiale myceliumgroei en de toename van het aantal gevormde sporangia bepaald. Bij de kasproeven is de invloed van temperatuur op de aantasting van *Cyclamen* onderzocht.

6.1 MATERIALEN EN METHODEN

6.1.1 Labproef

Radiale myceliumgroei van Phytophthora capsici bij verschillende temperaturen

De radiale myceliumgroei wordt onderzocht om de snelheid van de groei van Phytophthora bij een bepaalde temperatuur te achterhalen. Voor het bepalen van de radiale groei van Phytophthora capsici (PD 96/12146) en de sporangiënvorming is erwtenmedium gebruikt. De ingrediënten voor het maken van erwtenmedium zijn te vinden in Bijlage 1. De schalen met erwtenmedium zijn met P. capsici geënt door stukjes mycelium in het midden te plaatsen. De schalen zijn één week bij 26°C geïncubeerd.

Bij de radiale groei zijn er ponsjes (diameter 5 mm) gemaakt van schalen die nog niet volgroeid waren met mycelium. De ponsjes zijn uit de randen van de kolonie genomen en gelegd in het midden van de nieuwe schalen. Eerst zijn alle schalen één dag bij 20°C gelegd om een uniform begin van de groei te krijgen. Daarna zijn tien schalen bij elke temperatuur gelegd. De temperatuurreeks was: 5, 10, 15, 16, 17, 18, 20, 25, 30 en 35°C. De diameter van de kolonie is elke dag gemeten en de toename per 24 uur is bepaald.

Sporangiënproductie door Phytophthora capsici bij verschillende temperaturen

Sporangiën zijn blaasvormige structuren waarbinnen zoösporen worden gevormd. De zoösporen kunnen zich actief voortbewegen om een plant aan te tasten. Sporangiën kunnen echter de plant ook aantasten door direct op de plant te kiemen. Voor het bepalen van de optimale sporangiënproductie is het mycelium op dezelfde wijze opgegroeid als voor de radiale myceliumgroei. Van de buitenste rand van de kolonie, voordat de schaal volgroeid is met mycelium, zijn tien ponsjes gehaald en overgebracht in een nieuwe, lege petrischaal. Over de ponsjes is water gegoten net tot de ponsjes zijn ondergedompeld. Bij elke temperatuur van dezelfde temperatuurreeks als hierboven zijn er tien schalen gelegd. De toename van het aantal sporangiën is elke dag bepaald door het aantal gevormde sporangiën per gezichtsveld per ponsje te tellen bij een vergroting van vijftig keer.

6.1.2 Kasproef

Voor deze proef zijn twee organismen gebruikt, namelijk Phytophthora capsici (PD 96/12146) en Erwinia chrysanthemi (PD 593). De planten zijn geïnoculeerd met Phytophthora in een concentratie van 0,4 schaal mycelium per plant en met Erwinia in een concentratie van $2 \cdot 10^8$ bacteriën per plant. Voor dit onderzoek zijn acht kassen gebruikt met een verschillende ingestelde temperatuur van respectievelijk 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30 en 33°C. In elke kas is een datalogger geplaatst om de temperatuur en luchtvochtigheid gedurende de proefperiode te registreren. In elke kas zijn twee betonnen bakken. De ene bak heeft een oppervlak van $4,14\text{m}^2$ (0,92x4,50) en de andere van $4,51\text{m}^2$ (0,92x4,90). De bak met een oppervlak van $4,14\text{m}^2$ is gebruikt voor Erwinia en die van $4,51\text{m}^2$ is gebruikt voor Phytophthora. Op de betonnen vloer in de bak is een bevoeiingsmat gelegd met daaronder druppelaars, waardoor de planten via capillaire werking van de potgrond water en voeding kregen. In elke bak zijn er 76 planten (4x19) van de cultivar 'F1

Concerto Wit Apollo' geplaatst. Deze zijn opgepot in een pot van 12 cm in diameter en een inhoud van 0,8 liter.

De belangrijkste teelt- en behandelingsfactoren worden hieronder opgesomd:

Proefperiode	25-11-1998 (week 48) t/m 14-04-1999 (week 15)
Oppotdatum	25-11-1998 (week 48)
Inoculatie datum	09-12-1998 (week 50)
Einde proef	14-04-1999 (week 15)

Wekelijks is op een vaste dag het aantal zieke planten geteld.

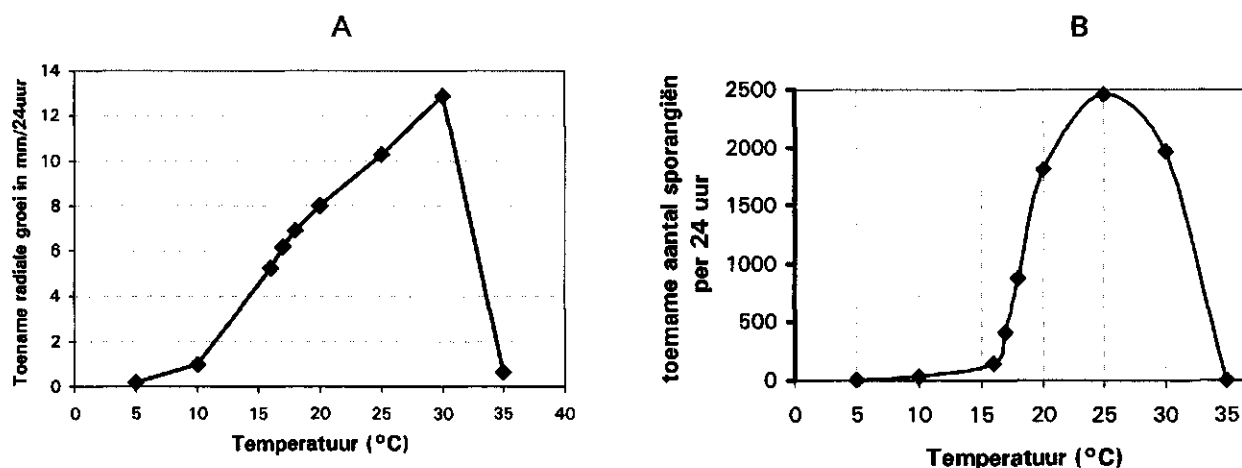
6.2 RESULTATEN

Optimumtemperatuur voor groei en sporangiënproductie bij Phytophthora capsici

De radiale groei van mycelium van *P. capsici* is bij elke temperatuur gemiddeld en uitgezet in Figuur 12A. De groeisnelheid neemt vanaf 5°C toe tot een maximum bij 30°C. Bij 35°C wordt geen groei meer gevonden. Zoals in Figuur 12A te zien is, is bij 5°C en 35°C de groeisnelheid bijna nul. Het feit dat bij deze lage en hoge temperaturen toch nog enige groei gevonden wordt, komt omdat de ponsjes eerst één dag bij 20°C zijn bewaard. Nadat deze bij de lage temperaturen worden gelegd, gaat de groei één dag door, maar daarna stopt de groei tot nul.

Bij de sporangiënvorming is op dag 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 16 en 25 het gemiddeld aantal gevormde sporangiën per gezichtsveld (50x vergroting) per schaal bepaald, waarna het gemiddelde over tien schalen genomen is. Op dag 16 is bij 25°C een maximum bereikt waarbij het aantal niet meer te tellen is of constant blijft. De resultaten zijn uitgezet in Figuur 12B. Voor sporangiënvorming ligt het optimum bij 25°C. Beneden 10°C en boven 35°C wordt geen sporangiënvorming waargenomen.

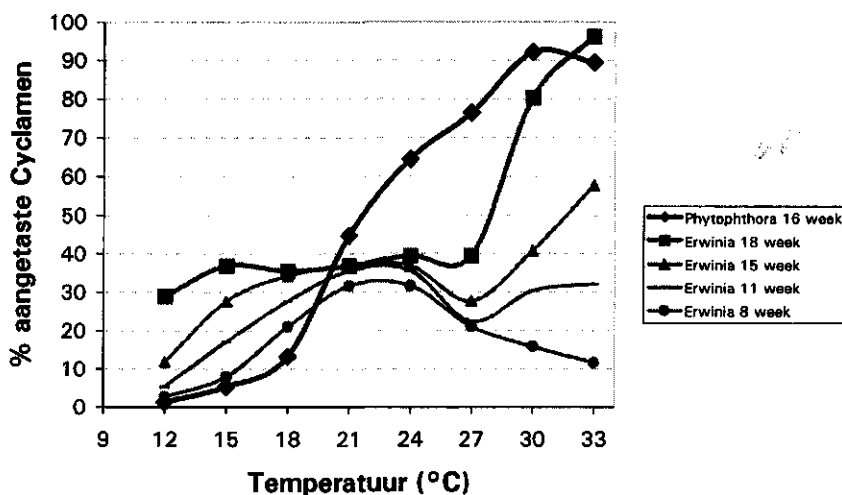
De waarde die bij 15°C is bepaald wordt in Figuur 12A en 12B niet weergegeven, omdat de werkelijke temperatuur waarin de schalen werden bewaard iets hoger lag dan 15°C.



Figuur 12. (A) Toename van de radiale groei van mycelium van *Phytophthora capsici* in mm/24uur bij verschillende temperaturen. (B) Toename aantal sporangiën per 24 uur van *Phytophthora capsici* op erwtenmedium bij verschillende temperaturen

Effect temperatuur op aantasting van cyclamen door *Phytophthora* en *Erwinia*

In Figuur 13 is de invloed van de temperatuur op de aantasting van Cyclamen door *Phytophthora* en *Erwinia* weergegeven. De optimumtemperatuur van *Phytophthora* voor de aantasting van Cyclamen ligt bij 30°C. Bij deze temperatuur is zestien weken na inoculatie 92% van de planten aangetast. Onder de 18°C is de aantasting veel geringer. Voor *Erwinia* is geen duidelijk optimum te bepalen. Acht weken na inoculatie lijkt een optimum te ontstaan bij 21-24°C. Achttien weken na inoculatie ontstaat geleidelijk een plateau tussen 15-27°C met aantastingspercentages tussen de 35% en 40%. Bij hogere temperaturen zijn bijna 100% van de planten aangetast.



Figuur 13. Invloed van temperatuur op de aantasting van Cyclamen door *Phytophthora capsici* en *Erwinia chrysanthemi*; % aantasting door *Phytophthora* 16 weken na inoculatie (♦), % aantasting door *Erwinia* 18 weken na inoculatie (■), % aantasting door *Erwinia* 15 weken na inoculatie (▲), % aantasting door *Erwinia* 11 weken na inoculatie (-), % aantasting door *Erwinia* 8 weken na inoculatie (●).

Bij eerdere proeven was reeds geconstateerd dat bij verhoging van de temperatuur de aantasting toenam. Daarom is zestien weken na inoculatie de temperatuur bij de kas met de laagste temperatuur (12°C) verhoogd naar 27°C (Figuur 14). Bij *Phytophthora* vond binnen twee weken een sterke toename in de aantasting plaats van 1% naar 67%. Bij *Erwinia* was de invloed ook waarneembaar, maar de toename in aantasting was geringer, namelijk van 16% naar 26%.

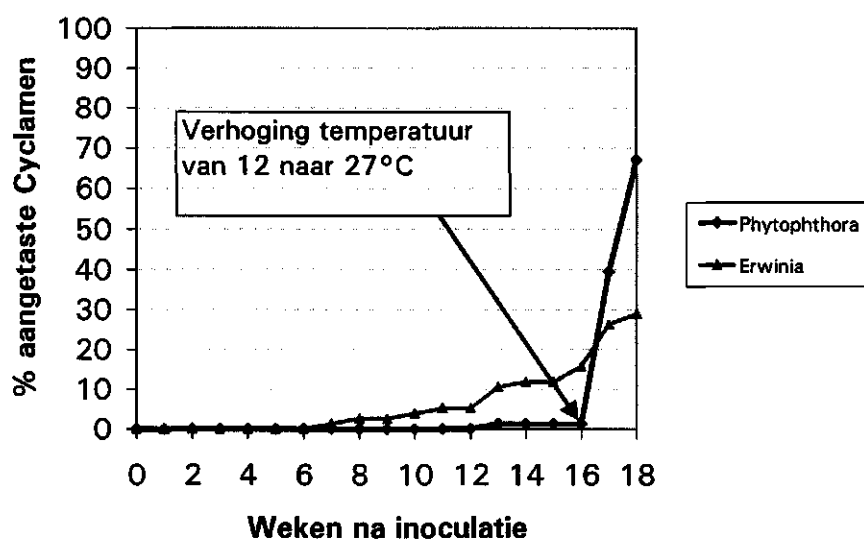
Effect temperatuur op de groei van de planten

De planten hebben een verschillende groeiontwikkeling bij de verschillende temperaturen. Bij 24°C groeit de plant het snelst. Hierbij zijn de stelen het langst en is de plant niet mooi compact. Bij 18°C is de plant kleiner dan bij 24°C en mooi compact. Bij 30°C en in sterkere mate bij 33°C vindt helemaal geen groei van de planten plaats. De planten blijven even klein als het begin. Dat gaf bij de beoordeling van het aantal zieke planten een probleem omdat de symptomen niet zo duidelijk zichtbaar waren.

Effect relatieve luchtvochtigheid (RV)

RV kan van invloed zijn op de aantasting. Gedurende de proef is de RV gemeten in alle kassen bij de verschillende temperatuurinstellingen. De RV was van tevoren niet te regelen. De RV vertoonde een hoge variatie en deze is gemiddeld voor alle temperaturen. De gemiddelde, minimum en maximum RV bij de betreffende temperaturen wordt hieronder weergegeven. Het is duidelijk dat naarmate de temperatuur hoger wordt, de RV lager wordt. Er is geen verband te leggen tussen de RV en de aantasting door *Erwinia* in deze proef.

Temperatuur (°C)	12	15	18	21	24	27	30	33
RV (%)	75	66	71	56	46	55	36	30
RV min (%)	54	44	50	42	33	48	26	20
RV max (%)	85	80	87	66	55	62	43	39



Figuur 14. Invloed verhoging temperatuur van 12 naar 27°C op de aantasting van Cyclamen door *Phytophthora* (◆), en *Erwinia* (▲).

6.3 CONCLUSIE/DISCUSSIE

Erwinia chrysanthemi

Voor *Erwinia* verloopt de aantasting van de planten niet volgens een logisch patroon. Acht weken na inoculatie lijkt er een optimum te ontstaan bij 21-24°C. Echter na achttien weken ontstaat er een plateau met 35-40% aantasting bij 15-27°C. Bij 30°C en 33°C neemt de aantasting sterk toe. De groei van de Cyclamen bij deze temperaturen is sterk geremd, waardoor ook de mate van aantasting moeilijk te bepalen was. Bij *Erwinia chrysanthemi* heeft een temperatuurverhoging tijdens de teelt een geringe invloed op de aantasting. Deze nam toe met maar 10% (Figuur 14). In de praktijk zal dus de invloed van temperatuur op de aantasting door *Erwinia* gering zijn. Voor *Erwinia* is de inoculumdichtheid van groter belang. Ook de verspreiding door menselijke handelingen is van grotere invloed. Zo kunnen door teelthandelingen hoge aantallen bacteriën van zieke planten naar gezonde planten worden meegenomen. Ook kunnen tijdens een watergift bovendoor

bacteriën worden verspreid met het opspatten van waterdruppels met daarin hoge aantallen bacteriën.

Phytophthora

Bij de sporangiënvorming ligt het optimum bij 25°C. Beneden 10°C en boven 35°C wordt geen sporangiënvorming waargenomen. Hoewel de optimumgroei van *Phytophthora* bij 30°C ligt, zal de verspreiding bij 25°C sneller worden gerealiseerd, omdat de sporangiën bij 25°C een optimumgroeisnelheid hebben. De optimumtemperatuur bij *Phytophthora* voor de aantasting van *Cyclamen* ligt bij 30°C. Zestien weken na inoculatie is 92% van de planten aangetast. Bij temperaturen onder de 18°C is de aantasting veel geringer.

Bij lage temperaturen blijft de schimmel latent aanwezig. Wordt de temperatuur verhoogd, dan versnelt de symptoomontwikkeling en is de aantasting snel zichtbaar. Voor de praktijk heeft dat grote gevolgen. Indien *Phytophthora* in het teeltsysteem aanwezig is, maar de kastemperatuur kan voldoende laag worden gehouden, blijven de symptomen uit. Indien echter door buitenomstandigheden de kastemperatuur oploopt, worden de planten snel ziek.

Effect temperatuur op de groei van Cyclamen

De *Cyclamen* hadden verschillende groeisnelheden bij verschillende temperaturen met een optimum bij 24°C. Bij 30 en 33°C vond helemaal geen groei van de planten plaats. Dat gaf bij de beoordeling van het aantal zieke planten een probleem, omdat de symptomen niet zo duidelijk waren.

7. MINIMALE INFECTIEUZE EENHEDEN NODIG VOOR AANTASTING DOOR FUSARIUM, PHYTOPHTHORA EN ERWINIA

De mate en de snelheid van aantasting van Cyclamen door wortelpathogenen kan worden bepaald door temperatuur en door het aantal infectieuze eenheden die met de plant in contact komen. In het rapport van Stelder staat beschreven dat Fusarium al vanaf 100 sporen per liter voedingsoplossing aantasting geeft (Stelder, 1994). In dit hoofdstuk wordt onderzoek beschreven over de minimale infectieuze eenheden. Dit is uitgevoerd bij Phytophthora en Erwinia. Verschillende inoculum-dichtheden zijn in de tank toegevoegd en wekelijks is het aantal aangetaste planten geteld. De grens van aantasting is bepaald door waar te nemen bij welke concentratie infectieuze eenheden nog net aantasting wordt veroorzaakt.

7.1 MATERIALEN EN METHODEN

Voor deze proef zijn twee organismen gebruikt, namelijk *Phytophthora capsici* (PD 96/12146) en *Erwinia chrysanthemi* (PD 593). De tank is geïnoculeerd met zeven verschillende concentraties van elk organisme. De concentraties voor *Phytophthora* waren: 1, 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 en 10^6 zoösporen/liter. De concentraties voor *Erwinia* waren: 10^3 , 10^4 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 en 5×10^9 bacteriën/liter. Verder is een controle met niet geïnoculeerde planten meegenomen. Dus in totaal zijn er $7 + 7 + 1 = 15$ behandelingen. Iedere behandeling is in drie herhalingen uitgevoerd. Dit onderzoek is uitgevoerd in de kassen L202 en L302 waarin totaal 48 eb/vloed-tafels staan met elk een oppervlakte van 2m^2 /tafel en een tankinhoud van 300 liter.

Er komen op elke tafel 45 planten (9x5). Hiervan zijn 20 planten (4x5) van de cultivar 'Rondo L. Scharlaken' (F1) en 25 zaadvast. De zaadvaste Cyclamen bestaan uit 15 planten (3x5) 'Super zalm' en 10 planten (2x5) 'Midi superserie'.

De belangrijkste teelt- en behandelingsfactoren worden hieronder opgesomd:

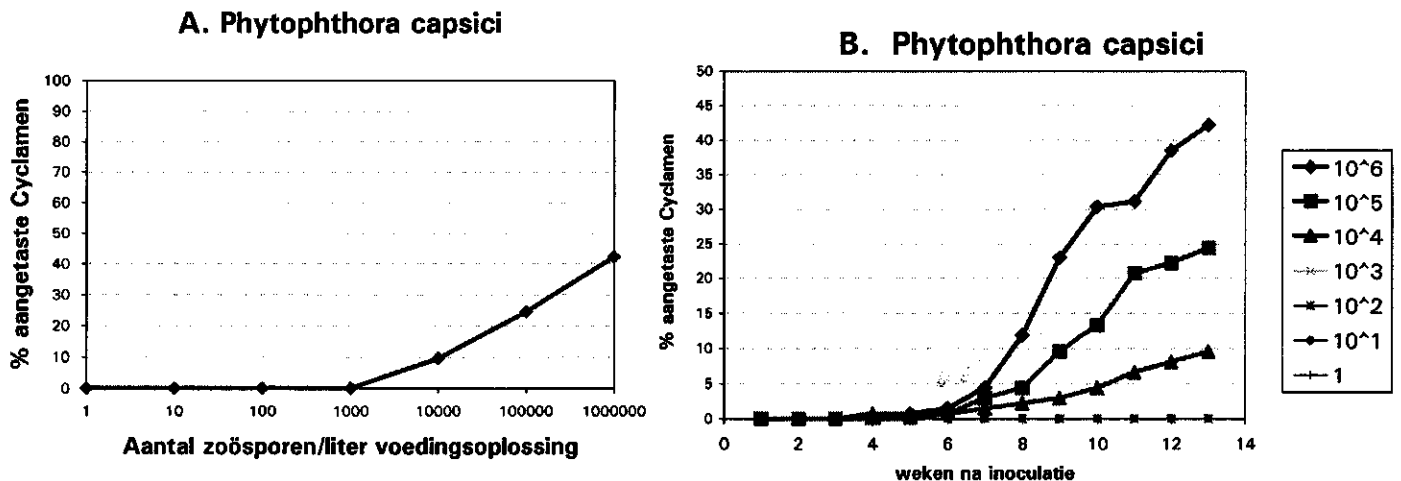
Proefperiode	28-04-1998 (week 18) t/m 24-08-1998 (week35)
Oppotdatum	28-04-1998 (week 18)
Inoculatiedatum	Erwinia 13-05-1998; week 20 Phytophthora 26-05-1998; week 22
Einde proef	24-08-1998 (week35)
Kasluchttemperatuur	17°C dag en 15°C nacht.
Schermen	Eerste 2 weken boven de $350\text{W}/\text{m}^2$ en daarna boven de $600\text{W}/\text{m}^2$; licht krijten op dek.
Watergift	Eerste 2 weken één tot twee keer per week en daarna naar behoefte

Er is iedere maandag beoordeeld op het aantal zieke planten.

7.2 RESULTATEN

In Figuur 15 is het percentage aangetaste planten door *Phytophthora* weergegeven. Voor *Phytophthora capsici* is de grens van aantasting tussen de 10^3 en 10^4 zoösporen/liter voedingsoplossing (Figuur 15A). Bij een concentratie van 10^4 , 10^5 en 10^6 zoösporen/liter is dertien weken na inoculatie respectievelijk 10%, 24 en

42% van de planten ziek (Figuur 15B). Onder de 10^4 zoösporen/liter is geen aantasting geconstateerd tijdens de proefperiode. De incubatieperiode bij *Phytophthora* is in deze proef circa vijf weken en is afhankelijk van de gerealiseerde temperaturen in de proefperiode.

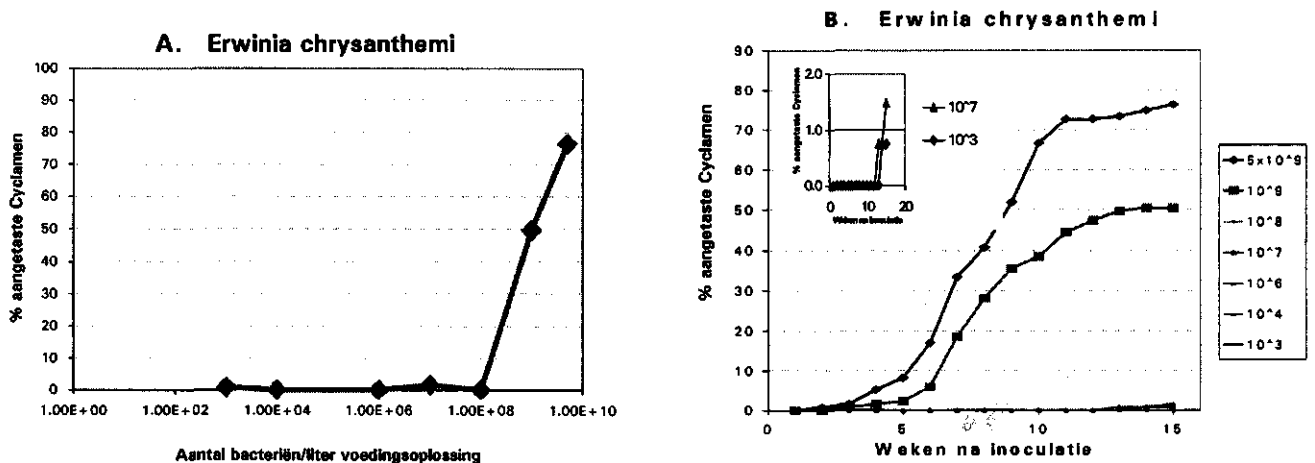


Figuur 15. Aantasting door *Phytophthora capsici* bij verschillenden aantallen zoösporen/liter voedingsoplossing, dertien weken na inoculatie (A) en gedurende dertien weken na inoculatie (B) met een concentratie van: 10^6 (◆), 10^5 (■), 10^4 (▲), 10^3 (x), 10^2 (*) en 10^1 (●) en 1 (+) zoösporen /liter.

In Figuur 16 is het percentage aangetaste planten door *Erwinia* weergegeven. Voor *Erwinia chrysanthemi* is de grens van aantasting niet zo duidelijk, maar boven 10^8 bacteriën/liter voedingsoplossing neemt de aantasting aanzienlijk toe. Bij 10^3 en 10^7 bacteriën/liter is het aantastingspercentage van de planten heel laag (1%). Bij 10^4 , 10^6 , en 10^8 bacteriën/liter wordt geen aantasting gevonden (Figuur 16).

De eerste aantasting door *Erwinia chrysanthemi* begint twee weken na inoculatie bij de hoogste concentratie van $5 \cdot 10^9$ bacteriën/liter en vijftien weken na inoculatie is 76% van de Cyclamen ziek. Bij een concentratie van 10^9 bacteriën/liter beginnen de eerste symptomen drie weken na inoculatie en vijftien weken na inoculatie is 50% van de Cyclamen ziek. Bij 10^7 en 10^3 bacteriën/liter begint de aantasting respectievelijk dertien en veertien weken na inoculatie en vijftien weken na inoculatie is slechts 1% van de planten ziek. De incubatieperiode bij *Erwinia chrysanthemi* is korter bij een hoog inoculum en langer bij een laag inoculum (Figuur 16B).

Doordat de ontsmetting in de kassen L202 en L302 niet goed heeft gewerkt, zijn in deze proef planten ziek geworden door *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*, terwijl deze met *Erwinia* of *Phytophthora* zijn geïnoculeerd. Het verschil in symptomen bij de aantasting door *Fusarium* en *Erwinia* is op het oog duidelijk waarneembaar. Bij *Phytophthora* was dat minder duidelijk. In die gevallen waar twijfel bestond, zijn bij de planten herisolaties gedaan om te achterhalen wat de ziekteverwekkers waren. De waarden die zijn weergegeven zijn gecorrigeerd voor de *Fusarium*-aantasting.



Figuur 16. Aantasting door *Erwinia chrysanthemi* bij verschillende aantallen bacteriën/liter voedingsoplossing, vijftien weken na inoculatie (A), en gedurende vijftien weken na inoculatie (B) met een concentratie van: 5×10^9 (◆), 10^9 (■), 10^8 (-), 10^7 (▲), 10^6 (-), 10^4 (-) en 10^3 (●) bacteriën/liter.

7.3 CONCLUSIE/DISCUSSIE

Phytophthora

Voor *Phytophthora capsici* ligt de grens voor aantasting bij 10^3 tot 10^4 zoösporen/liter voedingsoplossing. Dit aantal komt overeen met wat er in de literatuur wordt gevonden. Erwin en Ribeiro (1996) beschrijven dat er minimaal 10^4 zoösporen/liter nodig zijn om alle planten ziek te kunnen maken. Voor de eerste ziektesymptomen bij *Phytophthora* speelt de temperatuur een grotere rol dan de concentratie. De concentratie speelt wel een rol in de uiteindelijke hoeveelheid aangetaste Cyclamen aan het eind van de proef. Naarmate de concentratie hoger wordt, wordt ook het aantastingspercentage hoger.

Erwinia

Voor de eerste ziektesymptomen bij *Erwinia chrysanthemi* speelt de concentratie een grote rol. Hoe hoger de concentratie, hoe sneller de eerste symptomen. De concentratie speelt ook een rol in de uiteindelijke hoeveelheid aangetaste Cyclamen aan het eind van de proef. Naarmate de concentratie hoger wordt, wordt ook het aantastingspercentage hoger.

Voor *Erwinia chrysanthemi* is de grens van aantasting niet duidelijk vast te stellen. Er zijn enkele planten ziek bij een concentratie van 10^3 en 10^7 bacteriën/liter, terwijl pas bij een concentratie van 10^9 bacteriën/liter veel planten ziek worden. Waarschijnlijk ligt de grens van aantasting tussen 10^6 en 10^7 bacteriën/liter. In de proeven beschreven in hoofdstuk 2 en 3 zijn inoculumdichtheden gebruikt van 10^7 bacteriën/liter en daar zijn respectievelijk 16% en 10% van de planten ziek geworden. Het feit dat er door *Erwinia* bij een concentratie van 10^8 bacteriën/liter geen planten ziek zijn geworden, kan verklaard worden doordat *Fusarium* in de waarneming van de zieke planten gestoord heeft. Bij die concentratie zijn er wel planten

ziek geworden, maar die zijn niet meegerekend omdat er vanuit is gegaan dat deze door *Fusarium* zijn aangetast. Het kan zijn dat tussen de aangetaste planten wel planten door *Erwinia* zijn aangetast, maar dat deze niet duidelijk waarneembaar waren.

Het feit dat bij *Erwinia* eerst tot een concentratie van 10^8 bacteriën/liter maar enkele planten ziek worden en daarna bij een concentratie van 10^9 de aantasting snel omhoog schiet, kan verklaard worden door een eigenschap van bacteriën. Het is bekend dat bacteriën zich eerst vermeerderen tot een bepaalde concentratie (drempel) en als eenmaal die drempel bereikt is, de bacteriën pas beginnen met het produceren van enzymen om de celwanden van planten af te breken, waarna aantasting zichtbaar wordt.

8. OVERLEVING PATHOGENEN

Het is erg belangrijk om te weten hoe lang pathogenen kunnen overleven in een voedingsoplossing, want de overleving van pathogenen in de voedingsoplossing beïnvloedt het risico voor verspreiding in de teelt. *Fusarium* is een voorbeeld van goede overleving, want zelfs grondig onsmetten van de tafels en tanks met chloor kon niet voorkomen dat de planten die daarna op de tafels geplaatst waren, ziek werden. Dit komt naar voren in hoofdstuk 2 en 7. Bij *Phytophthora* en *Erwinia* is gevonden dat bij hergebruik van de tankinhoud de planten niet ziek werden (hoofdstuk 3 en 8). Door te onderzoeken hoe lang de pathogenen kunnen overleven, in combinatie met de informatie in hoofdstuk 6, waarbij bepaald is hoeveel infectieuze eenheden minimaal nodig zijn om *Cyclamen* ziek te maken, kan een voorspelling gedaan worden omtrent het risico van infectie bij bewaring en hergebruik van de voedingsoplossing.

Voor het onderzoek naar de overleving van de pathogenen zijn voor deze proef vier *Cyclamen*voedingsoplossingen met de verschillende pathogenen klaargemaakt. De pathogenen waren *Erwinia*, *Fusarium* en *Phytophthora*. Bij *Phytophthora* is zowel mycelium als zoösporen onderzocht. Vervolgens werden gedurende 32 weken op tevoren bepaalde tijdstippen planten aangegoten met diverse voedingsoplossingen. Van deze voedingsoplossingen werd gelijktijdig door uitplaten het aantal infectieuze eenheden bepaald. De geïnoculeerde planten werden gedurende dertig weken gevolgd op het optreden van aantasting.

8.1 MATERIALEN EN METHODEN

Voor deze proef zijn eerst voedingsoplossingen met ziektekiemen van de verschillende pathogenen gemaakt. Bij *Phytophthora* zijn twee soorten ziektekiemen getest, namelijk zoösporen en gemalen mycelium. Bij *Fusarium* werden sporen gebruikt en bij *Erwinia* bacteriën. De ingrediënten voor het maken van de verschillende voedingsbodems zijn te vinden in Bijlage 1.

Bereiding ziektekiemen

Phytophthora capsici

Voor het maken van mycelium van *Phytophthora* is in een schaal met PDA (Potato Dextrose Agar) in het midden een stukje mycelium gelegd en twee weken bij 26°C geïncubeerd. Het mycelium is verzameld in een kan waaraan een hoeveelheid *Cyclamen*voedingsoplossing is toegevoegd. Het geheel is met een mixer fijn-gemalen en verdund tot een concentratie van vijf schalen/liter. Daarvan is 40 ml/plant toegevoegd wat overeen komt met 0,2 schaal/plant.

Voor het maken van zoösporen van *Phytophthora* is in een schaal met erwtenmedium in het midden een stukje mycelium gelegd en één tot twee weken bij 26°C geïncubeerd. Van de buitenste rand van de kolonie, voordat de schaal volgroeid is met mycelium, is een ring gesneden met een dikte van ongeveer 6 mm. Deze is overgebracht in een nieuwe lege petrischaal en in stukjes van 6x6 mm verdeeld. Over de stukjes is *Cyclamen*voedingsoplossing gegoten, net tot de stukjes waren ondergedompeld. Deze schalen zijn onder continu licht bij 25°C geïncubeerd. Na acht tot elf dagen zijn de stukjes volgroeid met sporangia. Door de schalen eerst

één uur bij 4°C te plaatsen en daarna één uur bij 25°C wordt een temperatuurschok veroorzaakt waardoor de zoösporen vrij komen. De blokjes zijn gezeefd en in de overgebleven oplossing zijn de zoösporen verzameld. Om de zoösporen te tellen is één ml zoösporenoplossing bij 1 ml formaline 2% toegevoegd, waardoor de zoösporen niet meer beweeglijk worden. De zoösporen zijn dan geteld met een Bürker-telkamer en verdund tot een concentratie van $2,5 \cdot 10^7$ zoösporen/liter. Van deze oplossing is bij elke plant 40 ml toegevoegd, wat overeenkomt met een hoeveelheid van 10^6 zoösporen/plant.

Fusarium oxysporum f. sp. cyclaminis

Fusarium is geënt op PDA en na een incubatie van twee weken in het donker bij 26°C is de schaal volgroeid. Eerst is 20 ml water over het mycelium geschonken en daarna zijn de sporen met een spatel los geschraapt. De oplossing is over kaasdoek geschonken om alleen een sporenoplossing te verkrijgen. De sporen zijn geteld met een Bürker-telkamer en verdund tot een concentratie van 10^9 sporen/liter. Van deze oplossing is bij elke plant 40 ml toegevoegd, wat overeenkomt met een hoeveelheid van $4 \cdot 10^7$ sporen/plant.

Erwinia chrysanthemi

Bij *Erwinia* is eerst een overnachtculture gemaakt waarvan 1 ml is toegevoegd aan vloeibaar YPG-medium. Na twee dagen zijn de bacteriën geteld. Om de bacteriën te tellen is 1 ml bacterieoplossing bij 5 ml formaline 2% toegevoegd, waardoor de bacteriën niet meer beweeglijk waren. De oplossing is verdund tot een concentratie van $7,5 \cdot 10^9$ bacteriën/liter. Van deze oplossing is bij elke plant 40 ml toegevoegd, wat overeenkomt met een hoeveelheid van $3 \cdot 10^8$ bacteriën/plant.

Van elk pathogeen is 30 liter voedingsoplossing gemaakt in een 50 liter-vat. Er is ook een beetje steriele grond in het vat gedaan om de praktijk na te bootsen. De pH in de vaten is gesteld op 5,9 en de EC op 1,7 mS/cm. Omdat de stikstof in de oplossing in nitraatvorm is toegediend, zorgt dat voor een constantere pH-waarde. De vaten zijn bewaard bij 17°C in het houdbaarheidsgebouw in cel H8. De deksels van de vaten zijn los op de openingen gelegd om ervoor te zorgen dat er voldoende zuurstof in de oplossing komt. De inhoud van de vaten is wekelijks geroerd.

Tijdens bewaring van de voedingsoplossingen met de micro-organismen is op twaalf momenten het aantal CFU (kolonievormende eenheden) bepaald en 40 ml van elke oplossing toegevoegd aan de planten in de kasproeven. De tijdstippen van deze twaalf momenten zijn in Tabel 9 Weergegeven. Voor het bepalen van het aantal CFU zijn voor *Fusarium* Komada-platen, voor *Phytophthora* P₁₀ARPH-platen en voor *Erwinia* CVP-platen gebruikt.

Kasproef

Voor de kasproeven worden de volgende pathogenen gebruikt: *Fusarium oxysporum f. sp. cyclaminis* (NAKB 96/C341), *Erwinia chrysanthemi* (PD 593) en *Phytophthora capsici* (PD 96/12146). *Phytophthora* is zowel in de vorm van zoösporen als mycelium getest. Op elk moment, zoals beschreven in Tabel 9, zijn met elk pathogeen tien planten geïnoculeerd met 40 ml uit elk vat. Ook zijn tien planten als controle meegenomen die niet geïnoculeerd zijn. Hiermee kan later achterhaald worden of de oorspronkelijke planten vrij waren van ziektekiemen.

Tabel 9 - Tijdstippen tijdens bewaring van de voedingsoplossing met de micro-organismen, waarop het aantal CFU werd bepaald en 40 ml van elke oplossing werd toegevoegd aan de planten

Moment	Datum	Weken na klaarmaken voedingsoplossing	Dagen na klaarmaken voedingsoplossing
1	27-01-1999	0	0
2	29-01-1999	0.3	2
3	03-02-1999	1	7
4	10-02-1999	2	14
5	17-02-1999	3	21
6	24-02-1999	4	28
7	03-03-1999	5	35
8	24-03-1999	8	56
9	21-04-1999	12	84
10	19-05-1999	16	112
11	14-07-1999	24	168
12	08-09-1999	32	224

De Cyclamen 'Midi super serie' zijn op schoteltjes op tafels geplaatst in rijen van tien in kas L123. Voor elk pathogeen komen 120 planten (12x10) op een gedeelte van een tafel. Elk pathogeen is gescheiden door een verhoging van het plastic die onder de planten is gespreid. Verspreiding van de ene plant naar de andere plant is minimaal omdat de planten op een omgekeerd schoteltje zijn geplaatst. Aan de planten is bovenlangs water gegeven. De temperatuur is ingesteld op 24°C zodat de symptoomontwikkeling sneller optreedt als een plant ziek wordt.

Twee weken voor de inoculaties zijn voor ieder pathogeen tien planten opgepot. Dit om te zorgen dat voor de inoculatie elke plant hetzelfde stadium had. Het aantal zieke planten is voor elk moment wekelijks tot dertig weken na inoculatie geregistreerd.

8.2 RESULTATEN

Tijdens de proefperiode is de pH en EC in de vaten gemeten. De EC is één keer op het vijfde moment gemeten omdat er een constante EC werd verwacht. Deze was ongeveer 1,6 mS/cm. Wel is na elk moment de pH gemeten en zonodig bijgesteld met fosforzuur. In het Fusarium-vat bleef de pH redelijk constant rond 5,9. Voor Phytophthora en Erwinia nam de pH steeds toe tot maximaal 7,5 waarna deze weer werd bijgesteld tot 5,9.

Het aantal CFU/ml bij de vier vaten werd bepaald met behulp van verdunningen en uitplaten. Aan de hand van deze gegevens is berekend hoeveel deeltjes ziekteverwekker per 40 ml zat. Daarna is voor elk moment het percentage zieke planten, dertig weken na inoculatie, berekend. Voor moment 9, 10, 11 en 12 werden de waarnemingen tot respectievelijk 27, 23, 15 en 7 weken na inoculatie uitgevoerd. Deze gegevens zijn samengevat in Tabel 10.

Uit Tabel 10 is te achterhalen hoeveel sporen of bacteriën nodig zijn om Cyclamen ziek te maken. Bij Fusarium zijn 6.000 sporen voldoende om een plant ziek te maken. Waarschijnlijk zullen ook lagere getallen mogelijk zijn, maar dat is bij deze proef niet te achterhalen. Bij Erwinia zijn $3,2 \cdot 10^8$ of meer bacteriën nodig om een

plant ziek te kunnen maken. Bij *Phytophthora* zijn 16.000 of meer zoösporen nodig om één plant ziek te maken.

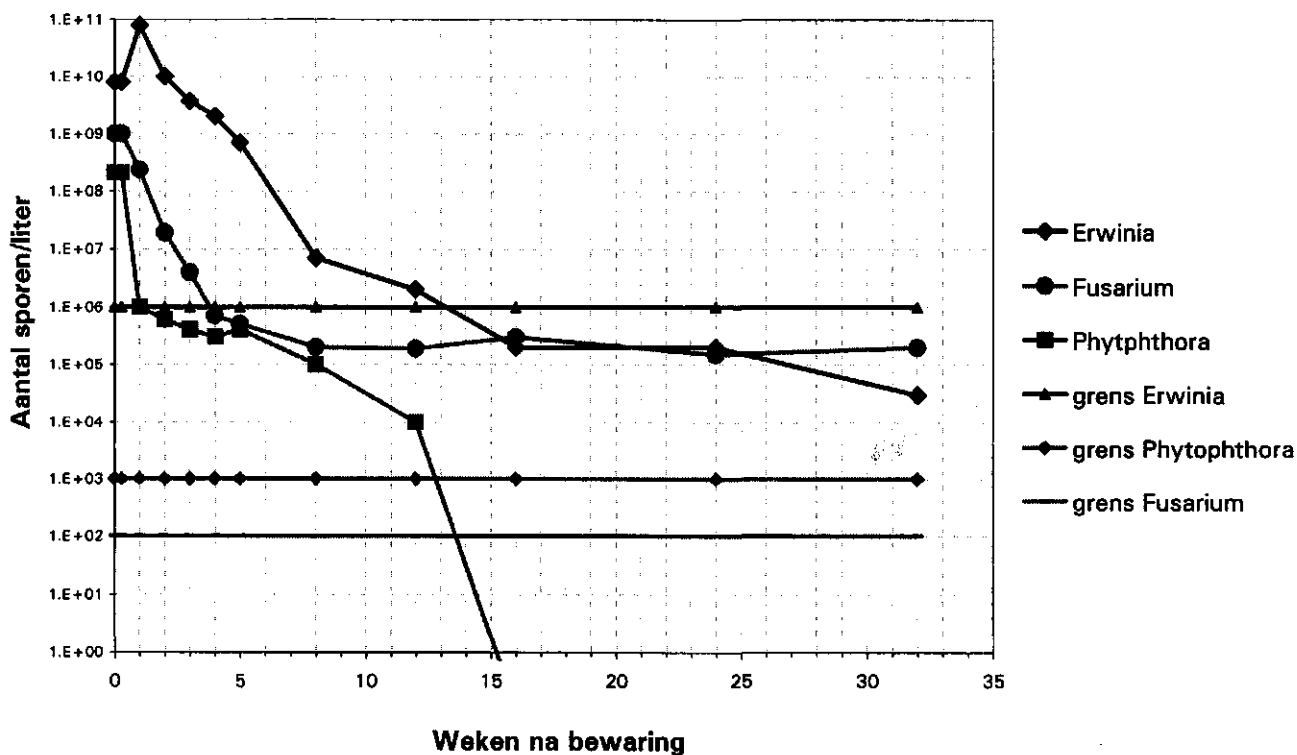
Tabel 10 - Aantal getelde CFU per ml en 40 ml, percentage aangetaste Cyclamen en de grens waarboven aantasting optreedt

moment	week na bewaring	Fusarium			Erwinia		
		CFU/ml	CFU/40ml	% aantasting	CFU/ml	CFU/40ml	% aantasting
1	0	10 ⁶	4,0.10 ⁷	100	8,0.10 ⁶	3,2.10 ⁸	50
2	0.3	10 ⁶	4,0.10 ⁷	100	8,0.10 ⁶	3,2.10 ⁸	60
3	1	2,3.10 ⁵	9,2.10 ⁶	100	8,0.10 ⁷	3,2.10 ⁹	50
4	2	19000	7,6.10 ⁵	90	1,0.10 ⁷	4,0.10 ⁸	0
5	3	4000	1,6.10 ⁵	50	3,7.10 ⁶	1,5.10 ⁸	0
6	4	700	28000	40	2,0.10 ⁶	8,0.10 ⁷	0
7	5	500	20000	50	7,0.10 ⁵	2,8.10 ⁷	0
8	8	200	8000	30	7000	2,8.10 ⁵	0
9	12	190	7600	40	2000	80000	0
10	16	300	12000	50	200	8000	0
11	24	150	6000	20	200	8000	0
12	32	200	8000	0	30	1200	0

moment	week na bewaring	Phytophthora (Zoösporen)			Phytophthora (mycelium)		
		CFU/ml	CFU/40ml	% aantasting	CFU/ml	CFU/40ml	% aantasting
1	0	2,1.10 ⁵	8,3.10 ⁶	50	ng	ng	70
2	0.3	2,1.10 ⁵	8,3.10 ⁶	40	ng	ng	70
3	1	1000	40000	30	200	8000	60
4	2	600	24000	60	10	400	20
5	3	400	16000	40	0	0	0
6	4	300	12000	0	0	0	0
7	5	400	16000	10	0	0	0
8	8	100	4000	0	0	0	0
9	12	10	400	0	0	0	0
10	16	0	0	0	0	0	0
11	24	0	0	0	0	0	0
12	32	0	0	0	0	0	0

ng = niet gedaan

In hoofdstuk 7 is bepaald hoeveel sporen of bacteriën per liter voedingsoplossing van *Fusarium*, *Erwinia* en *Phytophthora* minimaal nodig zijn om planten ziek te kunnen maken. Dat was voor *Fusarium* 10² sporen/l, voor *Erwinia* tussen 10⁶ en 10⁷ bacteriën/l en voor *Phytophthora* tussen 10³ en 10⁴ zoösporen/l. Door de getelde aantallen CFU/l bij elk moment uit te zetten in een grafiek, is te achterhalen hoe lang het ongeveer duurt totdat de voedingsoplossing niet meer infectieus is. Dat is weergegeven in Figuur 17. Hieruit blijkt dat voor *Phytophthora* en *Erwinia* ongeveer na dertien weken bewaring de kans op aantasting gering wordt. *Fusarium* blijft zelfs na 32 weken infectieus. Na acht weken is de overleving gestabiliseerd en blijft rond de 2.10⁵ sporen/l.



Figuur 17. Aantal infectieuze eenheden per liter voedingsoplossing tijdens bewaring van Fusarium, Phytophthora en Erwinia en de bijbehorende drempels voor aantasting; aantallen Erwinia (♦), aantallen Fusarium (●), aantallen Phytophthora (■), grens waarboven aantasting optreedt voor Erwinia (▲), Phytophthora (◆) en Fusarium (-).

8.3 CONCLUSIE/DISCUSSIE

De overleving van sporen in het teeltsysteem speelt een belangrijke rol in het overdragen van de ziekte. Daarnaast is het minimum aantal sporen dat nodig is om planten ziek te maken van belang. Bij de drie belangrijkste ziekteverwekkers werd onderzocht bij welke hoeveelheid ziekteverwekker (infectieuze deeltjes) aantasting optreedt. Voor Fusarium, Phytophthora en Erwinia waren deze respectievelijk 10^2 , 10^3 en 10^6 infectieuze deeltjes per liter voedingsoplossing (hoofdstuk 7). Hieronder wordt de overleving van de verschillende pathogenen in de voedingsoplossing besproken.

Fusarium

Na 32 weken bewaring van de sporen van Fusarium in een voedingsoplossing zijn er nog voldoende deeltjes aanwezig om de planten ziek te maken. Dit is eerder door Rattink (1977) beschreven. Daarbij werd *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* toegevoegd aan verschillende soorten water zoals: gedestilleerd water, regenwater, slootwater, gesteriliseerd slootwater en leidingwater. Deze waren bij verschillende temperaturen bewaard, namelijk: 2, 9, 17, 20, 25, 30 en 35°C. Na drie maanden was Fusarium nog steeds aan te tonen bij alle genoemde temperaturen. Het leidingwater is zeven maanden gevolgd en nog steeds kon Fusarium worden

aangetoond. Ook is door Rattink (1991) *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* 52 weken bij 20°C bewaard en *Fusarium* bleek nog steeds levenskrachtig en pathogeen te zijn. Vermoedelijk vormen de microconidiën direct een dikkere wand en worden microchlamydosporen die langer kunnen overleven. Het blijkt dat *Fusarium* zelfs nog langer kan overleven, want uit het onderzoek van Boeswinkel (1976) blijkt dat *Fusarium oxysporum* gedurende minimaal zes jaar in water bewaard kan worden. Verder kan *Fusarium* vele jaren in de grond overleven. Zonder een goede bestijding blijft *Fusarium* voorlopig een probleem in de teelt van Cyclamen.

Erwinia

Voor *Erwinia* zijn na dertien weken bewaring theoretisch niet meer voldoende deeltjes aanwezig om nieuwe planten ziek te maken. Bij de kasproef worden de planten zelfs niet meer ziek na twee weken bewaring van de bacteriën. Dit verschil is te verklaren doordat bij de plantinoculatie in deze proef een bepaalde hoeveelheid bij de plant wordt geïnoculeerd en daarna geen recirculatie meer plaats vond. Dit komt omdat de planten op schotels zijn geplaatst. Verder komen niet alle bacteriën in contact met de wortels. Het grootste gedeelte van de bacteriën wordt weggespoeld. Voor de bepaling van de hoeveelheid infectieuze deeltjes nodig om aantasting te krijgen is eerder (hoofdstuk 7) gebruikgemaakt van recirculerende voedingsoplossing.

Volgens Janse (1988) kan *Erwinia chrysanthemi* twaalf maanden in potgrond overleven, vijf tot zes maanden op het blad van de gastplant (epifytisch), ook van niet waardplanten en dertien maanden op kunstmatig besmet *Philodendron*zaad. De overleving van *Erwinia* speelt een minder belangrijke rol dan de hoge aantallen (10^6 bacteriën/liter voedingsoplossing) nodig om aantasting te geven. Ook al kan *Erwinia* lang overleven, als de drempel voor aantasting niet bereikt wordt, worden de planten niet ziek.

Phytophthora

Na dertien weken bewaring van zoösporen is bij *Phytophthora* het aantal zoösporen onder de grens van aantasting gedaald en zestien weken na bewaring zijn er zelfs geen infectieuze deeltjes meer aangetoond. Bij de kasproef worden de planten niet meer ziek na drie weken bewaring van mycelium en na acht weken bewaring van zoösporen. De verklaring die hiervoor gegeven wordt, is dezelfde als bij *Erwinia*. Kennelijk zijn de niet-steriele omstandigheden niet goed voor de overleving van *Phytophthora*, want *Phytophthora* kan minimaal twee jaar onder steriele omstandigheden onder water bij 17°C overleven. Dit is een algemeen gebruikte bewaarmethode voor *Phytophthora*-soorten.

Phytophthora capsici overleeft in geïnfecteerd plantenweefsel in grond verzadigd met water, maar niet in droge grond. Mycelium, sporangiën en zoösporen kunnen niet langer dan 75 dagen overleven in grond bij verschillende vochtigheden en diepten. Oösporen kunnen van 210 tot 240 dagen overleven in grond. Wanneer er oösporen worden gevormd op zieke planten in de grond en de planten worden niet verwijderd, kan dit langdurig zorgen voor de verspreiding van *Phytophthora* (Erwin en Ribeiro, 1996; p. 262-268). Bij teeltwisselingen moeten de systemen daarom goed schoon gemaakt worden. Er mogen geen plantresten en organisch materiaal achterblijven.

9. VERSPREIDING VAN FUSARIUM, PHYTOPHTHORA EN ERWINIA

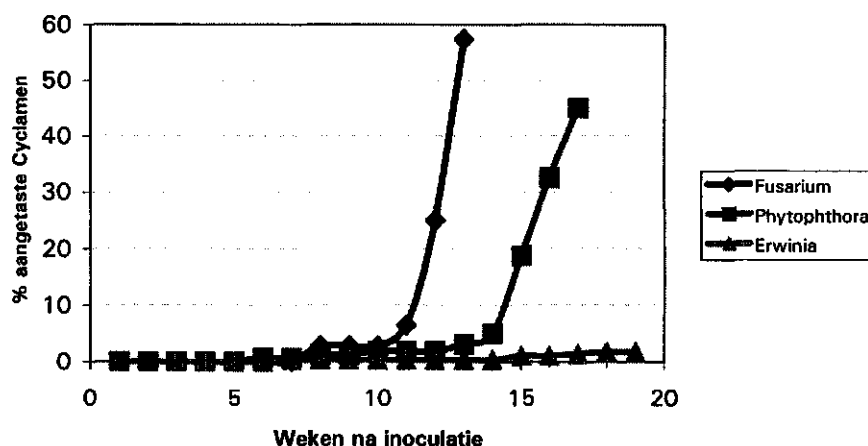
Temperatuur, overleving en het aantal infectieuze deeltjes zijn de belangrijkste factoren die de verspreiding van aantasting in een teeltsysteem kunnen beïnvloeden. Verspreiding van wortelpathogenen van plant tot plant vindt plaats via besmette handen, gereedschap, (opspattend) water, insecten en recirculerende voedingsoplossing. Verspreiding door middel van lucht is niet aan de orde. Verspreiding door recirculerende voedingsoplossing is uitvoerig onderzocht voor de pathogenen *Fusarium*, *Phytophthora* en *Erwinia*. De resultaten hiervan worden in dit hoofdstuk besproken. Planten zijn hiervoor ziek gemaakt en de verspreiding vanuit de geïnoculeerde planten naar de niet geïnoculeerde planten is onderzocht. De verschillende mogelijkheden van verspreiding worden per pathogeen uitvoerig in de discussie besproken.

9.1 MATERIALEN EN METHODEN

De materialen en methoden voor de verspreiding van *Phytophthora* en *Erwinia* worden uitvoerig besproken in hoofdstuk 3 paragraaf 3.1 en voor *Fusarium* in hoofdstuk 2 paragraaf 2.2.1. In deze proeven wordt onder andere de verspreiding onderzocht op eb/vloedtafels door negen van de 45 *Cyclamen* met *Fusarium* te inoculeren en 64 van de 144 *Cyclamen* met *Phytophthora* of *Erwinia* te inoculeren.

9.2 RESULTATEN

De resultaten van de verspreiding worden in Figuur 18 weergegeven.



Figuur 18. Percentage aangetaste *Cyclamen* door *Fusarium* (◆), *Phytophthora* (■) en *Erwinia* (▲) via verspreiding op verschillende weken na inoculatie.

De eerste aantasting door verspreiding van *Fusarium* is acht weken na inoculatie gevonden en dertien weken na inoculatie is 57% van de planten aangetast. Voor *Phytophthora* is zeven weken na inoculatie de eerste aantasting door verspreiding gevonden, maar vijftien weken na inoculatie begint de verspreiding pas goed op gang te komen. Zeventien weken na inoculatie is 45% van de planten aangetast. Bij *Erwinia* is de verspreiding heel laag. De eerste symptomen voor verspreiding worden pas vijftien weken na inoculatie gevonden en negentien weken na inoculatie is slechts 1% van de planten aangetast.

9.3 CONCLUSIE/DISCUSSIE

Een onderlinge vergelijking tussen *Fusarium* enerzijds en *Phytophthora* en *Erwinia* anderzijds kan niet gemaakt worden, want de proeven zijn op verschillende tijdstippen uitgevoerd en het aantal geïnoculeerde planten is niet gelijk. Verder verschillen de gerealiseerde kasttemperaturen voor beide proeven. Toch is getracht om enkele conclusies te trekken voor de onderzochte pathogenen. *Fusarium* kan zich in recirculerende voedingsoplossingen zeer goed verspreiden. Voor *Phytophthora* is de verspreiding minder en voor *Erwinia* is amper verspreiding gevonden. Waarschijnlijk heeft de slechte verspreiding van *Erwinia* te maken met de drempel van aantasting. Deze is 10^6 bacteriën/liter voedingsoplossing en wordt niet bereikt gedurende deze proef. Bij *Phytophthora* vindt verspreiding pas goed plaats nadat de temperatuur verhoogd wordt. Bij een temperatuur van 24°C is de productie van zoösporen vele malen hoger dan bij 17°C en kan verspreiding en aantasting ook veel sneller verlopen.

De verklaringen voor de verspreiding van de drie pathogenen *Fusarium*, *Phytophthora* en *Erwinia* wordt hieronder elk afzonderlijk beschreven.

Fusarium

Aangetaste Cyclamen zijn de belangrijkste besmettingsbron van waaruit de omgeving - zaad (uitwendig Koch, 1993), trays, bakken, potten, grond, gietwater en teeltsysteem - besmet raakt. Via teelthandelingen en water kan verspreiding vanuit aangetaste planten plaatsvinden. Ook insecten en mijten kunnen de schimmel verspreiden, met name wanneer er sporendragers op de stengels aanwezig zijn. Zonder waardplant kan de schimmel jaren in de grond overleven. In voedingsoplossing is overleving van tenminste één jaar mogelijk (Verberkt et al, 1997). Het blijkt dat *Fusarium* zelfs nog langer kan overleven, want uit het onderzoek van Boeswinkel (1976) blijkt dat *Fusarium oxysporum* gedurende minimaal zes jaar in water bewaard kan worden.

Verspreiding van *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* (Foc) in eb/vloedsystemen kan op een aantal manieren plaatsvinden.

- 1 Via aangetaste planten (op tafel en van tafel naar tank en vice versa) kan uitspoeling van schimmeldeeltjes plaatsvinden met drainwater.
- 2 Overleving schimmeldeeltjes in voedingsoplossing.
- 3 Besmet regenwaterbassin.
- 4 Bezinking schimmeldeeltjes in voorraadtank (besmet teeltsysteem).
- 5 Door het opspatten van waterdruppels bij het begin van oppompen van voedingsoplossing naar boven en naar de naast gelegen tafels.
- 6 Doordat ontsmetting niet afdoende wordt bewerkstelligd.
- 7 Door menselijk handelen

- 8 Door insecten
- 9 Besmet zaad

- Ad. 1 Foc kan zich in een eb/vloedsysteem verspreiden zowel na besmetting van de voedingsoplossing als vanuit (kunstmatig) besmette planten. In beide gevallen vindt de verspreiding volgens een gelijkmatig patroon op de tafels plaats. Infectieuze eenheden van de schimmel worden door de voedingsoplossing meegenomen in de tank en bij een volgende bevoeiing over de tafels verspreid.
- Het verloop van de dichtheid van kolonievormende eenheden (CFU) in de voedingsoplossing stijgt aanvankelijk tot er een maximum bereikt wordt. Vervolgens neemt de dichtheid weer af. De stijging kan verklaard worden door het toenemende aantal planten op tafel dat aangetast is door Foc en zelf weer sporen van Foc produceert. (Stelder, 1994)
- Ad. 2 Door Rattink (1986) was aangetoond dat Foc in kraanwater minimaal 20 weken kan overleven en ook nog pathogeen blijft.
- Foc kan zeker één jaar overleven in voedingsoplossing zonder verlies van pathogeniteit. Vermoedelijk vormen de microconidiën direct een dikkere wand en worden microchlamydosporen. Uit onderzoek van Boeswinkel (1976) blijkt dat *Fusarium oxysporum* gedurende minimaal zes jaar in water bewaard kan worden.
- Ad. 3 In het regenwaterbassin kunnen sporen lang overleven en de planten weer infecteren (Stelder, 1994).
- Ad. 4 In een eb/vloedsysteem bezinkt het grootste gedeelte van de sporen naar de bodem van de tank. Voor bevoeiing blijkt de hoeveelheid CFU boven in de tank significant lager dan onderin. Dit verschil is er een half uur na bevoeiing niet meer, maar zes uur later weer wel. Het oppompen van de voedingsoplossing veroorzaakt turbulentie, waardoor een gedeelte van de sporen weer opwervelt.
- Ad. 5 Doordat tijdens het oppompen van voedingsoplossing vanuit de tank naar de tafels waterdruppels ver kunnen opspatten, kunnen deze op de naast gelegen tafel terechtkomen. Dit kan voor verspreiding zorgen. Dit zal in de praktijk minder het geval zijn, maar in de door ons gebruikte kassen is dat wel geconstateerd. Nadat dit geconstateerd was, zijn plaatjes gemonteerd om spatten te voorkomen.
- Ad. 6 Als ontsmetting niet afdoende wordt bewerkstelligd, blijven sporen over in het teeltsysteem. Deze sporen kunnen bij een volgende teelt voor problemen zorgen.
- Mogelijk zijn er in het gebruikte eb/vloedsysteem plaatsen waar de betreffende ontsmettingsmiddelen onvoldoende in contact gekomen zijn met *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*, zodat overleving heeft kunnen plaatsvinden. Meest voor de hand liggende plaatsen hiervoor zijn het leidingsysteem met Venturi en de pomp (Stelder, 1994).
- Ad. 7 Door menselijk handelingen kunnen sporen van de ene tafel op de andere tafel worden overgebracht. Als er gedacht wordt dat een tafel schoon is, terwijl deze niet voldoende ontsmet is, kan door onhygiënisch werken de verspreiding versterkt worden.
- Ad. 8 Insecten kunnen op stengels die aangetast zijn terechtkomen en sporen met hun pootjes meenemen naar gezonde planten.
- Ad. 9 Ervaringen van de Naktuinbouw (J. Westerhof) leren dat besmet zaad ook voor verspreiding kan zorgen. Op het zaad ontstond een compacte witte schimmel. Als de besmette zaad werd gezaaid, vond er geen kieming

plaats. Bij nader onderzoek bleek dat het om *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* ging. De zaden die aangetast zijn met *Fusarium* en niet kiemen kunnen via de grond wel voor verspreiding van *Fusarium* zorgen.

Phytophthora

Verspreiding van *Phytophthora* vindt plaats door spattende regendruppels. Zoösporen in regendruppels kunnen dan de planten aantasten. Langdurige regen of irrigatie wat leidt tot lange perioden van natte grond, zorgt ook voor snelle verspreiding van de infectie. Minder frequent irrigeren gaf minder aantasting. Oösporen kunnen van 210 tot 240 dagen overleven in grond. Dus als er oösporen worden gevormd op zieke planten in de grond en de planten worden niet verwijderd, kan dit langdurig zorgen voor de verspreiding van *Phytophthora* (Erwin en Ribeiro, 1996; p. 262-268).

Bij eb/vloedsystemen zal een te natte teelt voor een snellere aantasting zorgen. Zoösporen kunnen actief voortbewegen en in een waterig milieu kunnen ze snel bij de wortels komen. Als zoösporen hun zwemstaartjes verliezen (encysteren) zijn ze nog steeds kiemkrachtig. Bij een eb/vloedbeurt kunnen zoösporen passief bij de wortels terechtkomen en kiemen.

Ook een gezamenlijke waterbassin die voor meerdere teelten wordt gebruikt kan voor verspreiding zorgen. Een aantal jaren geleden was er bij een praktijkgeval uitval opgetreden waarbij twee teelten een gezamenlijke bassin hadden. Het bassin werd gebruikt voor zowel Cyclamen als voor paprika. Mogelijk waren de Cyclamen aangetast door *Phytophthora capsici* bij paprika.

Temperatuur heeft ook invloed op de verspreiding. Zolang een geïnfecteerde plant bij een lage temperatuur geteeld wordt, wordt de plant niet snel aangetast. Als de temperatuur wordt verhoogd, wordt de aantasting versneld en de aangetaste plant zorgt voor zoösporen die op hun beurt weer andere planten aantasten.

Erwinia

Erwinia carotovora is een algemeen voorkomende bodembacterie die zeer veel planten aantast. Van daaruit worden grond en water besmet. Verspreiding van plant tot plant vindt plaats via besmette handen, gereedschap, (opspattend) water en insecten. Bij aanwezigheid van vrij water op de plant kan de bacterie zich gemakkelijk verplaatsen. Verspreiding door middel van lucht is niet aan de orde (Smith en Bartz, 1990; Boonstra, 1990).

Eén enkele bacterie is niet in staat om alleen een infectie te veroorzaken. Dit in tegenstelling tot schimmels waar één enkele spore wel voldoende kan zijn voor infectie. Bacteriën blijken te beschikken over een sensorsysteem waarbij de celdichtheid bepaalt of bepaalde genen of cluster van genen geactiveerd worden. Bij het bereiken van de celdichtheid die nodig is om de plant aan te vallen, worden bepaalde genen geactiveerd die voor de aanval zorgen. De inschakeling van deze genen is noodzakelijk voor de bacterie om de plant te infecteren. Bij *Erwinia chrysanthemi* is de celdichtheid die bepaalt dat de plant wordt aangevallen waarschijnlijk boven de 10^6 bacteriën/liter voedingsoplossing. Doordat in deze proeven enkele zieke planten niet voldoende waren om de beoogde celdichtheid te halen, is er ook weinig verspreiding opgetreden. Dat zal in de praktijk waarschijnlijk ook het geval zijn.

10. ONTSMETTING/OVERLEVING VAN FUSARIUM, PHYTOPHTHORA EN ERWINIA

Bij aanvang van het project werden besmette teelttafels ontsmet met 0,2% Natriumhypochloriet gedurende 5-10 minuten. Deze methode is met name in het begin toegepast en die bleek onvoldoende te zijn. De teelt daarop stak Fusarium weer de kop op. Ook hogere concentraties van dit middel en langere inwerkperiodes gaven geen afdoende ontsmetting. Deze bevindingen worden ook genoemd door Stelder (1994). In dat onderzoek werden de planten in de controlebehandelingen aan het eind van de teelten ook ziek. Dit gaf aanleiding om vier ontsmettingsmiddelen te onderzoeken. Van de middelen wordt alleen de actieve stoffen genoemd en niet de naam van het handelsproduct. Deze middelen zijn echter als zodanig niet toegelaten voor ontsmetting van teelttafels.

Fusarium kan verschillende typen sporen maken. Deze zijn microconidiën, macroconidiën en chlamydosporen. De chlamydosporen kunnen het langst overleven. Macroconidiën hebben een sikkelcelvormige structuur en kunnen langer overleven dan microconidiën. Voor het testen van de ontsmettingsmiddelen zijn macroconidiën gebruikt.

De praktijkresultaten die in dit hoofdstuk beschreven staan, zijn afkomstig van verschillende proeven die binnen dit project in de kassen L202 en L302 uitgevoerd zijn, waarbij tussen de proeven de tafels met verschillende middelen ontsmet zijn.

10.1 MATERIALEN EN METHODEN

Ontsmetting tijdens laboratoriumproeven

In de laboratoriumproeven zijn vier ontsmettingsmiddelen getest welke echter in de praktijk niet toegelaten zijn. De actieve bestanddelen van deze middelen worden in Tabel 11 genoemd. Voor deze test zijn macroconidiën van Fusarium van aangetaste steeltjes van Cyclamen verzameld, opgelost en gefiltreerd over een membraanfilter (Schleicher & Schuell, poriediameter 0,45 µm en diameter 47 mm). De filter is aan de lucht gedroogd en geknipt in vierkantjes van 5x5 mm. Deze filtertjes zijn bij verschillende concentraties en gedurende verschillende tijden in een petrischaal met ontsmettingsmiddel gelegd. Na verloop van tijd is het filter in een petrischaal met steriel water gespoeld en vervolgens op Komada-platen gelegd die selectief zijn voor Fusarium. Op elke schaal zijn vier filtertjes gelegd en de schalen zijn geïncubeerd bij 26°C. Na zeven dagen is beoordeeld bij hoeveel van de filters per schaal Fusarium was uitgegroeid. De concentraties en tijden die gehanteerd zijn worden in Tabel 12 weergegeven.

Tabel 11 - De gebruikte ontsmettingsmiddelen met hun actieve stoffen

Middel	actieve stoffen
1	15% Na-hypochloriet
2	5% Perazijnzuur, 20% Waterstofperoxide en 10% azijnzuur
3	Waterstofperoxide organische en anorganische zouten
4	37% Formaldehyde

Ontsmetting in de praktijk

Bij de infectieproeven in paragraaf 2.3.1 is tevens ontsmetting onderzocht. Daarbij zijn zes eb/vloedsystemen, waarop planten die door *Fusarium* waren aangetast, gebruikt voor ontsmetting. Drie tafels zijn één keer ontsmet met 0,2% Na-hypochloriet gedurende tien minuten en de andere drie tafels zijn twee keer ontsmet. De resultaten hiervan staan in Figuur 4.

Verder worden achtereenvolgens de bevindingen die gevonden zijn in de kassen L202 en L302 besproken. Gedurende het project zijn achtereenvolgens vijf proeven in deze kassen uitgevoerd. Voor aanvang van elke proef zijn de tafels en de tanks ontsmet met ontsmettingsmiddelen. De resultaten van de ontsmetting worden in Tabel 13 weergegeven.

10.2 RESULTATEN

Laboratoriumproeven

De resultaten van de vier ontsmettingsmiddelen worden weergegeven in Tabel 12. Bij middel 1 wordt de concentratie uitgedrukt in percentage actieve stof. Bij de andere drie middelen wordt uitgegaan van 100% handelsproduct, ook al zijn de percentages actieve stoffen niet 100%.

Tabel 12 - De concentraties en tijden die gebruikt zijn voor elk desinfectiemiddel met de bijbehorende aantasting. (0) = geen *Fusarium* gegroeid; (1) = wel *Fusarium* gegroeid

Middel 1

Tijd (min)	1	5	10	20	40
conc(%)					
0.2	1	1	1	0	0
0.5	1	0	1	0	0
1	1	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0

Middel 2

Tijd (min)	1	5	10	20	40
conc(%)					
0.2	1	1	1	1	1
0.5	1	1	1	0	1
1	1	1	0	0	0
2	1	0	0	0	0
4	1	0	0	0	0
8	1	0	0	0	0

Middel 3

Tijd (min)	1	5	10	20	40
conc(%)					
0.2	1	1	1	1	1
0.5	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1
4	1	1	1	1	0
8	1	1	0	0	1

Middel 4

Tijd (min)	1	5	10	20	40
conc(%)					
0.2	1	1	1	1	1
0.5	1	1	1	1	1
1	1	1	1	0	0
2	1	1	1	1	1
4	1	1	1	1	1
8	1	1	1	1	1

Praktijk

Ontsmetting Phytophthora en Erwinia

Van een goede ontsmetting in een teeltsysteem wordt gesproken als een middel een bepaald micro-organisme volledig doodt waarbij het micro-organisme niet meer in het systeem aangetroffen wordt. Ontsmetting van Phytophthora en Erwinia wordt voldoende bewerkstelligd, want na ontsmetting is er geen aantasting gevonden door deze twee pathogenen, behalve op de tafels waar ook daadwerkelijk met de betreffende pathogeen de planten zijn geïnoculeerd.

Ontsmetting Fusarium

Voor Fusarium is het een ander verhaal. Zo is in paragraaf 2.3.2 in Figuur 4 weergegeven dat ontsmetten met 0,2% Na-hypochloriet en een inwerktijd van tien minuten niet voldoende is, zelfs niet na twee keer ontsmetten. Verder wordt in Tabel 13 het verloop weergegeven van de Fusarium-aantasting en -verspreiding naar andere tafels in de kassen L202 en L302. Er zijn gegevens over ontsmetting verzameld over vijf proeven die in die kassen zijn uitgevoerd. De proeven waren in eerste instantie niet bedoeld om ontsmetting te onderzoeken, maar er zijn wel resultaten verkregen die de moeite waard zijn om te vermelden.

Ontsmetting

In de eerste proef is het effect van de ontsmetting niet te bepalen. Er is uitgegaan van schone tafels. In de tweede proef zijn zes tafels die besmet waren door Fusarium ontsmet. Aan het eind van de proef was op alle tafels weer Fusarium gevonden. In de derde proef zijn zeventien tafels ontsmet en bij slechts één (6%) daarvan was aan het eind van de proef geen Fusarium gevonden. In de vierde proef zijn vijftien tafels ontsmet en bij negen (60%) van de tafels was geen Fusarium gevonden. In de vijfde proef waren tien tafels ontsmet. Deze keer met middel 2 en bij zeven van de tafels (70%) was geen Fusarium gevonden. Naarmate de concentratie en inwerktijd hoger wordt, wordt er een betere ontsmetting gevonden, maar in geen enkel geval wordt voor een 100% ontsmetting gezorgd.

Verspreiding

De resultaten voor de verspreiding zijn te vinden in Tabel 13. Zo is te zien dat bij de eerste proef geen extra verspreiding van Fusarium optreedt vanuit de tafels waar Fusarium was geïnoculeerd. Tijdens de tweede proef vindt er wel verspreiding plaats (23%). Daarbij zijn planten, op tafels die niet zijn geïnoculeerd, ziek geworden. In kas L202 werd aan het eind van de teelt de temperatuur verhoogd. Dit heeft ervoor gezorgd dat de symptoomontwikkeling sneller op gang kwam en daardoor de planten sneller ziek zijn geworden.

Tijdens de derde proef vindt er nog een grotere verspreiding plaats in beide kassen. Behalve van de geïnoculeerde tafels wordt op 58% van de tafels Fusarium gevonden. Hierbij moet opgemerkt worden dat tijdens het ruimen van de vorige proef eerst de grond met plantmateriaal uit de potten is verwijderd. Daarna zijn de potten met de overgebleven grond van de ene tafel naar de andere tafel verschoven. Deze handeling kan een manier zijn voor verspreiding. Verder was er ook geconstateerd dat tijdens de eerste keer oppompen van de voedingsoplossing naar de tafels door de druk druppels zijn gespat van de ene tafel naar de ernaast gelegen tafel.

In de vierde proef wordt de actieve concentratie van middel 1 verhoogd naar 1,5% en de inwerktijd verlengd naar 12 uur. Dit gaf een aanzienlijke afname van verspreiding (6%), maar nog steeds waren er extra tafels door *Fusarium* aangetast. In de vijfde proef wordt 1% middel 2 gebruikt met een inwerktijd van twaalf uur. De verspreiding van *Fusarium* was minder, maar nog steeds werden enkele (2%) met *Fusarium* aangetaste tafels gevonden. Zowel in de vierde als in de vijfde proef is erop gelet dat er niet werd geschoven met lege potten tijdens het opruimen, wat in de eerdere proeven wel was gedaan.

Tabel 13 - Proefperiode, ontsmettingsmiddel, tijdsduur van ontsmetting, het aantal tafels die ontsmet zijn met bijbehorend percentage en de verspreiding bij elk proef die gedaan is in de kassen L202 en L302

Proef	Proefperiode in weken	Ontsmettingsmiddel	Tijdsduur ontsmetting	aantal* tafels ontsmet	% ont-smetting	% Ver-spreiding
1	13	0,2% middel 1 (actieve stof)	5 minuten	5	-	0
2	25	0,4% middel 1 (actieve stof)	10 minuten	6	0	23
3	15	0,4% middel 1 (actieve stof)	30 minuten	17	6	58
4	20	1,5% middel 1 (actieve stof)	12 uur	15	60	6
5	16	1% middel 2 (handels product)	12 uur	10	70	2

* De tafels die ontsmet zijn maar later in de proef weer voor *Fusarium* zijn gebruikt, zijn niet meegerekend.

10.3 CONCLUSIE/DISCUSSIE

Laboratoriumproeven

De werking van de onderzochte middelen wordt weergegeven in Tabel 12. In de regel werkt een vers middel beter dan een oud middel. Middel 4 dat onderzocht is, was oud en mogelijk was het middel niet meer goed. Voor de praktijk wordt geadviseerd de voorraad ontsmettingsmiddel regelmatig te verversen zodat steeds vers middel gebruikt wordt. Verder zijn macrosporen gebruikt om de ontsmettingsmid-delen te testen, maar chlamydosporen of aangetast wortelmateriaal zou een betere keus zijn geweest, omdat deze de praktijk beter benaderen.

Praktijk

Ontsmetting Phytophthora en Erwinia

Bij *Phytophthora* en *Erwinia* worden in de volgende teelten na onsmetting geen planten meer ziek. Dit kan een tweetal oorzaken hebben. De eerste is dat beide pathogenen volledig afsterven door het desinfectiemiddel. De tweede kan zijn dat er een drempel is voor de aantasting door beide pathogenen. Door het ontsmetten en schoonmaken blijven er zo weinig sporen over dat deze de planten in een vol-gende teelt niet meer ziek kunnen maken. Hergebruik van de tankinhoud met *Phy-tophthora* en *Erwinia* heeft zelfs zonder ontsmetting niet gezorgd voor aantasting. Kennelijk kunnen deze twee pathogenen niet zo lang overleven.

Ontsmetting en verspreiding van Fusarium

Ontsmetting

Fusarium is een pathogeen welke na ontsmetting in opeenvolgende teelten voor problemen zorgt. Er kunnen een aantal oorzaken zijn waardoor Fusarium steeds voor een probleem zorgde.

Fusarium heeft een heel lage drempel (100 sporen/liter) om Cyclamen ziek te maken. In theorie kan zelfs één spore van Fusarium Cyclamen ziek maken. Als eenmaal één plant ziek is geworden, kan deze voor verspreiding zorgen en de andere planten ziek maken. Verder is Fusarium moeilijk te doden door de gebruikte ontsmettingsmiddelen. Met name chlamydosporen en fijne wortels, die tijdens het wijderzetten en verwijderen van de planten op de tafels achterblijven en later in de tank bezinken, kunnen voor een probleem zorgen. Door het plantmateriaal kunnen desinfectiemiddelen niet voldoende bij de sporen of mycelium binnendringen, waardoor deze niet volledig afsterven. Het is belangrijk om zoveel mogelijk organisch materiaal te verwijderen voordat er met een middel wordt gedesinfecteerd. Door de combinatie van niet volledig doden van Fusarium in het systeem en de lage drempel die nodig is om planten ziek te maken, zorgt Fusarium in de volgende teelten steeds voor een probleem.

Het is duidelijk dat er bij een hogere concentratie en een langere inwerkperiode van een desinfectiemiddel er ook een betere ontsmetting plaatsvindt. Met name het ontsmetten voor een langere tijd (overnacht) zorgt voor een betere ontsmetting. Daarbij moet gelet worden op de instructies van de leverancier. Bepaalde middelen werken kort en breken heel snel af. Bij zulke middelen heeft het geen zin om langer te ontsmetten, maar hierbij kan een tweede ontsmetting wel effect hebben.

Verspreiding

Er is verspreiding opgetreden tijdens de vijf proeven die in de kassen L202 en L302 zijn uitgevoerd. Hiervoor zijn enkele oorzaken te vinden. Door tijdens het schoonmaken de lege potten van de ene tafel naar de andere tafel te verplaatsen en doordat het ontsmetten niet toereikend was, zorgde dat met name in de tweede en daarna in de derde proef voor een aanzienlijke verspreiding. Tijdens de eerste keer oppompen van de voedingsoplossing bij iedere watergift naar de tafels kan door de druk druppels zijn gespat van de ene tafel naar de ernaast gelegen tafel. In de praktijk zal dit geen probleem veroorzaken, omdat de tafels niet zo dicht bij elkaar liggen.

Er zijn in de tweede en de derde proef op bepaalde tafels Fusarium-aantastingen ontstaan die niet te verklaren zijn met de bovenstaande twee voorbeelden. Voor deze aantastingen zijn een aantal andere verklaringen te bedenken. Zo kan het zijn dat tijdens het waarnemen de planten worden aangeraakt, waarbij er sporen aan de handen blijven kleven. Door daarna de planten of tafels aan te raken die niet zijn besmet, kunnen er sporen worden overgebracht. Ook kunnen insecten sporen overbrengen door op steeltjes neer te dalen waar sporen zijn ontstaan (Figuur 9C) en deze meenemen naar andere gezonde planten. Nog een andere oorzaak kan zijn dat er met plantmateriaal een plant meekomt met latente infectie en dat dat pas tijdens de teelt tot uiting komt.

Zolang Fusarium niet volledig kan worden bestreden en of ontsmet, is hygiënisch werken heel belangrijk. Bij ontsmetting van een teeltsysteem moet het gehele systeem ontsmet worden. Dus ook alle leidingen, pompen, tanken en teeltoppervlakken.

11. BESTRIJDING WORTELZIEKTEN CYCLAMEN

Voor de bestrijding van de wortelziekten van Cyclamen is eerst een literatuuronderzoek uitgevoerd en daarna een keuze gemaakt welke biologische bestrijders in de praktijk zouden worden onderzocht. Bij het literatuuronderzoek worden een aantal bestrijdingsmethoden beschreven zoals teeltmaatregelen, chemische bestrijding en biologische bestrijding. De nadruk zal met name op de biologische bestrijding vallen omdat dat het meest is onderzocht. De meeste chemische en biologische bestrijdingsmiddelen die genoemd worden zijn niet toegelaten in Nederland. Ze worden in dit hoofdstuk wel genoemd maar niet aanbevolen door het PBG.

11.1 LITERATUURONDERZOEK BESTRIJDING

Teeltmaatregelen

Bij Fusarium is gezond uitgangsmateriaal een eerste vereiste. Verder kan men zaadontsmetting toepassen; ook dient men nieuwe zaai- en verspeentrays en nieuwe of ontsmette potten te gebruiken. Vervolgens moet men uitgaan van ziektevrije grond en gietwater. Bij het begin van de teelt moeten de bevoeiingsmatten worden vervangen en de tafels en recirculatiesystemen worden ontsmet. Door de zuigleiding van de pomp op tenminste 20 cm van de bodem van het recirculatiebassin te plaatsen, kan het meezuigen van schimmelsporen sterk worden beperkt. Kastemperaturen hoger dan 23°C moeten worden voorkomen. Aangetaste en verdachte planten dient men ter plaatse in een plastic zak te deponeren en af te voeren (Verberkt, et al, 1997).

Het selecteren van cultivars, die resistent zijn, is bij Phytophthora de meest effectieve methode. Verder mogen de planten niet te nat staan. Hiermee wordt de kans op sporangiënvorming verkleind. Het verwijderen van aangetast plantmateriaal verkleint de kans op aantasting bij de volgende teelt (Erwin & Ribeiro, 1996). Warmwaterbehandeling kan bij sommige waardplanten een uitkomst bieden. Phytophthora infestans-aantasting vermindert, door de aardappel vijf minuten te dompelen in water met een temperatuur van 44°C. De aardappel had geen beschadiging opgelopen bij die temperatuurbehandeling (Fairclough et al, 1997)

De door Erwinia aangetaste planten dienen zo snel mogelijk verwijderd te worden om het aantal besmettingsbronnen te verminderen. De planten moeten in een gesloten zak worden afgevoerd. Om verspreiding en het binnendringen van bacteriën te bemoeilijken, wordt geadviseerd om bovendoor watergeven te beperken. Als er bovendoor water wordt gegeven, zal het gewas zo snel mogelijk moeten opdrogen. Te hoge luchtvochtigheden moeten voorkomen worden door tijdig te luchten en te stoken, vooral in zomer en najaar. Om het aantal invalspoorten voor de bacterie te beperken, moeten aantastingen door andere ziekten en plagen worden voorkomen (Verberkt, et al, 1997). Om aantasting te voorkomen wordt aanbevolen geen gietwater te gebruiken dat verontreinigd is met organisch afval. Hoge vochtigheid, hoge bodemtemperatuur, een pH boven 6,5 en hoge N-giften bevorderen de aantasting.

Er zijn aanwijzingen dat blootstelling van zaad of plant aan hogere temperaturen de aantasting door Erwinia remt. Zo werkt een hittebehandeling van (zaad) van Dieffenbachia goed bij 49°C gedurende 30-60 minuten (Chase, 1987). Behande-

ling van planten gedurende 40-60 minuten bij 60°C bleek bacterievrije Dieffenbachia-planten op te leveren (Janse, 1988). Een regelmatige blootstelling van *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* aan een temperatuur boven 50°C doodt de bacteriën (Agrios 1997; p. 436). Of deze hoge temperaturen niet schadelijk zijn voor Cyclamen en zaad moet worden onderzocht.

Chemische bestrijding

Tot op heden zijn voor *Fusarium* en *Erwinia* geen effectieve chemische bestrijdingsmiddelen gevonden. In de praktijk werken ze niet voldoende. Bij toepassing van sommige bestrijdingsmiddelen ontstaan er daarnaast groeiremmingen aan het gewas of ze zijn fytotoxisch. De chemische bestrijdingsmiddelen die momenteel toegelaten zijn, worden in de Gewasbeschermingsgids (Oomen et al., 1998) of de databank van de Plantenziektenkundige dienst beschreven. De ontwikkeling omtrent de toelating van bestrijdingsmiddelen gaat heel snel. Sommige middelen die momenteel toegelaten zijn, kunnen over een jaar niet meer toegelaten zijn. Nog maar heel kort is bekend dat *Phytophthora* Cyclamen kan aantasten. Paraat (dime-thomorph) werkt bij andere potplanten goed tegen *Phytophthora*. Het is echter nog niet getest op Cyclamen. De toediening is te vinden in het Gewasbeschermingsgids (Oomen et al., 1998, blz 408).

Biologische bestrijding

Bij verschillende onderzoeken is men begonnen met een in vitro-toets van een heel scala aan mogelijke antagonisten. De uitkomst hiervan geeft een indicatie of het een goede antagonist is, maar wil nog niet zeggen, dat het micro-organisme ook goed in de praktijk werkt. In de meeste gevallen blijkt dat de antagonist in de in vitro-toets een goed resultaat geeft, terwijl na toetsing in de praktijk de resultaten tegenvallen.

Het kan zijn dat een micro-organisme bij een in vitro-toets geen antagonistische activiteit toont, terwijl het wel de ziekte kan reduceren. Dit kan het geval zijn als het een plantversterkend middel is, waardoor de plant zich moeilijker laat infecteren door het pathogeen. Een andere mogelijkheid is dat een middel een bepaalde resistentie veroorzaakt, waardoor de plant beschermt wordt tegen het pathogeen. Dit effect is in een in vitro-toets niet na te gaan.

Verder is het vaak zo dat de antagonisten na verloop van tijd zich niet kunnen handhaven, waardoor het pathogeen alsnog de kans krijgt om de planten aan te tasten. Dit blijkt uit het feit dat bij meerdere malen toedienen van de antagonist de aantasting lager blijft, omdat de antagonist beter kan concurreren.

Fusarium

Er zijn vele artikelen in de literatuur gevonden over biologische bestrijding van *Fusarium*. Er zijn tien artikelen geselecteerd waarbij reductie van aantasting beschreven wordt (Tabel 14). Verder zijn er ook vele artikelen waarbij de werking niet voldoende is.

Tabel 14 - Antagonisten ter bestrijding van *Fusarium oxysporum* f.sp. *cyclaminis* en andere *Fusarium*-soorten met de reductie van ziekte en de waardplant, waarbij het onderzoek heeft plaats gevonden

Nr	Antagonist	Pathogeen	Reductie van ziekte	Waardplant	Literatuurbron
1.	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>F.o. f.sp. cyclaminis</i> <i>F.o. f.sp. lycopersici</i>	Tot 93 % Ca. 50 %	Cyclamen tomaat	Alabouvette, et al, 1993 Larkin & Fravel, 1998
2.	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>F.o. f.sp. cyclaminis</i>	Tot 75 %	Cyclamen	Rüegg, et al, 1992
3.	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>F.o. f.sp. cyclaminis</i> <i>F.o. f.sp. dianthi</i> <i>F.o. f.sp. melonis</i> <i>F.o. f.sp. vasinfectum</i>	60 % 40 - 96 % ca. 80 % ca. 90 %	In vitro anjer meloen katoen	Verschoor, 1988 Verschoor, 1988 Ordentlich, et al, 1991 Ordentlich, et al, 1991
4.	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>F.o. f.sp. cyclaminis</i>	Gelijk aan 0,15 % captan	Cyclamen	Jacob, 1992
5.	<i>Trichoderma viride</i>	<i>F.o. f.sp. dianthi</i> <i>F.o. sp.</i>	73 - 96 % 40 %	anjer meloen	Manka & Fruzynska-Józwiak, 1996 Chattopadhyay & Sen, 1996
6.	<i>Fusarium solani</i>	<i>F.o. f.sp. lycopersici</i>	78 - 100 %	tomaat	Larkin & Fravel, 1998
7.	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>F.o. f.sp. cucumerinum</i>	98 %	komkommer	Maurhofer, et al, 1995
8.	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>F.o. f.sp. lycopersici</i>	96 % (bij dubbele behandeling)	tomaat	Yamaguchi, 1992
9.	<i>Penicillium nigricans</i>	<i>F.o. f.sp. dianthi</i>	79 - 96 %	anjer	Manka & Fruzynska-Józwiak, 1996
10.	<i>Gliocladium virens</i>	<i>F.o. f.sp. lycopersici</i>	Ca. 75 %	tomaat	Parveen & Ghaffar, 1991

Erwinia

Er zijn weinig antagonisten bekend tegen het pathogeen *Erwinia*. Bij aardappelknollen is er door Liao (1989) een proef gedaan met de antagonist *Pseudomonas putida*. Deze liet een ziektereductie zien van 21 % ten opzichte van een watercontrole.

Phytophthora

Voor de biologische bestrijding van *Phytophthora* zijn enkele artikelen gevonden; deze worden in Tabel 15 vermeld.

Tabel 15 - Antagonisten ter bestrijding van verschillende Phytophthora-soorten met de reductie van ziekte en de waardplant, waarbij het onderzoek heeft plaats gevonden

Nr	Antagonist	Pathogeen	Reductie % van ziekte	Waardplant	Literatuurbron
1	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>P. cactorum</i> en <i>P. megasperma</i> <i>P. megasperma</i>	96 26 97 96	Aster Daphne Photinia witte kool	Berger, et al, 1996
2	<i>Bacillus cereus</i>	<i>P. megasperma</i> f. sp. <i>medicagenis</i>	40 tot 90		Handelsman, et al, 1990
3	<i>Colocasia esculenta</i> <i>Streptomyces albidoflavus</i> <i>S. diastaticus</i> <i>S. rochei</i>	<i>P. colocasiae</i> <i>P. colocasiae</i> <i>P. colocasiae</i> <i>P. colocasiae</i>	37-43 90 – 93 76 30-75		Narula & Mehrotra, 1987
4	<i>Verticillium chlamydosporium</i>	<i>P. capsici</i>	50 %	peperplanten	Sutherland & Papavizas, 1991

11.2 BIOLOGISCHE BESTRIJDING PRAKTIJK

Voor de biologische bestrijding is een keus gemaakt om vier bestrijdingsmiddelen te testen. De middelen zijn gekozen omdat er beweerd wordt dat ze in de praktijk goed werken. De actieve ingrediënten van de vier middelen zijn: *Streptomyces griseoviridis*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium oligandrum* en *Bacillus subtilis*. Ze zijn getest tegen *Fusarium*, *Phytophthora* en *Erwinia*.

Er zijn twee proeven uitgevoerd om de werking van de biologische middelen te testen. Bij de eerste proef waren er weinig sporen of bacteriën aan de planten toegevoegd. Daardoor waren er bij de controletafels waarbij alleen het pathogeen is toegevoegd 25 weken na inoculatie zeer weinig planten aangetast. De proef is herhaald met een hoger aantal sporen of bacteriën. Alleen de resultaten van de tweede proef worden in dit hoofdstuk beschreven.

11.2.1 Materialen en methoden

Voor deze proef zijn drie pathogenen gebruikt. Deze zijn *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* (NAKB 96/C341), *Phytophthora capsici* (PD 96/12146) en *Erwinia chrysanthemi* (PD 593). Ze zijn aan de planten toegediend in een concentratie van 10^7 sporen/plant voor *Fusarium*, 10^7 zoösporen/plant voor *Phytophthora* en 10^9 bacteriën/plant voor *Erwinia*. Verder zijn er vier biologische bestrijders getest. Ze zijn genummerd van 1 t/m 4. Middel 1 bevat *Streptomyces griseoviridis* en is vijf keer toegediend aan de planten. Elke keer zijn $2,5 \cdot 10^5$ sporen/plant toegediend in een volume van 25 ml. De eerste keer is het middel bij oppotten toegediend en daarna om de vier weken. Middel 2 bevat *Fusarium oxysporum* en is drie keer toegediend aan de planten. Elke keer zijn $1 \cdot 10^6$ sporen/plant toegediend in een volume van 50 ml. De eerste keer is het middel bij oppotten toegediend, daarna één week na oppotten en als laatste samen met het inoculeren van de planten drie weken na oppotten. Middel 3 bevat *Pythium oligandrum* en is vier keer toegevoegd aan de planten. Elke keer zijn $1,25 \cdot 10^6$ sporen/plant toegediend in een volume van 50 ml. Het middel is toegediend bij oppotten, één week na oppotten,

samen met het inoculeren van de planten en één week na inoculatie. Middel 4 bevat *Bacillus subtilis* en is éénmalig aan de planten bij oppotten toegediend. Er zijn $7,5 \cdot 10^8$ sporen/plant toegediend in een volume van 50 ml. De biologische middelen zijn toegediend volgens advies van de leveranciers.

Er zijn 48 tafels beschikbaar; hiervan zijn drie tafels gebruikt voor een onbesmette controle en negen tafels (3x3) voor de besmette controles. Voor elk pathogeen zijn drie tafels gebruikt. De andere 36 tafels zijn gebruikt voor de vier biologische bestrijders. Elke biologische bestrijder is getest op negen tafels; drie tafels per pathogeen/bestrijder-combinatie.

De infectieproef is uitgevoerd in de kassen L202 en L302 van het PBG-Aalsmeer. Deze bevatten samen 48 eb/vloedtafels met een oppervlak van 2 m² per tafel en een tankinhoud van 300 liter. Voor aanvang van de proef zijn de kassen en tafels ontsmet met 0,5% actief chloor met een inwerktijd van 12 uur. Tien van de tafels zijn ontsmet met 1% van een desinfectiemiddel nummer 2 in Tabel 11. Op elke tafel zijn veertig planten in rijen van 5x8 gezet. Ze zijn van de cultivar 'Midi Super Serie'. De planten zijn opgepot in rode potten met een diameter van 12 cm en een volume van 0,8 liter. De planten zijn (zowel biologisch als chemisch) niet behandeld tegen schimmels. De grondsoort is Flus fijn, 85% turfstrooisel en 15% perliete.

De temperatuur van de kas is ingesteld op 22°C en later op 24°C om ervoor te zorgen dat *Phytophthora* wel kan infecteren. In eerdere proeven bleek dat *Phytophthora* bij lagere temperaturen niet zo snel infecteerde.

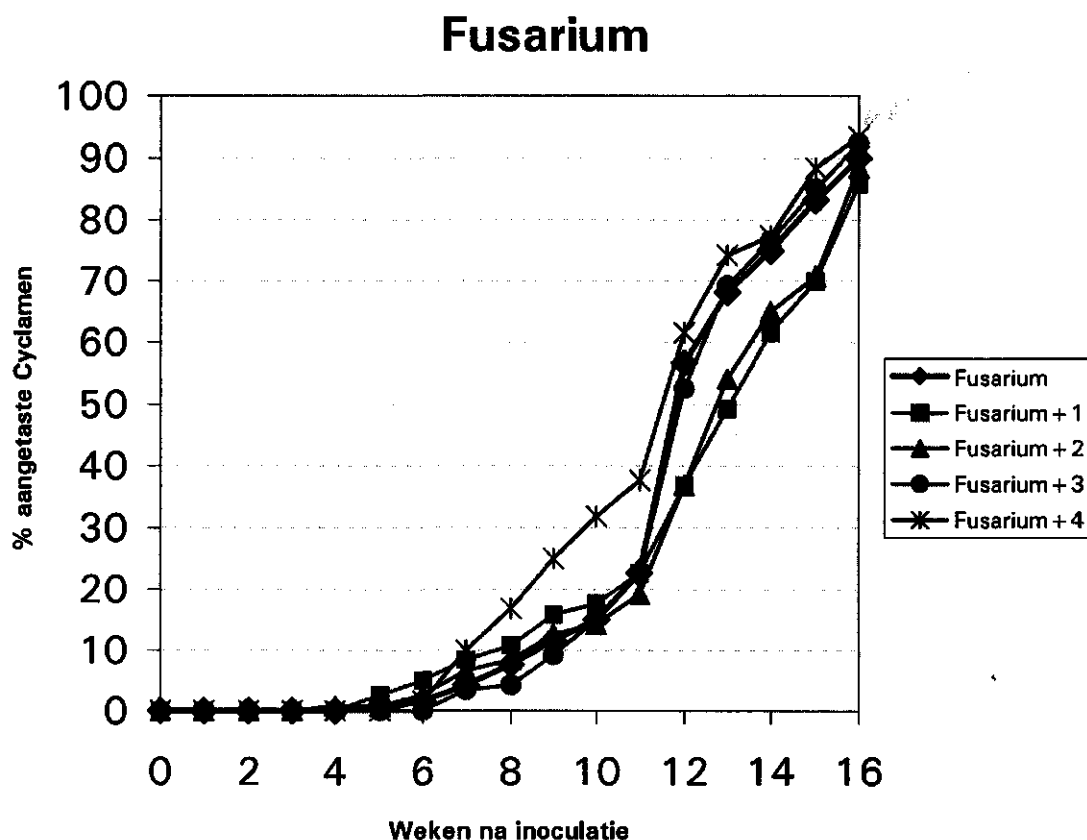
Hieronder worden de belangrijkste teelt- en behandelingsfactoren opgesomd.

Proefperiode	14-04-1999 t/m 25-08-1999; week 15-34 1999
Oppotdatum	14-04-1999; week 15
Inoculatie datum	04-05-1999; week 18
Einde proef	25-08-1999; week 34
Kasluchttemperatuur	22°C dag en nacht en daarna 24°C
Luchtvochtigheid	Vernevelen onder de 70%
Schermen	Eerste 2 weken boven de 350 W/m ² en daarna boven de 600 W/m ² ; licht krijten op dek.

Er is beoordeeld op het aantal zieke planten. Dit is iedere week op dezelfde dag gedaan. De planten zijn zestien weken vanaf de inoculatie gevolgd.

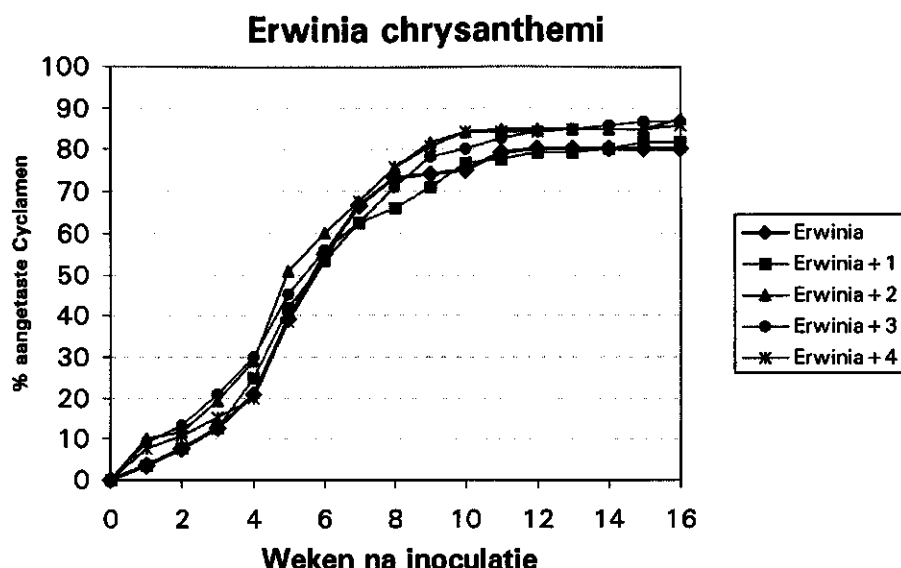
11.2.2 Resultaten

De resultaten van de aantasting door Fusarium en werking door de vier biologische bestrijders worden in Figuur 19 weergegeven. De planten waaraan geen bestrijders zijn toegevoegd, zijn na zestien weken voor 90% door Fusarium aangetast. De planten waaraan de vier biologische bestrijders werden toegevoegd, gaven onder de uitgevoerde omstandigheden nauwelijks reductie van aantasting door Fusarium. De aantastingspercentage zestien weken na inoculatie waren voor middel 1 t/m 4 respectievelijk 86%, 88%, 93% en 93%.



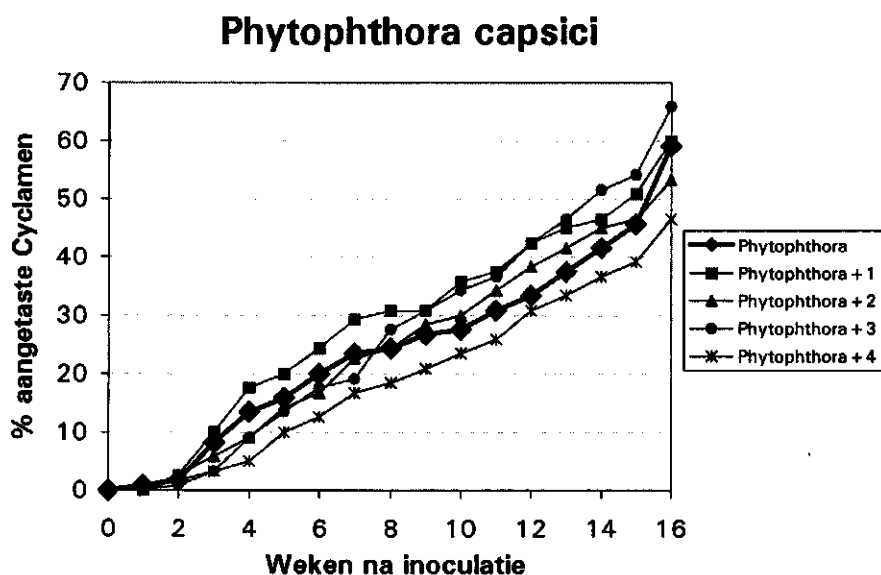
Figuur 19. Percentage aangetaste Cyclamen gedurende 16 weken na inoculatie door ◆ Fusarium, ■ Fusarium + middel 1, ▲ Fusarium + middel 2, ● Fusarium + middel 3, en * Fusarium + middel 4.

De resultaten van de aantasting door Erwinia en de werking door de vier biologische bestrijders worden in Figuur 20 weergegeven. De planten waaraan geen bestrijders waren toegevoegd, zijn zestien weken na inoculatie door Erwinia voor 80% aangetast. De planten waaraan de vier biologische bestrijders werden toegevoegd, gaven onder de uitgevoerde omstandigheden geen reductie van aantasting. De aantastingspercentages zestien weken na inoculatie waren voor middel 1 t/m 4 respectievelijk 82%, 88%, 87% en 86%.



Figuur 20. Percentage aangetaste Cyclamen gedurende zestien weken na inoculatie door ◆ Erwinia , ■ Erwinia + middel 1, ▲ Erwinia + middel 2, ● Erwinia + middel 3, en * Erwinia + middel 4.

De resultaten van de aantasting door *Phytophthora* en de werking door de vier biologische bestrijders worden in Figuur 21 weergegeven. De planten waaraan geen bestrijders waren toegevoegd, zijn zestien weken na inoculatie door *Phytophthora* voor 59% aangetast. De planten waaraan de vier biologische bestrijders werden toegevoegd, gaven onder de uitgevoerde omstandigheden nauwelijks reductie van aantasting. De aantastingspercentages zestien weken na inoculatie waren voor middel 1 t/m 4 respectievelijk 60%, 53%, 66% en 47%.



Figuur 21. Percentage aangetaste Cyclamen gedurende zestien weken na inoculatie door ◆ Phytophthora , ■ Phytophthora + middel 1, ▲ Phytophthora + middel 2, ● Phytophthora + middel 3, en * Phytophthora + middel 4.

11.2.3 Conclusie/discussie

De vier geteste biologische middelen hebben onder de beschreven omstandigheden niet goed gewerkt. In de literatuur zijn gevallen beschreven waarbij ze wel hebben gewerkt. Een van de belangrijkste oorzaken waarom ze niet hebben gewerkt kan zijn dat de verhouding pathogeen ten opzichte van het middel te hoog was. De verhouding wordt in Tabel 16 weergegeven. De reden waarom voor hoge concentraties is gekozen, was dat bij lagere concentraties de controleplanten niet voldoende ziek werden, waardoor ook geen bestrijdingseffect te zien was (eerste proef).

In de praktijk zullen niet zulke hoge concentraties pathogeen aanwezig zijn, waardoor er misschien wel reductie van aantasting mogelijk is. Alleen middel 4 had een hogere concentratie dan *Fusarium* en *Phytophthora* en niet hoger dan *Erwinia*. Dit middel is echter één keer toegediend, terwijl de andere middelen vaker zijn toegediend (Tabel 16).

Tabel 16 - Verhouding van pathogeen ten opzichte van het bestrijdingsmiddel in de eerste en de tweede proef

pathogeen	eerste proef	Tweede proef	Middel1	Middel2	Middel3	Middel4
<i>Fusarium</i>	10^4	10^7	$2,5 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$	$1,25 \cdot 10^8$	$7,5 \cdot 10^8$
<i>Phytophthora</i>	10^5	10^7	$2,5 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$	$1,25 \cdot 10^8$	$7,5 \cdot 10^8$
<i>Erwinia</i>	10^7	10^9	$2,5 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$	$1,25 \cdot 10^8$	$7,5 \cdot 10^8$
Toediening			5 keer	3 keer	4 keer	1 keer

De randvoorwaarden voor een geslaagde biologische bestrijding zijn veel hoger dan bij chemische bestrijding. Algemeen zullen de meeste bestrijders specifiek tegen een beperkt aantal ziektes werken. Daarbij komt dat het tijdstip en hoeveelheid toediening van een biologisch middel veel belangrijker is dan bij chemische middelen. Mogelijk zullen de geteste middelen in de praktijk misschien wel werken, maar is de concentratie van pathogeen voor deze proeven te hoog geweest.

12. EINDCONCLUSIE/DISCUSSIE

12.1 CONCLUSIES

Er kunnen een aantal conclusies worden getrokken uit de resultaten die in dit rapport zijn beschreven.

Uit de inventarisatie in de literatuur en de praktijk kwamen de volgende wortelpathogenen van Cyclamen naar voren: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*, *Nectria radicola*, *Colletotrichum acutatum*, *Chalara elegans*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Erwinia chrysanthemi* en *Pythium*. *Phialophora fastigiata* en *Phytophthora capsici* waren bij de PD ook geïsoleerd uit Cyclamen.

Uit de infectieproeven die uitgevoerd zijn kwamen *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*, *Phytophthora* en *Erwinia* als belangrijkste pathogenen naar voren. Hierbij werd tevens gevonden dat inoculaties via de plant een hogere aantasting gaven dan inoculaties via de tank. De kans op verspreiding was bij *Fusarium* het grootst, gevolgd door *Phytophthora* en het kleinst bij *Erwinia*.

Phytophthora was tot op heden niet beschreven als een pathogeen voor Cyclamen. Meerdere *Phytophthora*-soorten kunnen Cyclamen aantasten. De belangrijkste *Phytophthora*-soort die in de praktijk bij Cyclamen gevonden wordt is *Phytophthora capsici*.

Bij *Phytophthora* is er een verschil in aantasting geconstateerd tussen de F1-hybriden en de zaadvaste Cyclamen. De F1-hybriden werden sterker aangetast. Deze aantasting kan een aantal oorzaken hebben. Gedacht wordt aan verschillen in opkweek van het uitgangsmateriaal. De zaadvaste Cyclamen zijn biologisch bestreden, waardoor deze een bescherming met zich mee namen. Of het nu fysiologisch/biologisch of genetisch verklaard kan worden, moet verder worden onderzocht.

Bij *Erwinia* kunnen zowel *Erwinia chrysanthemi* als *Erwinia carotovora* Cyclamen aantasten. *Nectria radicola* is met name in een vroeg stadium in de opkweekfase een probleem. Aantasting door *Nectria* is bij oudere planten minimaal. *Colletotrichum acutatum* kan planten aantasten. Door zaadontsmetting en andere bestrijdingsmethoden is *C. acutatum* goed te bestrijden en geen probleem meer in de praktijk. Daarom was er geen verder onderzoek aan *C. acutatum* nodig.

Chalara elegans, *Pythium* en *Phialophora fastigiata* konden de planten niet ziek maken.

In hoofdstuk 5 worden de belangrijkste kenmerken voor de herkenning van de drie pathogenen vermeld. Hoewel deze kenmerken de vaststelling van het pathogeen een heel eind op weg helpen, is het toch raadzaam om het pathogeen te laten isoleren uit de plant. Het hangt van het stadium van de infectie af of bepaalde karakteristieke kenmerken zichtbaar worden. Bij menginfecties is het heel moeilijk om onderscheid te maken. Daarom is het raadzaam om het pathogeen door een diagnostisch lab te laten isoleren.

Temperatuur is van invloed op de aantasting van Cyclamen. Bij *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* ligt de optimale temperatuurgroei bij 27,5°C en bij 5°C of

lager is er geen groei meer. Bij *Phytophthora capsici* ligt de optimumgroeitemperatuur bij 30°C. Ook de optimumgroei voor de aantasting ligt bij 30°C. De optimumgroei voor de sporangiënvorming ligt bij 25°C. Daardoor zal de verspreiding bij 25°C sneller plaatsvinden. Bij *Erwinia* is er geen duidelijke optimumtemperatuur voor de aantasting geconstateerd. Er vormt zich een plateau tussen 15°C en 27°C. *Fusarium* en *Phytophthora* zullen bij warmere periodes voor meer uitval zorgen. *Erwinia* zal dat in mindere mate doen.

Minimale infectieuze eenheden

Fusarium geeft bij 100 sporen/liter voedingsoplossing nog aantasting van *Cyclamen*. Bij *Phytophthora* ligt de grens voor aantasting tussen 10^3 en 10^4 zoösporen/liter en bij *Erwinia* tussen 10^6 en 10^7 bacteriën/liter.

Overleving

De overleving van *Fusarium*, *Phytophthora* en *Erwinia* is tot 32 weken na bewaring onderzocht. Er vindt een snelle afname plaats van de infectieuze eenheden. Bij *Phytophthora* en *Erwinia* is dertien weken na bewaring weinig risico meer voor aantasting. Er worden bij *Phytophthora* vijftien weken na bewaring zelfs geen levende zoösporen meer gevonden. De voedingsoplossing werd regelmatig bij planten gegoten. Door *Phytophthora* was na acht weken geen aantasting meer en door *Erwinia* na twee weken. In een andere proef gaf hergebruik van de voedingsoplossing bij teeltwisselingen bij *Phytophthora* en *Erwinia* ook geen problemen. Dat geeft aan dat er voor *Erwinia* grote aantallen bacteriën nodig zijn om *Cyclamen* ziek te maken. Als in de praktijk tussen twee opeenvolgende teelten enige weken met het gebruik van de voedingsoplossing gewacht wordt, is de kans op aantasting door *Phytophthora* en *Erwinia* veel kleiner.

Voor *Fusarium* zakken tot zeven weken na bewaring de infectieuze eenheden tot een concentratie van 2×10^5 sporen/liter. Deze aantallen blijven tot 32 weken na bewaring constant. Kennelijk zijn er microchlamydosporen ontstaan die heel lang kunnen overleven. De ondergrens voor aantasting van 100 sporen/liter voor *Fusarium* wordt gedurende de proef niet bereikt. De kans op aantasting van *Cyclamen* door *Fusarium* blijft dus heel lang aanwezig. Het is erg belangrijk om te voorkomen dat *Fusarium* in het systeem wordt geïntroduceerd.

Tot op heden is bestrijding en ontsmetting van *Fusarium* weinig effectief geweest. Bij de ontsmetting van *Phytophthora* en *Erwinia* zijn geen problemen ondervonden. De ontsmetting kan hier goed gewerkt hebben of de drempel voor aantasting voor *Phytophthora* en *Erwinia* is zo hoog dat als er niet voldoende werd ontsmet, de planten toch niet ziek werden. De ontsmetting van *Fusarium* is moeizaam gebleken. Hogere concentraties van de ontsmettingsmiddelen en langere inwerktijden verminderen de kans op overleving, maar hebben niet volledig gewerkt. De aantasting van de planten werd uitgesteld tot zelfs 20 weken, maar daarna werden de planten toch ziek. Het is erg belangrijk om naar goede ontsmettingsmethoden te zoeken om *Fusarium* volledig te elimineren uit het teeltsysteem.

Hygiënisch werken en gezond uitgangsmateriaal kan veel problemen voorkomen. Chemische bestrijding geeft groeiremmingen en is fytotoxisch. Tot heden zijn er geen goede chemische bestrijdingsmiddelen tegen *Fusarium* gevonden. De vier geteste biologische middelen hebben niet goed gewerkt. De verhouding pathogeen ten opzichte van de bestrijder is van belang. Als de verhouding te hoog is geeft dat weinig bestrijding. Het aantal keren toedienen van het middel kan daar invloed op hebben. Het tijdstip van toediening en de effectiviteit van het middel is belang-

rijk. Er is meer onderzoek nodig om goede middelen te vinden. Echter op dit moment zijn er weinig tot geen goede toegelaten middelen beschikbaar.

12.2 MAATREGELEN OM VERSPREIDING EN INTRODUCTIE VAN WORTELZIEKTEN IN EB/VLOEDSYSTEMEN BEHEERSBAAR TE MAKEN

Bedrijfshygiëne

Een eerste vereiste is het uitgaan van ziektevrij uitgangsmateriaal. Daarom moet men uitgangsmateriaal nemen van vermeerderaars waarbij regelmatig gecontroleerd wordt op de aanwezigheid van de belangrijkste ziektes. Als tweede is bedrijfshygiëne heel belangrijk. Zaken zoals: handen wassen tussen teelthandelingen op verschillende kasafdelingen, dragen van stofjassen, het gebruik van schoon of ontsmet fust, ontsmetten van schoenen, reinigen kasopstand en alertheid bij het verplaatsen van ogenschijnlijk gezonde planten, zijn van groot belang om introductie en verspreiding van ziekteverwekkers te voorkomen.

Alertheid

Men moet alert zijn op belangrijke handelingen of zaken. Men moet zoveel mogelijk voorkomen besmet plantmateriaal te introduceren op het bedrijf. Het is belangrijk dat een persoon met kennis van ziekten en plagen regelmatig gaat 'ziekzoeken'. Als er zieke planten worden gevonden, moeten deze zo snel mogelijk in een plastic zak worden verwijderd om de kans op verdere verspreiding zo klein mogelijk te houden. Als eenmaal Fusarium is geconstateerd op een bedrijf, is het van groot belang om de ziekteverschijnselen in de latere teelten in de gaten te houden. Met name in de warmere perioden zullen de ziektesymptomen sneller zichtbaar worden. Bij teelten met andere gewassen of waarbij eerder andere gewassen zijn geteeld, moet men alert zijn voor Phytophthora. De reden hiervoor is dat meerdere Phytophthora-soorten Cyclamen kunnen aantasten, waaronder Phytophthora-soorten die bij andere waardplanten voor problemen zorgen. Bij het vinden van een zieke plant is het erg belangrijk om te achterhalen wat de veroorzaker is. Hoofdstuk 5 kan helpen bij de vaststelling van de oorzaak van de ziekte. In geval van twijfel moet men de plant door een diagnostisch lab laten onderzoeken. Bij het wijderzetten moet men erop letten dat geen delen van zieke planten worden aangeraakt, want dat kan bij met name Erwinia voor verspreiding zorgen. Als dat toch gebeurt, moet men de handen goed schoonmaken en de zieke plant verwijderen zoals hierboven beschreven.

Beheersing

Temperatuur is een van de factoren waardoor een snellere aantasting van de planten optreedt als eenmaal een pathogeen zich in een voedingsoplossing bevindt. Probeer zoveel mogelijk de temperatuur onder de 18°C te houden. Hogere temperaturen rond de 25°C zijn zeer gunstig voor de groei van Phytophthora en Fusarium, waardoor deze de planten sneller kunnen aantasten. Krijten van de kassen kan in de zomer voor een verlaging van de kastemperatuur zorgen. Ook zullen de planten bij direct zonlicht daardoor niet verbranden. Krijten heeft echter ook nadelen. Door krijten krijgen de planten minder licht. Daardoor vindt er minder groei plaats en worden grotere 'losse' planten verkregen. Een hoge relatieve luchtvochtigheid (RV) bevordert de aantasting van Erwinia maar ook van bovengrondse schimmels zoals Botrytis. Bij Erwinia is van belang dat de knol niet te diep wordt opgepot. De knol moet in principe na het oppotten voor de helft bovengronds te zien zijn. Te diep oppotten bevordert de Erwinia-aantasting aanzienlijk.

Men moet goede drainerende potgrond gebruiken. Verder moet de watergift goed worden afgesteld naar de behoefte van de plant. Zo neemt de plant in de koudere periodes en als de plant klein is weinig water op. Als eenmaal de temperatuur hoger wordt en de planten groter worden, wordt meer water verdampt en is er meer behoefte aan wateropname. Indien een plant te nat wordt geteeld, kan dat ook voor problemen zorgen. *Erwinia* en *Phytophthora* kunnen zich in een waterig milieu beter verspreiden. De *Erwinia*-bacterie en de zoösporen van *Phytophthora* kunnen namelijk in een waterig milieu actief naar de wortel zwemmen en daar de plant aantasten. De bevoelingsfrequentie moet zo laag mogelijk blijven. Als de bevoelingsfrequentie te hoog wordt, zal er bij een zieke plant meer drainwater uit de potten komen met daarin sporen van de desbetreffende ziekteverwekker.

Als er in een voedingsoplossing *Erwinia* of *Phytophthora* wordt geconstateerd, dan is het belangrijk om te weten wat de dichtheid is van de betreffende ziekteverwekkers. Bij *Phytophthora* vond in onze proeven bij een dichtheid onder de 10^3 zoösporen/liter voedingsoplossing geen aantasting plaats. Bij *Erwinia* was dat 10^6 bacteriën/liter. Onder deze drempels is het risico van aantasting gering. Zijn de aantallen daarboven, dan is de risico van aantasting groter. Bij de overleving van pathogenen in hoofdstuk 8 (Figuur 17) hadden *Phytophthora* en *Erwinia* dertien weken nodig om onder de drempelwaarde te zakken. In de praktijk zal dat minder zijn, omdat er zulke hoge aanvangsaantallen niet bereikt worden. Voor *Fusarium* is het een ander verhaal. Zo is de drempel van aantasting heel laag (100 sporen/liter). *Fusarium* kan heel lang overleven (tot 6 jaar in voedingsoplossing) en blijft een constant probleem als deze eenmaal in een systeem komt. Enige reductie van de infectiedruk is te realiseren, door de pompinlaat een stuk boven de bodem van de tank te plaatsen. *Fusarium*sporen bezinken namelijk na 6 uur naar de bodem en als de pomp hoger dan de bodem wordt geplaatst, zullen er minder sporen omhoog worden gepompt.

Verder wordt aanbevolen om gebruik te maken van de checklist en het handboek die opgesteld zijn om vooraf eventuele problemen snel te kunnen signaleren en om op de ontstane problemen te kunnen reageren. Ook kunnen de checklist en het handboek van pas komen bij het bouwen van nieuwe kassen. Er kan van tevoren rekening worden gehouden met bepaalde zaken die risico's voor optreden van ziekten bij *Cyclamen* laag houden.

Ontsmetting

Ontsmetting van de voedingsoplossing kan plaatsvinden door verhitten, UV, ozon en andere chemische middelen. Bij UV-ontsmetting is het van belang dat het water niet te troebel is. Als dat het geval is zullen de UV-stralen niet volledig doordringen in de vloeistof en zullen de micro-organismen niet volledig worden gedood. Bij de chemische ontsmetting is de dosis en de inwerktijd van belang. Als het mogelijk is, wordt een lange inwerkperiode van 12 uur (overnacht) geadviseerd. Men moet er wel op letten dat de activiteit van het ontsmettingsmiddel in die periode niet snel achteruit gaat. Als de activiteit van het middel snel achteruit gaat, heeft lang in laten werken van het middel geen zin. Verhitten van voedingsoplossing zal het best werken om alle micro-organismen te doden. Periodes van minimaal drie minuten bij 85°C worden geadviseerd. Alle sporen en mycelium van schimmels zullen bij deze temperatuur gedood worden. Als de schimmel zich in plantmateriaal bevindt, zal daarvoor langer moeten worden verhit. Tijdsduur is nog niet onderzocht. Het is van groot belang dat als eenmaal *Fusarium* wordt geconstateerd, om het hele systeem te ontsmetten. Tot op heden is een volledig ontsmetting met chemi-

sche middelen niet gelukt. Er blijven infectieuze deeltjes achter in het systeem (in de pomp, leidingen en andere dode hoeken en kieren met organisch materiaal). Deze zijn moeilijk bereikbare plaatsen, waardoor de chemische stoffen de sporen niet volledig kunnen doden. Daarom is het erg belangrijk om eerst zoveel mogelijk organisch materiaal te verwijderen uit het systeem. Ook materialen die in contact zijn gekomen met besmet materiaal moeten niet weer gebruikt worden, maar eerst goed ontsmet worden. Met het gebruik van slootwater moet men ook oppassen. Sloopwater kan schadelijke micro-organismen bevatten. Een controle op de aanwezigheid van de belangrijkste wortelpathogenen is aan te raden. Als er pathogenen worden gevonden, dan moet ook het waterbassin goed ontsmet worden.

12.3 AANBEVELINGEN VERVOLGONDERZOEK

Nadat er bij een teelt zich een ziekte voordoet is het erg belangrijk om snel aan te tonen welke ziekteverwekker het probleem veroorzaakt. Ook kan het van belang zijn om te weten of er bepaalde ziekteverwekkers zich in een voedingsoplossing bevinden en hoeveel van die ziekteverwekker aanwezig is. Daarom is het erg belangrijk om snelle en gevoelige detectietechnieken te ontwikkelen.

De informatie die in de checklist en het handboek is verwerkt kan in een expertsysteem beter tot zijn recht komen. Bij een expertsysteem worden de vragen in de checklist en aanwijzingen in het handboek computermatig verwerkt, waardoor het eenvoudiger wordt om de benodigde informatie te krijgen. Door het expertsysteem te gebruiken, kunnen kwekers gerichter de oorzaak van hun problemen vinden zonder eerst alle vragen te behandelen die voor hen niet relevant zijn. Verder kunnen aan het eind van de vragen gerichte adviezen worden gegeven aan de hand van de gevonden problemen. Het expertsysteem zal daarom een praktischere en snellere toepassing zijn van de gemaakte checklist en handboek.

De verwachting in de toekomst is dat chemische middelen niet of minder worden toegelaten in Nederland. De behoefte aan de biologische middelen zal daardoor groter worden. Daarom is het belangrijk om meer inzicht te krijgen in de werking van bepaalde biologische middelen. Het PBG kan daarbij een rol spelen door deze biologische middelen te testen.

Ontsmetting van teeltsystemen blijft zeer belangrijk. Vooral ontsmetting van *Fusarium* is een groot probleem. Daarom is het belangrijk om goede ontsmettingsmethoden te vinden om *Fusarium* volledig te elimineren. Ontsmetting van *Fusarium* in Cyclamen wordt momenteel op het PBG onderzocht door A. Numansen.

Er is behoefte aan kennis over verspreiding van ziekten door zaadoverdracht. Het gaat om fundamentele kennis.

Ook zijn cultivargevoeligheden van belang. In vervolgonderzoek dient uitgezocht te worden waarom bepaalde cultivars minder gevoelig zijn. Bij een genetische oorzaak moeten eventueel de resistentiegenen in de gevoeligere cultivars ingebouwd worden.

LITERATUURLIJST

- Agrios, G.N. (1997). Plant Pathology. 4^e druk. Academic Press, San Diego.
- Alabouvette, C., Lemanceau, P., Steinberg, C. (1993). Recent advances in the Biological Control of Fusarium Wilts. Pesticide Science, 3:365-373.
- Anonymous, 1993, Problemen met uitval in Cyclamen, Landelijke Cyclamencommissie NTS.
- Anonymous (1995). Anonymous. S&G Seeds B.V. (momenteel Novartis Seeds), Enkhuizen.
- Asselbergs, D.J.M., Nierop, S. van, Oomen, P.A., Oostelbos, P.F.J. (1996). Ziekten en plagen in potplanten: Cyclamen. Gewasbeschermingsgids; Handboek voor de bestrijding van ziekten, plagen en onkruiden en de toepassing van groeiregulatoren in de land- en tuinbouw en het openbaar groen. 14^e druk. Plantenziektenkundige dienst, p. 411 - 412.
- Berger, F., Hong Li, White, D., Frazer, R., Leifert, C. (1996). Effect of Pathogen Inoculum, Antagonist Density, and Plant Species on Biological Control of Phytophthora and Pythium Damping-off by Bacillus subtilis Cot1 in High-Humidity Fogging Glasshouses. Phytopathology, 5:428-433.
- Chase, A.R. (1987). Bacterial diseases. Compendium of ornamental foliage plant diseases, p. 49-52.
- Chase, A.R., (1998). Pest control: Fusarium wilt of Cyclamen, GrowerTalks, p. 92-96.
- Chattopadhyay, C. & Sen, B. (1996). Integrated Management of Fusarium Wilt of Muskmelon Caused by Fusarium oxysporum. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology, 2:162-170.
- Erwin, D.C. & Ribeiro, O.K. (1996). Phytophthora diseases worldwide. APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Fairclough, R.W., Bain, R.A., Holmes, S.J., (1997). The infection of potatoes by Phytophthora infestans during simulated washing and its control using a hot water treatment, Potato Research 40: 1 p. 91-99.
- Handelsman, J., Raffel, S., Mester, E.H., Wunderlich, L., Grau, C.R. (1990). Biological Control of Damping-Off of Alfalfa Seedlings with Bacillus cereus UW85. Applied and Environmental Microbiology, 3:713-718.
- Idczak, E., Brielmaier-liebetanz, U. en Marwitz, R., (1998). Phytophthora als Ursache von Welkeerscheinungen an Cyclamen (Phytophthora - cause of wilt symptoms on cyclamen), Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd., 50 (1), p. 1-4.
- Jacob, M. (1992). Einsatz von Bacillus subtilis in der Cyclamenproduktion. Gartenbau Magazin, 12:58-61.
- Janse, J.D., (1988). Vermeldenswaardige bacterieaantastingen in de periode 1977-1985. II. Onbekende aspecten van in Nederland bekende bacteriën, Gewasbescherming 19 (2), p. 35-41.
- Koch, M. (1993). Dissertation: Untersuchungen zur Latenz der Fusarium-Welke an Cyclamen persicum und zum Frühnachweis des Erregers in der Pflanze und im Kultursubstrat. Hannover, p 88-100.
- Larkin, P. & Fravel, D.R. (1998). Efficacy of Various Fungal and Bacterial Biocontrol Organisms for Control of Fusarium Wilt of Tomato. Plant Disease, 9:1022-1028.
- Liao, C.H. (1989). Antagonism of Pseudomonas putida strain PP22 to Phytopathogenic Bacteria and Its Potential Use as a Biocontrol Agent. Plant Disease, 3:223-226.
- Manka, M. & Frúzynska-Józwia, D. (1996). Biocontrol of greenhouse carnation Fusarium wilt with saprophytic forest soil fungi. Folia Horticulturae, 1:93-104.
- Maurhofer, M., Keel, C., Haas, D., Défago, G. (1995). Influence of plant species on disease suppression by Pseudomonas fluorescens strain CHA0 with enhanced antibiotic production. Plant Pathology, 1:40-50.
- Narula, K.L. & Mehrotra, R.S. (1987). Biocontrol potential of Phytophthora leaf blight of Colocasia by Phylloplane microflora. Indian Phytopathology, 3:384-389.

- Numansen, A., (1998). Preventie en beheersing van wortelziekten in de teelt van Cyclamen: Inventarisatie, Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente, Rapport 106.
- Numansen, A., en Dalmeyer, A., (1998). Verschillende soorten Phytophthora bedreigen de cycloam: Cyclamentelers hebben er weer een probleem bij. Vakblad voor de Bloemisterij 45, p. 58-59.
- Numansen, A., (2000). Wortelziekten van cycloam grondig geïdentificeerd. Vakblad voor de Bloemisterij 3, p. 56-58.
- Oomen, P.A., Marsman, H., Oostelbos, P.F.J., Schoeman-Weerdesteijn, M.E., en Wanningen, R., (nov 1998). vijftiende herziene druk, Gewasbeschermingsgids: handboek voor de bestrijding van ziekten, plagen en onkruiden en de toepassing van de groei-regulatoren in de land- en tuinbouw en het openbaar groen 1999, Plantenziekten-kundige dienst, Wageningen Nederland.
- Ordentlich, A., Migheli, Q., Chet, I. (1991). Biological Control Activity of Three Trichoderma Isolates Against Fusarium Wilts of Cotton and Muskmelon and Lack of Correlation with their Lytic Enzymes. Journal of Phytopathology, 3:177-186.
- Parveen, S. & Ghaffar, A. (1991). Effect of microbial antagonists in the control of root rot of tomato. Pakistan Journal of Botany, 2:179-182.
- Rattink, H., (1977). Levensduur van Fusarium in water. Bloemisterijonderzoek over 1976: 26.
- Rattink, H., (1983). Spread van control of Fusarium wilt in carnation on artificial substrates, Acta Horticultrae 141: 103-108.
- Rattink, H., (1986). Some aspects of the etiology and epidemiology of Fusarium wilt on Cyclamen, Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent, 51/2b: 617-624.
- Rattink, H., (1991). Epidemiology of Fusarium crown and root rot in artificial substrate systems, Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent, 56/2b: 423-430.
- Rüegg, J., Frank, M., Lauber, H. (1992). Fusariumwelke an Cyclamen: Biologische Bekämpfung mit Mycostop. Der Gartenbau, 10: 362-364.
- Stelder, F.C.T., (1993). Fysische beheersing van optreden en verspreiding van schimmelziekten bij sierteeltgewassen in systemen met hergebruik van voedingsoplossing, met name eb/vloedsystemen. Interne publikatie PBN (momenteel PBG).
- Stelder, F.C.T., (1994). Verspreiding van schimmelziekten bij sierteeltgewassen op het eb/vloedsysteem. projectverslag 3401, Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente, Aalsmeer, Rapport 168
- Sutherland, E.D. & Papavizas, G.C. (1991). Evaluation of Oospore Hyperparasites for the Control of Phytophthora Crown Rot of Pepper. Journal of Phytopathology, 1:33-39.
- Verberkt, H., Amsing, J.J., Boogaard, M., Boonstra, J.J. (1997). Herkennen van ziekten en plagen in Cyclamen. Landelijke Cyclamencommissie LTO/NTS.
- Verschoor, E. (1988). De vaatparasiet Fusarium oxysporum. Verslag van een drie-maands stage aan het Proefstation voor de Bloemisterij in Nederland te Aalsmeer voor de vakgroep Fytopathologie van de Landbouwuniversiteit te Wageningen.
- Yamaguchi, K., Sano, T., Arita, M., Takahashi, M. (1992). Biocontrol of Fusarium Wilt of Tomato and Verticillium Wilt of Eggplant by Non-pathogenic Fusarium oxysporum MT0062. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 2:188-194.

Bijlage 1. Recepten van gebruikte voedingsbodems

– CVP-medium (selectief voor *Erwinia*)

Basale laag:

Agar-agar (Merck 1.01614)	15,0 g
CaCl ₂ *6H ₂ O	5,5 g
NaNO ₃	2,0 g
Tryptone	1,0 g
Crystal Violet (0,075% oplossing)	2,0 ml
aanvullen tot 1000 ml met demiwater	
autoclaveren: 15 min. bij 120°C	
pH = 7,0 – 7,5	

Bovenste laag:

Natriumpolypectaat	25 g
(Citrus Colloids LTD, Ponomia place, Hereford, HR4 ODA, England)	
EDTA (di-Natriumzout; 5% oplossing)	2,5 ml
aanvullen tot 1000 ml met demiwater	
autoclaveren: 15 min. bij 120°C	

– Erwttenmedium (medium voor *Phytophthora*):

tot poeder gemalen spliterwten	30 g
Sucrose	2,5 g
Agar-agar (Merck 1.01614)	15 g
aanvullen tot 1000 ml met demiwater	
autoclaveren: 20 min. bij 121°C	

– Komada (selectief voor *Fusarium oxysporum*):

K ₂ HPO ₄	1 g
KCl	0,5 g
MgSO ₄ *7H ₂ O	0,5 g
FeNa-EDTA	0,01 g
L-Asparagine	2 g
D-galactose	20 g
Agar-agar (Merck 1.01614)	15 g
aanvullen tot 1000 ml met demiwater	
autoclaveren: 20 min. bij 115°C	

na autoclaveren:

PCNB	1 g
Ossegal	0,5 g
Na ₂ B ₄ O ₇ *10H ₂ O (= Borax)	1 g
Streptomycinesulfaat	0,3 g
pH = 3,8 ± 0,2 (instellen met 10% fosforzuuroplossing)	
NB: Als alternatief voor D-galactose kan ook D-glucose worden gebruikt, wat ook veel goedkoper is.	

– P₁₀ARPH (selectief voor *Phytophthora*)

Potato Dextrose Agar (Difco; 0013-17-6)	39 g
aanvullen tot 1000 ml met demi	
Autoclaveren: 15 minuten bij 121°C	
Na afkoeling tot handwarm	
Ampicilline	250 ppm
Rifampicine	10 ppm
Pimaricine = Natamycine (50% w/w)	10 ppm
PCNB	100 ppm
Hymexazol	50 ppm

- PDA-medium (algemene voedingsbodem):
 - Potato Dextrose Agar (Difco; 0013-17-6) 39 g
 - aanvullen tot 1000 ml met demi
 - Autoclaveren: 15 minuten bij 121°C
- PDA-AR-medium (bacterie-remmend):
 - Potato Dextrose Agar (Difco; 0013-17-6) 39 g
 - aanvullen tot 1000 ml met demi.
 - Autoclaveren: 15 minuten bij 121°C
 - Afkoelen tot 50°C
 - Ampicilline (Sigma; A-9518) 250 ppm
 - Rifampicine (Sigma; R-7382) 10 ppm
- YPG-medium (medium voor Erwinia):
 - gistextract (Difco; 0127-17-9) 5 g
 - Bactopeptone (Difco; 0118-17-0) 5 g
 - Glucose (Merck 1.08342) 10 g
 - Aanvullen tot 1000 ml met demi
 - pH = 7,1
 - autoclaveren: 10 min. bij 115°C