PRAKTIJKONDERZOEK
PLANT & OMGEVING

Productschap Tuinbouw

Effect van inoculumdichtheid, tijdstip van besmetten en tijdstip van bestrijden op aantasting van tomaat door *Verticillium*.

Projectnummer 41103310

S. J. Paternotte

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Business Unit Glastuinbouw
December 2003

© 2003 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.



Dit is een vertrouwelijk document, uitsluitend bedoeld voor intern gebruik binnen PPO dan wel met toestemming door derden. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid voor extern gebruik.
Dit rapport mag niet extern worden verspreid.



Dit onderzoek is gefinancierd door Productschap Tuinbouw

Projectnummer: 41103310

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Business Unit Glastuinbouw
Adres : Kruisbroekweg 5
: Postbus 8, 2670 AA Naaldwijk
Tel. : 0174 636814
Fax : 0174 636835
E-mail : info.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.dlo.nl



Inhoudsopgave

pagina

Samenvatting 4
Summary 5

1 INLEIDING 6

2 DOEL 6

3 MATERIALEN EN METHODEN 6
3.1 Proefopzet 6
3.2 Besmettingsmethode. 7
3.3 Waarnemingen 7
3.4 Statistische verwerking 7

4 RESULTATEN 8
4.1 Aantasting 8
4.2 Productie 9

5 DISCUSSIE EN CONCLUSIES 10

Samenvatting

In kasproeven in 2002 (Projectverslag detectie van *Verticillium* bij tomaat, december 2002) is gevonden dat slechts zeer kleine hoeveelheden *Verticillium albo-atrum* in de voedingsoplossing nodig zijn om planten te infecteren.
Het is toen niet duidelijk geworden of deze geïnfecteerde planten ziekteverschijnselen kunnen krijgen omdat de duur van de proef daarvoor te kort was. Het is ook niet bekend of later in het teeltseizoen ook nog planten door *V. albo-atrum* worden geïnfecteerd hetgeen voor optimale bestrijding van de ziekte met chemische gewasbeschermingsmiddelen belangrijk is om te weten. In dit onderzoek is thiofanaat-methyl (productnaam Topsin M) getest op effectiviteit tegen *V. albo-atrum* en op fytotoxiciteit voor tomaat. Het middel is niet toegelaten voor toediening in het wortelmilieu ter bestrijding van *V. albo-atrum* in tomaat. Het doel van het onderzoek is duidelijkheid te krijgen wat het effect is van de inoculumconcentratie, tijdstip van besmetten met *Verticillium* en bestrijding met Topsin M op de aantasting en productie bij tomaat. Op basis van deze gegevens kunnen de schadedrempel voor Verticillium -aantasting en Verticillium-bestrijding worden bepaald. Dit moet resulteren in een advies voor optimale bestrijding van *V. albo-atrum* in tomaat met chemische gewasbeschermingsmiddelen.
Planten werden in januari en maart met verschillende hoeveelheden *V. albo-atrum* besmet. Een deel van de planten werd niet besmet. Zowel een deel van de zwaarst besmette als de niet besmette planten werden één en twee weken voor besmetten met *V. albo-atrum* of één en twee weken na besmetten behandeld met Topsin M.
Planten die in januari zwaar waren besmet met *V. albo-atrum* (100.000 sporen *V. albo-atrum* per plant) werden betrouwbaar ernstiger aangetast dan planten die in maart zwaar waren besmet. Zowel bij planten die in januari als bij planten die in maart licht waren besmet (10 en 100 sporen *V. albo-atrum* per plant) bleef het aantal planten met Verticillium-symptomen gering en betrouwbaar minder dan bij planten besmet met 100.000 sporen per plant.
Het effect op de aantasting van een preventieve bestrijding met Topsin M één en twee weken voor de besmetting was betrouwbaar beter dan een bestrijding met het middel één en twee weken na besmetting. Dit effect werd gevonden bij de planten die in januari waren besmet en bij de planten die in maart waren besmet. De aantasting bij besmetting in maart kon met Topsin M niet meer worden teruggedrongen.
De schimmel werd ruim een maand na besmetten met behulp van PCR in de planten teruggevonden, onafhankelijk van de hoeveelheid *V. albo-atrum* waarmee, het tijdstip waarop planten waren besmet en of planten Verticillium-symptomen hadden. Ook in planten behandeld met Topsin M werd *V. albo-atrum* gevonden.
Zowel de planten die in januari alsook de planten die in maart zwaar waren besmet, produceerden betrouwbaar minder vruchten en kilo's veilbare tomaten dan de niet besmette en de lichtbesmette planten. Lichte besmettingen met 10 of 100 sporen per plant hadden geen betrouwbaar effect op de productie van de planten.
De effectievere bestrijding met Topsin M van Verticillium-besmetting in januari vertaalt zich in betrouwbare productiewinst. Ondanks deze bestrijding kwam de productie van de zwaar besmette planten nergens aan de productie van niet-besmette planten. Deze verschillen in productie zijn meestal niet betrouwbaar.
De productie van niet besmette planten behandeld met Topsin M verschilde niet betrouwbaar van de niet-besmette niet-behandelde planten.

Summary

In glasshouse experiments in 2002 (project report detection of *Verticillium* in tomato, December 2002) was found that only very small amounts of *Verticillium albo-atrum* are sufficient to infect plants. It has not become clear whether these plants can develop disease symptoms because the duration of the experiments was too short. It is also unknown whether later in the growing season plants can still become infected by *V. albo-atrum* which is important for optimum control of the disease with chemicals. In this experiment thiophanate-methyl (product name Topsin M) was tested for the efficacy against *V. albo atrum* in tomato. This product is not allowed for root application in this crop. The purpose of this experiment is to gain insight in the effect of inoculum concentration, time of infestation and control of *V. albo-atrum* with Topsin M on disease development and production of tomato. On the basis of these data the damage threshold for *Verticillium* disease and *Verticillium* control can be determined. The result must be an advise for optimal control of *V.albo-atrum* with chemicals.
Plants were inoculated with different amounts of *V. albo-atrum* in January and March. Part of the plants was not inoculated. Of the plants that were heavenly inoculated a part is treated before, a part after and a part not treated with Topsin M. Also a part of the non-inoculated plants were treated with Topsin M.
Plants heavenly inoculated in January (100,000 spores of *V. albo-atrum* per plant) became significantly more severely diseased than plants heavenly inoculated in March. Only a small percentage of the plants inoculated in January or March with 10 and 100 *Verticillium* spores per plant developed disease symptoms and significantly less than the percentage that was inoculated with 100,000 per plant.
The effect of a preventative treatment with Topsin one and two weeks before inoculation was significantly better than a treatment with the product one and two weeks after inoculation. This effect was found with plants inoculated in January and in plants inoculated in March. The disease could not be controlled in plants inoculated in March.
The pathogen was detected in plants by PCR over one month after inoculation independent of inoculum concentration and the time plants were inoculated, also in plants without disease symptoms.
Plants heavenly inoculated in January as well as plants heavenly inoculated in March produced significantly less fruits and kilograms of marketable tomatoes than non-inoculated and less heavenly inoculated plants. Inoculations with 10 and 100 spores per plant had no significant effect on the production of the plants. The more effective control of the *Verticillium* infestation in January with Topsin M resulted in a significant higher yield. Production of non-inoculated plants treated with Topsin M was not significant different from non-inoculated plants non-treated plants.

1 Inleiding

In kasproeven in 2002 (Projectverslag detectie van *Verticillium* bij tomaat, december 2002) is gevonden dat slechts zeer kleine hoeveelheden *Verticillium albo-atrum* in de voedingsoplossing nodig zijn om planten te infecteren. Deze hoeveelheden kunnen door GAC met de PCR methode in de voedingsoplossing en in de geïnfecteerde planten worden aangetoond. Het is in deze proeven in 2002 niet duidelijk geworden of en hoeveel tijd na besmetting de planten geïnfecteerd met geringe hoeveelheden *V. albo-atrum* ziekteverschijnselen kunnen krijgen, omdat de proefperiode van zes weken daarvoor te kort was. Daardoor is niet duidelijk wat de minimumconcentratie van *V. albo-atrum* is die planten ziek maakt en die met de PCR moet kunnen worden aangetoond. Op dit moment is ook niet duidelijk wat de gevolgen van lage infectiedruk en geringe aantasting zijn voor de productie. De eerste planten met ziekteverschijnselen van *V. albo-atrum* zijn op de meeste besmette bedrijven vanaf een maand nadat planten in de kas zijn gezet te vinden. Het aantal zieke planten neemt tot in het voorjaar meestal gestaag toe. Het is niet duidelijk of dit nog het gevolg is van vroege infectie of dat later in het teeltseizoen nog infectie van planten door *V. albo-atrum* plaatsvindt en wat voor gevolgen eventuele besmetting later in het teeltseizoen heeft voor de ziekteontwikkeling en productie. Hierdoor worden mogelijk middelen op verkeerde momenten en onnodig ingezet en is de bestrijding met chemische gewasbeschermingsmiddelen misschien niet optimaal.
Van benzimidazolen is bekend dat ze een werking hebben tegen *Verticillium*. In dit onderzoek zal thiofanaat-methyl (productnaam Topsin M) worden getest op effectiviteit tegen *V. albo-atrum* en fytotoxiciteit voor tomaat. Dit middel is niet toegelaten voor toediening in het wortelmilieu ter bestrijding van *V. albo-atrum* in tomaat. Hierbij wordt ook het effect van tijdstip van toedienen van het middel (één en twee weken voor besmetting (preventief), één en twee weken na besmetting (curatief), in de winter/voorjaar) op de aantasting en op de productie onderzocht.

2 Doel

Het doel van het onderzoek is duidelijkheid te krijgen wat het effect is van de infectiedruk, het tijdstip van besmetten en preventieve/curatieve bestrijding met Topsin M op de aantasting en productie.
Op basis van deze gegevens kunnen schadedrempels voor Verticillium -aantasting en Verticillium-bestrijding worden bepaald. Dit moet resulteren in een advies voor optimale bestrijding van *V. albo-atrum* in tomaat met chemische gewasbeschermingsmiddelen.

3 Materialen en methoden

3.1 Proefopzet

De proef werd uitgevoerd in twee gelijkwaardige kasafdelingen. Het ras dat in de proef werd gebruikt was Clothilde. De tomatenplanten werden 20 november gezaaid. De planten werden 20 december naast het plantgat in de kas gezet en 30 januari op het plantgat geplaatst. Planten werden deels 3 januari en deels 20 maart besmet met 10, 100 en 100.000 sporen van *V. albo-atrum* . Een aantal planten werd niet besmet. Zowel een deel van de zwaarst besmette als de niet-besmette planten werden één en twee weken voor besmetten met *V. albo-atrum* of één en twee weken na besmetten behandeld met Topsin M. Planten werden behandeld door 50 ml suspensie van het middel, concentratie 0,05 %, over het steenwolblok te gieten. De behandelingen zijn weergegeven in tabel 1. De proef is opgezet als gewarde blokkenproef en

lag in 3 herhalingen. In twee herhalingen stonden 9 planten per veldje, in één herhaling 18 planten per veldje. De proef is in week 30 (17 juli) beëindigd.

Tabel 1. Behandelingen in de kasproef.

behandeling	Tijdstip besmetten	Aantal sporen tijdens besmetting	Bestrijden
1	Niet	0	Niet
2	Januari	10	Niet
3	Januari	100	Niet
4	Januari	1000	Niet
5	Maart	10	Niet
6	Maart	100	Niet
7	Maart	1000	Niet
8	Januari	1000	Voor besmetting
9	Januari	1000	Na besmetting
10	Maart	1000	Voor besmetting
11	Maart	1000	Na besmetting
12	Niet	0	Voor besmetting
13	Niet	0	Na besmetting
14	Niet	0	Voor besmetting
15	Niet	0	Na besmetting

De teeltomstandigheden in de proef waren zoals onder praktijkomstandigheden gebruikelijk zijn.

3.2 Besmettingsmethode.

Een drietal Verticillium-isolaten van verschillende herkomst (Ve.to.00/4. Ve.to.00/5 en Ve.to.00/8) is 14 dagen gekweekt op aardappel-dextrose agar. De volgroeide cultures zijn gemixt in een blender. Planten werden in januari geïnoculeerd door 10 ml van een mix van de drie isolaten in de drie verschillende concentraties op het plastic van de steenwolmat onder het steenwolblok te gieten. Planten werden in maart geïnoculeerd door 10 ml van de mix in drie concentraties onder het steenwolblok op de mat te pipetteren.

3.3 Waarnemingen.

De productie werd per veldje geregistreerd. Hierbij werden gewicht en aantal vruchten waargenomen, onderverdeeld in goede vruchten en vruchten met neusrot. Er werd twee maal per week geoogst.
Het ziekteverloop werd waargenomen door iedere twee weken het aantal planten met Verticillium-symptomen te registreren. Maandelijks zijn monsters genomen van wortel,blad of grondscheuten van planten met en zonder Verticillium-symptomen. De monsters werden door GroenAgroControl met behulp van een moleculaire techniek (PCR) onderzocht op de aanwezigheid van *V. albo-atrum*.
Het voorkomen van eventuele fytotoxiciteitsschade werd wekelijks waargenomen tot een maand na toedienen van Topsin M.

3.4 Statistische verwerking

De gegevens zijn geanalyseerd met behulp van regressieanalyse op log getransformeerde waarden met een P-waarde van <0,05. De berekeningen zijn uitgevoerd met Genstat 6.1

4 Resultaten

4.1 Aantasting

Veertien dagen nadat planten waren besmet werden de eerste planten met Verticillium-symptomen aangetroffen, zowel in behandelingen die in januari als in maart waren besmet. De aantasting bestond uit bladverwelking, bladvergeling en dunne koppen. Na mei verdwenen de duidelijke Verticillium-symptomen in de vorm van bladverwelking en bladvergeling en waren Verticillium-symptomen moeilijk te onderkennen. Er bleven alleen de symptomen dunne koppen en lichtere trossen/vruchten over. Het aantal aangetaste planten met deze Verticillium-symptomen bleef na mei tot het beëindigen van de proef stabiel.
Planten die in januari zwaar waren besmet met 100.000 Verticillium-sporen per plant werden betrouwbaar ernstiger aangetast dan planten die in maart zwaar waren besmet (tabel 2). Drie maanden na besmetten hadden alle planten die in januari waren besmet Verticillium-symptomen, van de planten die in maart zwaar waren besmet 17%. Zowel bij planten die in januari als bij planten die in maart waren besmet met 10 en 100 sporen *V. albo-atrum* per plant was het aantal planten met Verticillium-symptomen gering en betrouwbaar minder dan bij planten besmet met 100.000 sporen per plant.
Het effect op de aantasting van een preventieve bestrijding met Topsin M één en twee weken voor de besmetting was betrouwbaar beter dan een bestrijding met het middel één en twee weken na besmetting. Dit effect werd gevonden bij de planten die in januari waren besmet en bij de planten die in maart waren besmet. De aantasting bij besmetting in maart kon met Topsin M niet meer worden teruggedrongen.

Tabel 2. Percentage planten met Verticillium-symptomen drie maanden na besmetten (n=36).

Besmet, aantal sporen per plant	Gewasbeschermingsmiddel	Perc. met zichtbare aantasting
niet	geen	0
Januari, 10 sp. per plant	geen	0
Januari, 100 sp. per plant	geen	5
Januari, 100000 sp. per plant	geen	100
Maart, 10 sp. per plant	geen	3
Maart, 100 sp. per plant	geen	0
Maart, 100000 sp. per plant	geen	17
Januari, 100000 sp. per plant	December voor besmetten	33
Januari, 100000 sp. per plant	Januari na besmetten	53
Maart, 100000 sp. per plant	Maart voor besmetten	14
Maart, 100000 sp. per plant	Maart na besmetten	36
niet	December	0
niet	Januari	0
niet	Maart	0
niet	Maart	0

De schimmel werd met behulp van PCR vanaf ruim een maand na besmetten in de planten teruggevonden, onafhankelijk van de hoeveelheid *V. albo-atrum* waarmee en het tijdstip waarop planten waren besmet en of planten Verticillium-symptomen hadden. Een aantal van deze planten bleef tot het einde van de proef vrij van Verticillium-symptomen, hetgeen inhoud dat de schimmel lange tijd latent aanwezig kan zijn. Ook in planten

behandeld met Topsin M werd *V. albo-atrum* gevonden.

Tabel 3. Plaatsen waar op verschillende tijdstippen *V. albo-atrum* wel (+0 of (-))in de plant is gevonden met behulp van P.C.R.

Besmet, aantal sporen per plant	Gewasbeschermingsmiddel	06/02		25/02	18/03	02/04	05/05
		Blad	wortel	scheuten	dieven	blad	blad
niet	geen	-	-	-	-	-	-
Januari, 10 sp. per plant	geen	-	-	-	+	-	+
Januari, 100 sp. per plant	geen	-	-	-	+	+	+
Januari, 100000 sp. per plant	geen	+	+	+	+	+	+
Maart, 10 sp. per plant	geen	*	*	*	*	*	+
Maart, 100 sp. per plant	geen	*	*	*	*	*	-
Maart, 100000 sp. per plant	geen	*	*	*	*	*	+
Januari, 100000 sp. per plant	December voor besmetten	-	+	-	-	+	+
Januari, 100000 sp. per plant	Januari na besmetten			-	+	-	+
Maart, 100000 sp. per plant	Maart voor besmetten	*	*	*	*	*	+
Maart, 100000 sp. per plant	Maart na besmetten	*	*	*	*	*	+
niet	December	*	*	*	*	*	-
niet	Januari	*	*	*	*	*	*
niet	Maart	*	*	*	*	*	-
niet	Maart	*	*	*	*	*	*

* aanwezigheid van V. albo-atrum niet bepaald.

4.2 Productie

Zowel de planten die in januari alsook de planten die in maart zwaar waren besmet (100.000 sporen *V. albo-atrum* per plant), produceerden significant minder vruchten en kilo's veilbare tomaten dan de niet-besmette en de licht besmette planten (tabel 3). De productie van planten die in januari en maart zwaar waren besmet met *V. albo-atrum* was respectievelijk 31 % en 13 % lager dan van niet-besmette planten. Bovendien produceerden deze zwaar besmette planten ook significant minder vruchten met neusrot waardoor het totale productieverlies van zwaar besmette planten ten opzichte van niet-besmette planten nog hoger uitvalt.
Lichte besmettingen met 10 of 100 sporen per plant hadden qua aantallen en gewicht geen betrouwbaar effect op productie.
De effectievere bestrijding van Verticillium-besmetting in januari met Topsin M vertaalt zich in betrouwbare productiewinst. De productie per plant bij een zware besmetting in januari was 9,2 kg, als deze één en twee weken voor besmetten of één en twee weken na besmetten werd bestreden was de productie gemiddeld respectievelijk 12,2 en 11,4 kg. De effectievere bestrijding van Verticillium-besmetting in maart met Topsin M vertaalt zich niet in betrouwbare productiewinst. De productie bij een zware besmetting in maart was 12,1 kg, als deze voor of na besmetten werd bestreden was de productie gemiddeld respectievelijk 12,1en 12,4 kg. Ondanks bestrijding kwam de productie van de zwaar besmette planten nergens aan de productie van niet-besmette planten. Deze verschillen in productie zijn echter meestal niet betrouwbaar.
De productie van niet-besmette planten behandeld met Topsin M verschilde niet betrouwbaar van de niet-besmette planten die niet waren behandeld. Er was geen betrouwbaar verschil in productie tussen bestrijden voor of na besmetten met *V. albo-atrum*.

Wat betreft de resultaten van de statistische analyse maakt het geen verschil of er wordt uitgegaan van alleen de veilbare productie per plant (aantallen en gewicht) of de totale productie inclusief neusrot per plant. In verhouding produceerden de planten die de meeste kilo's produceerden de zwaarste vruchten.

Tabel 3. Totale productie van de teelt tot 17 juli per plant.

Besmet, aantal sporen per plant	Gewasbeschermingsmiddel	productie			
		neusrot		veilbaar	
		Aantal	gewicht	aantal	gewicht
niet	geen	10	0.7	117	13.3
Januari, 10 sp. per plant	geen	10	0.8	115	13.3
Januari, 100 sp. per plant	geen	14	1.0	113	12.9
Januari, 100000 sp. per plant	geen	7	0.4	93	9.2
Maart, 10 sp. per plant	geen	10	0.7	113	12.7
Maart, 100 sp. per plant	geen	7	0.5	109	12.3
Maart, 100000 sp. per plant	geen	5	0.4	109	12.1
Januari, 100000 sp. per plant	December voor besmetten	8	0.6	110	12.2
Januari, 100000 sp. per plant	Januari na besmetten	11	0.7	106	11.4
Maart, 100000 sp. per plant	Maart voor besmetten	6	0.5	114	12.1
Maart, 100000 sp. per plant	Maart na besmetten	6	0.4	113	12.4
niet	December	13	0.9	110	13.2
niet	Januari	12	0.8	111	13.1
niet	Maart	15	1.1	109	13.8
niet	Maart	12	0.9	114	13.8

5 Discussie en conclusies

Lagere inoculumdichtheden en late besmetting leidden in deze proef tot een beperkt aantal planten met Verticillium-symptomen en geen productieverlies. Uit het feit dat de schimmel werd gevonden in besmette planten die tot het eind van de proef zonder Verticillium-symptomen bleven, blijkt dat de planten wel waren geinfecteerd en de schimmel latent aanwezig kan zijn. Bij ongunstigere teeltomstandigheden zoals een jaar met minder licht of een bijkomende infectie door pepinomozaiekvirus kunnen deze geïnfecteerde planten besmet met lagere inoculumdichtheden en latere besmettingen mogelijk tot meer zieke planten en productieverlies leiden. Daarom blijft het belangrijk de kas bij de teeltwisseling zo goed mogelijk schoon te maken en te ontsmetten om zoveel mogelijk inoculum te elimineren. Besmetting met 10 Verticillium-sporen per plant leidde tot een klein percentage planten met Verticillium-symptomen. Het is daarom nodig dat deze hoeveelheden met de PCR methode die wordt ontwikkeld, kunnen worden opgespoord.
Hoge infectiedruk leidde in deze proef tot ernstige aantasting en productieverlies. Bij late besmetting met hoge inoculumdichtheden was de aantasting minder ernstig dan bij vroege besmetting met hoge inoculumdichtheden. Mogelijk is het inoculum bij late besmetting voor een deel uitgedraineerd met watergeven of worden planten door de andere manier van besmetten minder makkelijk geinfecteerd.
Het feit dat bestrijding van late besmetting niet mogelijk was kan voor een deel zijn veroorzaakt door uitdraineren van het middel.

Alleen vroege besmetting was goed te bestrijden. Daarom is vroegtijdig vaststellen van een infectie van planten op bedrijven van essentieel belang.
De chemische bestrijding in de proef werd uitgevoerd door het middel tweemaal in lage doseringen toe te dienen. De effectiviteit van de bestrijding kan daarom mogelijk verder worden verhoogd zonder fytotoxiciteitsschade en productieverlies. Dit zou kunnen d.m.v. een extra keer toedienen van het middel en/of verhogen van de dosering. Het gebruik van Topsin M gaf in deze proef geen schade of productieverlies.