



Ontwikkeling van een systeemaanpak voor gezonde vruchten in de keten

D. Hofland-Zijlstra, S. Breeuwsma, W. Voogt, A. de Gelder, M. Noordam,
A. Ayik, M. Streminska en C.C.M.M Stijger

Rapport WPR-864



Referaat

Dit project heeft als doel om een duurzame systeemaanpak te ontwikkelen voor vruchtrotproblemen in de glasgroenteteelt gebaseerd op plantweerbaarheid en Integrated Pest Management (IPM). Aan dit project is bijgedragen door Topsector Tuinbouw & Uitgangsmaterialen, Dutch Produce Association, Productschap Tuinbouw, Biobest Group N.V. en Horti Nova B.V. In de eerste drie projectjaren zijn zowel laboratorium-, kas- als praktijkproeven uitgevoerd. De resultaten van dit project bevestigen dat uitval door vruchtrot niet met één maatregel is te voorkomen, maar een nauw samenspel van meerdere maatregelen vergt. De inzet van biologische antagonisten is één van de effectieve maatregelen om bloemen preventief te beschermen en kasproeven met plantenhormonen geven aan dat (ras)gevoeligheid voor vruchtrot sterk beïnvloedt wordt door een verhoogde jasmonzuur/ethyleen productie. Via het klimaat kan het infectieproces geremd worden door bloemen bloot te stellen aan hoge relatieve luchtvochtigheden en bescherming tegen hoge instraling. De temperatuur lijkt het minst van invloed. Het effect van een hoge instraling was meetbaar middels plantsapanalyses en via de sapstroomsnelheid van een plant. Verschillende schermstrategieën hebben weinig invloed op de sapstroom. Het onderzoek in het vierde jaar heeft zich gericht op de verdere ontwikkeling van een vroegtijdige monitoring middels de detectie van *Fusarium* in jonge vruchtbeginsels en bestudering van de overbrenging onder praktijkcondities van antagonisten.

Abstract

This project aims to develop a sustainable system approach for fruit rot problems in vegetables based on plant resilience and integrated pest management (IPM). This project was contributed by Top sector Horticulture & Breeding, Dutch Produce Association, Dutch Horticultural Board, Biobest Group N.V. and Horti Nova B.V. In the first three years of the project laboratory, greenhouse and field trials were performed. The results of this project confirmed that a multiple approach is most effective and a single treatment is not sufficient enough. The use of biological antagonists was one of the most effective measures to protect the flowers against fruit rot. Greenhouse trials with plant hormones indicate that sensitivity of a crop to fruit rot is affected by increased jasmonic acid/ethylene production. The infection process can be inhibited by climate measures when flowers are exposed to high relative humidity and protected from high radiation. The temperature seems to have less influence. The irradiation has a strong effect on the crop which is measurable in a changed composition of plant sap analyses and sap flow movement in the plant. Different screening strategies appear to have little influence on the sap flow movement. The research in the fourth year focused on further development of an early monitoring system through the detection of *Fusarium* in young fruits and improvement of biological control under commercial greenhouse conditions in The Netherlands.

Rapportgegevens

Rapport WPR-864

DOI nummer: 10.18174/474502

Projectnummer: 3742 203900

Thema: Gewasgezondheid

PT nummer: 15144

Dit project is mede tot stand gekomen door de bijdrage van Topsector Tuinbouw & Uitgangsmaterialen, Productschap Tuinbouw, Dutch Produce Association, Biobest B.V., Horti Nova B.V.

Disclaimer

© 2019 Wageningen, Stichting Wageningen Research, Wageningen Plant Research, Business unit Glastuinbouw, Postbus 20, 2665 MV Bleiswijk T 0317 48 56 06, www.wur.nl/plant-research.

Kamer van Koophandel nr.: 09098104

BTW nr.: NL 8113.83.696.B07

Stichting Wageningen Research. 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 Stichting Wageningen Research.

Stichting Wageningen Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Adresgegevens

Wageningen University & Research, BU Glastuinbouw

Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk

Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk

T +31 (0)317 48 56 06

Inhoud

	Samenvatting	7
1	Inleiding	9
	1.1 Knelpunt vruchtkwaliteit	9
	1.2 Doel	11
	1.3 Aanpak	11
2	<i>Fusarium lactis</i>, veroorzaker van vruchtrot in paprika	13
3	Effectiviteit van antagonisten in het lab	15
	3.1 Achtergrond en doel	15
	3.2 Uitvoering	15
	3.3 Resultaten	15
	3.4 Conclusie	18
4	Effectiviteit van antagonisten via de bloem	19
	4.1 Doel	19
	4.2 Uitvoering	19
	4.3 Resultaten	21
	4.4 Conclusie	22
5	Effectiviteit van antagonisten via het substraat	25
	5.1 Inleiding en doel	25
	5.2 Uitvoering	25
	5.3 Resultaten	27
	5.4 Conclusie	30
6	Effectiviteit en toediening van een bacteriële antagonist in de praktijk	31
	6.1 Doel	31
	6.2 Uitvoering	31
	6.3 Resultaten	32
	6.4 Conclusie	33
7	Effectiviteit en toediening van schimmel antagonisten in de praktijk	35
	7.1 Doel	35
	7.2 Uitvoering	35
	7.3 Resultaten	37
	7.4 Conclusie	41

8	Invloed van natuurlijke plantenhormonen	43
8.1	Inleiding	43
8.2	Directe remming van plantenhormonen	43
8.2.1	Doel	43
8.2.2	Uitvoering	43
8.2.3	Resultaten	44
8.2.4	Conclusie	46
8.3	Invloed van plantenhormonen via de plant	46
8.3.1	Doel	46
8.3.2	Uitvoering	47
8.3.3	Resultaten	49
8.3.4	Conclusie	50
9	Invloed van daglichtsom	51
9.1	Achtergrond en doel	51
9.2	Uitvoering	52
9.3	Resultaten	52
9.3.1	Gewasontwikkeling	52
9.3.2	Plantsapanalyses	53
9.3.3	<i>Fusarium</i> infectie	54
9.3.4	Sporendrukmetingen in de kaslucht	56
9.3.5	<i>Fusarium</i> in jonge vruchtbeginsels	56
9.4	Conclusie	57
10	Invloed van klimaat I: EC en worteltemperatuur	59
10.1	Achtergrond en doel	59
10.2	Uitvoering	60
10.3	Resultaten	61
10.3.1	Gewasontwikkeling	61
10.3.2	Vruchttest met kunstmatige <i>Fusarium</i> infectie	62
10.3.3	Sapstroom metingen	63
10.4	Relatie met Het Nieuwe Telen	65
10.5	Conclusie	66
11	Invloed van klimaat II: schermen	67
11.1	Doel	67
11.2	Uitvoering	67
11.3	Resultaten	68
11.4	Conclusie	70
12	Praktijkonderzoek 2018	71
12.1	Doel	71
12.2	Uitvoering	71
12.3	Resultaten	74

13	Discussie	85
	13.1 Beheersing gaat belangrijke stappen vooruit	85
	13.2 Epidemiologie	86
	13.3 Beheersing met biologische bestrijding	86
	13.4 Beheersing van jasmonzuur/ethyleen productie	87
	13.5 Klimaatsturing	88
	13.6 Voedingsanalyses als indicatie	89
	13.7 <i>Fusarium</i> detectie	89
	13.8 Witte vlekken	90
14	Aanbevelingen	93
	Literatuur	95
	Bijlage 1 Doelstelling inwendig vruchtrot project ADAS	97
	Bijlage 2 Poster GewasgezondheidsEvent 2015	99
	Bijlage 3 Poster GewasgezondheidsEvent 2016	101
	Bijlage 4 EC kasproef gewasontwikkeling	103
	Bijlage 5 Monitoring op ziektegevoeligheid voor <i>Fusarium lactis</i> in de Venlow Energykas	105
	Bijlage 6 Screening effectiviteit van antagonisten in steenwolmat/pot (competitie)	111
	Bijlage 7 Vragenlijst praktijkbedrijven 2017	115

Samenvatting

In 2015 is dit vierjarige TKI project gestart met als doel om een duurzame systeemaanpak te ontwikkelen voor vruchtrotproblemen in de glasgroenteteelt gebaseerd op plantweerbaarheid en Integrated Pest Management (IPM) waarbij de inzet van curatieve middelen zoveel mogelijk wordt verlaagd door meer te focussen op versterking van de gewaskwaliteit. Dit project is tot stand gekomen door bijdragen van Topsector Tuinbouw & Uitgangsmaterialen, Dutch Produce Association, Productschap Tuinbouw, Biobest Group N.V. en Horti Nova B.V. Als penvoerders zijn GroentenFruitHuis (namens DPA) en LTO Glaskracht Nederland opgetreden. Wageningen UR Glastuinbouw was verantwoordelijk voor de uitvoering van de proeven en het contact met buitenlandse praktijkonderzoekers (UK, België). In dit rapport zijn de resultaten van de eerste drie projectjaren beschreven. Sinds 2000 nemen de problemen door inwendig vruchtrot in vruchtgroenten toe en inmiddels wordt het als één van de belangrijkste oorzaken voor uitval in beschouwd. Binnen dit project is als modelsysteem gekozen voor inwendig vruchtrot in paprika die veroorzaakt wordt door *Fusarium* soorten en met name door *Lactis*. De bevindingen zijn echter even relevant voor bloeminfecties zoals deze veroorzaakt worden door *Mycosphaerella* in komkommer of in aubergine. Dit project is tevens relevant voor verschillende schakels in de keten: plantenkwekers, telers en afzetorganisaties en in het traject tot in het retailschap.

In het eerste jaar heeft het onderzoek zich gericht op het versterken van verdedigingsreacties van de plant, om te onderzoeken of een paprikaplant van nature weerbaarder is te maken tegen een *Fusarium* vruchtinfectie. Daarnaast zijn biologische alternatieven getest die de schimmelgroei rechtstreeks kunnen remmen. In het tweede en derde jaar is de interactie onderzocht met klimaatmaatregelen en zijn proeven uitgevoerd met wisselende EC en worteltemperatuur behandelingen en is de invloed getest van verschillende scherminstellingen. De resultaten van een kasproef met jonge paprikaplanten met plantenhormonen geven aan dat hogere concentraties van jasmonzuur/ethyleen in het gewas bevorderlijk kunnen zijn voor *Fusarium* vruchtrot. Mogelijk is de mate van ethyleen productie van een ras een verklaring voor de gevonden verschillen in gevoeligheid. Tegelijkertijd lijkt het raadzaam om de ethyleenproductie tijdens het teeltseizoen zoveel mogelijk te beperken (bv. verwijderen van overrijpe vruchten). Deze uitkomsten onderstrepen verder het belang van hygiënische maatregelen om gewasresten zoveel en zo snel mogelijk te verwijderen. Het onderzoek in het vierde jaar heeft zich gericht op de verdere ontwikkeling van een vroegtijdige monitoring middels de detectie van *Fusarium* in jonge vruchtbeginsels en bestudering van de overbrenging onder praktijkcondities van antagonististen.

De inzet van biologische antagonististen bleek één van de effectieve maatregelen om bloemen preventief te beschermen. Gemiddeld resulteerde dit in een verlaging van de infectiedruk in jonge vruchtbeginsels (1 week oud) met 30-60%. Het gewasbeschermingsmiddel, Serenade (bacterie, *Bacillus subtilis*) is inmiddels beschikbaar voor de groenteteelt en kan met gangbare spuitapparatuur worden ingezet. Daarnaast is tijdens dit project een tweede alternatieve antagonistist getoetst, Biobest exp.2. Deze bleek zeer effectief tegen *Lactis* in de labtesten. De werking in kasproeven op paprikaplanten toont, net als Serenade, nog teveel variatie. In het laatste jaar van het project is dit product verder geoptimaliseerd. De eerste praktijkervaring is opgedaan met het overbrengen van antagonististen middels de inzet van bestuivers. Hoewel de overdracht van de antagonististen naar de bloemen toe effectief verloopt, vergt het gewenste vlieggedrag van de bestuivers nog meer onderzoek, zodat ook bloemen langs minder favoriete vliegroutes worden bereikt. In hoeverre biologische antagonististen die toegediend worden aan het substraat kunnen bijdragen aan vermindering van de sporendruk in de steenwolpot en substraatmat is nog niet duidelijk, mede doordat de inzet van moleculaire technieken binnen dit project te beperkt mogelijk was om de groei van antagonististen en *Fusarium* goed te kunnen volgen in de tijd. Wel werd opnieuw bevestigd dat oude matten minder gevoelig waren voor nieuwe infecties dan nieuwe matten. Het is nog niet volledig duidelijk waar dat door wordt veroorzaakt. Waarschijnlijk spelen gevestigde micro-organismen in oude matten een rol in de onderdrukking van het probleem.

Over de bijdrage van klimaatmaatregelen zijn een aantal onzekerheden weggenomen. Een opvallend resultaat uit buitenlands onderzoek is dat hoge relatieve luchtvochtigheden en lange blootstellingstijden daaraan het infectieproces remmen en vertragen. Aanvullend bevestigde dit TKI onderzoek eerdere bevindingen dat meer instraling het infectieproces kan versnellen, ongeacht de kastemperatuur (van der Helm, *et al.* 2012).

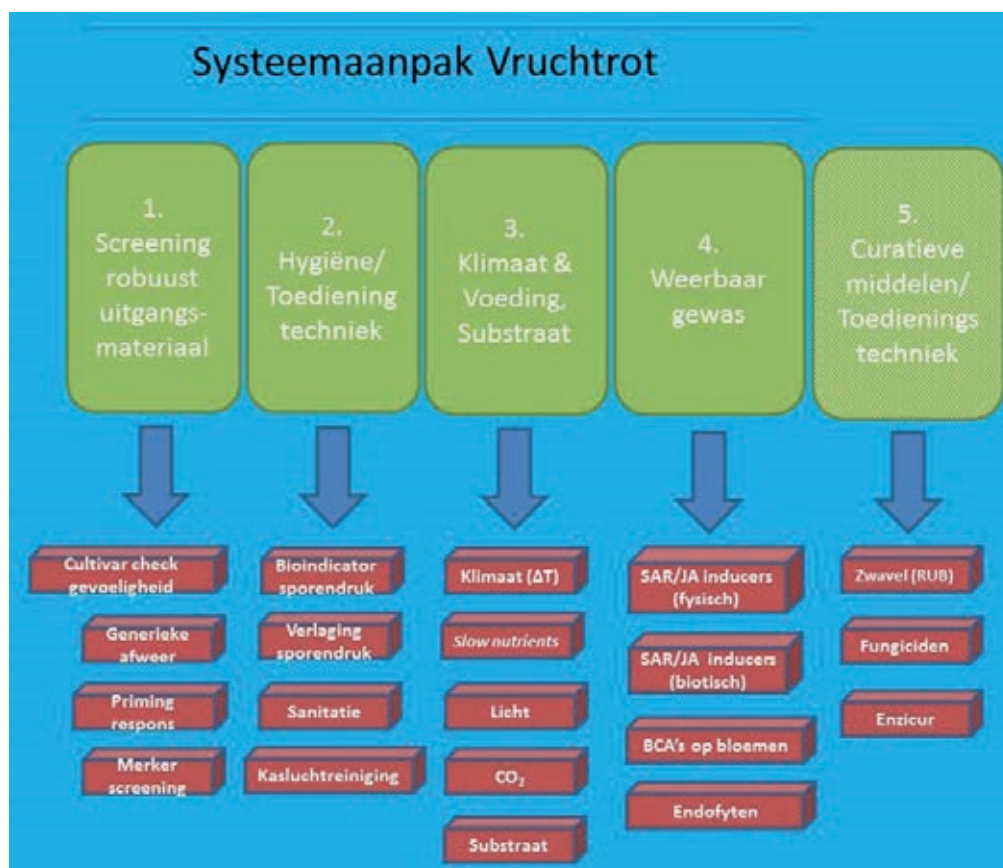
De instraling heeft een sterk effect op de samenstelling van voedingselementen in de plantsapanalyses. Een lagere gevoeligheid was gerelateerd aan hogere concentraties van calcium, zwavel, fosfaat, silicium, ijzer en koper. De inzet van verschillende schermstrategieën en het voorkomen van uitstraling naar heldere nachten lijkt vooralsnog weinig van invloed te hebben op de sapstroom. Voorlopige aanbevelingen zijn om verder te gaan met een vroegtijdige monitoring middels de detectie van *Fusarium* in jonge vruchtbeginsels. Ook het dagelijks in de gaten houden van veranderingen in het lichtniveau lijkt hiervoor zinvol en de veranderingen in voedingssamenstelling (plantsap of voedingsanalyse). Dit project bevestigt dat uitval door vruchttrot niet met één maatregel volledig te voorkomen is. De beheersing vergt een nauw samenspel van meerdere maatregelen die gestapeld dienen te worden en gelijktijdig in één teeltseizoen worden ingezet. De ontwikkelde kennis en handvaten voor systeemaanpak zijn noodzakelijk voor een gecontroleerde sturing op vruchtkwaliteit in de teelt en borging van vruchtkwaliteit in de keten.

1 Inleiding

1.1 Knelpunt vruchtkwaliteit

Het project Systeemaanpak voor gezonde vruchten in de keten is gefinancierd in het kader van de Topsector Tuinbouw & Uitgangsmaterialen. Het sluit aan bij het innovatiethema 'Meer en beter met Minder' en valt onder de Koepel PPS Het Nieuwe Doen in Plantgezondheid.

Dit project moet leiden tot ontwikkeling van een duurzame systeemaanpak voor vruchtrotproblemen in de glasgroenteteelt gebaseerd op plantweerbaarheid en Integrated Pest Management (IPM) waarbij de inzet van curatieve middelen zoveel mogelijk kan worden verlaagd door meer te focussen op versterking van de gewaskwaliteit zodat er minder bestrijding van schimmelsporen nodig zal zijn in de toekomst omdat deze minder voedingsbodem krijgen om te groeien en te verspreiden. Dit gebeurt door nieuwe kennis op te doen over de impact van klimaat, voeding en substraat op natuurlijke afweerreacties van het gewas en de ontvankelijkheid van de bloem voor infectie (Pijler 3, Figuur 1.1) en het ontwikkelen van nieuwe productkennis en procedés voor het verstevigen van natuurlijke afweerreacties voor een weerbaarder gewas (Pijler 4, Figuur 1.1). Dit omvat ook een studie naar het marktperspectief van de inzet van bestuivers die biologische antagonisten overbrengen naar de bloem ter preventie van sporenkieming. De ontwikkelde kennis en handvaten voor systeemaanpak zijn noodzakelijk voor een gecontroleerde sturing op vruchtkwaliteit in de teelt en borging van vruchtkwaliteit in de keten. Dit project is relevant voor verschillende schakels in de keten: plantenkwekers, telers en afzetorganisaties en in het traject tot in het retailchap.



Figuur 1.1 Overzicht van systeemaanpak vruchtrot met daarin vijf pijlers en de onderliggende bouwstenen.

Vruchtrot speelt een belangrijke rol in diverse gewassen: *Mycosphaerella* in komkommers, *Mucorales* in aubergine en *Fusarium lactis* in paprika. *Mycosphaerella* heeft de laatste jaren in het onderzoek veel aandacht gehad. Dit heeft geleid tot een kennisinventarisatie die in 2012 is verschenen (Hofland-Zijlstra *et al.* 2012) en een effectiviteitsscreening met (commercieel) beschikbare antagonisten (Hofland-Zijlstra *et al.* 2013).

De positieve resultaten van de testen met biologische bestrijders was de aanleiding om in december 2012 een Arenasessie te starten onder leiding van LTO Glaskracht, GreenQ en Wageningen University & Research, BU Glastuinbouw waarin Biobest (Veerle Mommaerts) en PRI (Sjef van der Steen) hun ervaringen deelden met de toepassing van bestuivers als overbrengers van antagonisten. Dit werd door de deelnemers (telers, veredelaars, adviseurs) als een perspectievolle oplossingsrichting beschouwd.

Binnen de groep van vruchtgroenten is de schade in de paprikateelt door vruchttrot het grootst. *Fusarium* binnenrot is geen nieuw probleem in de paprikateelt. Sinds het jaar 2000 neemt de problematiek geleidelijk aan steeds meer toe. De laatste maanden van de teelt in 2012 heeft dit voor de telers een omzetsderving tot gevolg gehad die in de tientallen miljoenen euro's is gelopen. Dit was dan ook de aanleiding om onder regie van DPA een projectgroep te starten waarin een consortium in het leven werd geroepen bestaande uit drie onderzoekspartijen, namelijk Groen Agro Control, DLV Plant, Wageningen University & Research, BU Glastuinbouw en LTO Groeiservice die in opdracht en onder regie van de telersverenigingen van DPA dit onderzoek hebben aangepakt. Daarnaast participeerde GreenQ Improvement Centre met een door de telersvereniging "Van Nature" ingebrachte kasproef. Tegelijkertijd werd er internationaal aansluiting gezocht en gevonden bij andere kenniscapaciteiten die aan hetzelfde probleem onderzoek doen (Praktijkonderzoek België: IWT project, partners Proefcentrum Hoogstraten (PCH), Proefstation voor de Groenteteelt (PSKW), KU Leuven Campus Geel en ILVO: 1) Beheersing van binnenrot in paprika 2010-2014 2) Multidisciplinaire controle van binnenrot (*Fusarium* spp.) in paprika 2014-2016

Tim O'Neill, ADAS, praktijkonderzoek UK; Kris Van Poucke, ILVO, Rudi Aerts, KU Leuven, PSKW en PCH). De kennisontwikkeling die binnen dit project plaatsvond concentreerde zich op verzameling van informatie uit de literatuur (v.d. Helm *et al.* 2013), basiskennis verzamelen over optimale groeicondities *Fusarium lactis* op kunstmatige voedingsbodems (constante temp, RV) en monitoring van plantsap op salicylzuur in diverse praktijkproeven (11 verschillende rassen). Daarnaast was er een praktijkmonitoring van 8 bedrijven voor de rol van klimaat- en teeltcondities op de aanwezigheid van *Fusarium* sporen in de bloem en verspreiding in de kas. Hygiëne (vruchten rapen) en een grotere bewustwording blijkt een belangrijke rol te spelen in het terugdringen van de sporendruk. Deze maatregelen worden nu ook al overgenomen. De proeven in de naoogstfase met vruchten geven duidelijk aan dat wanneer vruchten eenmaal latent geïnfecteerd zijn, deze uit kunnen groeien tot een vrucht met vruchttrot. Het voorkomen van de infectie van de bloemen via preventieve maatregelen wordt speerpunt van vervolgonderzoek beschouwd. Het lopende vervolgonderzoek van DPA in 2014 concentreerde zich met name op monitoring van praktijkbedrijven en toetsing of het nectargehalte van bloemen een betrouwbare indicator kan zijn om de mate van infectiedruk te voorspellen. Door de lagere infectiedruk dit jaar zijn hierover nog geen uitspraken te doen.

Hoewel er in 2013 en 2014 minder aantasting optrad, wordt uitval door *Fusarium* vruchttrot nog steeds als een belangrijke schadepost ondervonden en is er nog geen pakket van maatregelen beschikbaar waarmee een goede vruchtkwaliteit met zekerheid is te garanderen. Inmiddels wordt het probleem breder onderkend in de retailmarkt waardoor afkeuringen, *recalls* en zelfs afmeldingen van bestellingen plaatsvinden. Via social media komen wereldwijde consumenten klachten binnen waardoor het imago van één van de gezondste groenten sterk onder druk komt te staan. Het grootste probleem is dat het een verborgen gebrek is waardoor uitsorteren voor het verpakken maar beperkt mogelijk is en daarnaast tot behoorlijke omzetsderving leidt op het teeltbedrijf.

1.2 Doel

Dit project moet leiden tot ontwikkeling van een duurzame systeemaanpak voor vruchtrotproblemen in de glasgroenteteelt gebaseerd op plantweerbaarheid en Integrated Pest Management (IPM) waarbij de inzet van curatieve middelen zoveel mogelijk kan worden verlaagd door meer te focussen op versterking van de gewaskwaliteit zodat er minder bestrijding van schimmelsporen nodig zal zijn in de toekomst omdat deze minder voedingsbodem krijgen om te groeien en te verspreiden. Dit gebeurt door nieuwe kennis op te doen over de impact van klimaat, voeding en substraat op natuurlijke afweerreacties van het gewas en de ontvankelijkheid van de bloem voor infectie en het ontwikkelen van nieuwe productkennis en procedés voor het verstevigen van natuurlijke afweerreacties voor een weerbaarder gewas. Dit omvat ook een studie naar het marktperspectief van de inzet van bestuivers die biologische antagonisten overbrengen naar de bloem ter preventie van sporenkieming. De ontwikkelde kennis en handvaten voor systeemaanpak zijn noodzakelijk voor een gecontroleerde sturing op vruchtkwaliteit in de teelt en borging van vruchtkwaliteit in de keten. Dit project is relevant voor verschillende schakels in de keten: plantenkwekers, telers en afzetorganisaties en in het traject tot in het retailchap.

1.3 Aanpak

De activiteiten zijn in afstemming met de stuurgroep in januari 2015 opgestart, zodat de proeven volgens planning konden worden uitgevoerd. Er waren gemiddeld 4-5 bijeenkomsten met de klankbordgroep per jaar met een brede afvaardiging uit de sector. Deze werden goed bezocht. Een overzicht van de projectactiviteiten per jaar is weergegeven in Tabel 1.1. De oorspronkelijk voorziene testen met vochtdeficit en CO₂ zijn in overleg met de stuurgroep komen te vervallen. Aanvullend is een uitgebreide laboratorium test met antagonisten ingezet waarbij *Fusarium* in verschillende dichtheden is getoetst.

Tijdens dit project is actief contact onderhouden met Belgische en Engelse praktijkonderzoekers om tot een optimale kennisuitwisseling te komen (Bijlage 1). In beide landen liepen eveneens in de periode van 2015 tot 2017 projecten op het thema van *Fusarium* vruchtrot beheersing. De uitwisseling bestond uit twee bezoeken van ADAS aan Bleiswijk. Senior plantenziektekundige, Tim O'Neill bezocht WUR Glastuinbouw Bleiswijk in 2015 en junior onderzoeker plantenziektekunde, Sarah Mayne gaf in oktober 2016 een presentatie tijdens een stuurgroep bijeenkomst (in 2017 opgevolgd door Dave Kaye). In april 2016 heeft WUR namens het project een bezoek gebracht aan ADAS en drie paprikabedrijven bezocht. De hele projectgroep heeft in het voorjaar van 2015 een bezoek gebracht aan het ILVO in Meerle waar onderzoekers van het ILVO en Katholieke Universiteit Leuven hun onderzoeksresultaten toelichtten. Eind september 2017 heeft Rudi Aerts, docent bij KU Leuven een presentatie gegeven over de resultaten van hun onderzoek. De verschillende artikelen die in Proeftuinnieuws of als Factsheets verschenen, zijn actief onder de aandacht gebracht van de klankbordgroep en werden gebruikt om nieuwe projectplannen op af te stemmen en overlap van activiteiten te voorkomen.

Tabel 1.1

Overzicht van projectactiviteiten per jaar.

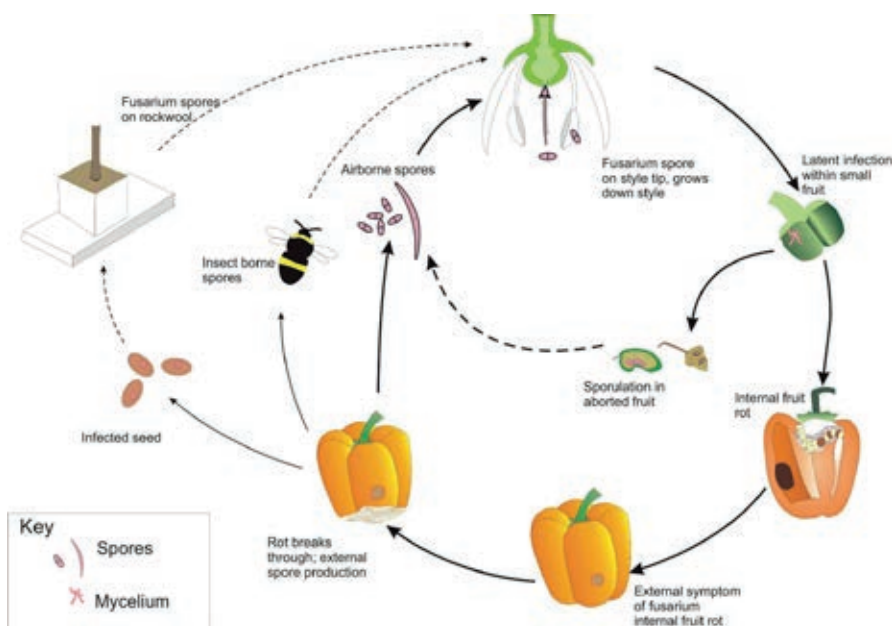
Projectjaar	
Jaar 1, 2015	<ul style="list-style-type: none">• Laboratoriumproeven om de effectiviteit te bepalen van commercieel beschikbare antagonisten tegen <i>Fusarium lactis</i> bij verschillende dichtheden van sporen- en antagonistendruk.• Laboratoriumtesten met plantenhormonen om de werking te testen tegen <i>F. lactis</i>.• Effectiviteit van geïnduceerde resistentie op het verhogen van de weerstand van de plant tegen een bloeminfectie met <i>F. lactis</i> in een kasproef met jonge paprikaplanten.• Kasproef met jonge paprikaplanten om het effect van instraling (daglichtsom) te bepalen op de ontwikkeling van vruchtrot bij 4 en 8 mmol/dag.• Kennisuitwisseling met Belgische en Engelse praktijkonderzoekers.
Jaar 2, 2016	<ul style="list-style-type: none">• Effectiviteit van antagonisten die aan het substraat worden toegevoegd ter voorkoming van <i>Fusarium</i> ontwikkeling in de pot en steenwolmat.• Invloed van EC en worteltemperatuur op de vruchtkwaliteit en op de gevoeligheid voor vruchtrot.• Toetsing van sapstroommeters als hulpmiddel voor proeven met waterbalans.
Jaar 3, 2017	<ul style="list-style-type: none">• Effectiviteit van antagonisten in een kasproef met jonge paprikaplanten.• Toetsing van effectiviteit van antagonist Biobest exp.2 en het Flying doctors systeem (Biobest) op praktijkschaal op vermindering van vruchtrot.• Kasproef gedurende een hele paprikateelt waarin verschillende schermstrategieën zijn getoetst op de ontwikkeling van vruchtrot.
Jaar 4, 2018	<ul style="list-style-type: none">• Effectiviteit van vier commerciële producten gebaseerd o.a. op antagonistische micro-organismen werd getoetst onder praktijkomstandigheden bij vier paprikabedrijven.• Verkenning van inzetbaarheid van sneltoets op basis van DNA voor het opsporen van <i>Fusarium lactis</i>.

Communicatie

Tijdens de PlantgezondheidsEvents die georganiseerd werden door LTO Glaskracht Nederland en WUR Glastuinbouw zijn in 2015 en 2016 posters toegelicht voor Nederlandse tuinders, adviseurs en toeleveranciers over het vruchtrot onderzoek (Bijlage 2 en 3). Aanvullend zijn elk jaar in het najaar nieuwsbrieven verschenen met de voortgang van de resultaten en verspreidt binnen LTO Glaskracht Nederland leden en aanvullend aan afzonderlijke telersverenigingen toegestuurd.

2 *Fusarium lactis*, veroorzaker van vruchtrot in paprika

Inwendige vruchtrot in paprika werd voor het eerst beschreven in 2000 door Canadese onderzoekers, maar is sindsdien in alle belangrijke productielanden aangetroffen en verantwoordelijk voor perioden met hoge uitvalpercentages (5-30%). De symptomen worden in paprika vooral veroorzaakt door nieuwe soorten die behoren tot het *Fusarium lactis* complex, FLASC (Yang *et al.* 2009), maar ook meer bekende *Fusarium* soorten kunnen vruchtinfecties veroorzaken zoals *F. proliferatum*, *F. solani* en *F. oxysporum* (Van Poucke *et al.* 2012). De belangrijkste infectieroute lijkt te verlopen via de bloemen (Yang *et al.* 2010), zie Figuur 2.1. Sporen die landen op de bloem zijn in staat om binnen 1 dag te kiemen op de stempel of meeldraden en binnen 5-6 dagen door te groeien via de stijl naar het vruchtbeginsel. In aangetaste vruchten wordt ook in symptoomloze zaden *Fusarium* schimmelgroei aangetroffen, zodat volgens Canadese en Engelse onderzoekers één van de infectieroutes ook via het zaad zou kunnen verlopen (Yang *et al.* 2010). In de praktijk lijkt dit echter een zeer kleine rol te spelen. Hoewel rasgevoeligheid een rol lijkt te spelen, zijn vruchtrot infecties niet te herleiden tot de herkomst van een zaadpartij. Uitval bij telers met eenzelfde ras kan namelijk sterk variëren. vandaar dat deze met een stippellijn in de Figuur is aangegeven. Eénmaal in het vruchtbeginsel is er geen remedie meer mogelijk en kan de schimmel zonder invloed van buitenaf zich verder ontwikkelen. Tegelijkertijd is het zo dat niet alle *Fusarium* infecties die zich in jonge vruchtbeginsels ontwikkelen, blijven doorgroeien tot de vruchten in het oogstbare stadium zijn (O'Neill *et al.* 2014).



Figuur 2.1 Levenscyclus *F. lactis*, de veroorzaker van vruchtrot in paprika (Bron: HDC, Tim O'Neill & Sarah Mayne 2015).

Over de klimaatcondities die het optreden van vruchtrotaantasting bevorderen is nog weinig zekerheid (Frans *et al.* 2017). In de levenscyclus zijn er verschillende momenten van kieming, infectie en sporulatie waar het klimaat een verschillende invloed op kan hebben (van der Helm *et al.* 2012). Bij het moment van kieming lijkt het vocht dat in de bloem of meeldraad zelf al aanwezig is voldoende te zijn om de sporen de laten kiemen. Aanvullend vocht uit het microklimaat lijkt geen randvoorwaarde voor kieming. Zodra de spore binnen 2-5 dagen het vruchtbeginsel is ingegroeid dan is de groei niet meer afhankelijk van vocht uit het kasklimaat, omdat de vrucht zelf al voldoende vocht en voedingsstoffen geeft. In enkele gevallen leidt infectie tot vroegtijdige abortie van de vrucht. Maar bij de kunstmatige infectieproeven is er geen duidelijk verband gevonden tussen bloemen die geïnfecteerd worden en de mate van abortie.

3 Effectiviteit van antagonisten in het lab

3.1 Achtergrond en doel

Doel was om de effectiviteit van beschikbare antagonisten te testen in het remmen van de sporenkieming en kolonieontwikkeling van *Fusarium lactis* onder optimale omstandigheden. Daarnaast is er getest wat de invloed is van de sporendichtheid van *Fusarium* op het competitieve vermogen.

3.2 Uitvoering

De labproef is ingezet en uitgevoerd in week 25 en 26 (2015). Overzicht van de behandelingen met antagonisten zoals deze aangeleverd zijn door Biobest (6 platen per behandeling):

1. Controle (onbehandeld, zonder water).
2. Controle (waterbehandeling).
3. Prestop (10^3 kve/ml).
4. Trianum (10^3 kve/ml).
5. Serenade (10^3 kve/ml).
6. Biobest exp.1.
7. Biobest exp.2.
8. Biobest exp.3.

Bij elke antagonistenbehandeling zijn er vijf verschillende *Fusarium* concentraties getest. Hierbij werd als referentie genomen de gemiddelde hoeveelheid sporen die op een bloem werden aangetroffen in de praktijkmonitoring door Groen Agro Control. Hiervoor werden vijf concentraties van sporensuspensies getest door twee druppels per petrischaal te plaatsen: 0, 10, 100, 1.000, 10.000 sporen /druppel (dit komt overeen met resp. 0, $2 \cdot 10^2$, $2 \cdot 10^3$, $2 \cdot 10^4$, $2 \cdot 10^5$ sporen/ml).

De eerste proef met antagonisten is uitgevoerd op een medium met Potato Dextrose Agar (PDA) zonder toevoeging van antibiotica. De antagonisten zijn verdund in steriel water tot de gewenste concentratie en 24 uur van tevoren op de voedingsplaten aangebracht via een spuitbehandeling (250 μ l/plaat), zodat de hele plaat volledig bedekt is met kolonie vormende eenheden. Daarna is bij elke antagonistenbehandeling de *Fusarium* aangebracht in vijf concentraties door één druppel van 50 μ l in het midden van de schaal te plaatsen. Platen zijn weggezet bij 22 °C in een broedstoof en na 3 en 6 dagen beoordeeld door de radiale groei van de *Fusarium* kolonies te scoren (mm).

Doordat het product Biobest exp.3 niet goed groeide op een voedingsmedium van PDA is deze nogmaals ingezet in een test met Nutrient Agar (NA). Daarbij is ook alleen getoetst op de hogere sporencentraties van *F. lactis* met 1.000 en 10.000 sporen/druppel.

3.3 Resultaten

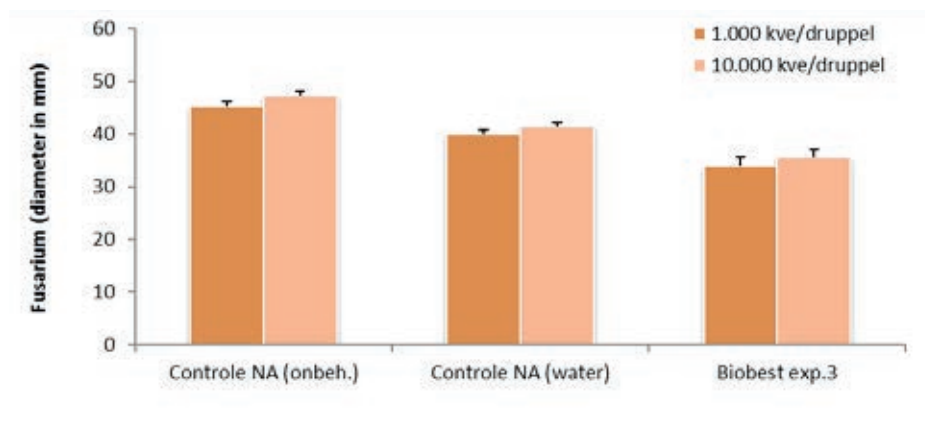
In Tabel 3.1 en Figuur 3.1 en 3.2 zijn de resultaten weergegeven van de antagonistenproef met *F. lactis*. Serenade (Bayer) en Biobest exp.2 kwamen als beste antagonisten naar voren die ongeacht de sporendichtheid van *Fusarium* een goede remming gaven. Daarnaast zagen we dat ook bekende commerciële producten met antagonistische schimmels, zoals Prestop en Trianum een remmende werking hebben op *Fusarium* sporen als deze vooraf worden toegediend. Hierbij is er wel duidelijk sprake van een effect van de sporendichtheid. Echter, bij de gemiddelde sporendichtheid in de praktijk van 100 sporen per bloem lijkt het in principe mogelijk om *F. lactis* nog voldoende te remmen. Verder zien we dat het product Trianum sterker de *Fusarium* groei lijkt te remmen dan Prestop. Het nieuwe experimentele product, Biobest exp.3 geeft hooguit 15% remming van de *Fusarium* groei (Figuur 3.1). Er is geen significant verschil ten opzichte van de controleplaten die met water bespoten zijn.

In de controle waarin alleen met water werd gespoten, werd een onbekende bacterie aangetroffen die niet overeenkwam met één van de toetspathogenen. In de tweede test was het gelukt om de test uit te voeren met een schone watercontrole. De onbekende bacterie is in reincultuur gebracht en geïdentificeerd (voorlopige codenaam: WURGlas exp.1).

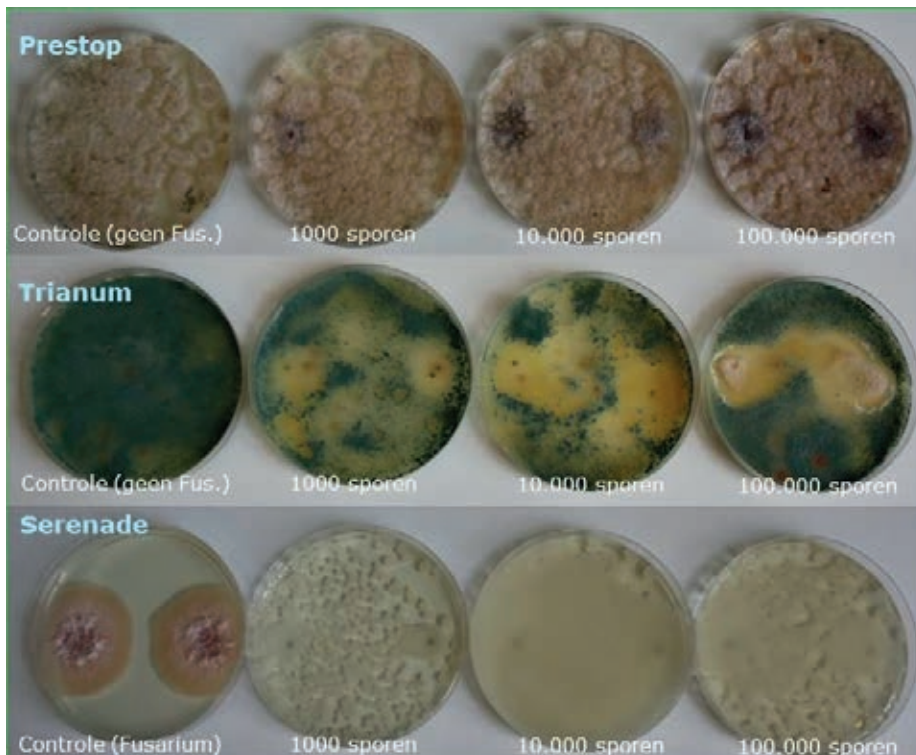
Tabel 3.1

Effectiviteit van antagonisten tegen *F. lactis* bij verschillende sporenconcentraties in de eerste test. Per behandeling is het gemiddelde aantal *Fusarium* kolonies per druppel weergegeven. Bij de watercontrole was bij de lage *Fusarium* concentratie een onbekende antagonist aanwezig.

Antagonist \ Fusarium sporen per plaat	0	10	100	1.000	10.000
Controle onbehandeld	0	1	8	164	>300
Controle water (* met onbekende antagonist)	*	*	4	187	>300
Prestop (Gliocladium)	0	0	0	22	>300
Trianum (Trichoderma)	0	0	0	0	>300
Serenade	0	0	0	0	0
Biobest exp.1	0	0	0	47	>300
Biobest exp.2	0	0	0	0	0

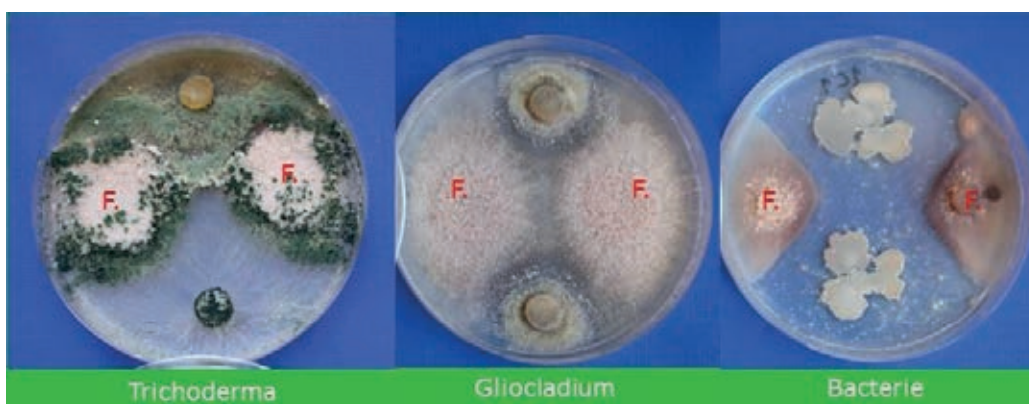


Figuur 3.1 Effectiviteit van Biobest exp.3 tegen *F. lactis* op nutrient agar bij verschillende sporenconcentraties in de tweede test. Hierbij is de diameter van de kolonies gemeten.



Figuur 3.2 Foto's van de verschillende behandelingen met antagonisten en *Fusarium* (sporen per aangebrachte druppel) in de tweede test. Links en rechts op de voedingsplaten zijn druppels van *Fusarium* aangebracht nadat de platen een dag eerder waren behandeld met een antagonist. Linksonder is een controleplaat te zien met alleen *Fusarium* zonder toevoeging van een antagonist.

Om de test zoveel mogelijk overeenkomstig de infectiecyclus in de kas uit te voeren is er bewust voor gekozen om met sporen te werken als infectiebron. In de meeste testen onder labcondities is het meestal gebruikelijker om met een jong myceliumplugje te werken en de schimmel en antagonist tegenover elkaar te plaatsen, via de zg. dual plate techniek. Dit laat duidelijk bepaalde zones van groeiremming zien of parasitering door antagonistische schimmels. Van het materiaal dat overbleef uit de testen met de sporen is daarom op beperkte schaal eveneens materiaal doorgezet om op vergelijkbare wijze te testen (Figuur 3.3). Hierbij is nog beter te zien dat *Trichoderma* soorten effectiever *Fusarium* groei remmen dan *Gliocladium* soorten. Daarnaast zien we een effectieve remming optreden wanneer de onbekende bacterie, WURGlas exp.1 op de plaat wordt gezet door de afscheiding van antibiotische stoffen.



Figuur 3.3 Overzicht van voedingsplaten waarin plugjes met schimmelmycelium van de antagonisten en *F. lactis* tegenover elkaar zijn gezet. Links en rechts op de plaat zijn de *Fusarium* kolonies te zien. Boven en onder zijn de pluggen te zien met de antagonisten op basis van *Trichoderma*, *Gliocladium* of een bacterie (WURGlas exp.1). Bij de bacterie zijn duidelijke zones met groeiremming te zien door de afscheiding van antibiotische stoffen.

3.4 Conclusie

- Bij normale sporendichtheden van 100 sporen per bloem zoals deze gemiddeld in de praktijk zijn waargenomen tijdens de praktijkmonitoring geven de commerciële beschikbare producten zoals Prestop en Trianum bij een preventieve behandeling een remming van de *Fusarium* groei ten opzichte van de onbehandelde controles waar *Fusarium* ongestoord kan doorgroeien. Bij hogere sporendichtheden (> 1000 sporen/bloem) werken deze producten echter onvoldoende. Schimmels die o.a. werken op basis van competitie om plek en voedsel lijken hiermee beperkt inzetbaar tegen *F. lactis*, maar toepassing ervan is nog altijd beter dan helemaal geen behandeling uitvoeren. Onder deze testcondities heeft het product Trianum een sterkere werking tegen *Fusarium* dan Prestop.
- Serenade (Bayer) en Biobest exp.2 kwamen als beste antagonisten naar voren die ongeacht de sporendichtheid van *Fusarium* altijd een goede remming gaven. De resultaten in deze test komen goed overeen met eerder verkregen resultaten bij Wageningen UR Glastuinbouw waarbij bloemen op jonge plantendelen kunstmatig werden besmet. Bij preventieve behandeling van de bloemen, trad er 50% minder doorgroei op richting de vruchtbeginsels waardoor de kans op latente vruchtinfecties wordt verkleind (Verbetering inwendige vruchtkwaliteit paprika, DPA Rapport, 2015).
- Biobest exp. 2 lijkt een nieuw veelbelovend product met een goede potentie als bestrijder van *F. lactis*. In deze test is bij toeval een nieuwe bacteriestam (WURGlas exp.1) ontdekt met eveneens een potentie om de groei van *F. lactis* sporen te remmen.

4 Effectiviteit van antagonisten via de bloem

4.1 Doel

Doel van deze proef is om de effectiviteit van antagonisten te testen tegen *Fusarium* vruchtrot als deze via een preventieve behandeling direct worden gedoseerd op de bloem.

4.2 Uitvoering

De proef is uitgevoerd in een aircokas met gecontroleerde klimaatregeling (24 m²) in de periode van januari tot april 2017. Deze kas bevat drie eb- en vloedtafels. Per tafel zijn er vier blokken ingezet met ieder 6 jonge paprika planten van zes weken oud (cultivar Maranello). De behandelingen zijn random verdeeld over de blokken (zie Figuur 4.1).

			Biobest exp 1. Op bloem					
			Biobest exp.4. op bloem					
			Greenstim (Biobest). Op blad, steel en bloem					
			Serenade: Bacillus subtilis (Bayer) + Silwet Gold. Op bloem					
1	3	5	25	27	29	49	51	53
2	4	6	26	28	30	50	52	54
7	9	11	31	33	35	55	57	59
8	10	12	32	34	36	56	58	60
13	15	17	37	39	41	61	63	65
14	16	18	38	40	42	62	64	66
19	21	23	43	45	47	67	69	71
20	22	24	44	46	48	68	70	72
Tafel 1			Tafel 2			Tafel 3		

Figuur 4.1 Overzicht van de kasplattegrond en indeling van de behandelingen.

De behandelingen zijn uitgevoerd bij de tweede zetting omdat er dan meer bloemen gezet worden dan bij de eerste zetting. Als behandelingen is gekozen voor de drie antagonisten die ook al effectief werkten in de labscreening tegen *F. lactis* en een plantversterkend product (Greenstim), naast behandelingen met een besmette en onbesmette controle. Over de werkzame stof van Greenstim (glycine betaïne) is literatuur beschikbaar. De paprika plant is in staat om glycine betaïne op te nemen. Dit zou bevorderend werken (ca. 15%) voor de fotosynthese, wateropname en opbrengst in condities met zoutstress. De werking zou het meest effectief zijn bij herhaaldelijke toediening (pers.comm. Ahmet Korkmaz, KS University, Turkije). Per behandeling zijn 18 planten beschikbaar (6 planten per tafel). Voor een overzicht van de behandelingen zie Tabel 4.1.

Tabel 4.1

Overzicht van de behandelingen met antagonisten en Greenstim in de kasproef met jonge paprikaplanten.

Behandeling	Werkzame stof	Concentratie
Controle (onbesmet)	geen behandeling	
Controle (besmet)	geen behandeling	
Biobest exp.1		1·10 ⁶ kve/ml ;
Biobest exp.4		1·10 ⁶ kve/ml ;
Serenade (Bayer) ¹ + Silwet Gold	bacterie antagonist, Bacillus subtilis stam QST 713	1·10 ³ kve/ml + Silwet Gold (0.02%)
Greenstim (Biobest) ²	osmo-regulator glycine betaïne.	2g/L

1 Toegelaten als gewasbeschermingsmiddel tegen schimmels en bacteriën via een gewasbehandeling in oa. vruchtgroenten van Solanaceae (paprika).

2 Toegelaten als meststof.

Kunstmatige infectie van de bloemen met *Fusarium* is op twee verschillende tijdstippen uitgevoerd. De antagonisten zijn 24 uur voorafgaand aan infectie toegediend om de preventieve werking te toetsen. Daarbij zijn de antagonisten zowel op gesloten als op open bloemetjes aangebracht. In elk blok zijn 40 gemerkte bloemetjes bespoten, zodat hiervan gericht de jonge vruchtbeginsel na 7 dagen konden worden verzameld. De bloemen van de controlebehandelingen werden niet bespoten, ook niet met water, en werden geplukt voordat *Fusarium* besmetting werd aangebracht. Vlak na de bespuitingen, en voordat *Fusarium* werd toegediend, zijn vijf bloemen van de behandelingen met de Biobest producten verzameld en door Biobest gecontroleerd op de bezettingsgraad van de antagonisten. Eén dag na de behandelingen met antagonisten werden de gemerkte bloemen rechtstreeks bespoten met een sporensuspensie van *F. lactis* (1·10⁴ sporen/ml; 2 pufjes per bloem). Onder gunstige condities is *F. lactis* in staat om binnen 2-5 dagen door te groeien vanuit de bloem naar het vruchtbeginsel. Daarom is de *Fusarium* uitgroei in de jonge vruchtbeginsels na een doorgroei periode van 7 dagen na infectie bepaald. Daarnaast zijn afgevallen vruchtjes in de periode van 7-14 dagen verzameld en uitgeplaat. Jonge vruchtbeginsels die nog aan de plant hangen (ca. 5-10 mm) of zijn afgevallen worden verzameld, na een ontsmetting uitgelegd op een specifiek *Fusarium* voedingsmedium (Komada) en gedurende een aantal dagen beoordeeld op uitgroei van *Fusarium*. Daarnaast zijn gemerkte bloemen die gedurende deze periode van de bloemsteel af waren gevallen eveneens verzameld en uitgeplaat.



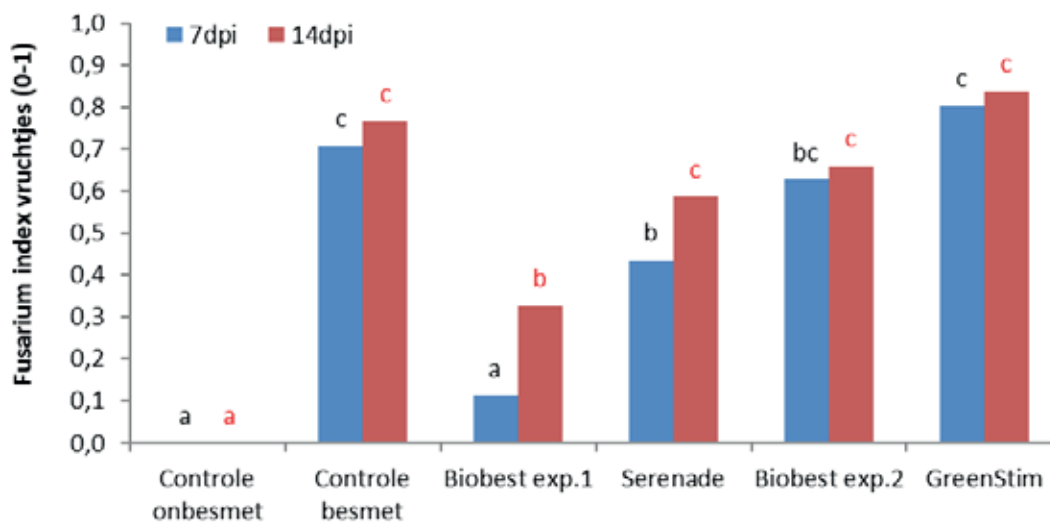
Figuur 4.2 Foto links: Opstelling van de jonge paprikaplanten in de aircokas op eb-en vloedtafels. Langs de stalen constructie zijn groeidraden gespannen om de planten te beschermen tegen omvallen. Foto midden: Net geopende jonge paprikabloem gereed voor een behandeling met antagonist. Foto rechts: jonge vruchtbeginsels met uitgroei van *Fusarium* schimmeldraden.

Na 3,5 maand, op het moment dat behandelde bloemen waren uitgegroeid tot rijpe rode vrucht, zijn ze verzameld en beoordeeld op vruchtrot symptomen. Hierbij zijn vruchten doorgesneden en direct beoordeeld op de aanwezigheid van verkleuring van de zaden op de zaadlijst (index 0-3) en zichtbare schimmelgroei (0-3).

4.3 Resultaten

Bij de beoordeling van de jonge vruchtbeginsels op *Fusarium* uitgroei zijn er duidelijke verschillen tussen de behandelingen aanwezig in vergelijking met de besmette controle (Figuur 4.3). Na één behandeling geeft Biobest exp.1 met 85% de sterkste vermindering van *Fusarium* uitgroei en Serenade geeft 40% vermindering. Bij de beoordeling van de uitgroei op de platen was bij Biobest exp.1 goed te zien dat de antagonistische schimmel *Fusarium* verdringt. *Fusarium* is nog wel aanwezig, maar krijgt veel minder de kans om door te groeien in het vruchtbeginsel, omdat de antagonist daar nu groeit. Bij de tweede beoordeling van vruchtjes die in de periode van 7-14 dagen na infectie zijn verzameld is te zien dat de *Fusarium* uitgroei weer toeneemt en de nawerking van een behandeling met een antagonist afneemt. Herhaaldelijke inzet van de antagonisten is kennelijk nodig om een goede verdringing van *Fusarium* te houden.

De antagonist, Biobest exp.2 geeft bij de eerste waarneming een lichte remming van *Fusarium* uitgroei. Bij de tweede waarneming is er geen verschil meer met de besmette controle. De behandeling met Greenstim laat geen effect zien op het verminderen van *Fusarium*.



Figuur 4.3 Gemiddelde *Fusarium* uitgroei in jonge vruchtbeginsels van paprika (index 0-1) na een kunstmatige infectie met *Fusarium* en voorafgegaan door een preventieve bespuiting van de bloem met een antagonist of Greenstim. Verschillende letters op de kolom geven significante verschillen weer tussen behandelingen in ronde 1 of 2.

Aan het einde van de proefperiode zijn rijpe vruchten verzameld die allemaal egaal rood doorgekleurd waren. Deze vruchten zijn beoordeeld op inwendig vruchtrot nadat ze waren doorgesneden. De resultaten staan vermeld in Tabel 4.2. Wat allereerst opvalt is dat de resultaten van de rijpe vruchten vrij goed overeenkomen met de uitslag van de jonge vruchtbeginsels. De jonge vruchtbeginsels die de meeste uitgroei van *Fusarium* toonden, zijn nu ook hoog beoordeeld op de aanwezigheid van schimmelgroei aan de binnenkant van de vrucht. De vruchten die geoogst waren van planten die behandeld waren met Biobest exp. 1 en Serenade geven 1% vruchtrot en blijven daarmee goed onder de norm van 2%. Vruchten die geoogst zijn van planten met een Greenstim behandeling blijven er net onder. Terwijl de behandeling met Biobest exp.2 het laagste scoort met 2,9% vruchtrot en daarmee boven de norm uitkomt.

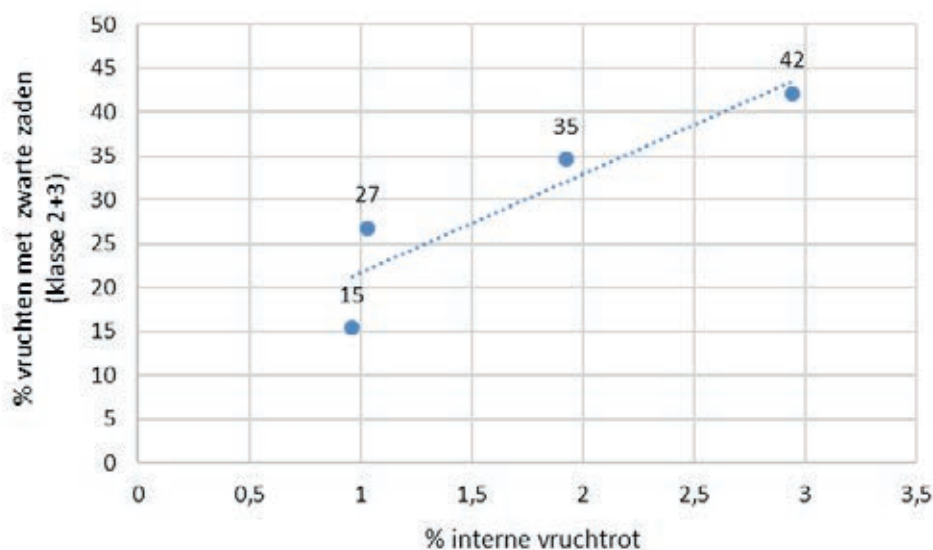
Tabel 4.2

Overzicht van de rijpe vruchten na beoordeling op inwendig vruchtrot.

Behandeling	aantal beoordeelde vruchten	aantal vruchten met zichtbare schimmeligroei aan de binnenkant	% vruchtrot	hoger dan norm (boeteregeling); max. 2%
Greenstim	104	2	1,9	
Biobest exp.1	104	1	1,0	
Biobest exp.2	102	3	2,9	*
Serenade	97	1	1,0	

Bij het beoordelen van de vruchten is er ook gelet op de verkleuring van de zaden. Keurmeesters die dozen paprikavruchten beoordelen (50 stuks/doos) nemen de zaadkleur in de huidige beoordelingssystematiek niet mee, omdat er eerder geen duidelijk verband lijkt te zijn met de aanwezigheid van vruchtrot en eveneens veroorzaakt kan worden door andere oorzaken. Gezonde zaden zijn doorgaans kraakhelder wit.

In de vruchten die in deze test zijn beoordeeld, in condities na een kunstmatige infectie, vonden we een sterke, positieve correlatie (correlatie coëfficiënt, $R > 0.91$) tussen het percentage vruchten met de meeste zwartkleuring van de zaden en het percentage intern vruchtrot (zichtbaar schimmelpuis), zie Figuur 4.4. De mate waarin bruin zaad wordt gevonden, toont in dit geval wel een positieve relatie met % inwendig vruchtrot. Dit geeft aanleiding om bruin zaad eveneens als indicator mee te nemen en sterke procentuele veranderingen hiervan in de gaten houden. Bijvoorbeeld in het geval dat meer dan 30% van de beoordeelde vruchten een hoge mate van verkleurd zaad op de zaadlijsten toont.



Figuur 4.4 Positieve correlatie tussen % vruchten met zwarte zaden en % intern vruchtrot (zichtbaar schimmelpuis).

4.4 Conclusie

- Met een preventieve behandeling van paprikabloemen met antagonisten, zoals Serenade en Biobest exp.1 is uitgroei van *Fusarium* in jonge vruchtbeginsels met respectievelijk 40 en 85% te remmen. Een éénmalige behandeling heeft slechts een korte werking, herhaling van de behandeling is noodzakelijk om *Fusarium* te blijven remmen.

- Jonge vruchten die behandeld zijn met een antagonistisch product, tonen ook minder symptoomvorming van *Fusarium* in de rijpe vruchten. Dit kan het verschil zijn of partijen wel of niet onder de norm blijven en in aanmerking komen voor de boeteregeling.
- Ontwikkeling van *Fusarium* uitgroei in jonge vruchtbeginsels van paprika komt goed overeen met de ontwikkeling van inwendige symptomen in rijpe vruchten. Daarmee lijken jonge vruchtbeginsels geschikt als vroege indicator voor de ontwikkeling van *Fusarium* in rijpe vruchten.
- Bruin zaad toont in een test met kunstmatige infectie een positieve relatie met % inwendig vruchtrot in paprika. Dit geeft aanleiding om te heroverwegen om de mate waarin vruchten bruingekleurde zaden tonen eveneens als indicator zijn te beschouwen voor het risico op het optreden van inwendig vruchtrot.

5 Effectiviteit van antagonististen via het substraat

5.1 Inleiding en doel

Fusarium sporen kunnen talrijk voorkomen in steenwolpotten en van daaruit nieuwe infecties veroorzaken. De vraag is in hoeverre antagonististen in de pot kunnen bijdragen aan het verminderen van de sporendruk in de kas.

Doel van deze proef is om de effectieve werking te testen van antagonististen op de remming van *Fusarium* ontwikkeling in de steenwol pot en mat. Hierbij is het belangrijk dat antagonististen de kans krijgen om zich te vestigen voordat de *Fusarium* sporen worden toegediend.

Deelvragen:

- Is er *Fusarium* terug te meten in potten en matten waar een vruchtinfectie zichtbaar was en welke meetmethode is daarvoor geschikt?
- Is deze natuurlijke infectie druk te beperken met antagonististen als deze worden toegediend via het substraat (zowel preventief en curatief).

5.2 Uitvoering

De substraatproef is uitgevoerd in een aircokas van 24 m² met een jong paprikagewas (3 eb-en vloedtafels) van januari tot en met maart in 2016. Zowel nieuwe als oude matten met daarop jonge paprikaplanten van zes weken oud (cultivar Maranello) werden geïnoculeerd met antagonististen. Een gedeelte is daarna besmet met *Fusarium*. Voor een overzicht van de behandelingen zie Tabel 5.1.

Tabel 5.1

Overzicht van de behandelingen met de herkomst van de matten, *Fusarium* inoculatie en antagonististen.

Behandelingsnr.	Herkomst mat	<i>Fusarium</i> inoculatie	Behandeling met antagonist	Concentratie antagonist	KVE/ml
1	gebruikt	-	onbehandeld	-	
2	gebruikt	-	Serenade	2.86ml/L	2.86*10 ⁶
3	gebruikt	-	Biobest exp.2	0.1g/L	1.0*10 ⁵
4	gebruikt	+	onbehandeld	-	
5	gebruikt	+	Serenade	2.86ml/L	2.86*10 ⁶
6	gebruikt	+	Biobest exp.2	0.1g/L	1.0*10 ⁵
7	nieuw	+	onbehandeld	-	
8	nieuw	+	Serenade	2.86ml/L	2.86*10 ⁶
9	nieuw	+	Biobest exp.2	0.1g/L	1.0*10 ⁵

Bij de nieuwe matten was de werking vast te stellen van een schone Ausgangssituatie zonder infectiedruk. In gebruikte (oude) matten is te onderzoeken wat het effect is van een natuurlijke infectiedruk met *Fusarium* sporen. De oude matten zijn in dit geval afkomstig uit de lichtproef (zie Hoofdstuk 9) die in de winter van 2015 was afgerond en waarin een hoge infectiedruk aanwezig was met besmette vruchten. Hierdoor zijn deze matten vergelijkbaar met matten die in het seizoen bij tuinders aanwezig zijn en waar eveneens al een zekere mate van sporendruk in aanwezig is. Vanwege de onzekerheid over de hoogte van de sporendruk in de oude matten is voor de zekerheid alsnog een infectie met *Fusarium* aangebracht nadat de antagonistbehandelingen zijn toegediend. Zodat in alle potten in ieder geval een gelijke hoeveelheid sporendruk aanwezig is en er slechts een gering aantal potten bemonsterd hoeft te worden om effecten aan te tonen. De behandelingen met antagonisten zijn ('curatief') toegediend in oude gebruikte matten van de lichtproef (zowel uit de lage en hoge lichtintensiteit zijn uit elke kas 6 potten overgenomen) en aan schone, nieuwe matten ('preventief'). Per behandeling zijn 12 steenwol potten ingezet. Voor een overzicht van de kasindeling zie Figuur 5.1.

kas indeling kas 1.10		nr	mat	F ₁	antagonist
Screening effect van antagonisten in steenwolpot en mat maart/april 2016					
Uitvoerenden: Jantineke Hoffland, Suzanne Breeuwisma, Fred van Leeuwen					
per behandeling zijn er 12 matten verdeeld over 4 bakken					
		1	gebruikt	-	onbehandeld
		2	gebruikt	-	Serenade
		3	gebruikt	-	Biobest exp.2
		4	gebruikt	+	onbehandeld
		5	gebruikt	+	Serenade
		6	gebruikt	+	Biobest exp.2
		7	schoon	+	onbehandeld
		8	schoon	+	Serenade
		9	schoon	+	Biobest exp.2

Tafel Links			Tafel Midden			Tafel Rechts											
1	1.08	6 Biobest + Fus	7	1.08	2 Serenade - Fus	13	1.07	4 onb + Fus	19	7	onb + Fus	25	7	onb + Fus	31	1.07	2 Serenade - Fus
2	1.08	3 Biobest - Fus	8			14	1.07	3 Biobest - Fus	20	1.10	6 Biobest + Fus	26	1.07	6 Biobest + Fus	32	7	onb + Fus
3	1.11	2 Serenade - Fus	9			15	9	Biobest + Fus	21	1.08	1 onb - Fus	27	8	Serenade + Fus	33	1.08	4 onb + Fus
4	1.10	1 onb - Fus	10	1.11	5 Serenade + Fus	16	8	Serenade + Fus	22	1.10	3 Biobest - Fus	28	9	Biobest + Fus	34	1.07	1 onb - Fus
5	1.08	5 Serenade + Fus	11	1.10	4 onb + Fus	17	1.10	2 Serenade - Fus	23	1.10	5 Serenade + Fus	29	1.11	3 Biobest - Fus	35	1.11	4 onb + Fus
6	7	onb + Fus	12	8	Serenade + Fus	18	9	Biobest + Fus	24	1.11	6 Biobest + Fus	30	1.07	5 Serenade + Fus	36	1.11	1 onb - Fus

Figuur 5.1 Indeling van de kas met de verschillende behandelingen met de herkomst van de matten, *Fusarium* inoculatie en antagonisten.

De methode van het rechtstreeks uitplaten van steenwolplugges is overgenomen van praktijkonderzoekers van ADAS (pers. comm. Sarah Mayne). Zij gebruikten de methode om *Fusarium* uit potmonsters uit de praktijk te verzamelen. In 2014 werd er op deze manier veel *Fusarium* aangetroffen in de plugges. Echter een jaar later, in 2015, vond ze echter veel minder *Fusarium* terug omdat de plugges veel dominante groei van *Mucor* vertoonden. Deze schimmel heeft een grotere groeisnelheid van *Fusarium*, waardoor deze lastiger is terug te vinden. Ook in Nederland werd er in dat jaar meer melding gemaakt van *Mucor* en was daarnaast de *Fusarium* druk gering. Vanwege de onbekendheid met de meetmethode zijn een aantal voorproefjes ingezet om de optimale *Fusarium* concentratie vast te stellen die kan worden terug gemeten met deze methode en op welke bemonsteringslocatie de meeste sporen zijn terug te vinden. De test met de inoculatie-dichtheid van *Fusarium* gaf aan dat concentraties van zowel $1 \cdot 10^6$ en $1 \cdot 10^7$ sporen/ml goed worden terug gemeten in de potten. Voor de besmetting is gekozen voor de laagste concentratie, zodat er nog wel een effectieve werking van de antagonisten is vast te stellen. Voor meer details over de uitvoering zie Bijlage 6.

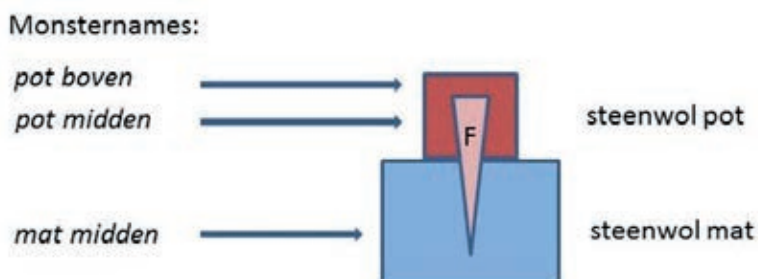
Bij het inzetten van de kasproef zijn de antagonisten drie dagen van tevoren op de bovenkant van 12 individuele potten aangebracht. Daarna zijn de potten met *F. lactis* besmet (100 ml van 10^6 sporen/ml). Het verloop van de *Fusarium* sporeontwikkeling is gevolgd na 3, 10, 20 en 30 dagen. Hierbij is de uitgroei van *Fusarium* vastgesteld door kleine stukjes steenwolplug van de matten (zie ook Figuur 5.1) rechtstreeks uit te platen op een specifieke voedingsmedium. Bij monsternamen zijn twee monsters van de bovenkant van de pot, uit het midden van de pot en uit het midden van de mat genomen. Tussen de bemonsteringsplaatsen in worden pons, pincet en mes geflambeerd. Op elke Komada voedingsplaat zijn 4 ponsjes uitgelegd. De platen zijn geïncubeerd bij 22 °C. Na 3 en na 5 dagen zijn de platen beoordeeld op *Fusarium* uitgroei. Naast het verzamelen van de steenwolplugges is er matwater verzameld en ingevroren om de aanwezigheid van *F. lactis* te meten met behulp van specifieke primers voor het *F. lactis*soorten complex. Deze primers zijn beschikbaar gesteld door Kris Van Poucke (ILVO, België).



Figuur 5.1 Vlnr: monsternamen bovenkant gebruikte steenwolpot, monsternamen midden van de steenwolpot en monsternamen midden van de steenwolmat. Voor bemonstering van de bovenkant werd met een pons (ø 8 mm) een gaatje gemaakt van 2 mm diep en voor bemonstering van het midden van de pot en de mat werd met dezelfde pons een gat gemaakt van ongeveer 2 cm diep.

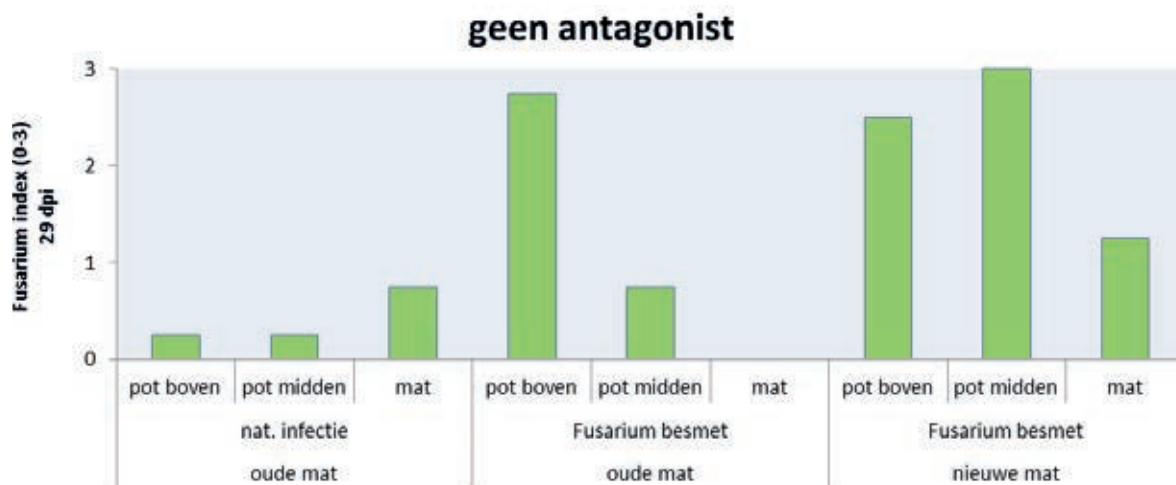
5.3 Resultaten

De voortesten laten zien (niet opgenomen in dit rapport) dat in de steenwolpot die bovenop de mat is geplaatst veel meer *Fusarium* kolonies worden terug gemeten dan in de steenwolmat die eronder ligt (Zie Figuur 5.3 voor uitleg monsternamen). Dit komt overeen met eerdere resultaten van DNA monsters uit praktijkmatten die door Groen Agro Control zijn bemonsterd evenals door Engelse praktijkonderzoekers van ADAS (pers. comm. Tim O'Neill, Sarah Mayne).



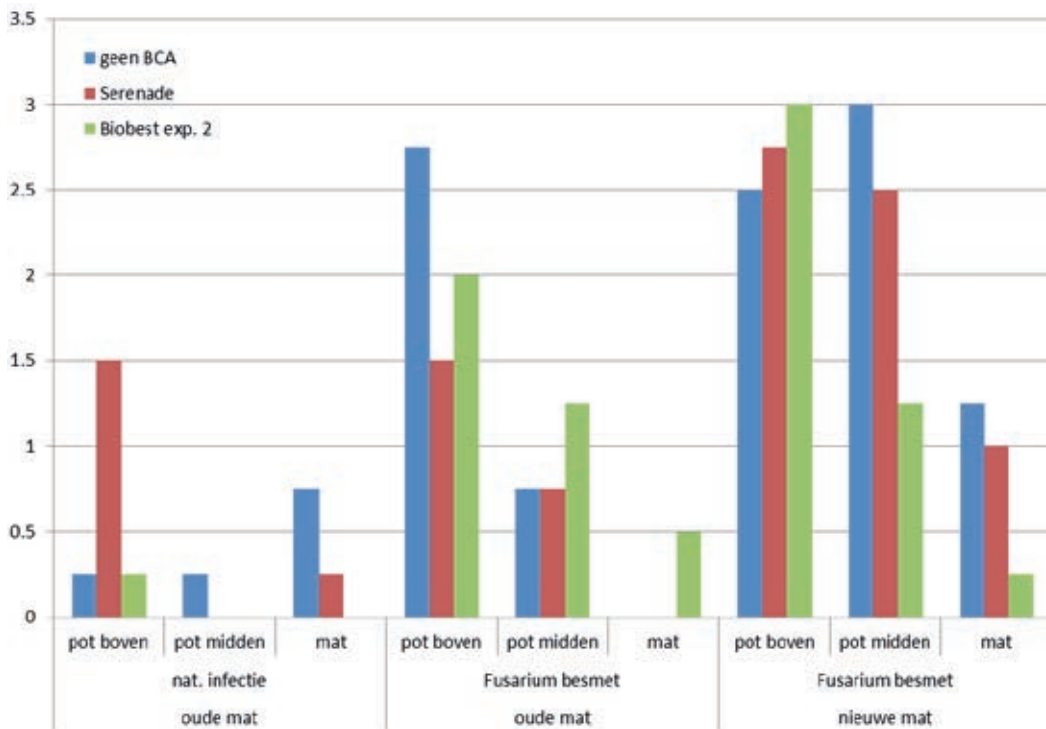
Figuur 5.3 Overzicht monsternames aan de steenwolpotten- en matten. De mate van *Fusarium* sporendruk is schematisch aangegeven met de roze driehoek (F).

De ontwikkeling van *Fusarium* is gemeten op verschillende tijdstippen, maar omdat de tijdsperiode 29 dagen na *Fusarium* infectie goed overeenkomt met de voorgaande tijdstippen zijn de resultaten hiervan weergegeven (Figuur 5.4). De belangrijkste resultaten zijn al terug te vinden in de behandeling zonder dat een antagonist is toegediend. Allereerst wordt de meeste *Fusarium* teruggevonden in de matten die kunstmatig besmet zijn in vergelijking met de onbesmette matten met een natuurlijke infectiedruk. De eenvoudige methode met uitplaten van plugjes laat dus in ieder geval een goede indicatie zien of er *Fusarium* aanwezig is of niet. In ieder geval in een proef waarbij kunstmatig infectie plaatsvindt. Wat verder opvalt is dat de *Fusarium* uitgroei in de oude matten lager ligt in vergelijking met de nieuwe matten. Tevens is de *Fusarium* ontwikkeling na een kunstmatige infectie hoger in de steenwolkpotten dan in de matten. In de oude mat met een natuurlijke *Fusarium* ontwikkeling zijn deze verschillen tussen pot en mat veel geringer.



Figuur 5.4 *Fusarium* uitgroei op plugjes uit behandelingen zonder toediening van een antagonist op 29 dagen na infectie (dpi).

Het doel van de proef was ook om de effectiviteit van antagonisten te testen in hun vermogen om *Fusarium* ontwikkeling te onderdrukken. In Figuur 5.5 zijn de resultaten daarvan weergegeven op 29 dagen na infectie. De resultaten zijn helaas nogal wisselend en laten weinig vaste patronen zien. Ook met een multivariate analyse worden geen significante verschillen van de antagonisten ten opzichte van de onbehandelde controle gevonden. Alleen in de nieuwe mat lijkt in het midden van de pot Biobest exp. 2 een betere onderdrukking van *Fusarium* te geven.



Figuur 5.5 Totaaloverzicht met daarin de *Fusarium* index (0-3) van alle behandelingen van *Fusarium* in de pot of in de mat en de antagonisten op 29 dagen na infectie (dpi).

De resultaten van de moleculaire analyse met een specifieke marker voor het *F. lactis* soorten complex bevestigen een aantal eerdere resultaten die gevonden zijn met de plugges. Bij een gebruikte mat wordt er inderdaad minder *F. lactis* gemeten in vergelijking met een nieuwe mat.

Daarnaast zijn er andere resultaten gevonden die nog niet goed verklaard kunnen worden, zoals een lagere *F. lactis* aanwezigheid in de matten die kunstmatig besmet zijn. Ook in deze moleculaire analyse waren de resultaten met de antagonisten nog sterk wisselend en kunnen er geen conclusies worden getrokken over de effectiviteit ten opzichte van de onbehandelde controle of in een onderlinge vergelijking tussen de antagonisten.

In de oude matten die in deze proef zijn gebruikt is het niet opgehelderd wat de oorzaak is van de lagere *Fusarium* ontwikkeling. Binnen dit onderzoek is er geen nader onderzoek verricht om onderscheid te maken tussen een fysische of biologische oorzaak van de ziekteverende eigenschappen van de gebruikte potten. Dat de *Fusarium* uitgroei in de oude matten lager ligt in vergelijking met de nieuwe matten ligt wel sterk in het verlengde van resultaten die eerder door Joeke Postma (Wageningen Plant Research) zijn gevonden (Postma, 2008). In gebruikte komkommerrmatten werd een betere onderdrukking gevonden van *Pythium* in vergelijking met nieuwe matten. Nader onderzoek liet zien dat dit veroorzaakt werd door een actieve microbiële gemeenschap, waarvan de bacterie, *Lysobacter enzymogenes* het meest effectief was tegen *Pythium* (Arkesteijn en Postma, 2006). Daarnaast namen aantallen *L. enzymogenes* sterk toe als deze werd toegediend in combinatie met chitosan (Postma, 2008).

Over het kolonisatiegedrag van commerciële antagonisten in een substraatmat in de loop van de tijd is nog vrij weinig bekend. Het is niet bekend hoeveel dagen ze precies nodig hebben om voldoende te koloniseren in de verschillende substraten. In dit geval was de incubatieperiode met drie dagen al ruimer gekozen ten opzichte van de bloeminfectie en in de labscreening, zodat de antagonisten meer tijd hadden om het grotere oppervlakte in het substraat te koloniseren. Maar wellicht was deze incubatietijd voor een substraatmat nog te kort en is het verstandiger de antagonisten een langere ontwikkelingstijd te geven (bijv. 1- 3 weken). Dit zal ook een vroege introductie aan het begin van het teeltseizoen vergen.

5.4 Conclusie

- *Fusarium* uitgroei ligt in de oude matten lager in vergelijking met de nieuwe matten.
- Bij toevoeging van *Fusarium* aan de mat is de uitgroei in de steenwol pot hoger dan in de mat.
- Er is meer onderzoek nodig met gerichte moleculaire merkers om de vestiging en ontwikkeling van *Fusarium* en effectiviteit van antagonisten in het substraat te bestuderen.

6 Effectiviteit en toediening van een bacteriële antagonist in de praktijk

6.1 Doel

Bepaling van de optimale toedieningsmethode van Serenade tegen *F. lactis* onder praktijkcondities in een commerciële teelt.

6.2 Uitvoering

Op een paprikabedrijf (Maranello) is het product Serenade preventief via een ruimte- en een spuitbehandeling toegediend onder begeleiding van Bayer. De proef vond plaats in september op één van de laatste zettingen van het gewas. In de ochtend werd de behandeling uitgevoerd. Na de behandeling zijn bladscheuten verzameld met daaraan jonge, pas geopende bloemen (Figuur 6.1). Deze werden naar WUR Glastuinbouw vervoerd en besmet met *F. lactis* sporen ($1 \cdot 10^4$ sporen/ml). Voor beoordeling van doorgroei van *Fusarium* in de vruchtbeginsels zijn de vruchtjes na 5-7 dagen uitgeplaat op een *Fusarium* specifiek voedingsbodem en weggezet in een broedstoof bij 22 °C. Binnen een week vond de beoordeling plaats op uitgroei van *Fusarium* uit de vruchtbeginsels.



Figuur 6.1 Foto van de plantdelen met jonge paprikabloemen zoals deze waren verzameld uit de praktijk na een ruimtebehandeling met Serenade.

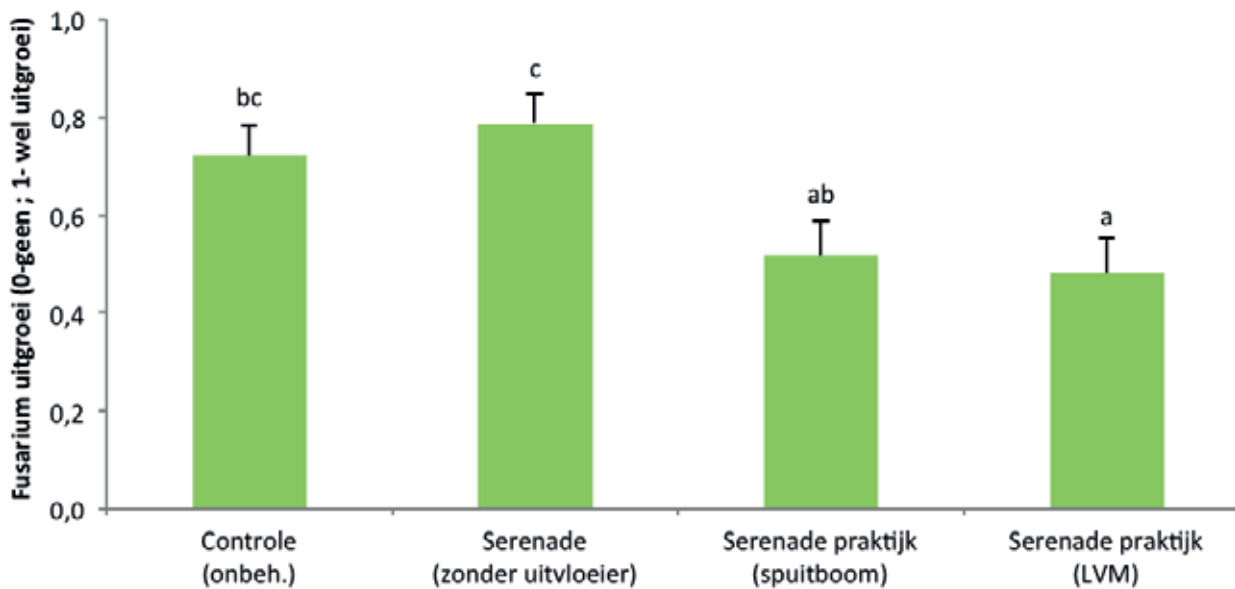
In totaal zijn er 4 behandelingen uitgevoerd:

- Onbehandelde controle uit de praktijk (30 bloemen verzameld op Maandag en 30 bloemen op Dinsdag)
- Directe spuitbehandeling met Serenade op de bloem (zonder uitvloeier), op Maandag ingezet
- Serenade spuitbehandeling in de praktijk (uitvoering Dinsdag)
- Serenade LVM (laag volume mist) behandeling in de praktijk (uitvoering Dinsdag)

Per behandeling zijn 50 bloeddelen ingezet. Bij de onbehandelde controle is besloten om zowel op maandag als op dinsdag 30 bloemen te verzamelen.

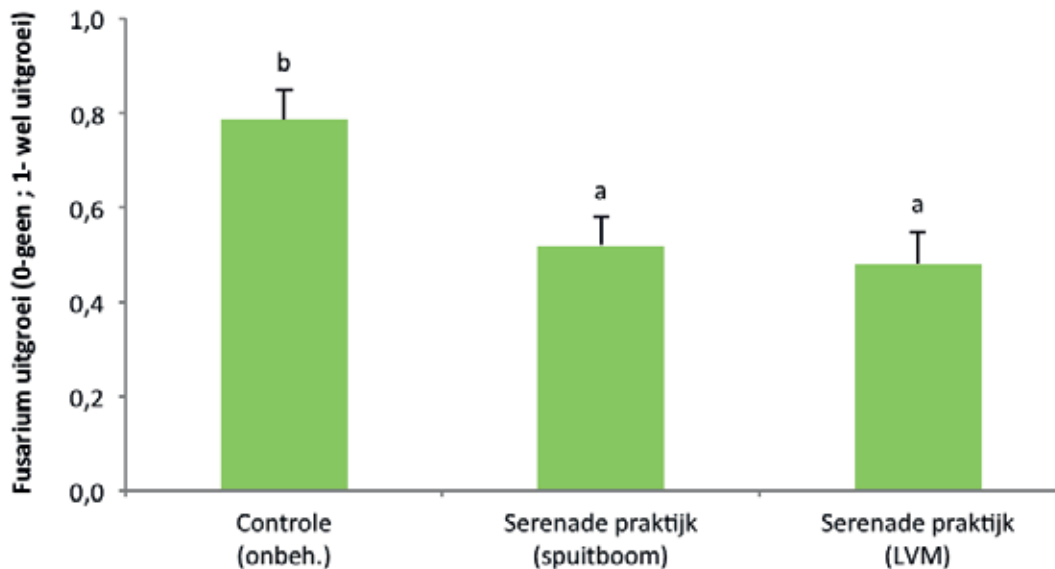
6.3 Resultaten

De behandeling van paprikabloemen in de praktijk met Serenade verminderd de doorgroei van *Fusarium* sporen naar het vruchtbeginsel bij tenminste 30% van de geteste vruchtbeginsels (Figuur 6.2). Zowel met de spuitbehandeling als met een LVM installatie worden sporen meetbaar geremd in hun ontwikkeling. Daarbij lijkt de LVM behandeling iets effectiever, maar in deze beperkte steekproef levert dat nog geen significante verschillen op ten opzichte van de spuitbehandeling. De behandeling waarbij de Serenade rechtstreeks op de bloemen is aangebracht gaf opvallend genoeg geen remming te zien. De oorzaak bleek een fout bij de uitvoering. Door de korte voorbereidingstijd bij het inzetten van de proef (in verband met de laatste zetting van het seizoen) was de behandeling helaas ingezet zonder de uitvloeier Silwet Gold. Tegelijkertijd laat deze proef daardoor wel goed de noodzaak ervan zien. Zonder uitvloeier verliest Serenade zijn werking en is er geen verschil meer ten opzichte van de onbehandelde controle.



Figuur 6.2 Gemiddelde uitgroei van *Fusarium* uit de vruchtbeginsels van paprika na een behandeling met Serenade in de praktijkproef. Hierbij zijn per behandeling 50 vruchtbeginsels gescoord op geen (0) of wel (1) uitgroei van *Fusarium*. Verschillende letters geven significante verschillen aan tussen behandelingen zowel met een One-Way ANOVA als via een Chi-kwadraattest ($P < 0.05$).

Figuur 6.3 laat nog een keer dezelfde gegevens zien, maar dan is bij de statistische verwerking ervoor gekozen om de behandeling zonder uitvloeier achterwege te laten. Tegelijkertijd zijn alleen de onbehandelde controles die dinsdags verzameld zijn, meegenomen in de analyse. Er is geen statistisch betrouwbaar verschil tussen de onbehandelde vruchtjes die maandag of dinsdag verzameld waren, maar het gemiddelde lag op dinsdag wel iets hoger. Hierdoor is nog duidelijker te zien dat beide behandelingen met Serenade een significante vermindering geven van het aantal geïnfecteerde vruchtbeginsels na een kunstmatige besmetting met *Fusarium*.



Figuur 6.3. Gemiddelde uitgroei van *Fusarium* uit de vruchtbeginsels van paprika na een behandeling met Serenade in de praktijkproef. Hierbij zijn per behandeling 50 vruchtbeginsels gescoord op geen (0) of wel (1) uitgroei van *Fusarium*. Verschillende letters geven significante verschillen aan tussen behandelingen zowel met een One-Way ANOVA als via een Chi-kwadraattest ($P < 0.05$).

6.4 Conclusie

- Serenade is werkzaam tegen een bloeminfectie in paprika door *F. lactis* onder praktijkcondities als deze preventief wordt toegepast via een spuitbehandeling of via een LVM installatie. In een testsituatie met een relatief hoge sporendruk ten opzichte van de gemeten sporendruk in de praktijk worden 30% minder vruchtbeginsels aangetast door *F. lactis*.
- In deze proef zijn alle bloemen kunstmatig besmet met voldoende *Fusarium* sporen om een goede infectie te geven in de onbehandelde controle (10.000 sporen/ml). In de praktijk zal er meer variatie zijn in de infectiedruk per bloem (wordt elke bloem besmet en de hoeveelheid sporen/bloem). Naar verwachting zal de effectiviteit bij een natuurlijke infectiedruk met minder *Fusarium* sporen per bloem hoger zijn.
- Toevoeging van Silwet Gold aan Serenade is noodzakelijk voor een goede werking.
- Een steekproef met 50 bloemen in een praktijkproef is voldoende om betrouwbare verschillen tussen behandelingen aan te tonen.

7 Effectiviteit en toediening van schimmel antagonististen in de praktijk

7.1 Doel

Getest wordt of Biobest exp.2 in een commerciële kas de ontwikkeling van *Fusarium lactis* kan remmen door preventief paprikabloemen te bespuiten met antagonististen. Daarnaast wordt op hetzelfde praktijkbedrijf een oriënterende test uitgevoerd met het Flying doctors systeem (Figuur 7.1). In dit systeem worden de hommels door een uitgang met schimmelsporen van Prestop 4B geleid (Gliocladium catenulatum J1446), zodat ze deze kunnen overbrengen naar de bloemen die ze bezoeken. Naast de werking op *Fusarium* vruchtrot wordt hierbij ook de effectiviteit van overbrenging van de antagonist geëvalueerd.



Figuur 7.1 Flying doctors in actie (foto Biobest group).

7.2 Uitvoering

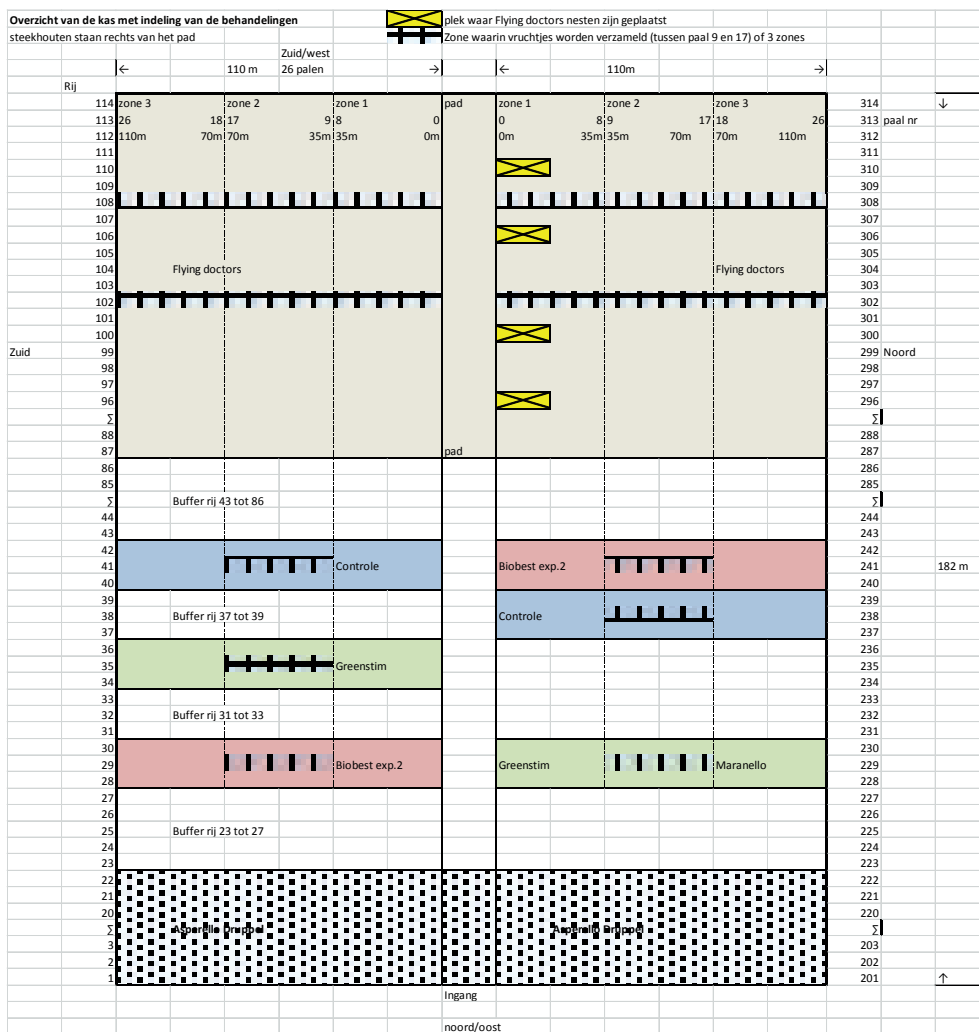
In de afdeling waar de proef is uitgezet werd de cultivar Keessie geteeld. Dit betrof een teelt waarbij tussen de rijen in twee goten met paprika's werden geteeld. De proef startte toen de planten in het vierde zetsel zaten. In één kasafdeling werd het Flying doctors concept ingezet en de spuitbehandelingen (zie Tabel 7.1). Tussen deze 2 behandelingen zat een buffer van 43 paden. De verwachting, gebaseerd op eerdere ervaringen van Biobest, was dat de hommels in de buurt van de nestkasten zouden blijven vliegen (deel van 1 ha) en niet in het gedeelte van de spuitbehandelingen.

Tabel 7.1

Overzicht van de behandelingen en toepassingen met schimmel antagonististen en Greenstim (proef in 2017).

Nr. Oppervlak	Behandeling	Toepassing	Uitvoerder
1 3 paden	Controle onbehandeld		
2 3 paden	Controle besmet		
3 (1 ha)	Flying doctors (FD)+ Prestop 4B	Gedurende 1 maand	Biobest + teler + WUR
4 3 paden	Bespuiting met Biobest exp.2	Bespuiting 1:1kg product/ha (800L/ha); Bespuiting 2: 0.3 kg/ha (300L/ha), met interval van 3 weken	teler – onder het deugdelijkheidcertificaat van WUR
5 3 paden	Bespuiting met Greenstim	2 kg product/ha; 2 toepassingen met interval van 3 weken. (1000L/ha)	teler – onder het deugdelijkheidcertificaat van WUR

Biobest leverde het Flying doctors systeem aan voor behandeling 1. Eén week voor aanvang van de spuitbehandeling zijn de nestkasten met de hommels in de kas geplaatst. Twee maal in de week is de Prestop 4B ververst door de teler. Eén dag na de bespuitingen zijn van alle behandelingen gewasdelen met bloemen eraan verzameld om de bedekkingsgraad van de antagonist te bepalen (voor de locaties zie Figuur 7.2). Via de uitplaatmethode is bij elke bespuiting bepaald hoeveel van het product Biobest exp. 2 is toegediend. Dit is in 3 verschillende zones bepaald. Daarnaast is de nest activiteit gemeten door Biobest waarbij het aantal in en uitvliegende hommels zijn geteld binnen een vaste tijdseenheid. WUR glastuinbouw heeft de materialen voor de overige twee spuitproducten aangeleverd volgens het deugdelijkheidsprotocol waarna de teler onder toezicht van de WUR de producten voor behandeling 2 en 3 heeft gespoten. Deze bespuitingen zijn 2 keer uitgevoerd met een interval van 3 weken. De bespuiting is uitgevoerd via een spuitboom (spleetdop in 80° hoek) met doppen die op de gewenste hoogte open of gesloten kunnen worden gezet. Per behandeling zijn 3 paden bespoten met de producten. Tussen de spuitbehandelingen in zijn 3 buffer rijen (Figuur 7.2). In Tabel 7.2 is een overzicht te vinden van behandelingen en plantmateriaal verzamelmomenten tijdens de proef.



Figuur 7.2 Indeling van de paprika praktijkkas met daarin aangegeven de locaties waar de behandelingen met antagonisten, Flying doctors en Greenstim zijn uitgevoerd en waar plantmateriaal is verzameld voor de analyses (aangeduid met rasters).

Vijftien dagen na de bespuiting zijn bloemen verzameld. De geselecteerde bloemen zijn open en nog niet te oud (gelig verkleurd) en bevinden zich in het deel van de spuitzone. Per behandeling zijn in totaal 50 open bloemen geoogst. Dit houdt in dat per pad 25 bloemen worden geoogst van de behandelingen Greenstim en Biobest exp.2 en 50 bloemen van de controle paden. Van deze 50 bloemen is de helft besmet met *Fusarium* en de andere helft is alleen behandeld met water (controle water). Uit het deel met de Flying doctors zijn bloemen verzameld uit vier paden. Uit elk pad zijn uit elke zone 10 bloemen verzameld (tussen elke paalnummer 1 bloem). In totaal zijn per pad 30 bloemen geoogst. De gewasdelen zijn in een vaasje geplaatst en vervolgens bij WUR glastuinbouw in Bleiswijk besmet met *Fusarium lactis* (10^3 sporen/ml per bloem) en in standaard klimaatcondities in de uitbloeiruimte geplaatst. Na een week in de uitbloeiruimte werden de ontwikkelde vruchtjes volgens standaard protocol ontsmet en in tweeën gesneden. Eén helft werd uitgelegd op een specifiek voedingsbodem waarna op dag 3 en 7 de schimmel uitgroei vanuit de vruchtjes wordt beoordeeld. Er wordt visueel bepaald welke schimmel(s) er uit het vruchtje groeien.

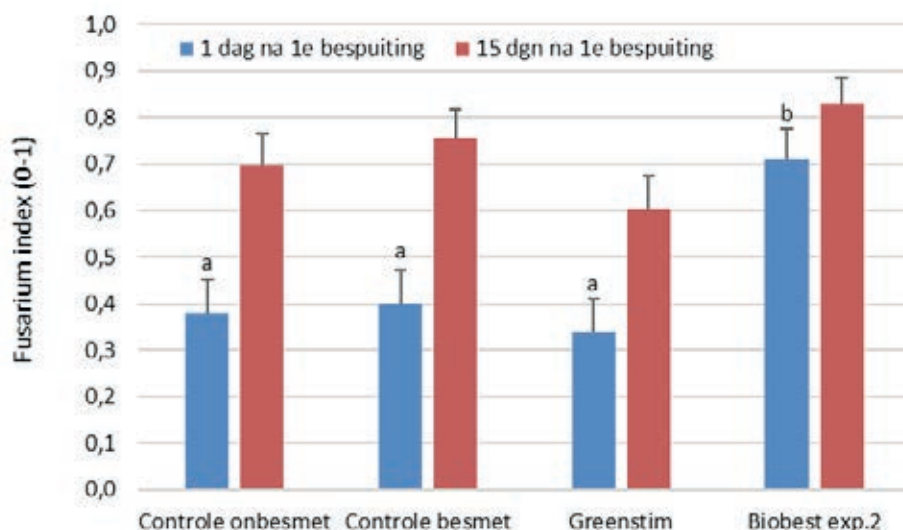
Tabel 7.2

Tijdschema met daarin een overzicht van de behandelingen, verzameling van plantmateriaal voor analyse op *Fusarium* infectie, Flying doctors en door wie de werkzaamheden zijn uitgevoerd.

Datum	Antagonist behandeling	<i>Fusarium</i> analyse	Flying doctors	Uitvoering
4-mei	Greenstim en Biobest exp. 2 bespuiten, 1e bespuiting			WUR + teler
5-mei		Bloemen verzamelen (1 dag na bespuiten)	Nesten activiteit waarnemen, Prestop 4B vullen	WUR + Biobest
12-mei			Nesten activiteit waarnemen, Prestop 4B verversen	Biobest
19-mei		Bloemen verzamelen (15 dagen na bespuiten)	Nesten activiteit waarnemen, Prestop 4B verversen	WUR + Biobest
23-mei	Greenstim en Biobest exp. 2 bespuiten, 2 ^e bespuiting		Prestop 4B verversen	WUR + teler
24-mei		Bloemen verzamelen (1 dag na bespuiten)	Nesten activiteit waarnemen	WUR + Biobest
30-mei			Prestop 4B verversen	teler
2-jun			Nesten activiteit waarnemen, Prestop 4B verversen	Biobest
7-jun			Nesten activiteit waarnemen	WUR + Biobest

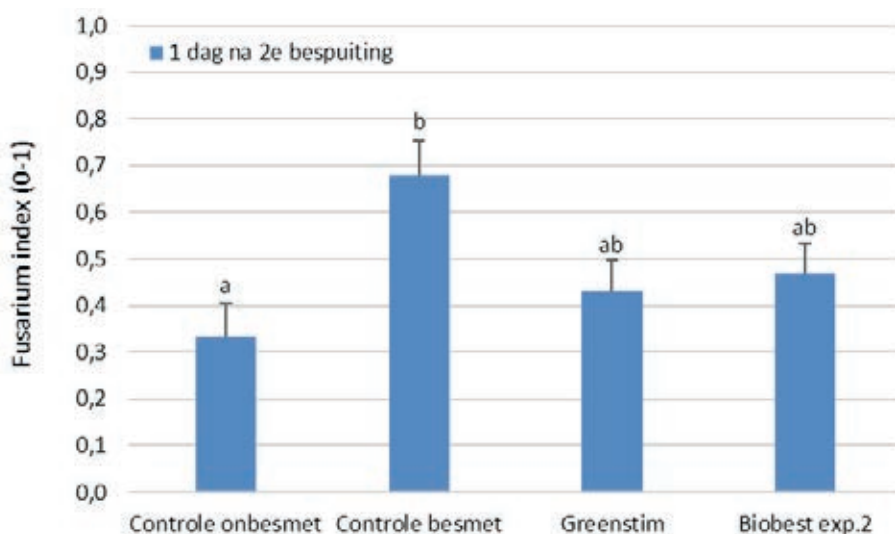
7.3 Resultaten

Na de eerste toepassing met Biobest exp.2 en Greenstim op 4 mei was er bij de bloemen die verzameld waren na 1 dag geen remmende werking vast te stellen op de ontwikkeling van *Fusarium* in de jonge vruchtbeginsels (Figuur 7.3 & 7.5). In de controlebehandelingen was er namelijk geen effect terug te vinden van de kunstmatige infectie met *Fusarium*. Dezelfde trend is ook terug te zien bij de bloemen die na 15 dagen waren verzameld na de eerste bespuiting. De *Fusarium* is dan bij alle behandelingen nog verder doorontwikkeld in de jonge vruchten.



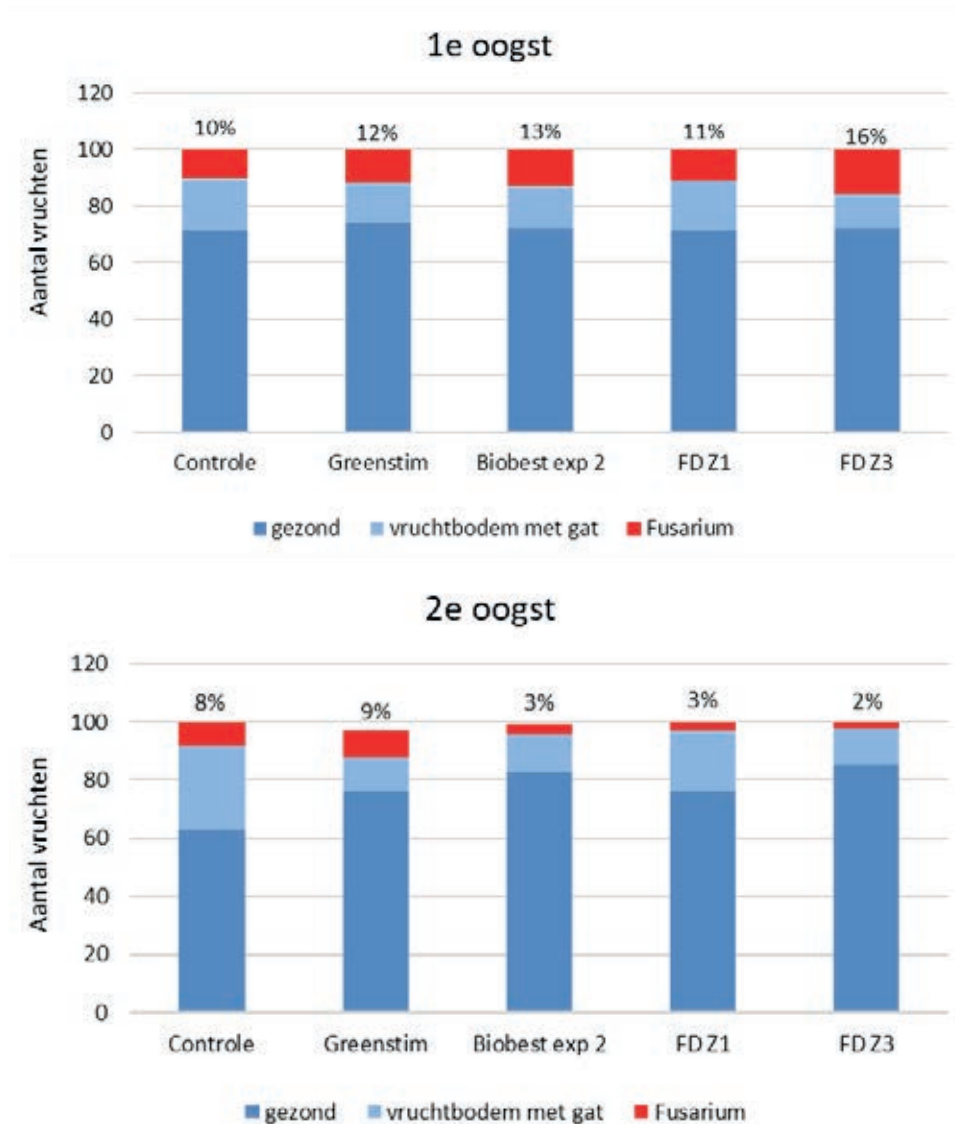
Figuur 7.3 *Fusarium* index in jonge vruchtbeginsels van paprika, waarbij de bloemen zijn verzameld 1 dag en 15 dagen na de eerste toepassing op 4 mei met de behandelingen van Greenstim en Biobest exp.2. Verschillende letters op de kolom geven significante verschillen aan tussen de verschillende behandelingen.

Na de tweede toepassing met Biobest exp.2 en Greenstim was er bij de bloemen die verzameld waren na 1 dag wél een remmende werking vast te stellen op de ontwikkeling van *Fusarium* in de jonge vruchtbeginsels (Figuur 7.4). Respectievelijk 31 en 37% van de jonge vruchtbeginsels vertoonden minder uitgroei van *Fusarium* ten opzichte van de besmette controle behandeling.



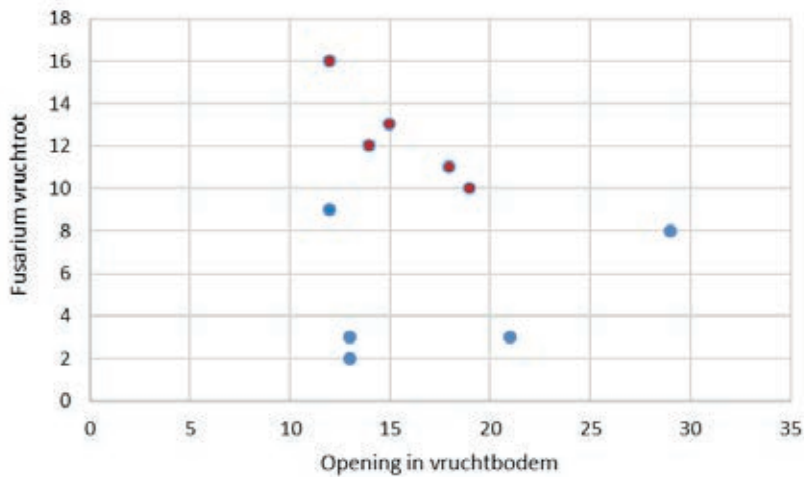
Figuur 7.4 *Fusarium* index in jonge vruchtbeginsels van paprika, waarbij de bloemen zijn verzameld 1 dag na de tweede toepassing op 24 mei met de behandelingen van Greenstim en Biobest exp.2. Verschillende letters op de kolom geven significante verschillen aan tussen de verschillende behandelingen.

Bij het beoordelen van de rijpe vruchten op inwendig vruchtrot en op de aanwezigheid van een opening in de vruchtbodem valt op dat het beeld sterk overeenkomt met het beeld dat ook in de jonge vruchtbeginsels werd aangetroffen (Figuur 7.5). Na de 1^e bespuiting wordt een hogere *Fusarium* aantasting gevonden (8-15%) in de vruchten, dan bij de vruchten die na de 2^e bespuiting verzameld waren (< 8%). Bij een lagere infectie van de controlebehandeling, is er wel een effect te zien van de behandelingen. Vruchten die verzameld zijn van de planten (en bloemen) die behandeld zijn Biobest exp.2 en de Flying doctors laten 5-6% minder vruchten met *Fusarium* vruchtrot zien ten opzichte van de controlebehandeling. De behandeling waar de Flying doctors rondvlogen in zone 3 geeft de sterkste remming weer, maar zit nog wel steeds op 2%. Bij de keurmeesters wordt in dit geval de partij nog steeds afgekeurd. Bij de behandeling met Greenstim werkt de verminderde *Fusarium* aantasting van de jonge vruchtbeginsels niet door in de oogstbare vruchten.



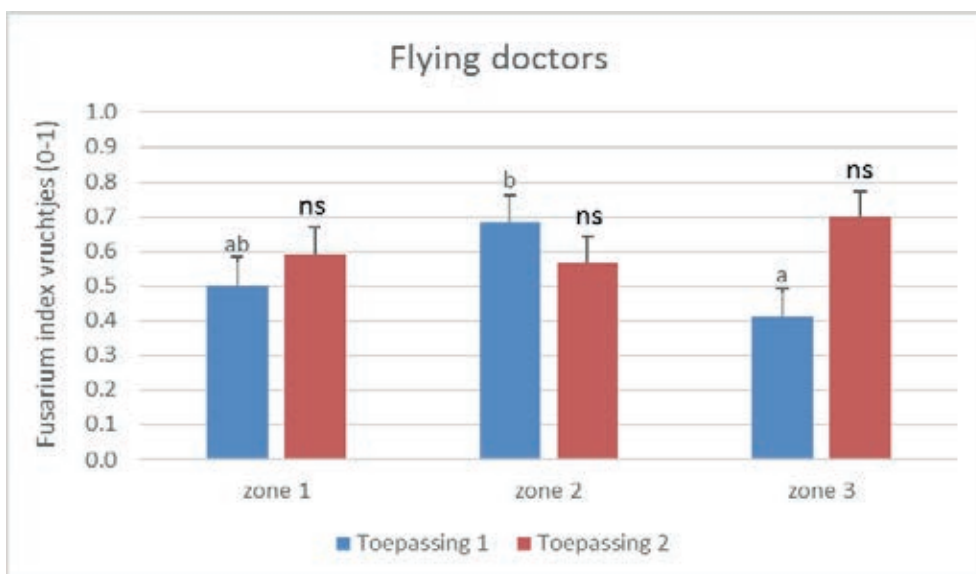
Figuur 7.5 Totaal aantal vruchten die inwendig beoordeeld zijn op de aanwezigheid van *Fusarium* vruchtrot. Deze zijn verzameld na de eerste (boven) en tweede oogst (onder). Met verschillende kleuren zijn drie categorieën aangeduid: vruchten die gezond waren, een gat aan de onderkant toonden of zichtbaar *Fusarium* schimmelgroei vertoonden. Boven de kolom is het percentage vruchten met *Fusarium* vruchtrot per behandeling aangegeven.

Bij het analyseren van de gegevens van de rijpe vruchten is ook bijgehouden welke vruchten een opening hadden aan de onderkant (vruchtbodem) en of vruchten wel of geen *Fusarium* infectie vertoonden. In deze proefresultaten wordt geen relatie gevonden tussen het aantal vruchten dat aangetast is door *Fusarium* vruchtrot en het aantal vruchten met een opening in de vruchtbodem (Figuur 7.6).



Figuur 7.6 Correlatie tussen de aanwezigheid van *Fusarium* binnenrot en een opening in de vruchtbodem (rode stippen – 1e oogst met hoogste infectiedruk; blauwe stippen – 2^e oogst met lagere infectiedruk).

In het gedeelte waar de Flying doctors waren uitgezet was de mate van aantasting van *Fusarium* in jonge vruchtbeginsels niet verschillende ten opzichte van de controlebehandelingen (deze zijn vermeld in Figuur 7.3). Ook hier geldt dat de natuurlijke infectiedruk al vrij hoog lag om een goede werking terug te vinden. De bevlieging van de bestuivers verschilde enigszins per zone na de 1^e toepassing van de antagonist in de hommelmasten (Figuur 7.7). De bestuivers leken een voorkeur te hebben om dicht bij het nest te blijven en om vooral langs de hoofdpaden te vliegen in plaats van tussen de paden door. De hommel toont duidelijk een voorkeur voor bepaalde vliegroutes waarbij hindernissen kennelijk zoveel worden vermeden.



Figuur 7.7 *Fusarium* index in jonge vruchtbeginsels van paprika na de eerste (4 mei) en tweede toepassing (23 mei) in het gedeelte waar de Flying doctors zijn uitgezet. De resultaten zijn weergegeven per zone. Zone 1 lag dichtbij de nestkast en zone 3 lag op grotere afstand. Verschillende letters op de kolom geven significante verschillen aan tussen de verschillende zones na de 1e toepassing. ns- niet significant verschillend

Tijdens de proef werd duidelijk dat de natuurlijke *Fusarium* aantasting hoog was. In deze afdeling waar de proef was uitgezet in de eerste zetsels van het voorjaar. De resultaten zoals we die hadden verzameld van de jonge vruchtbeginsels en rijpe vruchten, kwamen overeen met de kwaliteit van de vruchten in de hele afdeling. In de latere zetsels zakte de natuurlijke aantasting en was ook terug te zien in de resultaten van de proef.

De teler heeft ingegrepen met allerlei maatregelen waaronder de hele afdeling bespuiten met Serenade (dit product heeft een toelating in paprika). In de praktijk is het dan moeilijk te beoordelen of dit wel of niet werkt, omdat controlebehandelingen dan ontbreken. De huidige resultaten laten echter zien dat behandelingen met antagonisten die in de praktijk worden toegediend via een bespuiting of het Flying doctors systeem mogelijk kunnen bijdragen aan vermindering van *Fusarium* vruchtrot en het percentage aantasting met 5-6% kunnen verminderen. Bij een lagere natuurlijke aantasting kan dit een belangrijk verschil zijn of een partij wel of niet door de handel wordt geaccepteerd.

7.4 Conclusie

- Behandelingen met Biobest exp.2 of Flying doctors kunnen in paprika een bijdrage leveren aan het verminderen van *Fusarium* vruchtrot aantasting onder praktijkcondities, in zowel jonge vruchtjes als rijpe, oogstbare vruchten.
- Behandelingen met antagonisten zijn het meest effectief bij een preventieve toepassing, maar werken ook in lichte mate curatief en zijn werkzaam in het geval er al een lage sporendruk van *Fusarium* in een kas aanwezig is, maar dit vermogen is wel beperkt. Bij een te hoog opgelopen natuurlijke infectiedruk zijn de antagonisten niet meer werkzaam.
- De uitkomsten van *Fusarium* uitgroei in jonge vruchtbeginsels (5 mm, < 1 week oud, 50 stuks) komen goed overeen met de aantasting van *Fusarium* vruchtrot in rijpe vruchten. Een steekproef van 50 vruchten is groot genoeg om een betrouwbare uitspraak te doen over het gemiddelde infectieniveau van een afdeling in een kas. Jonge vruchtbeginsels lijken daarmee veelbelovend als alternatieve indicator om het verloop van de sporendruk in een kas tijdens het teeltseizoen te kunnen volgen.
- Er is geen relatie tussen paprikavruchten met een opening in de vruchtbodem en het aantal vruchten met *Fusarium* vruchtrot.

8 Invloed van natuurlijke plantenhormonen

8.1 Inleiding

Binnen het onderzoek naar plantweerbaarheid is de mate waarin een plant zijn geïnduceerde resistentie aan kan schakelen een belangrijk onderdeel. Deze afweer is interessant voor telers, omdat deze tijdens een teelt nog bij te sturen is. Wel zijn er verschillen tussen cultivars in de mate waarin de geïnduceerde resistentie kan worden bijgestuurd. In de literatuur is er wel veel geschreven over de interactie tussen planten met een verhoogde resistentie en verminderde gevoeligheid voor *Fusarium*, maar niet over de specifieke sturing via geïnduceerde resistentie en het voorkomen van vruchtrot en *Fusarium lactis*.

De volgende onderzoeksvragen staan centraal:

1. Zijn *Fusarium lactis* sporen direct gevoelig voor salicylzuur of jasmonzuur?
2. Zijn planten die behandeld worden met plantenhormonen minder gevoelig voor bloeminfectie door *Fusarium*?
3. Welke natuurlijke afweerroute wordt aangeschakeld bij infectie door *Fusarium lactis* of speelt het infectieproces zich af zonder activatie van een afweerreactie?
4. Remmen bloemen die behandeld zijn met plantenhormonen (systemisch of direct) de ontwikkeling van *Fusarium* sporen die zich op de bloem(resten) bevinden? Dit kan nl. geleidelijk aan de sporendruk in de kas verlagen.
5. Groeit *Fusarium* minder snel in vruchten die ontwikkeld zijn aan planten met een verhoogde aanwezigheid van natuurlijke afweerstoffen?

Voor het beantwoorden van de onderzoeksvragen is gestart met proeven met plantenhormonen in petrischalen op het lab en daarna is het onderzoek voortgezet onder kascondities om de interacties met de plant en gevoeligheid van rijpe vruchten te onderzoeken.

8.2 Directe remming van plantenhormonen

8.2.1 Doel

Het doel van de labtesten met plantenhormonen was om te testen of en in welke mate er groeiremming optreedt op *F. lactis*. Hierbij is zowel naar de directe remming op de koloniegroei gekeken als naar de vorming van het aantal sporen die van belang zijn voor de reproductie van de schimmel.

8.2.2 Uitvoering

In de testen op het lab zijn op kunstmatige voedingsbodems in een petrischaal sporen van *F. lactis* blootgesteld aan de twee bekendste plantenhormonen, salicylzuur en jasmonzuur (1 mM). Omdat de sporen de kiemende eenheden zijn die op de bloem landen, zijn een aantal toedieningsbehandelingen getest om de interactie tussen de plantenhormonen te bekijken. In de eerste test is daarbij vooral gekeken naar de ontwikkeling van de kolonievorming en in de tweede test zijn sporen geteld.

Behandelingen test 1:

1. Controle (onbehandeld, zonder water).
2. Controle (waterbehandeling).
3. Salicylzuur (1mM) spuiten op agar.
4. Jasmonzuur spuiten op agar.

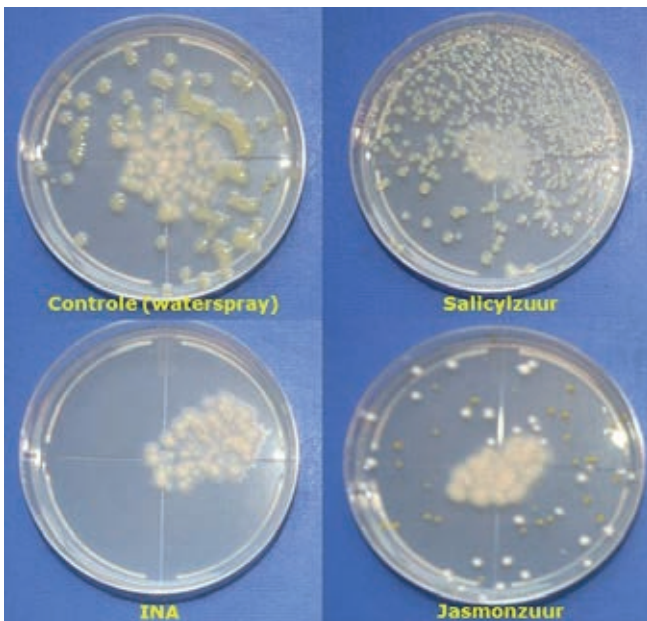
Behandelingen test 2:

1. Controle (onbehandeld, zonder water).
2. Controle (waterbehandeling).
3. Salicylzuur (1mM) met sporensuspensie.
4. Jasmonzuur met sporensuspensie.
5. Salicylzuur (1mM) door agar.
6. Jasmonzuur door agar.

Daarnaast is er een extra behandeling met INA meegenomen. Van deze stof weten we dat hiermee de natuurlijke afweer tegen meeldauw is te stimuleren via de Systemic Acquired Resistance (SAR) en dat de plant na behandeling de aanmaak van pathogeen gerelateerde eiwitten verhoogd. Per behandeling zijn 6 PDA platen ingezet. In de eerste test zijn de salicylzuur, INA en jasmonzuur volgens het standaard protocol klaargemaakt en als eerste over de plaat verdeeld via een spuitbehandeling. Vervolgens werd in het midden van de plaat een sporensuspensie van *F. lactis* gepipetteerd (100 sporen in 50µl). Nadat de *Fusarium* druppel gedroogd was, zijn de schalen bij 22°C in de broedstuf geplaatst. In de tweede test werden de suspensies van plantenhormonen eerst gemengd met de *Fusarium* sporen en daarna gelijkmatig over de plaat verdeeld met behulp van glasparels. De platen zijn na 3 en 5 dagen beoordeeld.

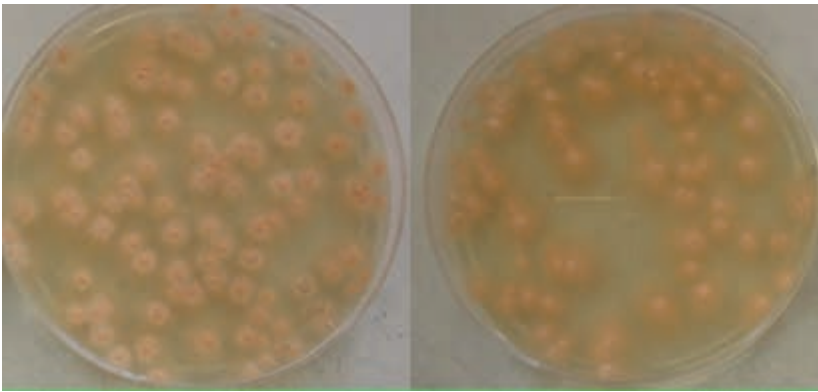
8.2.3 Resultaten

In de eerste test waren de resultaten lastig te beoordelen, omdat er bacteriegroei was opgetreden (Figuur 8.1). Een onbekende bacterie die voorkwam in de salicylzuurbehandeling was zelf al in staat om actief de schimmelgroei van *F. lactis* te remmen. Hierdoor was het lastig om een uitspraak te doen over de effectiviteit van de behandelingen met plantenhormonen. Na moleculaire analyse bleek de onbekende bacterie een *Bacillus* soort te zijn, maar wel afwijkend te zijn van de soort die aanwezig is in Serenade.



Figuur 8.1 De remming van *F. lactis* op de voedingsplaten bij de behandeling met salicylzuur veroorzaakt door bacteriegroei.

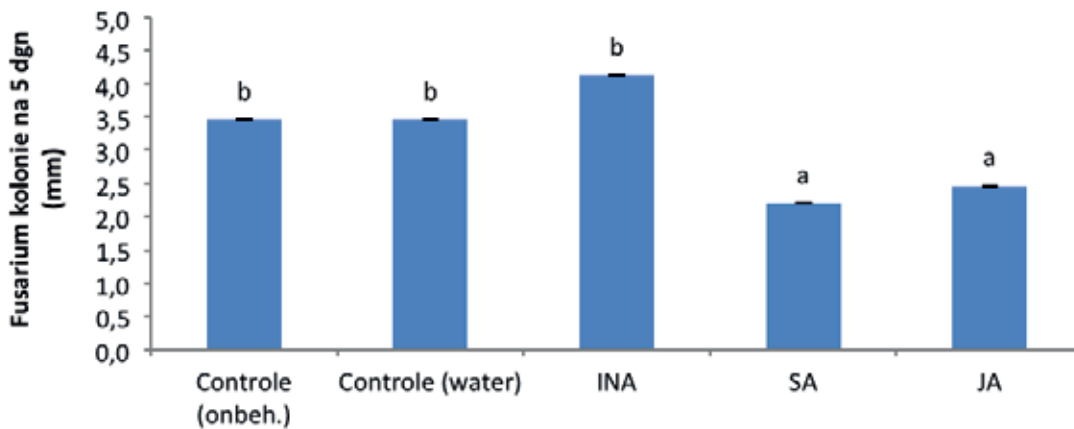
In de tweede test was de schimmelgroei bij de behandeling met jasmonzuur en INA zichtbaar afwijkend ten opzichte van de controlebehandeling (Figuur 8.2). De radiale groei van de kolonie was bij jasmonzuur en salicylzuur vertraagd ten opzichte van de beide controlebehandelingen (Figuur 8.3).



CONTROLE

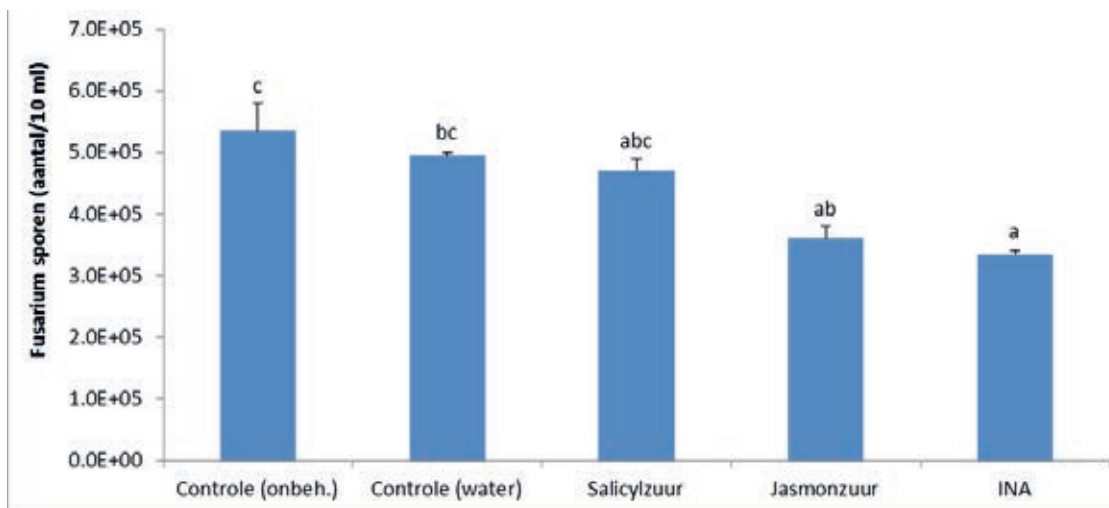
JASMONZUUR

Figuur 8.2 Behandeling met jasmonzuur of salicylzuur laat een andere koloniegroei zien in vergelijking met de controlebehandeling.



Figuur 8.3 Gemiddelde koloniegrootte van *Fusarium* 5 dagen na eenmalige blootstelling aan plantenhormonen op een kunstmatige voedingsbodem. Kolom geeft gemiddelde weer met de standaardfout. Significante verschillen tussen behandelingen zijn aangeduid met verschillende letters (Tukey's test, $P < 0.05$).

De sporentellingen laten aanvullend zien dat daarnaast ook het aantal sporen dat zich ontwikkeld heeft, is vertraagd ofwel verminderd ten opzichte van de controlebehandelingen (Figuur 8.4). Daarbij wordt de sterkste remming veroorzaakt door jasmonzuur en INA, maar ook bij de behandeling met salicylzuur lijkt de groei enigszins vertraagd. In deze test is verder te zien dat als sporen behandeld worden met water dat deze dan eveneens heel licht in groei worden vertraagd ten opzichte van de controlebehandeling die niet met water is behandeld.



Figuur 8.4 Gemiddeld aantal sporen van *F. lactis* (in 10 ml) 5 dagen na eenmalige blootstelling aan plantenhormonen op een kunstmatige voedingsbodem. Kolom geeft gemiddelde weer met de standaardfout. Significante verschillen tussen behandelingen zijn aangeduid met verschillende letters (Tukey's test, $P < 0.05$).

8.2.4 Conclusie

- De directe blootstelling van *F. lactis* sporen aan plantenhormonen als salicylzuur of jasmonzuur heeft een remmende werking op de ontwikkeling van de schimmelgroei en de vorming van sporen. In deze labtest geeft jasmonzuur een sterkere werking op de sporenontwikkeling dan salicylzuur. Aanschakelen van zowel SA als JA afweerroutes in een plant kan perspectief bieden om de sporenontwikkeling te remmen. Ze worden niet volledig afgedood, maar de groei wordt wel vertraagd (30%).
- Het activeren van deze natuurlijke afweerstoffen in een plant is een systemisch proces. Behandeling van enkele bladeren, zal een verhoogde weerstand in de hele plant geven. Ook in bladeren of bloemen (vruchten?) die niet direct zijn behandeld. De vraag is natuurlijk in hoeverre de *Fusarium* sporen op een plant (wortel, blad, bloem) voldoende geremd worden door de extra aanmaak van salicylzuur en jasmonzuur in de plantencellen. Hiervoor is een kasproef ingezet waarbij planten gericht met plantenhormonen zijn behandeld (zie paragraaf 8.2).
- Onbedoeld is er een nieuwe antagonistische bacterie gevonden. Deze is bewaard en in de bacteriecollectie van Wageningen UR Glastuinbouw opgenomen. De focus binnen dit onderzoek lag op de inzet van antagonisten die al dicht bij de markt staan en zicht hebben op registratie. Daarom zijn er met deze nieuwe antagonist verder geen effectiviteitstesten uitgevoerd.

8.3 Invloed van plantenhormonen via de plant

8.3.1 Doel

Twee paprika rassen (Maranello en Stayer) zijn behandeld met synthetische planthormonen waarmee de natuurlijke afweersystemen van de plant kunstmatig zijn geactiveerd. Er wordt nagegaan welke hormonale afweersystemen worden aangeschakeld na een kunstmatige *Fusarium* infectie en welke invloed dit heeft op de aantasting met *Fusarium* vruchtrot in jonge vruchtbeginsels en in rijpe vruchten.

8.3.2 Uitvoering

De proef werd uitgevoerd in twee airco kassen (24 m²) met jonge paprikaplanten van zes weken oud (Figuur 8.5). Er werd gekozen voor twee verschillende cultivars, Maranello (rood) en Stayer (geel). Van elke cultivar werden 150 planten neergezet in een steenwolblok (10x10 cm) en random verdeeld over de twee kassen en de drie teelttafels (50 planten per tafel). De proef liep van 24 maart tot 15 mei 2015. Per plant zijn drie stengels aangehouden. In overleg met de telersgroep die de proef begeleidde, werd het klimaat ingesteld op continue 21°C. De RV werd aangehouden op 80% en er werd extra belicht vanaf 200 Watt. Er vond geen preventieve inzet van biologische bestrijders plaats om verspreiding van *Fusarium* van besmette naar onbesmette bloemen te voorkomen. Bemesting vond plaats volgens het standaard bemestingsschema van de opkweek voor groenteplanten. Eb- en vloed vond 1x per dag plaats om 7.00 uur.



Figuur 8.5 Foto van de opstelling van paprikaplanten in de aircokas. De planten waren in plastic emmers geplaatst om omvallen te vermijden.

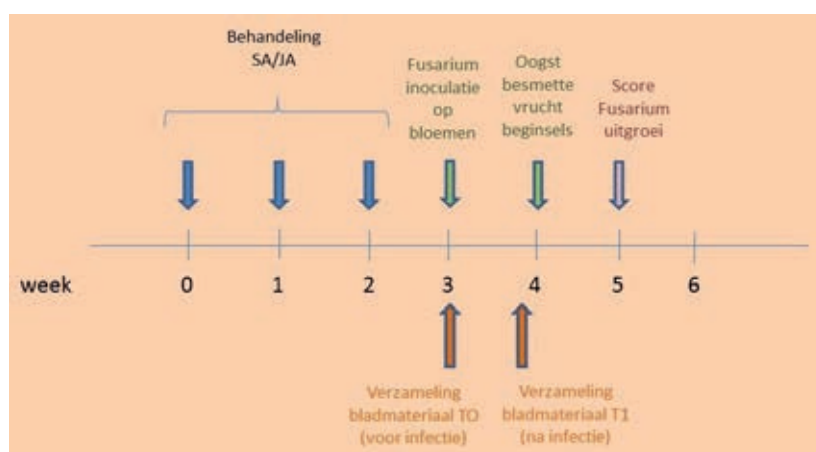
De behandelingen met synthetische plantenhormonen vond plaats in beide cultivars met INA en jasmonzuur. Het plantenhormoon INA schakelt de afweerroute tegen biotrofe schimmels aan via de Systemic Acquired Resistance (SAR) en jasmonzuur schakelt de afweerroute tegen necrotrofe schimmels aan via de Induced Systemic Resistance (ISR). Er werd voor gekozen om de behandelingen te combineren met verschillende niveaus van *Fusarium* infectie, omdat het onbekend was hoe groot de effecten zouden zijn die door de plantenhormonen zouden optreden. Een overzicht van de behandelingen is weergegeven in Tabel 8.1.

Tabel 8.1

Overzicht van de behandelingen in jonge paprikaplanten met plantenhormonen (controle, salicylzuur en jasmonzuur) en hoog of laag infectieniveau met *F. lactis*.

Code		Middelen	Besmettingsniveau	Dosering/12 planten	
Maranello	Stayer				
A	K	Controle	Onbesmet	-	Geen water
B	L	Salicylzuur (INA)	Onbesmet	1.0 mMol	
C	M	Jasmonzuur (JA)	Onbesmet	0.5 mMol	
D	N	Controle besmet	Laag 100 sporen/ml -> 10*	-	Geen water
E	O	Salicylzuur (INA)	Laag 100 sporen/ml	1.0 mMol	
F	P	Jasmonzuur (JA)	Laag 100 sporen/ml	0.5 mMol	
G	Q	Controle besmet	Hoog 10.000 sporen/ml -> 1000*	-	Geen water
H	R	Salicylzuur (INA)	Hoog 10.000 sporen/ml	1.0 mMol	
I	S	Jasmonzuur (JA)	Hoog 10.000 sporen/ml	0.5 mMol	

Eén week nadat de planten in de kas zijn gezet, werd gestart met de INA en JA behandelingen. Deze zijn twee keer wekelijks toegediend. Van elke plant zijn twee volgroeide bladeren behandeld aan de onderkant van de plant (deze werden gemarkeerd). Op deze wijze waren de systemische effecten te bestuderen en de invloed op niet-behandelde plantendelen. Bespuitingen vonden buiten de kas plaats om kruisbesmetting te voorkomen en de planten zijn teruggeplaatst nadat de middelen op het blad waren opgedroogd. De bespuitingen werden uitgevoerd op een vast tijdstip in de ochtend om interferentie met de circadiaanse ritmiek van plantenhormonen te vermijden. Drie dagen na de laatste behandeling werden de bloemen geïnfecteerd met *F. lactis*. Hierbij zijn twee behandelingen met verschillende concentraties gespoten op de bloem (100 sporen en 10.000 sporen/ml). Eén dag van te voren zijn de net geopende bloemen met kleine wasknijpers gemarkeerd. Het aantal bloemen is niet altijd goed voorspelbaar, maar er werden in ieder geval meer dan 4 bloemen per plant geselecteerd. Voor het verzamelen van bladmateriaal zijn voor alle behandeling vier mengmonsters verzameld (bestaande uit 4 planten). 's Ochtends werden de bladmonsters verzameld (ca. 3 g) en direct ingevroren in vloeibare stikstof. Het eerste bladmateriaal voor de nulmeting (T0) is verzameld in de ochtend voordat infectie met *Fusarium* (topje van de jongst volgroeide bladeren) vond en het tweede monster (T1) 7 dagen nadat infectie is uitgevoerd (Figuur 8.6).



Figuur 8.6 Tijdschema met daarin een overzicht van de uitvoering van de hormoonbehandelingen (Controle, INA (afweer tegen biotrofe ziekteverwekkers via Systemic Acquired Resistance) en jasmonzuur (afweer tegen necrotrofe ziekteverwekkers via Induced Systemic Resistance), *Fusarium* inoculatie en verzameling van geïnfecteerde bloemen en jonge vruchtbeginsels.

In de periode tussen kunstmatige infectie met *Fusarium* en het verzamelen van de gelabelde bloemen/vruchten worden de gelabelde afgevallen bloemen dagelijks geteld en verzameld. Deze zijn per behandeling in afgesloten bami bakjes gelegd waarin op de bodem een vochtig papiertje ligt (of petrischaaltje met vochtig filtreerpapier) en in de uitbloeiruimte gezet om de *Fusarium* uitgroei te kunnen scoren. Na 8-9 dagen na kunstmatige infectie worden de gelabelde bloemen verzameld (zonder steeltje, hier kan externe *Fusarium* op zitten), ontsmet met 70% alcohol en ontdaan van de bloemblaadjes. De vruchtjes worden in tweeën gesneden. Vervolgens wordt een helft met de binnenkant naar beneden gericht op Komada agar gelegd en in een broedstof bij 25°C geplaatst. Na 3-7 dagen is de *Fusarium* uitgroei bepaald.

Aan het einde van de proefperiode zijn in alle behandelingen rijpe vruchten verzameld en is een infectieproef met de vruchten ingezet. Hiervoor werden de vruchten eerst uitwendig ontsmet. Een kwart gedeelte van de vrucht werd in een bami bak gelegd op een vochtig papier. Daarna werden de vruchten geïnfecteerd door een agar ponsje met *F. lactis* aan de bovenkant te plaatsen. De gesloten bakken zijn onder standaardcondities in de uitbloeiruimte geplaatst. Na 1 week is de *Fusarium* uitgroei gemeten (lengte en breedte). In de eerste verzamelronde zijn 24 vruchten per behandeling ingezet en in de tweede ronde 36 vruchten per hormoonbehandeling en per ras.



Figuur 8.7 Foto van de infectietest met rijpe vruchtdelen van paprika.

8.3.3 Resultaten

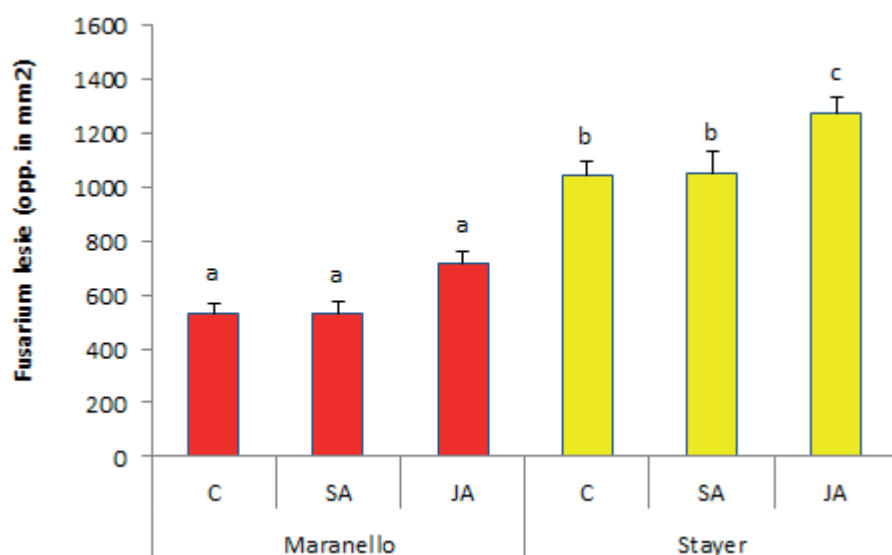
Bij het beoordelen van jonge vruchtbeginsels werd er geen enkel verschil gevonden in de aantasting tussen de hormoonbehandelingen of tussen de cultivars. Er was wel een duidelijk verschil of de bloemen wel of niet met *F. lactis* waren besmet (Tabel 8.2).

Tabel 8.2

Aantal vruchten met uitgroei ingedeeld naar hoge of lage sporenconcentratie.

Behandeling (n=24)	<i>Fusarium</i> uitgroei
Onbesmet	0,1
Hoog	3,3
Laag	3,8

Bij de eerste infectietest met de geogste vruchtdelen leken er verschillen aanwezig te zijn in gevoeligheid voor *Fusarium* tussen de behandelingen. Voor validatie van deze resultaten werd besloten om de test nog een keer te herhalen en dan meer vruchten per behandeling in te zetten om zodoende de variatie binnen behandelingen te verkleinen. In de tweede test is er bij de geogste vruchtdelen een duidelijk verschil in gevoeligheid te zien tussen de cultivars (Figuur 8.8). De doorgroei in de vruchten van Stayer verloopt bijna twee keer sneller dan bij de Maranello vruchten. Daarnaast is het opvallend dat de vruchten die van planten geogst zijn die voorbehandeld waren met jasmonzuur gevoeliger zijn dan de vruchten die afkomstig zijn van planten die behandeld waren met salicylzuur of onbehandeld waren gebleven. In de gele cultivar (Stayer) is dit effect het grootst, maar ook bij de rode cultivar (Maranello) is deze trend goed zichtbaar.



Figuur 8.8 Ontwikkeling van *Fusarium* (aangetast oppervlak in mm²) na kunstmatige infectie van het vruchtvlees van rijpe vruchten van Maranello en Stayer.

8.3.4 Conclusie

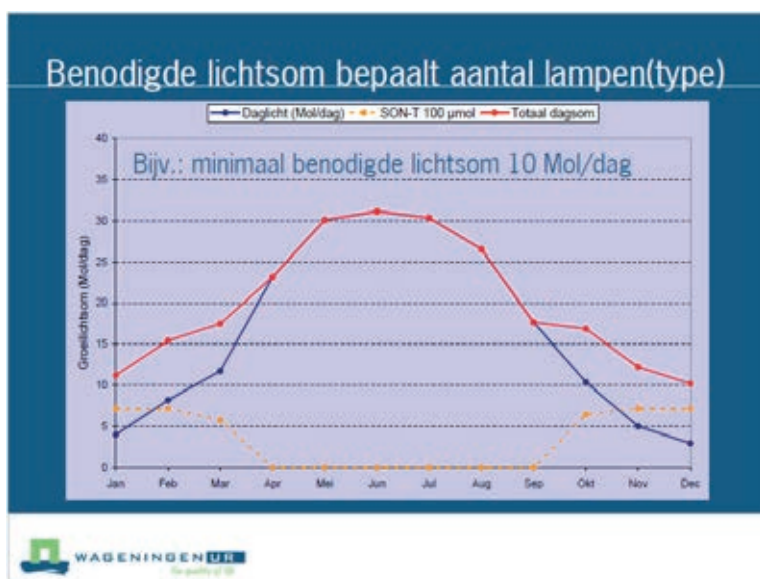
- Er is een klein direct effect van hormoonbehandeling op sporen van *Fusarium lactis* op een kunstmatige voedingsbodem. Bij de directe blootstelling van *F. lactis* sporen aan salicylzuur of jasmonzuur is er een remmende werking op de ontwikkeling van de schimmelgroei. Jasmonzuur heeft daarnaast (net als INA) ook nog een remmende werking op de sporenontwikkeling.
- Systemische behandeling van enkele bladeren van jonge paprikaplanten met INA of jasmonzuur lijkt geen effect te hebben op vermindering van bloeminfectie en de doorgroei naar jonge vruchtbeginsels. Of dit effect sterker als de bloemen direct bespoten worden is niet onderzocht.
- Planten die behandeld zijn met jasmonzuur lijken de uitgroei van *Fusarium* in vruchten te bevorderen. Stimulatie van de jasmonzuur/ethyleen productie van een gewas lijkt in dit geval geen gunstige rol te spelen om de gevoeligheid voor *Fusarium* vruchtrot te verlagen. Het verdient aanbeveling om alle processen in de teelt en naogst kritisch door te lichten die bevorderend werken voor de productie van jasmonzuur en ethyleen en met welke maatregelen dit kan worden beperkt (in periodes met een hoge infectiedruk).

9 Invloed van daglichtsom

9.1 Achtergrond en doel

Licht is een van de belangrijkste klimaatfactoren in een bedekte teelt. In paprika kan bij weinig licht bijvoorbeeld de zetting worden verstoord (Het Nieuwe Telen Paprika, 2011). Daarnaast kan licht ook de ontwikkeling van ziekteverwekkers zoals *F.lactis* sturen (van der Helm *et al.* (2012). Met name de ontwikkeling van sporen en het vrijkomen van sporen van de sporendragers kan sterk onder invloed van licht staan. In een commerciële kas tonen Canadese onderzoekers aan dat bij meer licht de sporen in de kaslucht ook sterk toenemen. Dit gebeurt zowel in het seizoen, in de zomer werden de meeste sporen gemeten, als gedurende de dag. Tussen 10.00u - 23.00u werden er meer dan 2000 sporen ingevangen per uur en tussen 0.00-6.00u verminderde dit aantal naar 500 sporen.

Ook al is er een positieve relatie tussen hogere lichtsommen en de sporendruk, de relatie met het optreden van vruchtrot in rijpe vruchten is nog niet aangetoond. Bij de praktijkmonitoring werd er eerder geen relatie gevonden tussen het aantal *Fusarium*sporen op de bloem en de vruchtaantasting gedurende het seizoen (DPA onderzoek 2014). Wellicht had dit te maken met de relatief lage sporendruk die op de bedrijven in de steekproef aanwezig was. Een andere suggestie was dat de roofwants, Orius de sporenaantallen in de bloemen kan verstoren, omdat er minder sporen werden aangetroffen op bloemen waar Orius aanwezig was (DPA onderzoek 2013). In de kasproef die in 2013 bij het Improvement Centre was uitgevoerd en waar een hoge natuurlijke aantasting optrad, werd wel een sterke relatie aangetroffen tussen sporen in de bloem en het aantal geïnfecteerde vruchten. De focus van deze proef ligt op het volgen van de opbouw of vermindering van ziektedruk onder invloed van een vaste hoeveelheid daglicht en de gevoeligheid voor vruchtinfectie. De lichthoeveelheid gedurende het seizoen is weergegeven in Figuur 9.1.



Figuur 9.1 Dia over lichtsom uit een presentatie over 'Licht in en om de plant' van Tom Dueck (2008).

9.2 Uitvoering

In vier geconditioneerde kassen (24 m²) zijn twee lichtniveaus getoetst, nl. 4 en 8 mol/dag (2 kassen per lichtniveau). De proef startte in november 2015 en het lage lichtniveau werd gelijk gesteld aan het niveau van de natuurlijke daglichtsom in de winterperiode als er niet bij belicht wordt (Figuur 9.1). Het hoge lichtniveau werd 2x zo hoog ingesteld (18u licht:6u donker). Er werd in deze proef voor gekozen om de lichtniveaus in twee afzonderlijke kassen te testen, om de invloed van de ligging en aanwezige geveleffecten op de gewasontwikkeling zoveel mogelijk te beperken. Om vooral de effecten van het licht te bestuderen is besloten om de planttemperatuur zoveel mogelijk gelijk te houden voor alle kassen. Hier is in een enkele periode van afgeweken om de bloemzetting voldoende hoog houden, zodat er wel voldoende bloemen voor de infectiemetingen konden worden verzameld. In alle kassen werd het ras Maranello geplaatst (108 planten per kas).

In de proefkassen is zo goed mogelijk een natuurlijke infectie op gang gebracht door zwaar aangetaste vruchten in elke kas te plaatsen om de infectie van de bloemen te stimulerend (1 vrucht per tafel). In de geconditioneerde kassen staat een sterke ventilatiestroming waardoor de sporen gelijkmatig in de hele kas worden verdeeld.

Na het einde van de lichtproef leek de infectiedruk in de kas te zijn afgenomen. Dit bood een goede gelegenheid om de positieve resultaten van de antagonistenscreening verder op te pakken in een kasproef met paprikaplanten. Drie antagonisten (Biobest exp. 1 en 2 en Serenade) en een onbehandelde controle zijn via een gewasbehandeling toegediend. Bij de eerste inoculatie in beide lichtbehandelingen en bij de tweede inoculatie alleen in de lichtbehandeling met 8 mol, omdat dit gewas toen nog voldoende bloemen produceerde. De resultaten zijn niet verder opgenomen in dit rapport. De infectiedruk bleek toch veel hoger te zijn dan gedacht. De zg. onbesmette controle vertoonde al een hoog infectieniveau en er werden geen verschillen waargenomen tussen de behandelingen en de besmette controlebehandelingen.

Er zijn dataloggers in de kas geplaatst om naast de omgevingstemperatuur ook de planttemperatuur te meten. Om een indruk te krijgen van de algehele vitaliteit van de plant zijn er plantsapanalyses en bladgroen (SPAD) metingen uitgevoerd. Voor de bepaling van het plantsap is bladmateriaal verzameld van jonge bladeren en opgestuurd naar NovaCropControl. Tijdens de proefperiode werd de aanwezige trips bestreden met Vertimec (100 ml/100L) en Biosweet (50 ml/100L). Tegen luis werd Admire en Plenum volgens de etiketdosering ingezet.

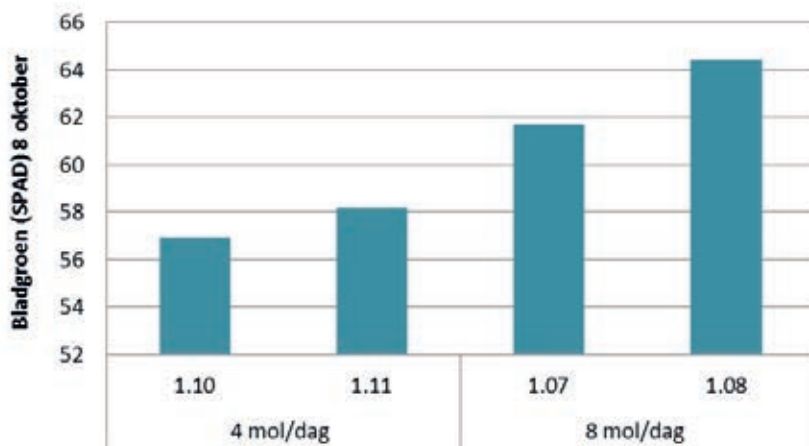
Met luchtaanzuigers, zg. *airsamplers* is geprobeerd om een indruk te krijgen van het verloop van de sporendruk in de kas. Hierbij werden sporen gedurende een bepaalde tijd aangezogen met een vast luchtvolume (50 of 100 liter) en ingevangen op een specifiek medium voor *Fusarium* sporen (Komada agar).

Om de doorgroei van sporen naar de vruchtbeginsels te volgen zijn jonge vruchtbeginsels (< 1 week oud) verzameld en uitgeplaat op Komada medium. Na een incubatieperiode van 3-7 dagen in de broedstoof is de uitgroei van *Fusarium* waargenomen.

9.3 Resultaten

9.3.1 Gewasontwikkeling

Al binnen enkele weken werden de verschillen in gewasgroei zichtbaar. Het gewas dat groeide bij een lichtniveau met 8 mol/dag was zichtbaar voller en groener dan het gewas dat groeide bij 4 mol/dag. Dit verschil was ook meetbaar met behulp van de bladgroenmetingen (Figuur 9.2).



Figuur 9.2 De gemiddelde hoeveelheid bladgroen in vier kleine kasafdelingen (24 m^2) met 4 of 8 mol assimilatielicht per dag.

9.3.2 Plantsapanalyses

De samenstelling van het plantsap varieerde sterk tussen het bladmateriaal uit de verschillende lichtbehandelingen (Tabel 9.1). Bij het lichtniveau van 8 mol per dag zijn er ten opzichte van 4 mol per dag significant hogere concentraties aanwezig van: suikers, ammonium, mangaan en aluminium. De elementen die lagere concentraties vertoonden waren: calcium, zwavel, fosfaat, silicium, ijzer en koper. In hoeverre deze elementen een bepalende rol spelen bij de verhoogde gevoeligheid voor vruchtrot infectie is nog niet duidelijk. Opvallend is de hoge concentratie van suikers. Dit komt overeen met onderzoek bij andere kasluchtschimmels, zoals meeldauw en Botrytis waarbij de hoogste gevoeligheid eveneens wordt aangetroffen in gewassen met de hoogste suiker concentraties in de plantsapanalyses (Hofland-Zijlstra *et al.* 2017).

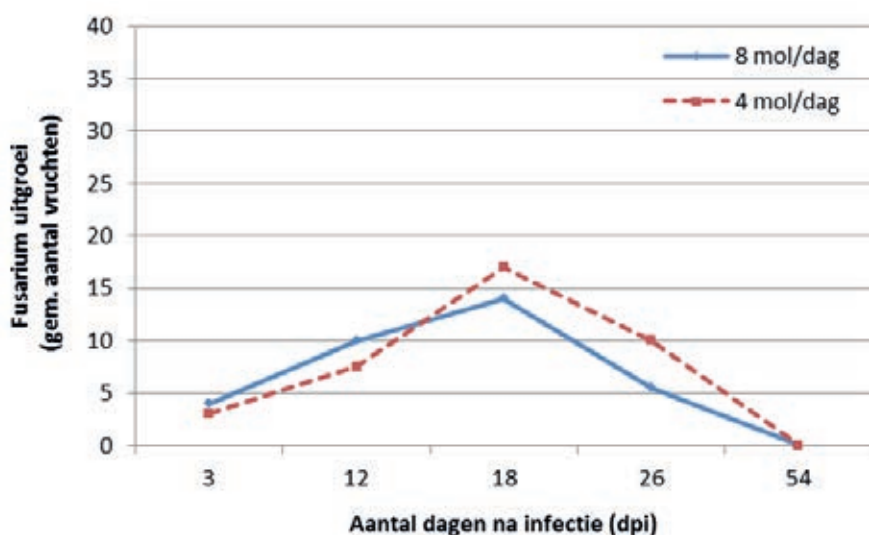
Tabel 9.1

Overzicht van de verschillen in de plantsapanalyses tussen de belichtingsbehandelingen met 4 of 8 mol stralingssom per dag.

Element (ppm)	4 mol	8 mol	sign. verschil (ns niet sign.; (*) P<0.10; * P< 0.05; ** P<0.01; *** P<0.001)
Suikers (%)	0,45	0,63	**
pH	5,73	5,65	(*)
EC (mS/cm)	15,58	18,10	ns
K - Kalium	8867,45	9364,13	ns
Ca - Calcium	11,13	5,45	*
K / Ca	818,09	9114,38	ns
Mg - Magnesium	605,20	561,70	ns
Na - Natrium	2,38	1,58	ns
NH ₄ - Ammonium	42,93	54,58	**
NO ₃ - Nitraat	5734,18	4930,10	(*)
N uit Nitraat	1294,50	1112,75	(*)
N - Stikstof totaal	2328,88	2186,35	ns
Cl - Chloride	50,48	52,60	ns
S - Zwavel	855,88	663,45	***
P - Fosfaat	413,13	358,28	*
Si - Silicium	3,88	1,98	*
Fe - Ijzer	1,81	1,58	*
Mn - Mangaan	9,28	11,58	*
Zn - Zink	5,10	5,22	ns
B - Borium	0,56	0,48	ns
Cu - Koper	0,74	0,45	***
Mo - Molybdeen	0,43	0,28	ns
Al - Aluminium	0,07	0,10	*

9.3.3 *Fusarium* infectie

In de eerste weken van de proef nadat de eerste infectie op gang was gebracht, waren er weinig verschillen meetbaar in uitgroei van *Fusarium* uit jonge vruchtbeginsels tussen de lichtbehandelingen (Figuur 9.3). De infectiedruk bereikte een piek 4 dagen na inbreng van de besmette vruchten (en 14 dagen na inzet proef) en uitgroei bij 4 mol per dag lijkt iets hoger te zijn dan bij 8 mol per dag, maar de verschillen zijn gering. Er lijkt een positieve relatie te zijn tussen de inbreng van sporen en het optreden van vruchtinfecties. Zonder verversing van sporen geen nieuwe infecties. Aan het einde van de proefperiode is de uitgroei van *Fusarium* nauwelijks meer aanwezig.



Figuur 9.3 Aantal jonge vruchtbeginsels met *Fusarium* uitgroei in de lichtbehandeling met 4 of 8 mol/dag. Vanaf tijdstip 0 dpi zijn de kassen geïnfecteerd met *Fusarium* sporen en vervolgens vanaf 14 dpi zijn er aanvullend besmette vruchten in elke kas geplaatst.

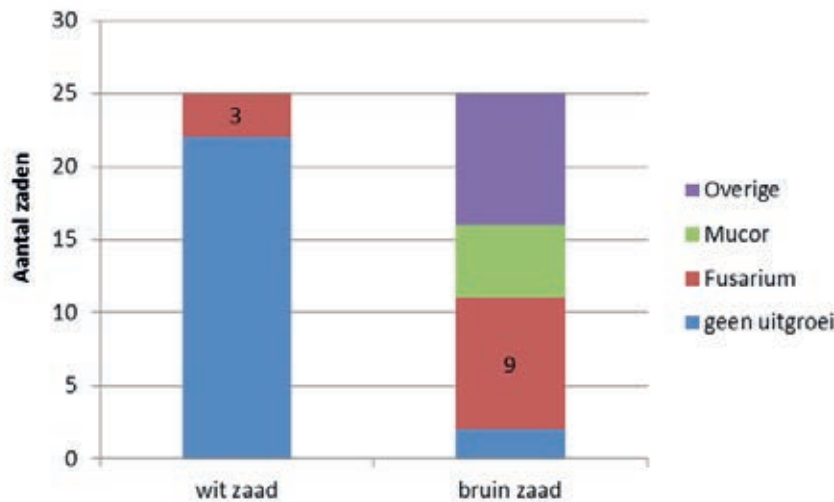
Naast de effecten van licht op de *Fusarium* ontwikkeling is er ook onderzocht of er een relatie was tussen *Fusarium* aantasting en vruchtontwikkeling (Tabel 9.2). Er werd geen relatie gevonden tussen vruchten met een aantasting van *Fusarium* en het vruchtgewicht of aantal geproduceerde vruchten tussen lichtbehandelingen.

Tabel 9.2

Overzicht van de oogstgegevens in december en januari in de lichtbehandelingen met 4 of 8 mol per dag (gemiddeld aantal geoogste rijpe vruchten van 2 kascompartimenten).

	gewicht (g)	aantal vruchten	gem. vruchtgew. (g)	met <i>Fusarium</i> (#)	met bruine zaden (#)	aantal gezond
8 mol/dag						
1-12-2015	13307	124	108	7	34	83
17-12-2015	10244	97	106	3	45	50
7-1-2016	11775	110	107	5	39	66
4 mol/dag						
1-12-2015	538	5	111	0	2.5	2.5
17-12-2015	8610	72	120	6	23	43
7-1-2016	8969	85	108	1	32	52

Er was een groot verschil in de mate waarin *Fusarium* uitgroeide uit de zaden van vruchten uit de lichtbehandelingen (Figuur 9.4). In de bruine zaden werd vaker *Fusarium* groei waargenomen dan in de witte zaden. Niet alleen *Fusarium* was in hoge mate aanwezig, maar ook *Mucor* en andere schimmelsoorten. *Mucor* is een opportunistische schimmel die op een rijke voedingsbodem zeer snel kan groeien en een hogere groeisnelheid heeft dan *Fusarium* soorten. Opvallend is dat het witte zaad niet alleen minder *Fusarium* uitgroei toont, maar ook geen uitgroei geeft van andere soorten.



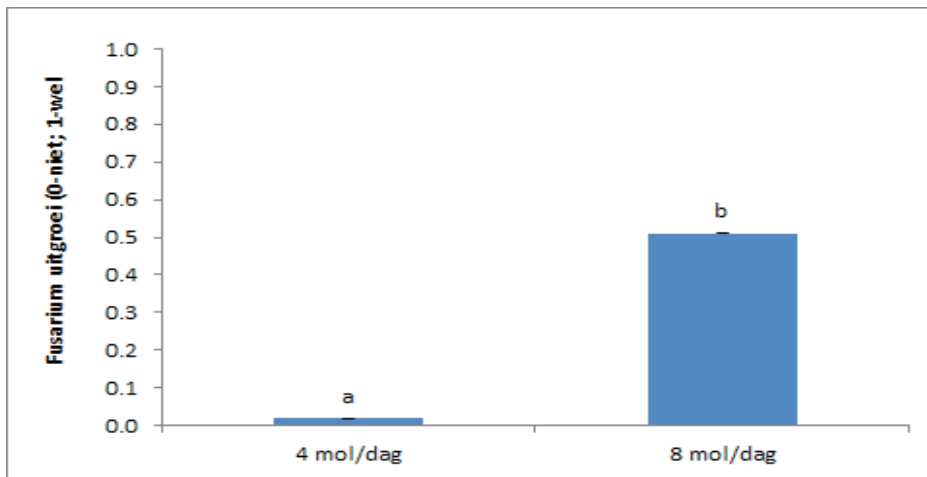
Figuur 9.4 Aantal witte en bruin verkleurde zaden met uitgroei van verschillende schimmelsoorten afkomstig van vruchten uit de lichtbehandeling met 4 of 8 mol/dag.

9.3.4 Sporendrukmetingen in de kaslucht

Het meten van sporen in de kaslucht bleek niet bruikbaar als maat voor de infectiedruk in een kas. Bij het scoren van de kolonies op de voedingsplaten die ingezet waren voor het meten van de sporendruk met behulp van luchtaanzuigers was er op de selectieve voedingsplaten een sterke groei zichtbaar van *Penicillium* soorten (40-400 sporen/50 liter ingevangen lucht) waardoor het lastig was *Fusarium* onderscheidend genoeg waar te nemen. De metingen toonden vervolgens geen relatie met de infectiedruk in de kas en de aantasting die waargenomen werd in de jonge vruchtbeginsels. De groei van *Penicillium* soorten is zelfs op specifieke voedingsplaten met daarin breedwerkende fungiciden lastig te onderdrukken. Dit probleem is ook aanwezig bij de voedingsplaten die specifiek zijn voor *Botrytis*. Daarnaast blijft het lastig om aan de hand van de kolonievorm of kleur een onderscheid te maken met alle overige en meestal niet schadelijke *Fusarium* soorten die ook kunnen voorkomen. Ook deze tonen namelijk de typische roze kleur die veel *Fusarium* soorten kenmerkt. Om wel gericht *Fusarium lactis* te kunnen onderscheiden van andere *Fusarium* soorten is later in het onderzoek een moleculaire methode ontwikkeld waarmee wel specifiekere schimmelsoorten van het *F. lactis* complex zijn op te sporen. Hiervoor is contact gelegd met de Belgische onderzoeker, Kris Poucke van het ILVO.

9.3.5 *Fusarium* in jonge vruchtbeginsels

Aan het einde van de proefperiode zijn naast de nagebootste natuurlijke infectiedruk aanvullend bloemen gericht geïnfecteerd met *Fusarium*. Wat opvalt is dat er dan veel meer uitgroei van *Fusarium* te zien is in de jonge vruchtbeginsels uit de kassen met 8 mol/dag dan bij de vruchtjes die afkomstig zijn van de kas met 4 mol/dag belichting (Figuur 9.5).



Figuur 9.5 Aantal jonge vruchtbeginsels met *Fusarium* uitgroei in de lichtbehandeling met 4 of 8 mol/dag.

9.4 Conclusie

- Inbreng van *Fusarium* sporen via kaslucht of vruchten is binnen 4 dagen in jonge vruchtbeginsels op te sporen. Bij verlaging van de sporendruk raken minder vruchtjes geïnfecteerd. Kortom verwijderen van infectiebronnen blijft belangrijk om de sporendruk te verlagen.
- Bij hogere lichtniveaus is de kans op *Fusarium* infectie hoger dan bij lagere lichtniveaus. *Fusarium* groei in jonge vruchtbeginsels wordt namelijk meer bevorderd bij 8 mol dan bij 4 mol per dag.
- In plantsapanalyses zijn er bij het lichtniveau van 8 mol/dag ten opzichte van 4 mol per dag significant hogere concentraties aanwezig van: suikers, ammonium, mangaan en aluminium. De elementen met verlaagde concentraties waren: calcium, zwavel, fosfaat, silicium, ijzer en koper.
- Vruchten met meer bruine zaden tonen een verhoogd risico op schimmel uitgroei in het algemeen en daarnaast op uitgroei van *Fusarium*.
- Meting van de sporendruk in de kaslucht met luchtaanzuigers (zg. airsamplers) is niet indicatief voor de *Fusarium* infectiedruk in een kas.
- Een vroege inzet van antagonisten bij een lage sporendruk is noodzakelijk, zodat deze de bloem tijdig genoeg kunnen bedekken. Curatieve inzet heeft geen effect. Herhaaldelijk inzetten voordat *Fusarium* vruchten zichtbaar zijn, aan het begin van het seizoen.

10 Invloed van klimaat I: EC en worteltemperatuur

10.1 Achtergrond en doel

Bij het optreden van vruchtrot in paprika lijkt klimaat een belangrijke rol te spelen. In elk jaar dat *Fusarium* optreedt, lijkt er namelijk een samenhang te zijn met specifieke teeltweken en periodes van zetting bij de bedrijven die te maken hebben met vruchtrot. Door de complexe samenhang van interacties is het alleen niet eenvoudig om hier causaal onderzoek naar te verrichten zodanig dat er slechts één of twee variabelen worden getoetst. Aan de opzet van deze proef ging dan ook veel discussie vooraf over de onderzoeksvraag en op welke manier de proef was uit te voeren. Eén van de ideeën was dat gewassen die direct met de matten en wortels op een teeltvloer staat in de ochtend een koudere start hebben en later op temperatuur komen dan gewassen die op teeltgoten staan. Als de zon op komt en de gewasverdamping op gang komt veroorzaakt dit een grotere verticale temperatuurgradiënt in het gewas. De kop is dan al vroeg op temperatuur, terwijl de wortels nog koud kunnen zijn. Richting de avond koelt de kop van het gewas vervolgens weer eerder af, terwijl de wortels nog warmer blijven en nog steeds water omhoog blijven stuwen. Hierdoor kan er meer turgordruk in het gewas ontstaan en een hogere spanning op de vruchten geven. In extreme condities zou dit dan kunnen leiden tot misvorming van de hokken van de paprikavrukt en een dunnere vruchtbodem. Het gaatje dat vervolgens ontstaat door wegval van de stamper in de vruchtbodem kan benut worden als wondopening door *Fusarium*. Insecten, zoals bv. fruitvliegjes zijn in staat om *Fusarium* sporen actief over te brengen van de ene naar de andere vrucht. In dit geval zou dan de *Fusarium* infectie niet starten via de bloem, maar van buitenaf via het gaatje in de vrucht.

Doel van deze proef was om de invloed te proberen een onbalans in worteldruk en verdamping op te wekken door verschillen aan te leggen met verschillende EC niveaus en worteltemperatuur. Vervolgens is onderzocht of dit doorwerkt naar een lagere vruchtkwaliteit met dunnere vruchtbodems én of dit dan resulteert in een verhoogde gevoeligheid voor *Fusarium* vruchtrot.

De proef werd actief begeleid door de telersgroep die maandelijks de proef bezocht (Figuur 10.1).



Figuur 10.1 Bezoek van de begeleidende telersgroep in de paprikakas. De vloeren van de teelttafels links van de kas waren ingesteld op een hogere temperatuur dan de tafels aan de rechterkant. Elke tafel werd daarnaast apart voorzien van voedingswater met een hoge of lage EC.

10.2 Uitvoering

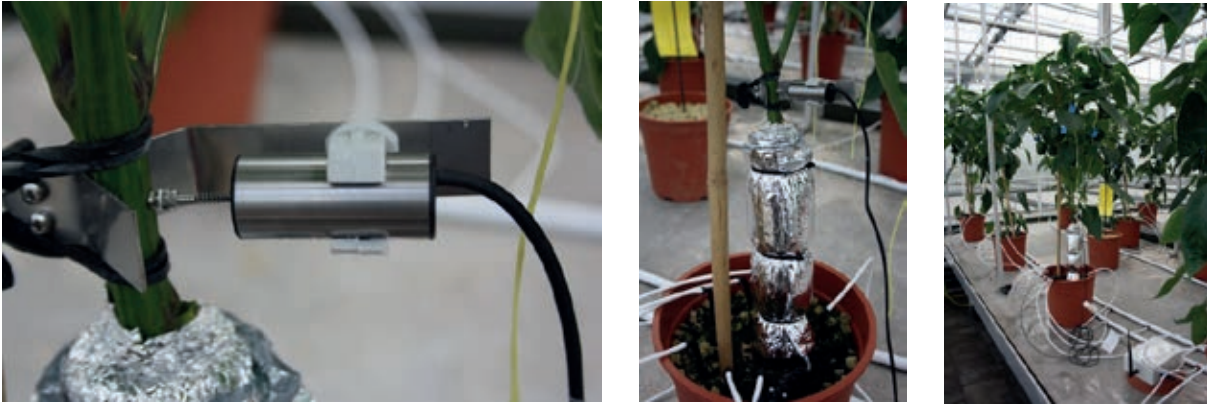
In een grote proefkas (144 m²) met jonge paprikaplanten (cultivar Maranello) zijn verschillende behandelingen uitgevoerd waarin met EC en temperatuur werd gestuurd om invloed uit te oefenen op de worteldruk (Tabel 10.1). De proef is uitgevoerd in de periode van mei tot en met september 2016. Behandelingen: Normale EC: 2.8 mS/cm; Verlaagd: 0.5 mS/cm; verhoogd: 5.0 mS/cm. Tegelijkertijd zijn behandelingen met twee verschillende worteltemperaturen uitgevoerd. Een standaard behandeling en een behandeling waarbij de nachttemperatuur met ongeveer 5°C werd verhoogd. Bij de behandelingen met EC is gedurende een aantal weken de worteldruk in de nacht verhoogd of verlaagd door te sturen op een snelle verhoging of verlaging van de EC in de voedingsoplossing. Dit gebeurde elke dag voor zonsopgang en bij zonsondergang. Om dit te bereiken werden de potten in korte tijd volledig doorgespoeld (4 x potvolume). Er is uitvoerig gemonitord in hoeverre de behandelingen invloed hadden op de ontwikkeling van bloemzetting en de vruchten (vruchtvorm, vruchtdikte). Dit is uitgevoerd door een Franse stagiaire, Elise Bizourné die nauwkeurig alle metingen verrichtte.

Tabel 10.1

Overzicht van de behandelingen met EC en tafeltemperatuur.

EC*			
Temperatuur	EC - laag (ca 0.5 mS/cm)	EC - hoog (5 mS/cm)	EC - normaal (2.8 mS/cm)
T - Normaal (geen tafel verwarming)	x	x	x
T - Verhoogd (tafel verwarming max 45°; +2 °C)	x	x	x
*EC dosering hoog/laag bij zonsondergang en terug naar normaal bij zonsopgang			

Voor het registreren van waterstromen in een plant is gebruik gemaakt van een sapstroommeters (firma PhytoSense, Dirk Pauw, België) om de verschillen in sapstroom te registreren. Deze apparatuur is succesvol geïnstalleerd nadat de stengels een dikte van 13 mm hadden bereikt. Bij elke EC behandeling werd op een plant een sensor geïnstalleerd (Figuur 10.2). Eén plant met daarop een sapstroommeter is als proefplant gebruikt om de effecten van verschillende proefbehandelingen op de sapstroom vast te stellen, zoals nog grotere EC verschillen of het afdekken van een plant waardoor de verdamping volledig wordt beperkt. De vier sensoren waren met kabels verbonden aan het basisstation en bevonden zich daarom op korte afstand van elkaar. Via het basisstation werd de informatie doorgestuurd naar een website waar met een inlogcode toegang werd verkregen tot de grafieken met het verloop van de sapstroom en de stengeldiameter data weergegeven per 5 minuten.



Figuur 10.2. Geïnstalleerde sapstroommeters op 4 jonge paprikaplanten. Op de foto links is het basisstation (grijze kastje) zichtbaar waar de vier sensoren aan verbonden zijn. Foto rechts toont de waarneming van de stengeldiameter. Nauwkeurige registratie laat duidelijke dag- en nachtpatronen zien van stengelgroei en inkrimping.

Tijdens de proefperiode trad er geen natuurlijke infectie op van *Fusarium* vruchtrot. Om toch een relatie te kunnen leggen met de EC en temperatuurbehandelingen en de gevoeligheid voor *Fusarium* is besloten om een aantal vruchten per behandeling alsnog kunstmatig te infecteren, zodat kon worden getoetst of de gevoeligheid voor *Fusarium* infectie toenam of niet. Eind juli is de eerste test uitgevoerd en zijn vier vruchten per behandeling kunstmatig geïnficeerd met *Fusarium*, inclusief onbesmette controles. Op dat moment was er nog geen dunnere vruchtbodem waarneembaar of een gaatje in de vruchtbodem. Daarom werd besloten ook dit fenomeen kunstmatig na te bootsen en werd met een dunne naald een gaatje in de bodem gemaakt (5 mm). De vruchten die tijdens de behandeling aan de plant bleven hangen, zijn rondom het gaatje bespoten met *Fusarium* sporen (1.10^4 sp/ml) op een afstand van 10 cm om het zoveel mogelijk overeen te laten komen met een praktijksituatie. Na 11 dagen zijn de vruchten doorgesneden en werd de beoordeling van de vruchtkwaliteit, vorm en zaadkleur uitgevoerd. Voor het beoordeling van de vruchtkwaliteit werd de volgende index gebruikt: 0- geen *Fusarium*, 1- plukje *Fusarium*, 2- grote pluk *Fusarium*, 3- veel *Fusarium*.

In de tweede testen zijn extra vruchten meegenomen die niet waren voorbehandeld door een kunstmatig gat in vruchtbodem aan te brengen. Ook werd het aantal vruchten per behandeling uitgebreid van 4 naar 8 vruchten. *Fusarium* behandeling vond op dezelfde wijze plaats door sporen rond de vruchtbodem te vernevelen. De beoordeling van de vruchten en zaden werd uitgevoerd na 5 dagen.

10.3 Resultaten

10.3.1 Gewasontwikkeling

Wat als eerste opviel was dat er geen grote zichtbare verschillen in gewasgroei optraden tussen de behandelingen. Bij het vaststellen van de behandelingen was gedacht dat met het dagelijks wisselen van de EC behandelingen er op het oog al zichtbare verschillen in de plantengroei zou optreden. Maar deze effecten bleven uit. Voor de meeste proeven met EC en worteltemperatuur wordt bij voorkeur gebruik gemaakt van komkommerplanten en deze laten in korte tijd grote verschillen zien in plantengroei. Een EC proef op deze wijze met paprikaplanten was dus nieuw. De paprikaplanten leken in het algemeen niet heel erg gevoelig voor de EC of de temperatuurbehandelingen en goed in staat om daar hun groei op af te stemmen. Er was bij de opzet bewust voor gekozen om de EC behandelingen dagelijks te fluctueren juist om gewinning te voorkomen. Kennelijk zijn ze ook goed in staat om zich snel aan dagelijks wisselende EC regimes aan te passen. Er werd geen invloed vastgesteld van de EC op de bloemvorm, vruchtvorm (aantal hokken, diameter van 1e en 2° zetsel) of de vruchtkwaliteit (normaal vs. knopen).

Na veel analyses waren er toch een paar kleine verschillen op te merken, zie Tabel 10.2 en Bijlage 3. De effecten van EC behandelingen of temperatuur gaven geen uitval van de stamper uit de vrucht en vormden geen aanleiding tot een wondopening onderaan de vrucht of een verhoogde gevoeligheid voor *F. lactis*.

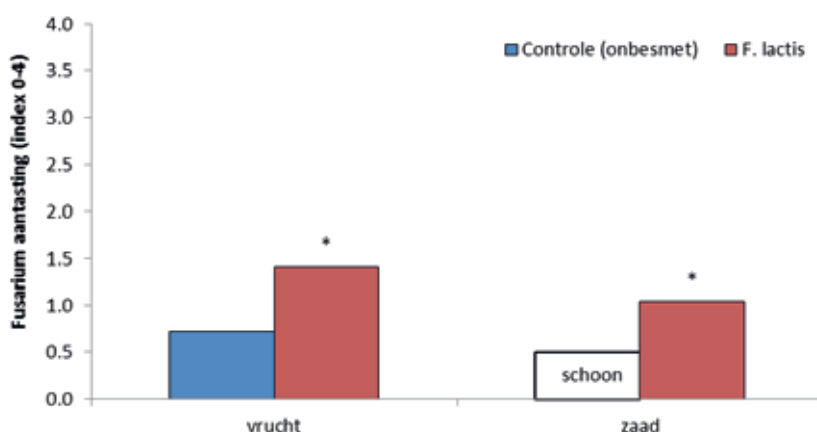
Tabel 10.2

Overzicht van de resultaten van EC en worteltemperatuur op de vrucht- en zaadkwaliteit.

Behandelingen	Gewas en vrucht
EC	Hoge EC: iets tragere uitgroei vruchten, iets kleinere vruchten met dunnere vruchtbodem.
Temperatuur	Hoge T: iets snellere uitgroei vruchten, kleinere vruchten, meer bruingekeurde zaden.

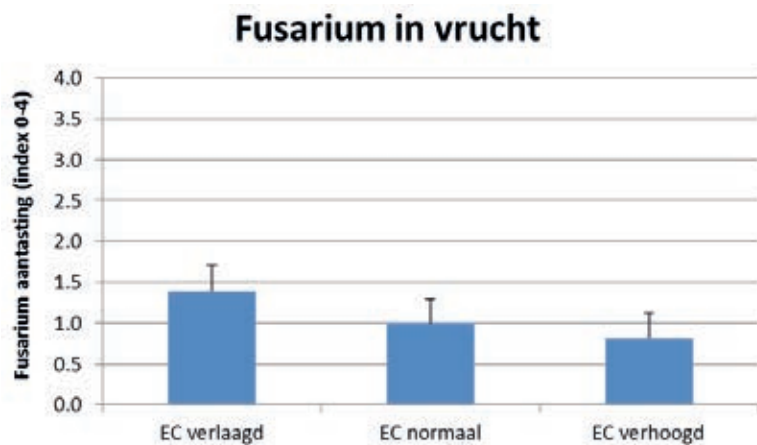
10.3.2 Vruchttest met kunstmatige *Fusarium* infectie

Na het gericht bespuiten van de kunstmatig beschadigde vruchten met *Fusarium* sporen, was er meer *Fusarium* aantasting terug te vinden aan de binnenkant van de vruchten (Figuur 10.3). Zodra vruchten een opening vertonen dan neemt in ieder geval de kans op een inwendige besmetting toe, omdat de sporen in staat zijn om van buitenaf de vrucht binnen te dringen. De zaadlijsten vertonen eveneens meer ontwikkeling van *Fusarium* schimmelpuis in vergelijking met de onbesmette controlevruchten.

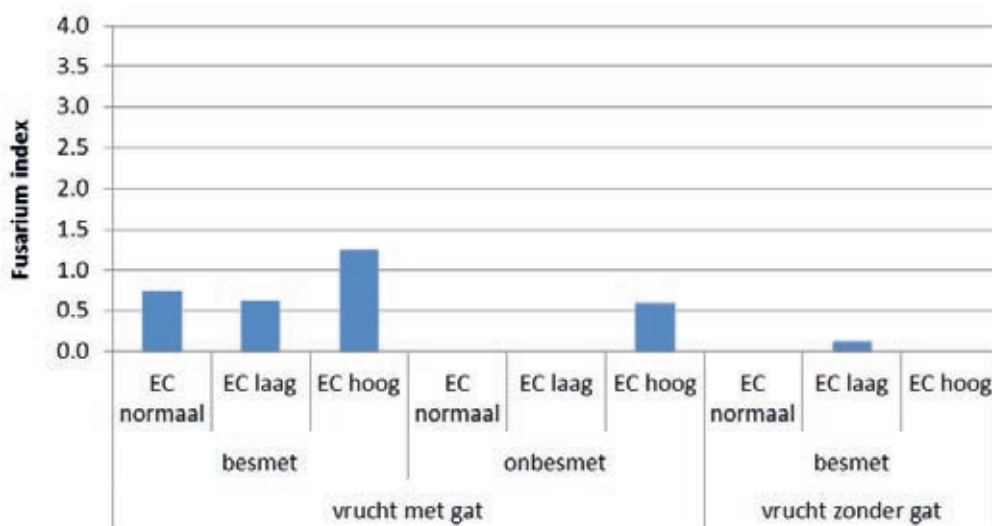


Figuur 10.3. Beoordeling van de *Fusarium* aantasting middels een index (0-4) van de vruchten en zaden. Een asterisk op de kolom geeft een significant verschil weer tussen de behandelingen met of zonder infectie (Tukey's test, $P < 0.05$).

In de eerste test was er geen significant behandelingseffect terug te vinden van EC (Figuur 10.4). Er leek een tendens dat een hogere EC de *Fusarium* ontwikkeling vertraagde. In de tweede test waren er helaas evenmin significante effecten meetbaar en werd de trend niet bevestigd (Figuur 10.5). Kortom, er zijn geen conclusies te verbinden aan de behandelingen met EC en worteltemperatuur en de gevoeligheid van de vruchten voor *Fusarium* vruchtrot. Wel is duidelijk dat vruchten met een verwonding (opening in de vruchtbodem) een hoger risico op inwendig vruchtrot lopen en dat dit de kans op bruinkleuring van de zaden verhoogd.



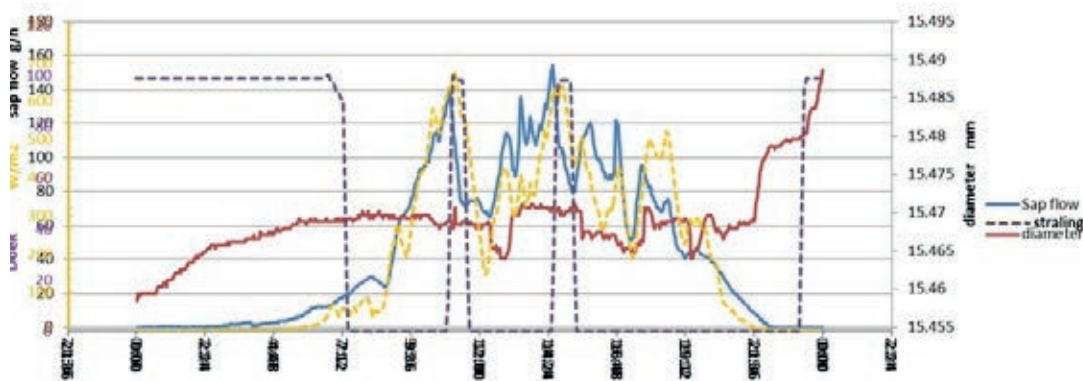
Figuur 10.4 Beoordeling van de Fusarium aantasting in de eerste test met 4 vruchten per behandeling middels een index (0-4) van de vruchten en zaden. Hierbij waren alle vruchten voor infectie beschadigd met een gat aan de onderkant.



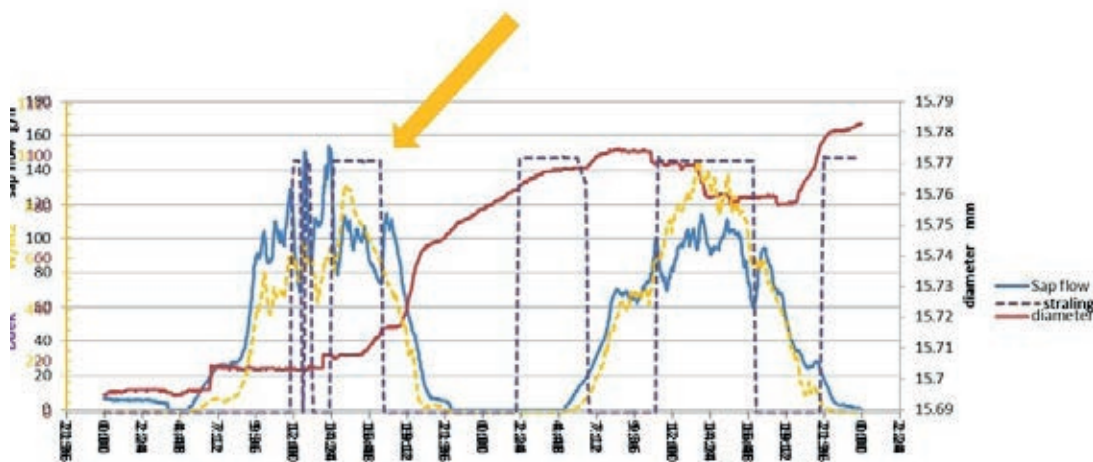
Figuur 10.5 Beoordeling van de Fusarium aantasting in de tweede test met 8 vruchten per behandeling middels een Fusarium index (0-4). In deze test zijn eveneens onbeschadigde vruchten ingezet.

10.3.3 Sapstroom metingen

Na het binnenhalen van de informatie van de sapstroom meters is er een vergelijking gemaakt met de klimaatgegevens. In de volgende grafieken worden een aantal voorbeelden getoond die laten zien hoe de sapstroom verloopt gedurende de dag op verschillende dagen. Figuur 10.6 geeft het verloop van de sapstroom aan op een zonnige dag met hoge instraling. Wat opvalt is dat de sapstroom vrijwel gelijk loopt met de instraling. De sapstroom lijkt zelfs iets eerder op gang te komen dan dat de zon opkomt en geregistreerd wordt met de PAR meter. Als bij een hoge instraling het scherm gesloten wordt, dan valt meteen de sapstroom met bijna 50% terug om daarna met het open gaan van het scherm weer toe te nemen. Aan het einde van de dag zakt de sapstroom weg als de lichtintensiteit afneemt naar de avond toe. De grafiek geeft ook de variatie van de stengeldiameter weer. In de avonduren neemt de stengel in omvang toe en is er sprake van groei en overdag neemt de stengelomvang weer iets af. Het scherm-effect is ook goed terug te zien in Figuur 10.7.

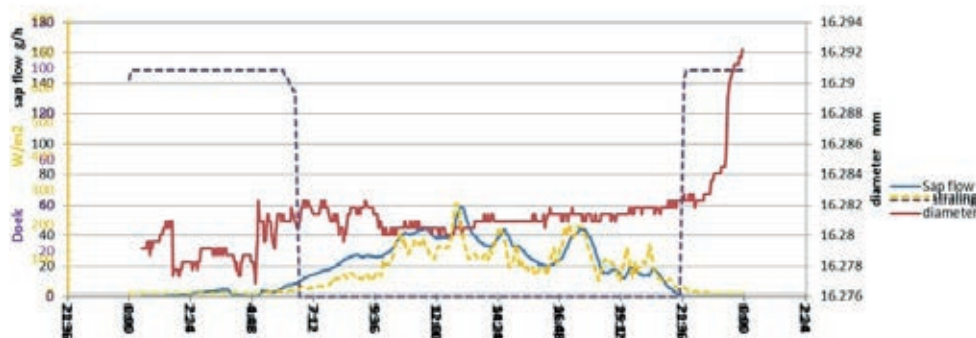


Figuur 10.6 Sapstroom op een zonnige dag in mei/juni. Legenda: blauwe lijn – sapstroommeting, gele stippellijn – instraling, rode lijn – stengeldiameter, grijze stippellijn is schermstand.



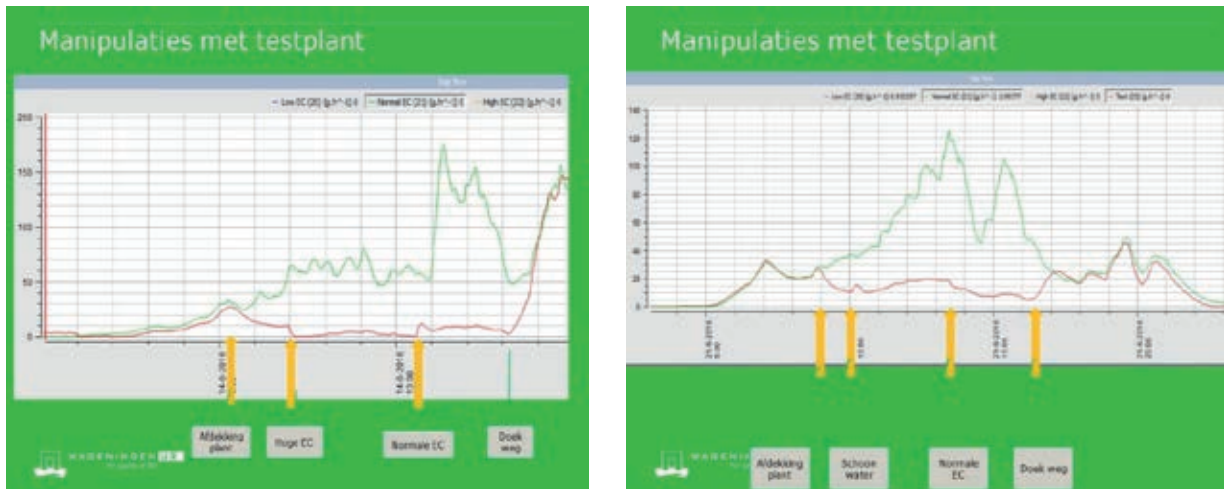
Figuur 10.7 Invloed van schermen op sapstroom aangeduid met de gele pijl. Legenda: blauwe lijn – sapstroommeting, gele stippellijn – instraling, rode lijn – stengeldiameter, grijze stippellijn is schermstand.

Op een dag met minder instraling, verloopt de sapstroom eveneens gelijkmatig met het patroon van de instraling (Figuur 10.8). Het scherm blijft dan de hele tijd open.



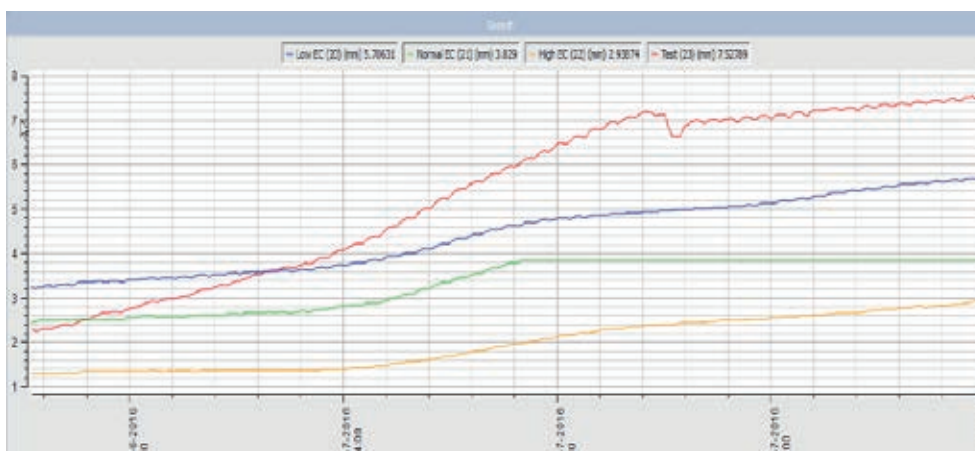
Figuur 10.8 Sapstroom op een donkere dag. Legenda: blauwe lijn – sapstroommeting, gele stippellijn – instraling, rode lijn – stengeldiameter, grijze stippellijn is schermstand.

De verschillende manipulaties met de testplant zijn weergegeven in Figuur 10.9. Op twee verschillende dagen is de plant volledig afgedekt met een doek gedurende een bepaalde tijd. Dan zakt gelijk de sapstroom terug om daarna weer toe te nemen als het doek weer wordt weggehaald.



Figuur 10.9 Invloed van plant bedekking en EC verhoging op de sapstroom.

De stengel van de paprika vertoont gedurende 24 uur steeds regelmatige bewegingen van groei en stabiliteit. In de nacht als de verdamping wegvalt, neemt de stengel iets in omvang toe om overdag weer in een stabiele stand te komen en soms zelfs iets af te nemen (Figuur 10.10). Bij de behandeling met de hoge EC leek de stengeldiameter minder toe te nemen in vergelijking met de lage EC en de standaard EC.



Figuur 10.10 Variatie in de diameter van de paprikastengel tussen de verschillende EC behandelingen. Legenda: gele lijn – hoge EC, groene lijn – standaard EC, blauwe lijn – lage EC, rode lijn – testplant.

10.4 Relatie met Het Nieuwe Telen

Een belangrijke conclusie van de sapstroommetingen was dat het afdekken van een plant en schermen grote invloed heeft op de sapstroom van de plant. Binnen het denkkader van Het Nieuwe Telen neemt het gebruik van schermen een belangrijke rol in. Deels om warmteverlies tegen te gaan door het voorkomen van uitstraling via het kasdek (het grootst bij heldere nachten) en deels om de verticale temperatuurgradiënten vlakker te houden en minder te laten schommelen (<https://www.kasalsenergiebron.nl/besparen/het-nieuwe-telen/>).

Om kennis op te doen over de relatie tussen *Fusarium* vruchtrot en klimaatsturing binnen energiezuinige kasconcepten werd aangehaakt bij het onderzoek van Kas als Energiebron in de Venlow Energy Kas. Er werden tijdens de teelt jonge vruchtbeginsels en bladdelen met bloemen verzameld om te monitoren op de natuurlijke infectiedruk van *Fusarium* en de gevoeligheid van het gewas met bloemdelen te bepalen is door deze kunstmatige te infecteren met *F. lactis*. De resultaten hiervan zijn na te lezen in Bijlage 4 (De Zwart *et al.* 2016). De VenLow Energy kas is één van de onderzoekskassen van Het Innovatie en Democentrum-Energie. De kas kenmerkt zich door een laag energieverbruik in combinatie met een energiezuinige teelttechniek. De kas heeft een hoge isolatiewaarde door de toepassing van HR+ glas, een energiescherm en een ontvochtigingssysteem die de warmte uit de afgevoerde vochtige kaslucht voor 80% terugwint. De energiezuinige teelttechniek omvatte het uitgesteld luchten op temperatuur, het intensief gebruik van het scherm (3540 schermuren), het achterwege laten van een minimumbuis, en het accepteren van een hoge luchtvochtigheid (1000 uur boven de 90% en 2000 uur boven de 85% RV).

De belangrijkste conclusie is dat in de betreffende Venlow Energy Kas in de kritische periode van mei, juni geen natuurlijke infectiedruk wordt gevonden van *Fusarium* op de bloemen en in de vruchtbeginsels ten opzichte van de referentieteelt bij WUR Glastuinbouw. De gehanteerde klimaatsturing lijkt de natuurlijke opbouw van *Fusarium* sporen in de kas in afdoende mate te remmen. In de referentiekas lag de luchtvochtigheid gedurende het jaar zo'n 5%- lager. Eind augustus werd de eerste aantasting aangetroffen en in september nam de natuurlijke infectiedruk toe, maar het gemiddelde infectieniveau ligt genomen over het hele seizoen nog steeds lager ten opzichte van de referentieteelt. In de Venlow Energy Kas is wel elke dag gezwaveld, 2 uur per nacht in het jonge gewas en dit werd opgevoerd vanaf augustus toen de ziektedruk toenam. Het is niet duidelijk wat de bijdrage van zwavel is aan het verminderen van de ziektegevoeligheid. In het lichtonderzoek (H 8) is eerder wel een relatie gevonden met minder zwavel in plantsapanalyses en meer *Fusarium* aantasting in vruchten. Op de website van LTO Glaskracht Nederland is ook bij nieuwsberichten een film terug te bekijken over de resultaten van Het Nieuwe Telen in paprika: <https://www.ltoglaskracht nederland.nl/nieuws/filmpje-schermen-bij-tropisch-weer-geen-binnenrot/>

10.5 Conclusie

- De effecten van EC en temperatuurbehandelingen waren dusdanig gering dat dit geen zichtbare openingen in de vruchtbodem gaf. Een natuurlijke infectie met *Fusarium* bleef uit, zodat er geen uitspraak is te doen over de samenhang tussen beide factoren.
- Vruchten met een wondopening zijn gevoeliger voor inwendig vruchtrot en bruinkleuring van zaden als er *Fusarium* sporen in de kaslucht aanwezig zijn.
- De metingen van de sapstroom lopen gelijk op met de instraling. Wegschermen van de instraling werkt gelijk door in een sterke verlaging van de sapstroom activiteit.
- Nieuw kasconcepten die zich baseren op de uitgangspunten van Het Nieuwe Telen lijken perspectief te bieden op een weerbaarder gewas tegen *Fusarium* vruchtrot.

11 Invloed van klimaat II: schermen

11.1 Doel

Doel van de proef was om de invloed van schermen en verschillende schermstrategieën te testen op de sapstroom activiteit in paprika, de vruchtkwaliteit en het verminderen van gevoeligheid voor *Fusarium* vruchtrot.

11.2 Uitvoering

Bij Wageningen UR Glastuinbouw is een grote kasafdeling (144 m²) ingericht met paprikaplanten. De kasproef liep van december 2016 tot augustus 2017. Dit keer werd er voor het gele ras Allrounder gekozen. In proeven met paprika gefinancierd door Kas als Energiebron en gericht op Het Nieuwe Telen werd dit ras eveneens neergezet. Bij het IC/Delphy werd een teeltstrategie gehanteerd waarbij optimaal gebruik werd gemaakt van twee schermen die in de nacht gesloten werden, verticale ventilatoren, sturing op optimale licht/temperatuur verhouding (> 600 Watt zonnescherm dicht) en minimale inzet van de minimumbuis. Er werd niet actief ontvochtigd. Door de inzet van schermen blijft de bovenkant van het gewas warmer, is er meer assimilaten productie en een snellere gewasgroei (www.energiek2020.nl). De planten zijn voor beide kasafdelingen tegelijk besteld en zijn op hetzelfde tijdstip geplant.

De teeltstrategie was om tot het eerste zetsel in maart de teelten van het IC en de kas bij WUR Glastuinbouw gelijk te houden, om een goede plant neer te zetten en om daarna verschil in schermstrategie aan te brengen (stookstrategie max. 45°C). Het vergelijken van kasafdelingen op verschillende locaties blijft altijd lastig vanwege de onderlinge verschillen. Een grote kas heeft weer een andere klimaatsturing nodig dan een kleinere kas. Om deze reden is besloten om aanvullend verschillende schermstrategieën in de proefkas bij de WUR uit te testen.

Gewasmetingen zijn uitgevoerd om de ontwikkelingssnelheid van het gewas te volgen en de vruchtkwaliteit bij te houden. Er is aanvullend bladmateriaal verzameld voor analyse van het plantsap. Vruchtkwaliteit werd op twee tijdstippen bepaald door vruchten weg te zetten en daarna inwendig te beoordelen op de aanwezigheid van *Fusarium*.

In de kas zijn op 21 maart vier sapstroommeters van PhytoSense geplaatst om de invloed van schermgebruik en sapstroom te monitoren. De stengeldikte varieerde hierbij van 12-16 mm.

De proef is begeleid door een groep van drie telers om de strategie voor teeltsturing af te stemmen. Vanaf mei is gestart met 8 verschillende schermstrategieën waarbij het tijdstip van het schermen werd gevarieerd door 1 uur eerder of later te schermen open te doen voor zonsopgang en -ondergang (Tabel 11.1). Steeds op maandag werd een wijziging in de schermstrategie ingezet. Sluiting van het scherm vond plaats met de regeling 90% energie doek en 15% verduistering om wel tot middernacht te kieren, maar de uitstraling tegen werd gegaan. Daarna 100% energiedoek.

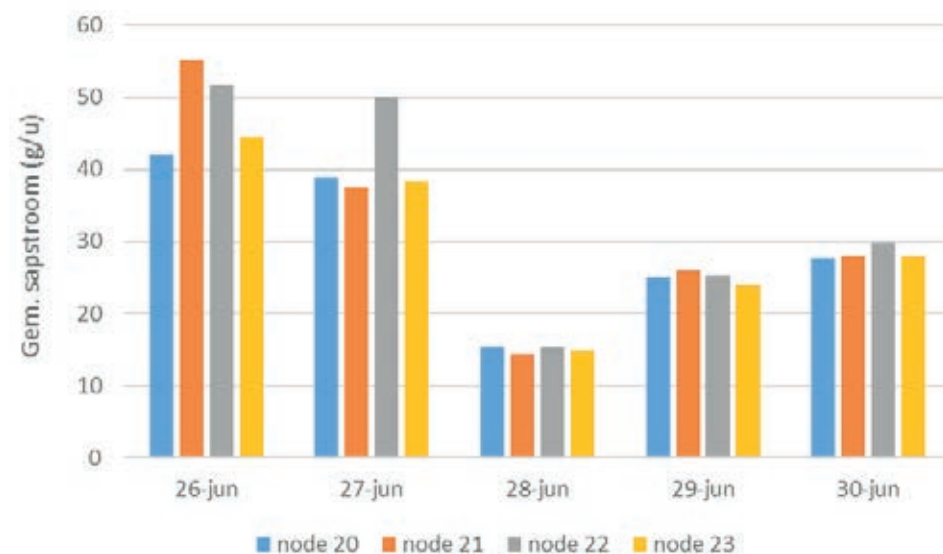
Tabel 11.1

Overzicht van de schermstrategieën die zijn ingezet vanaf 15 mei tot 3 juli 2017 in de kas met de referentieteeelt bij WUR Glastuinbouw.

Datum (wk)	Strategie	Strategie
15-5 (20)	Geen scherm	A
22-5 (21)	Schermen 1 uur na zon-onder – 1 uur voor zon-op	B1
29-5 (22)	Schermen 1 uur na zon-onder – 1 uur na zon-op afhankelijk van uitstraling op pyrgometer. Uitstraling > 30 W/m ² scherm dicht, anders open.	C
5-6 (23)	Schermen 1 uur voor zon-onder – 1 uur na zon op	D1
12-6 (24)	Geen scherm	A
19-6 (25)	Schermen 1 uur voor zon-onder – 1 uur voor zon-op	B2
26-6 (26)	Schermen 1 uur na zon-onder – 1 uur na zon-op afhankelijk van uitstraling op pyrgometer. Uitstraling > 30 W/m ² scherm dicht, anders open.	C
3-7 (27)	Schermen 1 uur na zon-onder – 1 uur na zon op	D2

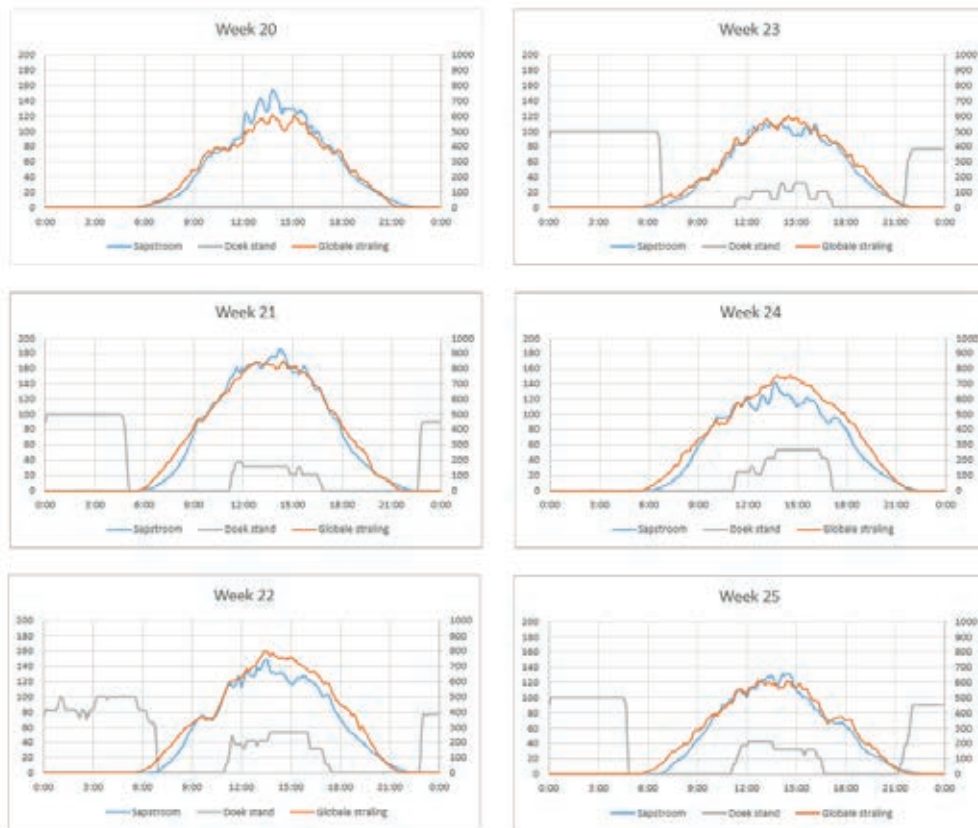
11.3 Resultaten

De metingen van de vier verschillende sapstroommeters kwamen goed overeen (Figuur 11.1). Daarbij was er geen verschil of de sensoren op de hoofdstengel of hoger op een zijstengel waren geplaatst. Op basis van de gemiddelde van de vier sensoren zijn de diverse schermstrategieën geanalyseerd.



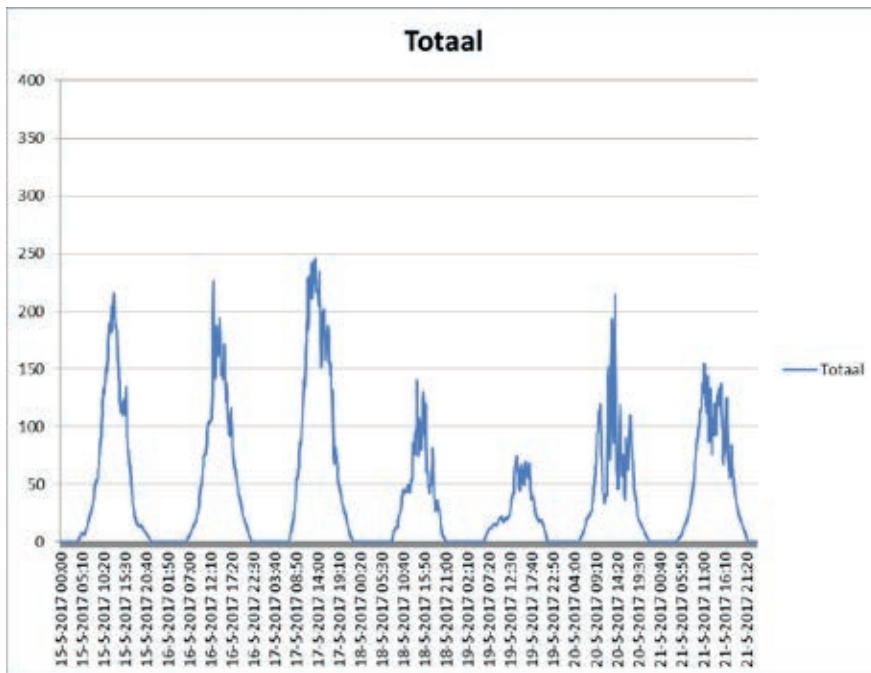
Figuur 11.1 Gemiddelde sapstroomsnelheid gemeten met de vier verschillende sapstroommeters.

Er is geen invloed van de verschillende schermstrategieën op de activiteit van de sapstroom (Figuur 11.2). Als er niet wordt geschermd (week 20) dan volgt de sapstroom heel netjes de lijn van de instraling. Bij eerder schermen 1 uur voordat de zon op komt en 1 uur langer doorschermen na zonsondergang (week 21) lijkt de sapstroom in de periode tussen 6.00-9.00u wat later op gang te komen in vergelijking met de week waarin niet werd geschermd, maar daarna wel weer goed de lijn van de instraling te volgen. Dit patroon wordt echter ook in week 24 gezien als er niet wordt geschermd, waardoor het te betwijfelen is of dit effect wordt veroorzaakt door het schermgedrag voor of na zonsopkomst. Sluiting van het scherm na zonsondergang heeft bij alle geteste strategieën geen invloed op het verloop van de sapstroom. De activiteit van de sapstroom wordt vooral gestuurd door sluiting van het schaduwdoek overdag. Een hoge sluitstand van het doek (> 40/200) resulteert in een vermindering van de sapstroom (zie week 22 en 24).



Figuur 11.2 Gemiddelde sapstroommetingen per dag van alle 4 sapstroomsensoren (blauwe lijn) van de verschillende schermstrategieën. In de grafieken is een vergelijking gemaakt met de gemiddelde instraling (rode lijn) en is de stand van het scherm aangegeven (grijze lijn).

Om de variatie in sapstroom activiteit binnen een week beter in beeld te brengen is een voorbeeld gegeven van een week met aan het begin zeer veel instraling en aan het einde donker weer (Figuur 11.3). Wat opvalt is dat het niveau van de sapstroom per dag sterk kan variëren. Een gemiddelde activiteit ligt tussen de waarden van 200-300, daarboven is het hoog en daaronder laag. Soms zakt het zelfs weg tot onder de 50. Voor een gelijkmatige gewasgroei lijkt het niet wenselijk om de sapstroom van 250 naar 50 weg te laten zakken binnen twee dagen.



Figuur 11.3 Voorbeeld van het wekelijkse patroon van sensor nr. 22 waarin de strategie zonder scherm is uitgetest (week 20).

In de referentiekas lag het gemiddelde vruchtgewicht van de Allrounder vruchten tussen 160 en 190 gram (Tabel 11.2). Er werd geen aantasting van *Fusarium* vruchtrot aangetroffen.

Tabel 11.2

Gemiddeld gewicht van de Allrounder vruchten in de referentiekas eind juli en augustus.

oogst	#links (pad)	gewicht	gem.	#rechts (pad)	gewicht	gem.
27-jul	12	2035	169.6	27	5161	191.1
3-aug	55	9921	180.4	39	6879	176.4
10-aug	31	5512	177.8	33	6227	188.7
16-aug	15	2494	166.3	8	1340	167.5
24-aug	24	4310	179.6	35	5528	157.9

11.4 Conclusie

- De sapstroommeters geven goed inzicht in de activiteit van de plant en geven aan dat de lichtinstraling de belangrijkste sturende factor is.
- Er is geen invloed van de verschillende schermstrategieën op de activiteit van de sapstroom.
- Een standaard teelt zonder schermen heeft geen verhoogd risico op *Fusarium* vruchtrot aantasting.

12 Praktijkonderzoek 2018

12.1 Doel

In 2018 heeft het onderzoek zich met name gericht op toepassing van veelbelovende BCA's zoals Biobest exp 2 , *Bacillus subtilis* QST713 en *Gliocladium catenulatum* strain J1446, onder praktijkomstandigheden.

Doel van het onderzoek:

- Toetsen van de effectiviteit van antagonisten en plantversterker tegen *F. lactis* op praktijkbedrijven (vervolgonderzoek van 2015, 2016 en 2017).
- Effectiviteit van Flying doctors systeem testen in de teelt van paprika (uitvoering Biobest + WUR).
- Verkenning of het mogelijk is een sneltest (on-site of labtest) te ontwikkelen. Dit zou mogelijkheden moeten bieden om in een vroeg stadium *Fusarium* aan te tonen.

12.2 Uitvoering

Antagonisten en plantversterker

Het onderzoek in 2018 is gestart met een vooronderzoek wat betreft aanwezigheid van *Fusarium lactis* in een paprikateelt bij verschillende praktijkbedrijven . Dit is uitgevoerd op tien locaties van zes telers. Hierbij werden gele of rode paprika's geteeld. Bij het gele ras ging het om Allrounder en bij het rode om het ras Maranello. Met één uitzondering waarbij het ras Maverla (rood) werd geteeld.

Op deze locaties zijn per locatie 50 gevallen vruchtjes geraapt en ook zijn er 100 goede (oogstrijpe) vruchten van de plant verzameld. De gevallen vruchtjes zijn verspreid over de hele locaties geraapt om een goed beeld te krijgen van de eventuele aanwezigheid van *Lactis*.

Het verzamelen van afgevallen vruchtjes en rijpe vruchten heeft plaatsgevonden op 20 en 24 april 2018.

De vruchten zijn voor de bewaringsproef weggezet in een cel bij 20°C gedurende 10 dagen. Na deze 10 dagen zijn ze beoordeeld op ontwikkeling van *Fusarium* schimmel (zie Figuur 12.1).



Figuur 12.1 Vruchten in cel bij 20°C (foto links) en na 10 dagen bewaring beoordeeld (foto rechts).

Bij de beoordeling is de volgende klasse indeling van schimmelpluis toegepast:

- Klasse 1: 1-30% van de vrucht aangetast met wit schimmelpluis.
- Klasse 2: 31-70% van de vrucht aangetast met wit schimmelpluis.
- Klasse 3: hele zaadlijst aangetast met wit schimmelpluis en onderkant vrucht helemaal aangetast.

Na het bespreken van de resultaten van het vooronderzoek met de telers, zijn in overleg vier bedrijven geselecteerd waar de spuitproeven uitgevoerd konden worden. Een bedrijf heeft gele paprika's geteeld (bedrijf 1, ras Allrounder) en drie bedrijven rode paprika's (bedrijf 3 en 4, ras Maranello, bedrijf 2 ras Maverla).

De telers hebben de paden aangegeven waar de veldjes voor de spuitproeven konden worden uitgemeten. De grootte van een veldje was 19 m². Tussen de veldjes was 5m² buffer aangehouden. Op ieder bedrijf was de volgorde per behandeling; 1, 2 en 3 in een rij en behandeling 4 en 5 in een andere rij. Rijen waar de proef lag zijn aangewezen door de teler. Het uitzetten en uitvoeren van de bespuiting is gedaan door twee medewerkers van Proeftuin Zwaagdijk (zie Figuur 12.2).



Figuur 12.2 Uitzetten en spuiten van de veldjes.

Per bedrijf zijn vijf proefveldjes uitgezet. De toegepaste behandelingen zijn:

- Niet gespoten = controle.
- Water gespoten = controle (1,9 L/19m²).
- Greenstim (Biobest), osmo-regulator glycine betaïne 2g/L. (1,9 L/19m²) Informatie beschikbaar over opname van de stof in paprika, bevordering fotosynthese, wateropname en opbrengst, ca. 15% bij zoutstress, meest effectief bij herhaaldelijke toediening (pers.comm. Ahmet Korkmaz, KS University, Turkije). Toegelaten als meststof. Uit wetenschappelijke literatuur is bekend dat behandeling met glycine betaïne schakelt productie van PR-eiwitten aan in de plant. Deze eiwitten worden geproduceerd tijdens de plantafweerreactie (SAR).
- Serenade (Bayer), bacteriële antagonist, *Bacillus subtilis* stam QST 713. Toediening: 1·10³ kve/ml + Silwet Gold (0.02%) (1,9 L/19m²) Toegelaten als gewasbeschermingsmiddel tegen schimmels en bacteriën via een gewasbehandeling in oa. vruchtgroenten van *Solanaceae* (paprika).
- BB exp. 2, 1kg/ha (1,9 L/19m²).

Bij een van de vier bedrijven (bedrijf 1) is ook het biologische fungicide Prestop (op basis van *Glucadium catenulatum* strain J1446) toegepast, 2.5kg/ha (1,9 L/19m²). Dit is gebeurd op het bedrijf waar ook de Flying Doctors (combinatie Prestop 4B+hommels) proef is uitgevoerd (in aparte kasafdeling van 9000m²).

Er is gespoten in het vijfde en zesde zetsel en twee keer per zetsel. Bespuitingen zijn uitgevoerd op 29 mei 2018 en 5 juni 2018 (vijfde zetsel) en op 19 juni 2018 en 26 juni 2018 (zesde zetsel). Bespuitingen zijn op alle bedrijven op dezelfde dag uitgevoerd.

Fusarium metingen

a. Infectie in bloemen en vruchten:

Per proefveldje zijn per zetsel 50 vruchtbeginsels (vrucht+bloemetje) verzameld (geoogst vanaf de plant) en deze zijn uitgeplaat op specifiek voedingsbodem ter beoordeling op uitgroei van *Fusarium*.

Daarnaast zijn uit de twee zetsels (5 en 6) per proefveldje 100 rijpe vruchten geoogst. De vruchten uit het vijfde zetsel zijn bij alle telers op 23 juli geoogst. Die van het zesde zetsel op 14 augustus bij de bedrijven 1,2 en 3. Op bedrijf vier zijn de vruchten van het zesde zetsel op 21 augustus geoogst. De vruchten van het zesde zetsel uit de Flying Doctors proef zijn op 30 augustus geoogst. De vruchten zijn allen weggezet in een cel bij 20°C gedurende 10 dagen. Na incubatie periode zijn ze beoordeeld op symptomen van *Fusarium* vruchtrot (inwendig en uitwendig)

b. Testen op *Fusarium* op de bedrijven:

Binnen dit project is ook een test opgezet waarbij de telers zelf vruchtbeginsels kunnen testen op de aanwezigheid van *Fusarium*. Als eerste is een duidelijk uitleg gegeven waarna de telers zelf aan de gang konden. Op hetzelfde moment hebben de onderzoekers van Wageningen Plant Research ook vruchtbeginsels verzameld en in het laboratorium onderzocht. De resultaten zijn met elkaar vergeleken.

c. Infectiedruk in kaslucht:

Sporevanger (de MAS 100-Eco) is gebruikt om *Fusarium* sporen uit de kaslucht te vangen. Bij elke teler zijn luchtmonsters genomen, 100L op een PDA+ plaat, op 3 verschillende plekken. Steeds twee monsters bij de rijen die behandeld zijn op heuphoogte, tussen gewas. Eén monster is zeven rijen verder dan de spuitveldjes genomen. Bij teler 1 zijn er ook lucht monsters genomen in het hommelse compartiment.

Flying doctors

Dit onderdeel van het onderzoek is uitgevoerd door Biobest en heeft plaatsgevonden op een bedrijf met twee kasafdelingen. In een kas van 9000m² zijn hommels uitgezet in combinatie met het middel Prestop.

In de andere kasafdeling is de spuitproef uitgevoerd. Naast de vijf behandelingen zoals toegepast op de andere bedrijven is hier nog een zesde spuitveldje uitgezet. Daar is met het middel Prestop gespoten.

In totaal zijn er drie hommelmasten geplaatst met in de periode van 11/05 tot 22/06.

Verkenning sneltest

In de literatuur zijn de mogelijkheden van een sneltest bekeken. Daarnaast zijn ook diverse bedrijven benaderd of er mogelijkheden zijn voor de ontwikkeling van een sneltest. Bij voorkeur een on-site test.

Plantsapanalyses Hortinova

Op twee van de vier deelnemende paprikabedrijven (bedrijf 3 en 4) zijn plantsapanalyses uitgevoerd door Hortinova BV.

Het doel van dit deel van het onderzoek was een mogelijk relatie aantonen tussen de mineralen opname van een plant en het al dan niet optreden van inwendig vruchtrot. Tevens was het doel de effecten van de Antagonisten/Greenstim (Biobest) te onderbouwen door middel van de mineralen opname.

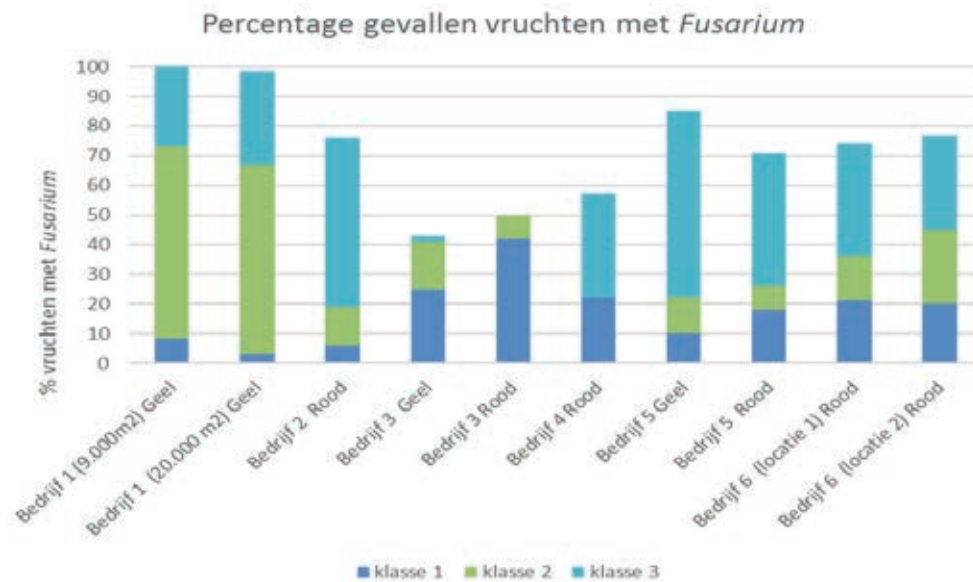
De monsternames van de bladeren zijn door de telers zelf uitgevoerd na instructie door HortiNova BV. Er zijn zowel jonge als oudere bladeren geplukt. Het bemonsteren van jong en oud blad was een vereiste om mineralenopname en/of herverdeling van mineralen in de plant inzichtelijk te kunnen maken.

De verzamelde monsters zijn bij de telers afgehaald en bij HortiNova BV geanalyseerd. Er is om de week gemeten gedurende een periode van 20 weken.

12.3 Resultaten

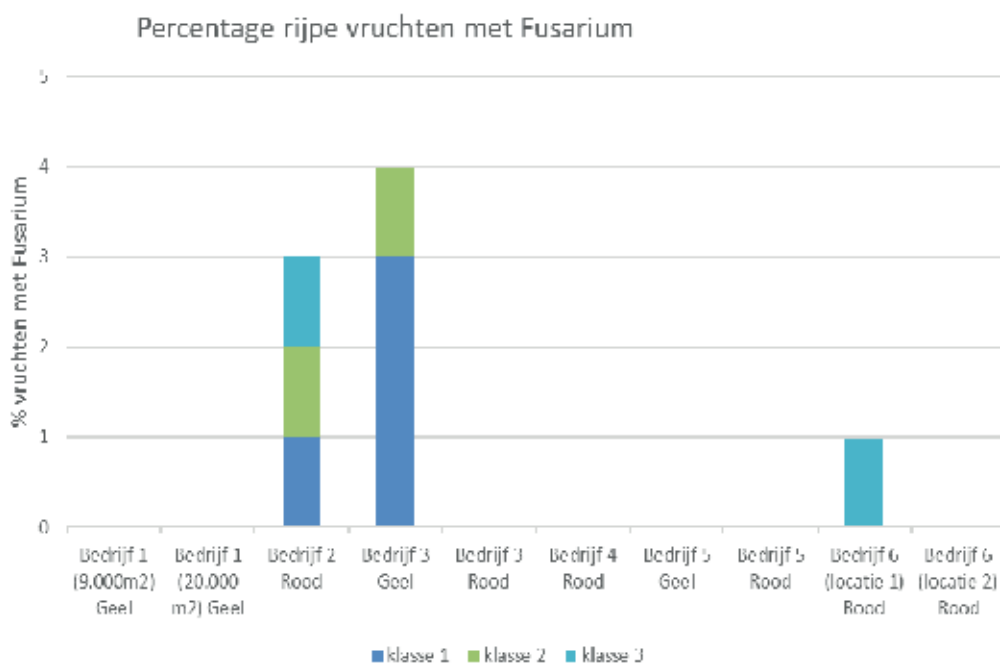
Vooronderzoek aanwezigheid *Fusarium* in de teelt in het voorjaar 2018

De resultaten van het vooronderzoek bij de 10 locaties staan in de onderstaande Figuren (Figuur 12.3 en 12.4). Bij de gevallen (= opgeraapte) vruchtjes is het percentage met *Fusarium* bepaald aan de hand van de eerder genoemde en omschreven drie klassen. Op alle bedrijven kan in meer of mindere mate *Fusarium* worden aangetoond in de gevallen vruchtjes (Figuur 12.3).



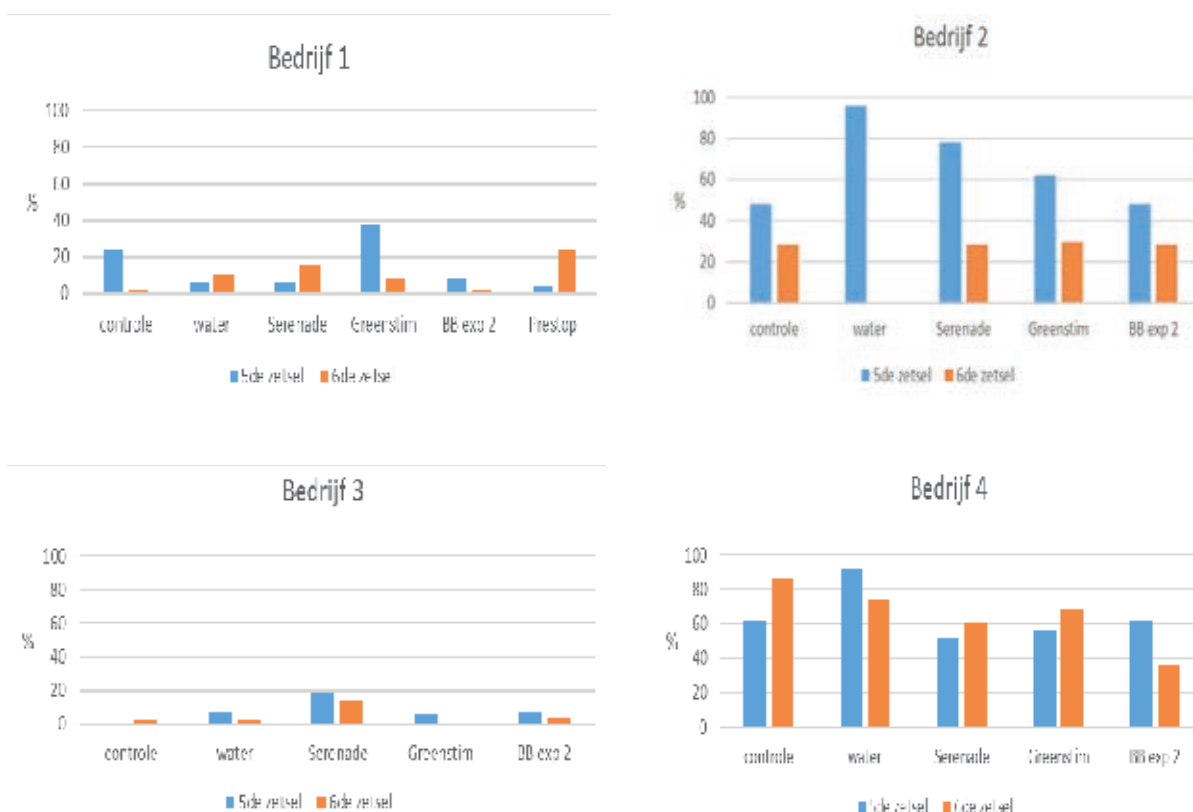
Figuur 12.3 Percentage gevallen vruchtjes met *Fusarium* op de 10 locaties van het vooronderzoek. Beoordeling gedaan in drie klassen.

Naast de gevallen vruchtjes zijn ook rijpe vruchten van de locaties beoordeeld op percentage van vruchten die aangetast zijn door *Fusarium*. In tegenstelling tot de resultaten van de gevallen vruchtjes wordt hier maar op drie locaties *Fusarium* in de rijpe vruchten aangetoond (Figuur 12.4).



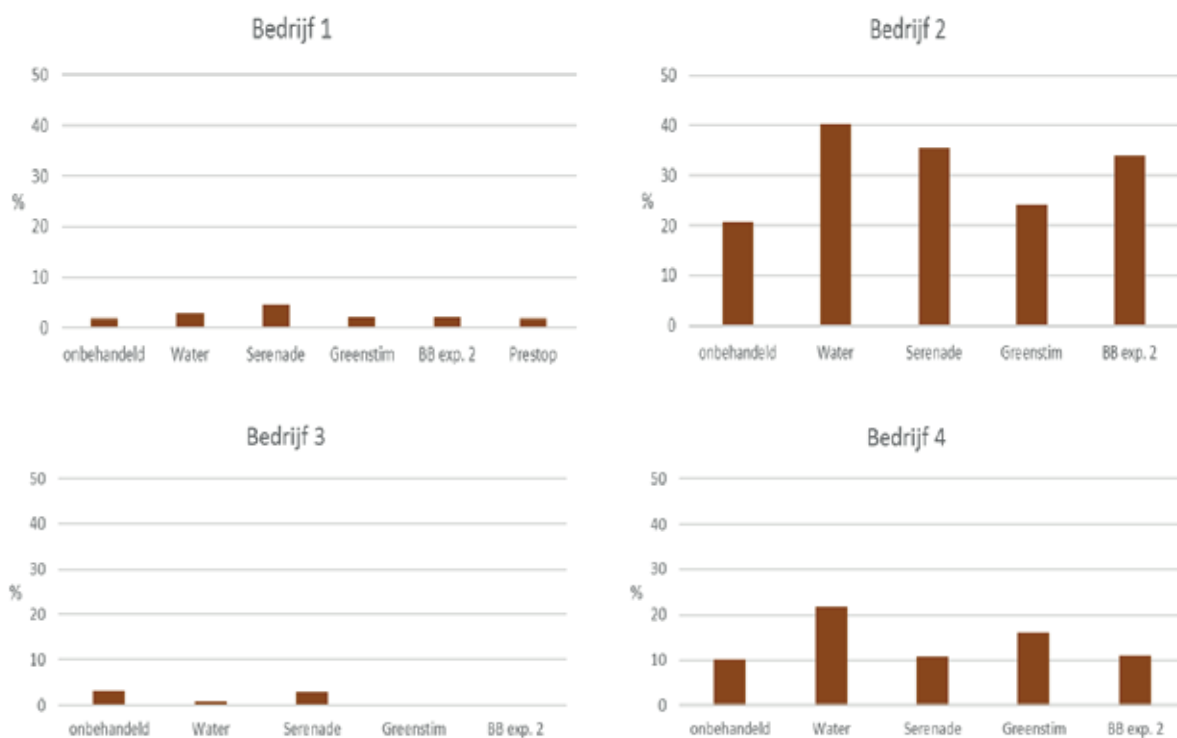
Figuur 12.4 Percentage rijpe vruchten met Fusarium op de 10 locaties van het vooronderzoek. Beoordeling gedaan in drie klassen.

De resultaten van het percentage *Fusarium* in de vruchtbeginsels uit het vijfde en zesde zetsel van de spuitproef staan vermeld in Figuur 12.5. Opvallend is het verschil in percentage *Fusarium* niet zozeer tussen de behandelingen maar meer tussen de bedrijven ligt.



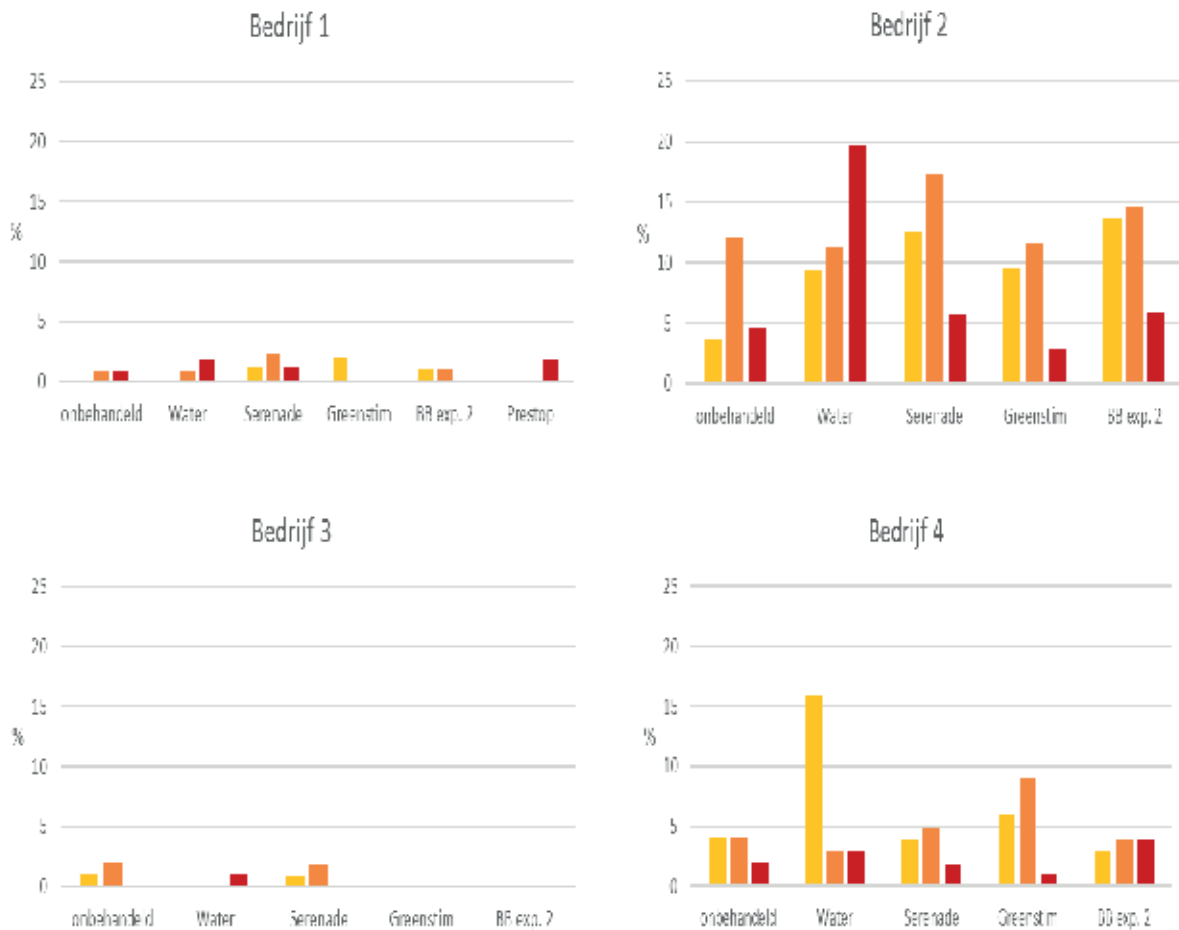
Figuur 12.5 Percentage met *Fusarium* aangetaste vruchtbeginsels uit de spuitproef bij de vier praktijkbedrijven. In blauw aangegeven de vruchtbeginsels uit het vijfde zetsel en in oranje die van het zesde zetsel.

In Figuur 12.6 staan de percentages *Fusarium* in de rijpe vruchten van het vijfde zetsel vermeld. Net als bij de vruchtbeginsels zijn er geen grote verschillen tussen de behandelingen op de vier bedrijven maar wel tussen de bedrijven.



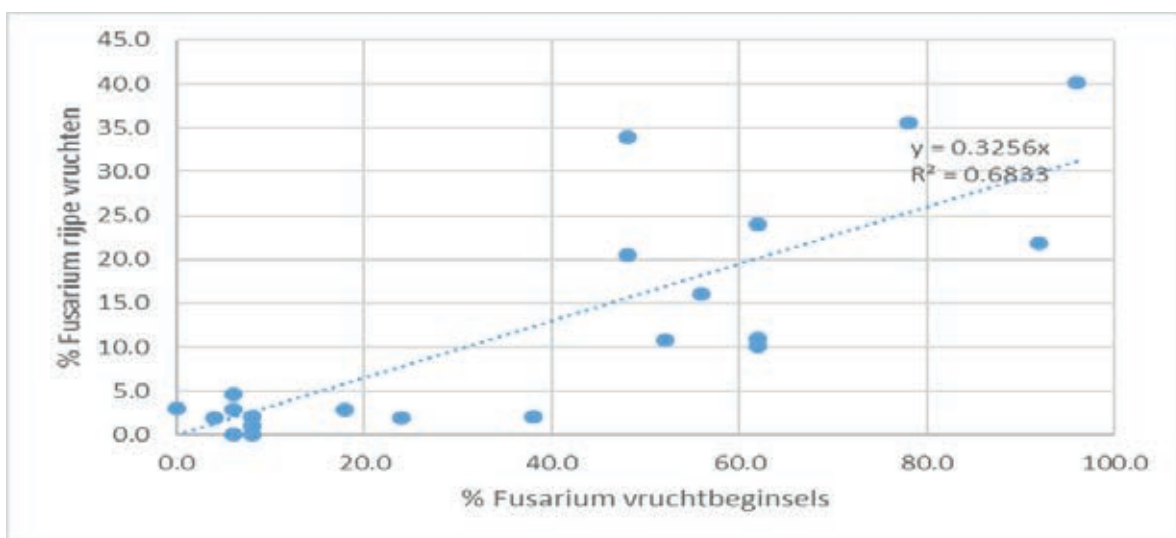
Figuur 12.6 Percentage *Fusarium* in de rijpe vruchten uit de spuitproef bij de vier bedrijven. Dit zijn de vruchten van het vijfde zetsel.

Bij het beoordelen van het percentage *Fusarium* is steeds onderscheid gemaakt in drie klassen (zie bij uitvoering). Op bedrijf twee is bij de resultaten te zien dat de watergespoten behandeling meer vruchten heeft die in klasse drie zijn beoordeeld.



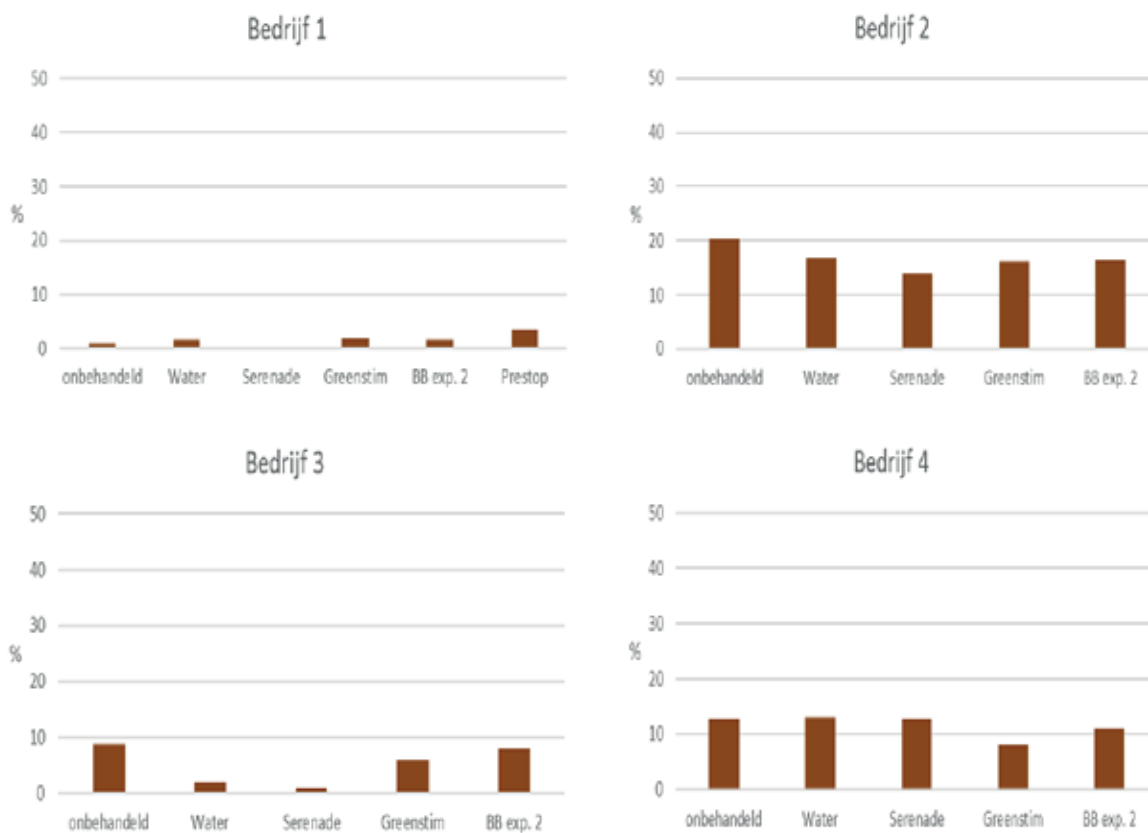
Figuur 12.7 Percentage *Fusarium* in de rijpe vruchten van het vijfde zetsel uit de spuitproef bij de vier bedrijven aangegeven per klasse (geel is klasse 1, oranje is klasse 2 en rood is klasse 3).

Percentage *Fusarium* in de vruchtbeginsels correleerde positief met het percentage *Fusarium* in de rijpe vruchten voor bemonstering in het vijfde zetsel ($p=0.05$; $R^2=0.685$ (Figuur 12.8))



Figuur 12.8 Correlatie tussen percentage *Fusarium* in de rijpe vruchten en percentage *Fusarium* in vruchtbeginsel van het vijfde zetsel uit de spuitproef.

In de rijpe vruchten van het zesde zetsel is het percentage *Fusarium* bij de bedrijven 2 en 4 hoger dan bij de bedrijven 1 en 3 (Figuur 12.9). Voor waarneming bij bedrijf 1 en bedrijf 3 zijn er geen significante verschillen tussen de behandelingen (ANOVA).



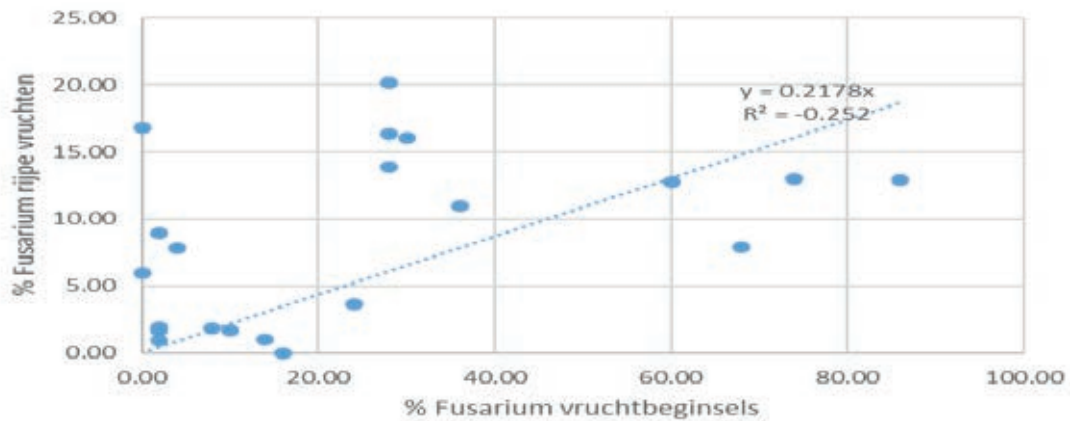
Figuur 12.9 Percentage *Fusarium* in de rijpe vruchten uit de spuitproef bij de vier bedrijven. Dit zijn de vruchten van het zesde zetsel.

Op bedrijf 2 waar het hoogste percentage *Fusarium* is vastgesteld zijn er geen significante verschillen in de verschillende klassen (Figuur 12.10). Bij de behandeling met BB exp.2 komt er meer klasse drie voor dan bij andere behandelingen en onbehandeld.



Figuur 12.10 Percentage *Fusarium* in de rijpe vruchten van het zesde zetsel uit de spuitproef bij de vier bedrijven aangegeven per klasse (geel is klasse 1, oranje is klasse 2 en rood is klasse 3).

Percentage *Fusarium* in de vruchtbeginsels correleerde matig positief met het percentage *Fusarium* in de rijpe vruchten voor bemonstering in het zesde zetsel ($p=0.05$; $R^2=0.252$ (Figuur 12.11)).



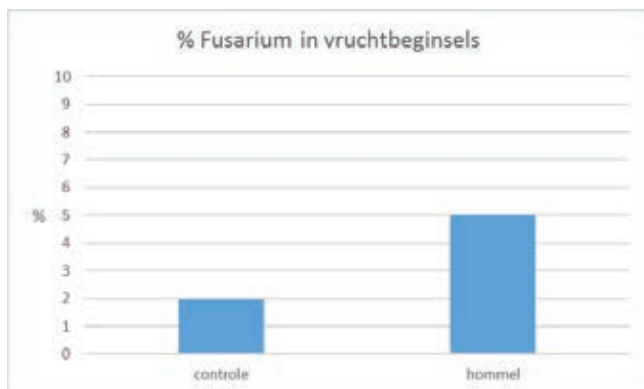
Figuur 12.11 Correlatie tussen percentage *Fusarium* in de rijpe vruchten en percentage *Fusarium* in vruchtbeginsel van het zesde zetsel uit de spuitproef.

Flying doctors

In de Flying doctors proef had bij het vijfde zetsel vruchtbeginsels en rijpe vruchten verzameld moeten worden. Dat is niet gebeurd. Bij het zesde zetsel zijn er wel vruchtbeginsels verzameld. De resultaten laten zien dat er een laag percentage (tussen 2 en 5%) *Fusarium* is vastgesteld (Figuur 12.12).

In de vruchtbeginsels van het zesde zetsel uit de Flying Doctors is het percentage *Fusarium* iets hoger dan onbehandeld (niet significant).

De rijpe vruchten uit de Flying Doctors proef zijn geoogst op 30 augustus. Percentage *Fusarium* infectie in deze vruchten was 1.5%. Die resultaten zijn niet meegenomen in de verdere analyse.

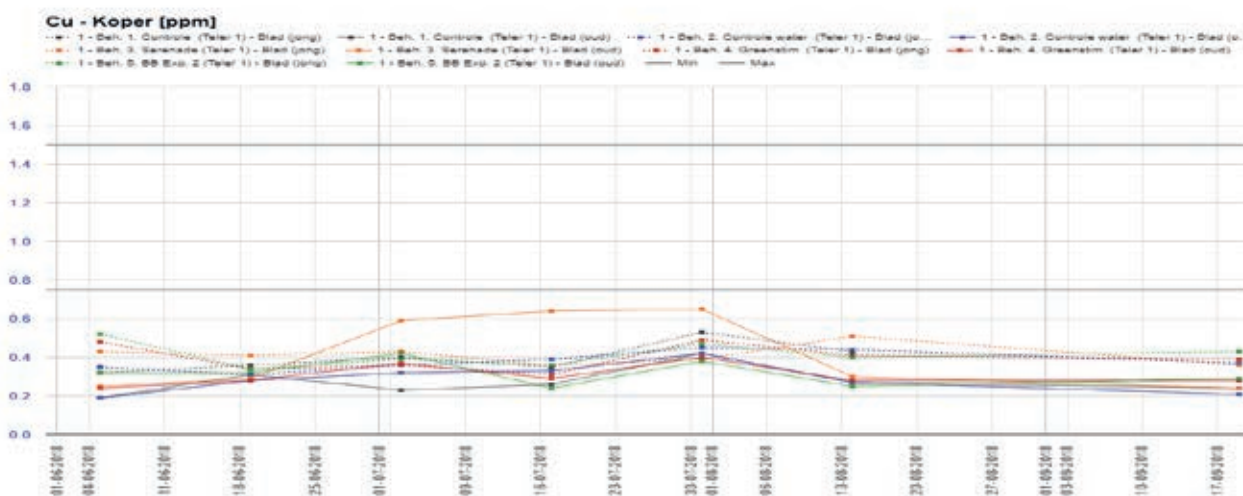


Figuur 12.12 Percentage *Fusarium* in de vruchtbeginsels uit de Flying Doctors proef in het zesde zetsel. De controle monsters komen uit een ander kascompartiment van hetzelfde bedrijf.

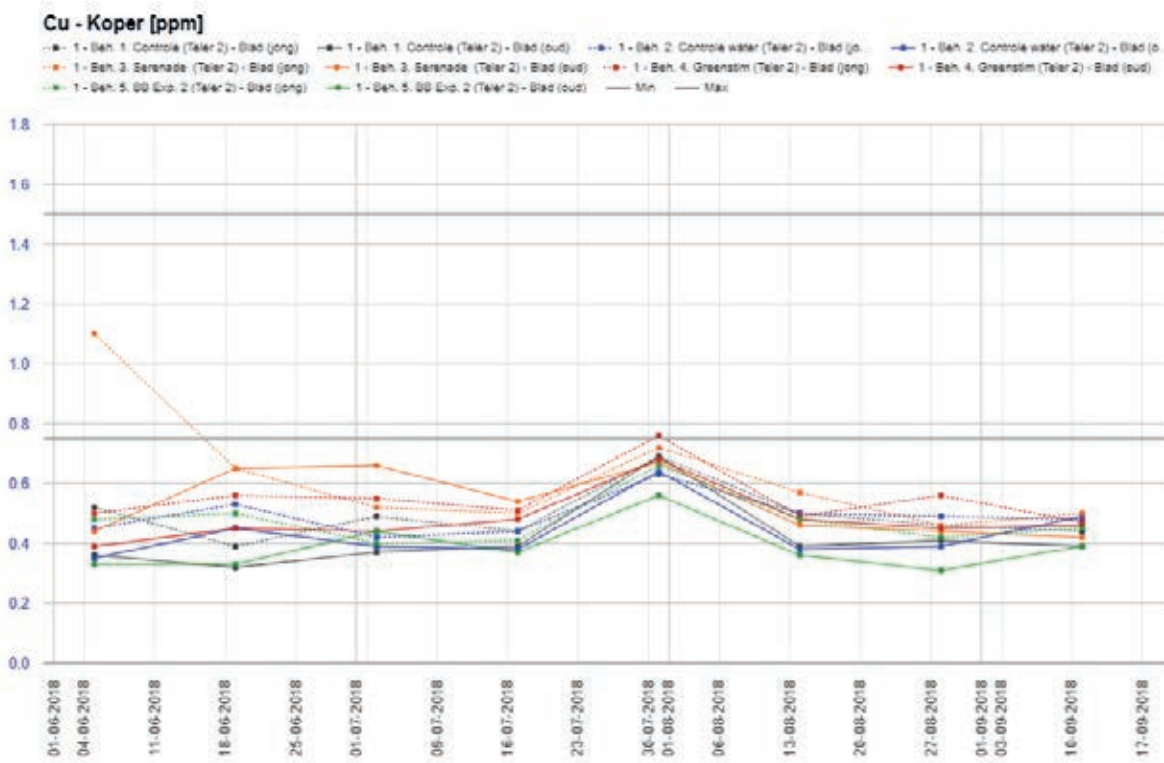
Resultaten plantsapmeting

De resultaten van alle metingen op de twee bedrijven laten de volgende opvallende zaken zien:

- Het gemiddelde koper gehalte van jong/oud blad in behandeling 3 (Serenade) ligt zowel bij de afzonderlijke telers hoger dan controle alsmede bij de totale data (bestaande uit de data van de twee telers samen).
- Het hogere kopergehalte in behandeling 3 (Serenade) is ook duidelijk te zien in de grafieken, aangezien over meerdere meetpunten heen de koper in het oude blad (doorgetrokken oranje lijn) een hogere waarde bevat dan de overige behandelingen (Figuur 12.13 en 12.14).
- Hoe verder de bemonstering vanaf de toepassing van Serenade worden uitgevoerd, hoe lager het kopergehalte wordt. (effect neemt af/ zie oranje lijnen in de bijgevoegde grafieken, Figuur 12.13 en 12.14).
- Er wordt niet of nauwelijks koper in het product Serenade teruggevonden (test uitgevoerd).
- Eenzelfde beeld (relatie) tussen koper en Serenade is teruggevonden in een rassenproef framboos.
- Calcium in behandeling 3 is gemiddeld hoger t.o.v. de controle, dit wordt echter veroorzaakt door enkele pieken in de data, waardoor men een echte verhoging niet hard kan maken.
- Natrium in behandeling 5 is gemiddeld hoger t.o.v. de controle. Ook in de plantsap grafieken is dit element over meerdere meetpunten heen hoger dan de overige behandelingen. Natrium veelal negatief in de teelt. Niet bekend of het in het toegepaste product aanwezig is.



Figuur 12.13 Overzicht van het kopergehalte in de bemonsterde bladeren (jong en oud) bij teler 1.



Figuur 12.14 Overzicht van het kopergehalte in de bemonsterde bladeren (jong en oud) bij teler 2.

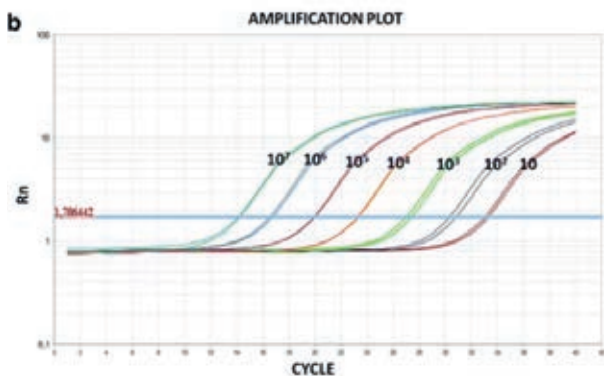
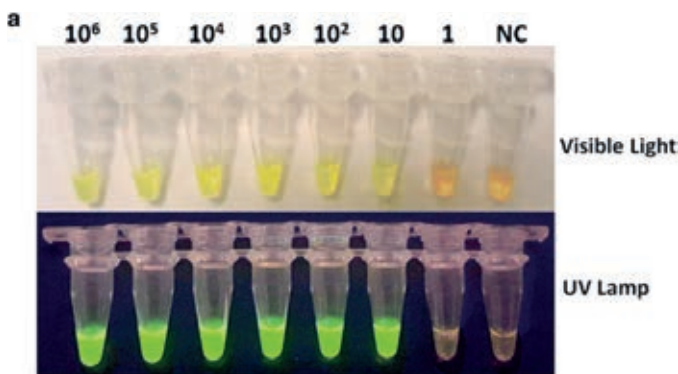
Sneltesten

In literatuuronderzoek is naar de mogelijkheden gekeken van sneltesten die *Fusarium lactis* kunnen aantonen en eenvoudig op de bedrijven zijn uit te voeren.

Een antiserum tegen *Fusarium lactis* is op dit moment niet beschikbaar. Voor een PCR-gebaseerde test heb je een PCR apparaat nodig en de uitvoering zal in een laboratorium moeten plaatsvinden. Waar wel aan gedacht kan worden is het toetsen met LAMP, dit staat voor loop-mediated isothermal amplification (Figuur 12.15). LAMP is beschikbaar voor *Fusarium oxysporum*, *F. fujikuroi*, *F. graminearum*, *F. proliferatum*, *F. asiaticum*, *F. culmorum*, *F. cerealis*, etc.

Helaas is nog geen LAMP voor *F. lactis* beschikbaar maar mogelijk is dit nog te ontwikkelen.

LAMP (real-time loop-mediated isothermal amplification)



Figuur 12.15 LAMP is uit te voeren in het veld en de resultaten zijn vrij snel beschikbaar.

Een andere ingang voor een test zou op basis kunnen van mycotoxinen die door isolaten van *Fusarium lactis* worden geproduceerd. In de literatuur is gekeken welke mycotoxinen door *F. lactis* worden geproduceerd namelijk:

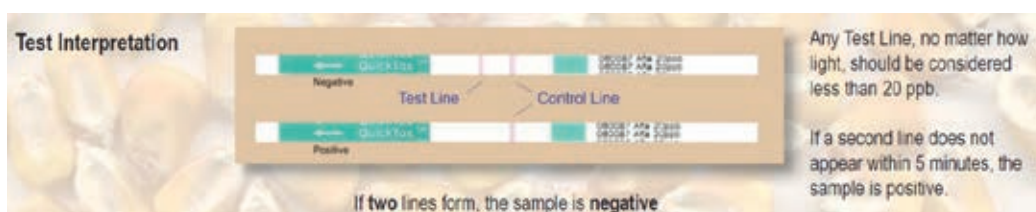
- Fumonisin B1 (FB1).
- Moniliformin (MON) (in 13 / 17 isolaten).
- Beauvericin (BEA) (in 17/17 isolaten).

Op dit moment zijn wel sneltesten beschikbaar voor Fumonisin B1 maar deze toxine kwam maar in 1 van de 17 isolaten voor. Dus de betrouwbaarheid van deze toets is laag. Voor de andere mycotoxinen zijn geen sneltesten beschikbaar op dit moment. Ook zijn er geen inzichten in de huidige ontwikkelingen.

LFD (lateral flow device)

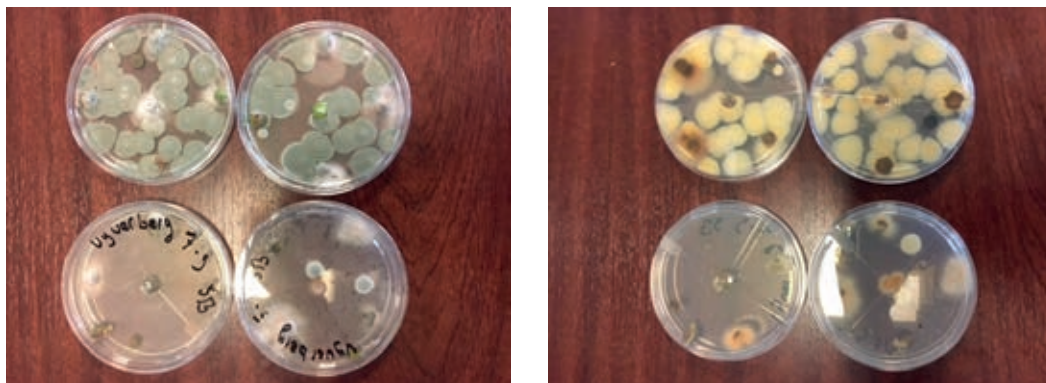
Deze methode wordt veelal toegepast bij het kunnen aantonen van plantenvirussen. Deze test werkt echter voor mycotoxinen net andersom dan bij LFD virustesten:

- Bij twee streepjes: de test is negatief.
- Bij één streepje: de test is positief.



*Fusarium*toets bij teler

De resultaten van de toets van paprikavruchtbeginsels op een voedingsbodem laten grote verschillen zien. Bij de toets uitgevoerd op de bedrijven wordt veelal *Penicillium* aangetoond en met heel goed zoeken ook wat *Fusarium*. In de toets die is uitgevoerd onder sterielere omstandigheden in het laboratorium wordt niet of nauwelijks *Penicillium* gevonden maar wel *Fusarium*.

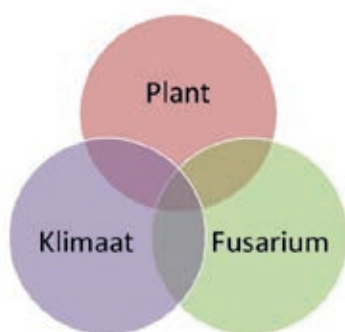


Figuur 12.16 De bovenste platen (op linker en rechterfoto) zijn de voedingsbodems met paprika vruchtbeginsel uitgelegd bij de teler. De onderste platen (linker en rechterfoto) zijn de paprikavruchtbeginsels uitgelegd onder laboratoriumomstandigheden. De roze plekjes is *Fusarium* en de grijze (boven) en de lichtgele (rechtsboven) is *Penicillium*.

13 Discussie

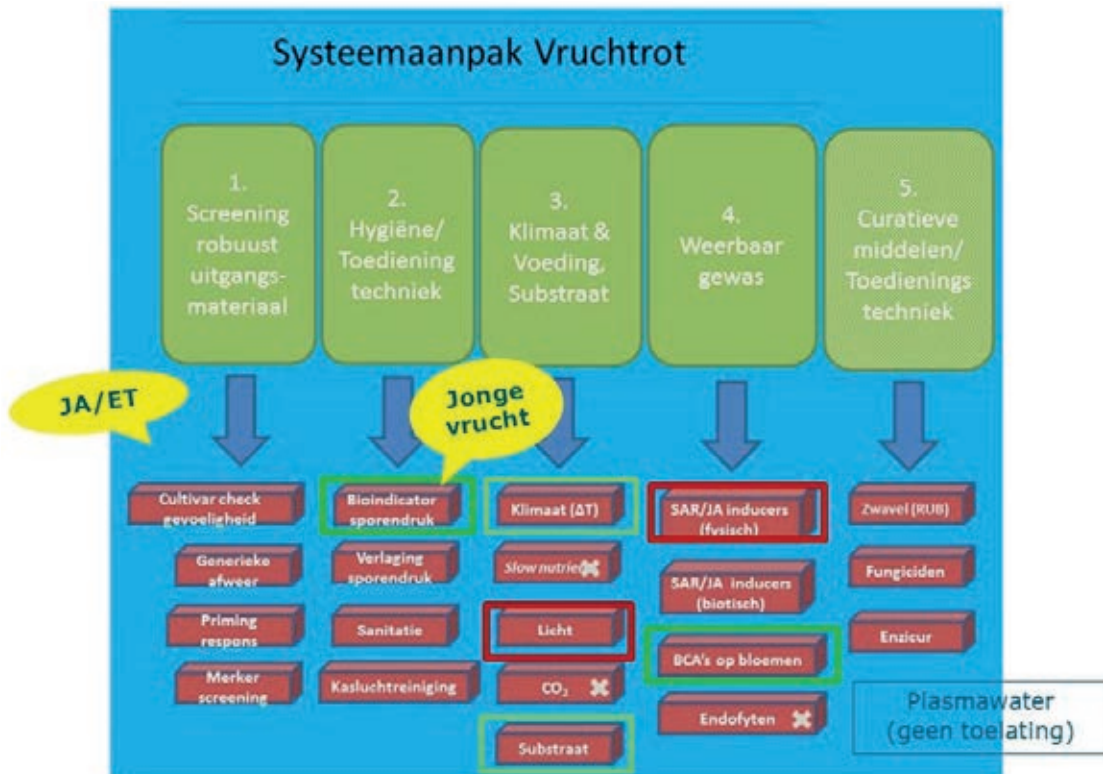
13.1 Beheersing gaat belangrijke stappen vooruit

Bij het ontwikkelen van een systeemaanpak voor *Fusarium lactis* in paprika is het doel om zoveel mogelijk facetten van de ziektecyclus te verstoren (zie Figuur 12.1). In het eerste jaar heeft het onderzoek zich gericht op het versterken van verdedigingsreacties van de plant, om te onderzoeken of een paprikaplant van nature weerbaarder is te maken tegen een *Fusarium* vruchtinfectie (roze cirkel). Daarnaast zijn biologische alternatieven getest die de schimmelgroei rechtstreeks kunnen remmen (groene cirkel). Deze producten zijn getest onder verschillende omstandigheden. Eerst op petrischaalniveau onder laboratorium condities, daarna is de toepassing opgeschaald naar losse plantendelen met bloemen en kasproeven met jonge paprikaplanten om vervolgens de stap naar een praktijkbedrijf te maken en de inzet van bestuivers als effectieve overbrengers van antagonisten te toetsen met behulp van het Flying doctors systeem van Biobest. In het tweede en derde jaar is de interactie onderzocht met klimaatmaatregelen en zijn proeven uitgevoerd met wisselende EC en worteltemperatuur behandelingen en is de invloed getest van verschillende scherminstellingen.



Figuur 13.1 Ziektedriehoek met *Fusarium* als ziekteverwekker. Pas als alle drie randvoorwaarden aanwezig zijn, treedt er ziekte op. Beheersmaatregelen kunnen zich richten op elk van de drie onderdelen om de cyclus te verstoren.

In de afgelopen jaren is het duidelijk geworden dat *Fusarium* vruchtrot niet met één maatregel te voorkomen is. Ook de bedrijven die met een nieuwe infecties te maken krijgen, kunnen niet volstaan met één enkele teelthandeling om de ziektedruk te verlagen. De beheersing vergt een nauw samenspel van meerdere maatregelen die gestapeld worden en gelijktijdig in één teeltseizoen worden ingezet. Binnen dit project zijn een aantal effectieve en minder effectieve maatregelen naar voren gekomen die een bijdrage kunnen leveren aan het beheersen van *Fusarium* vruchtrot. In Figuur 13.2 is hiervan een overzicht gegeven. Dit onderzoek heeft in verschillende proeven duidelijk laten zien dat het inzetten van biologische bestrijders één van de effectieve maatregelen is om de infectiedruk met 30-60% te verlagen. De preventieve inzet, voordat de sporendruk te hoog is opgelopen, is het meest effectief. De bijdrage van klimaatmaatregelen en stuurmogelijkheden via het substraat blijven voorlopig nog niet duidelijk. Tegelijkertijd is het wel duidelijker geworden welke maatregelen juist een bevorderend effect hebben op de ontwikkeling van *Fusarium*. Bij hogere lichtniveaus zijn alle omstandigheden gunstiger voor een snelle opbouw van de ziektedruk. Bij het ontwikkelen van waarschuwingsmodellen kan deze kennis nuttig zijn. Bijvoorbeeld voor het kiezen van de gunstige periode van een behandeling. De sporendruk in een kas is nu nog lastig te meten. Eén van de perspectievolle hulpmiddelen om meer zicht te krijgen op de ontwikkeling van de sporendruk in een kas zou de detectie van *Fusarium* in jonge vruchtbeginsels kunnen zijn. Ook het dagelijks in de gaten houden van veranderingen in het lichtniveau lijkt zinvol. De proeven met schermen laten zien dat een plant met zijn sapstroom sterk reageert op veranderingen van het lichtniveau. Ten slotte werken hogere concentraties van het plantenhormoon, jasmonzuur of ethyleen in het gewas bevorderlijk voor de ontwikkeling van *Fusarium* vruchtrot in de vruchten. Dit werkt door aan de kant van de gewaseigenschappen, maar ook in de ethyleenproductie tijdens het teeltseizoen. Des te meer een reden om afgevalen rijpe vruchten zo snel mogelijk te verwijderen om opbouw van afrijpingshormonen in het gewas te voorkomen.



Figuur 13.2 Overzicht van de nieuwste inzichten over de bijdragen van verschillende beheersmaatregelen aan het voorkomen van *Fusarium* vruchtrot in paprika. Kleurverklaring van de maatregelen die omkaderd zijn: donkergroen – draagt bij aan vermindering, lichtgroen - mogelijke bijdrage aan vermindering, rood – geen bijdrage aan vermindering van vruchtrot. De maatregelen met een kruis zijn niet getest binnen het project, omdat hier een geringe bijdrage van werd verwacht.

13.2 Epidemiologie

Er is tijdens het onderzoek meer zicht gekomen op een aantal onderdelen die belangrijk zijn in het versnellen van de ziektecyclus. Als er *Fusarium* sporen in de kaslucht aanwezig zijn dan raken vruchten met een wondopening eerder besmet. Inwendig vruchtrot krijgt eerder kans om zich te ontwikkelen en een bijdrage te leveren aan verkleuring van zaden. Tegelijkertijd is het duidelijker geworden dat vruchten met meer bruine zaden een verhoogd risico lopen op schimmel uitgroei in het algemeen en daarnaast specifiek op uitgroei van *Fusarium*. Het onderzoek heeft ook resultaten opgeleverd die niet verwacht werden. Zo blijkt bij hogere lichtniveaus de kans op *Fusarium* infectie hoger dan bij lagere lichtniveaus. *Fusarium* groei in jonge vruchtbeginsels werd namelijk meer bevorderd bij een klimaat met 8 mol dan bij 4 mol per dag. Een verklaring voor de onderliggende oorzaken is nog niet duidelijk. Ook in Belgische onderzoek werd hetzelfde resultaat gevonden (pers.comm. R. Aerts, KU Leuven).

13.3 Beheersing met biologische bestrijding

De proeven met biologische bestrijders hebben een effectieve werking laten zien in het voorkomen van groei van *Fusarium lactis*. Hierbij is de zoektocht naar effectieve bestrijders eerst begonnen in het lab, daarna doorgezet op losse plantendelen met bloemen, in een kasproef op jonge paprikaplanten en eveneens op praktijkproeven bij teeltbedrijven. Toevallig is er in de laboratoriumtesten tevens een nieuwe antagonistische bacterie gevonden. Deze is bewaard en in de bacteriecollectie van Wageningen UR Glastuinbouw opgenomen. De focus binnen dit onderzoek lag op de inzet van antagonisten die al dicht bij de markt staan en zicht hebben op registratie.

Daarom is deze nieuwe antagonist niet verder meegenomen in de effectiviteitstesten. In het Belgische onderzoek zijn eveneens diverse nieuwe antagonisten gevonden die bloeminfectie verminderen tot 50% (Frans *et al.* 2014). Geen van deze heeft echter tot nu toe een registratie en voorlopig is daar ook nog geen zicht op (pers.comm. R. Aerts).

Het product, Serenade met de bacterie *Bacillus subtilis* gaf in de labtest op een kunstmatige voedingsbodem zeer sterke resultaten waarin de schimmeligroei volledig werd onderdrukt. Onder meer praktijkconforme condities was de effectiviteit geringer na een kunstmatige infectie (30-40%), maar nog steeds was er onderdrukking mogelijk van de *Fusarium* groei. Als ondersteunende maatregel in het pakket van beheersmaatregelen kan het een belangrijke bijdrage leveren, maar het middel alleen is niet sterk genoeg om 100% beheersing te geven op het moment dat *et al.* een flinke aantasting is. Tijdige inzet, zodat het preventief op de bloemen wordt aangebracht, is een absolute voorwaarde en de ondersteuning met andere maatregelen waardoor de ziektedruk niet te hoog oploopt. De toediening van de antagonist in de praktijk is met de standaard apparatuur uit te voeren via een spuitbehandeling of LVM. Gedurende het project is het etiket van Serenade uitgebreid en is er een toelating beschikbaar gekomen voor de teelt van paprika en tomaat.

Nieuwe producten die ontwikkeld worden met antagonistische schimmels bleken eveneens effectief om de groei van *Fusarium* te remmen. Deze producten werken vooral op basis van een contactwerking en plekconcurrentie. Daarom is een belangrijke randvoorwaarde voor voldoende werking dat de schimmels voldoende ontwikkeltijd krijgen om de *Fusarium* groei te onderdrukken. Daarvoor is eveneens een preventieve toediening belangrijk. Bij een te hoge sporendruk neemt de werking sterk af.

De inzet van bestuivers in het Flying doctors systeem toont goede perspectieven, maar is nog niet onder de meest optimale omstandigheden getest. Het is duidelijk gebleken dat voor een goede werking de hommels op nog grotere schaal moeten worden ingezet om beter zicht te krijgen op de resultaten. In het laatste jaar van dit project is een proef bij een paprikateler uitgevoerd. Helaas kunnen daar geen conclusies uit worden getrokken omdat op dit bedrijf geen natuurlijke infectie aanwezig was van inwendig vruchtrot.

Een nieuw experimenteel product van Biobest onderdrukte *Fusarium* onder labcondities met 100% (Biobest exp 2) en was effectiever dan Biobest exp 1. Samen met de toelatinghouder wordt onderzocht welke mogelijkheden er zijn voor een toelating in paprika tegen binnenrot (bespuiting). De combinatie van Biobest exp 2 in het Flying Doctors systeem lijkt vooralsnog nog niet goed te werken.

13.4 Beheersing van jasmonzuur/ethyleen productie

De directe blootstelling van *F. lactis* sporen aan twee belangrijke plantenhormonen, salicylzuur en jasmonzuur (1 mM), gaf een remmende werking op zowel de groei van schimmeldraden als de sporenvorming. In de labtest had jasmonzuur een sterkere werking op de sporenontwikkeling dan salicylzuur. De beïnvloeding van afweerreacties in een plant met behulp van plantenhormonen pakte echter anders uit. De behandeling van jonge planten met jasmonzuur om de natuurlijke afweer tegen necrotische schimmels te verhogen gaf geen verminderde gevoeligheid voor bloeminfecties. Wel werkte de behandeling na in rijpe vruchten en versnelde de behandeling de doorgroei van *Fusarium* (kunstmatige aangebracht) in geoogste vruchten bij beide rassen. Naast een behandelingseffect kwam er ook een duidelijk ras effect naar voren. In het gevoeligste ras werd de uitgroei van *Fusarium* in vruchten na een jasmonzuur behandeling het meest bevorderd. Bij de veredeling en selectie van rassen is het dus van belang om al in een vroeg stadium rekening te houden met de mate van ethyleenproductie van een ras en het hogere risico dat kan ontstaan op de ontwikkeling van *Fusarium* vruchtrot bij gunstige omstandigheden. Daarnaast dient stimulatie van jasmonzuur/ethyleen productie van een gewas zoveel mogelijk te worden beperkt om de gevoeligheid voor *Fusarium* vruchtrot te verlagen. Het verdient dan ook aanbeveling om alle ethyleen en jasmonzuur bevorderende processen in de teelt- en naoogstfase nog eens kritisch door te lichten (in periodes met een hoge infectiedruk).

13.5 Klimaatsturing

Bij het ontwikkelen van *Fusarium*, lijkt in eerste instantie vocht uit het kasklimaat een belangrijke factor te zijn, omdat de sporen vocht nodig hebben voor de kieming. Eerder werd dan ook gedacht dat er meer binnenrot voorkomt bij een vochtig klimaat en dat condensatie in de kop voorkomen dient te worden (Kuiper, 2007). Echter uit onderzoek van WUR Glastuinbouw (voorheen PPO) in 2002 was al naar voren gekomen dat voor binnenrot 100% relatieve luchtvochtigheid en het natslaan van gewasdelen niet noodzakelijk was voor een infectie (Paternotte & Bloemhard 2003). Kennelijk is het vocht op de stamper en meeldraden al voldoende aanwezig om de sporen te laten kiemen en is aanvullend vocht uit het kasklimaat geen randvoorwaarde meer. Het blijkt zelfs andersom te zijn. In meerdere proeven die zijn uitgevoerd door het Engelse praktijkonderzoek (ADAS, UK), is gevonden dat bevochtiging van bloemen na een infectie de ontwikkeling van vruchtrot remt. In kasproeven waarbij bloemen met water bevochtigd werden, bleek de infectie sterk te verminderen tot meer dan 60% ten opzichte van de onbevochtigde bloemen. En dit effect was zelfs sterker in vergelijking met de behandelingen die met biologische antagonisten was uitgevoerd (mondelinge communicatie tijdens ADAS presentatie, Tim O'Neill & Sarah Mayne 2015 en 2016). De eerste remming is al merkbaar als de bloemen 3-6 uur bevochtigd zijn en dit effect verdubbeld na 15-24 uur en neemt daarna nog verder toe. Ook Belgische onderzoekers zijn op dit thema verder gegaan en vonden dat sporen die eerst aan water blootgesteld worden en die ze daarna weer lieten opdrogen, lastiger in staat waren om opnieuw een infectie te veroorzaken. De sturing hierop tijdens kasproeven op periodes met en zonder bevochtiging, gaf helaas veel variatie in de beheersing van inwendig vruchtrot. Vanwege het bijkomende risico van een verhoging van de infectiedruk is deze teeltmaatregel niet verder doorontwikkeld als beheersmaatregel (Artikel in Proeftuinnieuws, oktober 2016). Desondanks zou het misschien nog wel een overweging zijn om de bloemen met water te behandelen via een ultrasone vernevelingsbehandeling waardoor een hele fijne (droge) mist ontstaat. De dunne waterfilm die hierdoor op het plantmateriaal ontstaat maakt het lastiger voor sporen om te kiemen, zoals eerder aangetoond is voor *Botrytis* bij gerberabloemen (Van Os *et al.* 2010). Voor deze behandeling is geen registratie als gewasbeschermingsmiddel vereist.

Bij de kasproeven met klimaatsturing die binnen dit project zijn uitgevoerd, zijn geen effecten gevonden van een behandeling met EC of worteltemperatuur op de gevoeligheid van vruchten voor *Fusarium* vruchtrot. De sturing op EC gaf geen sterke verschillen in de gewas- en vruchtontwikkeling. De effecten op *Fusarium* ontwikkeling konden helaas niet worden beoordeeld doordat een natuurlijke infectie uitbleef. De kunstmatige infectie die later in het seizoen werd uitgevoerd toonde wel aan dat in aanwezigheid van *Fusarium* sporen in de kaslucht vruchten met een wondopening gevoeliger zijn voor inwendig vruchtrot en bruinkleuring van zaden. Uitwendige beschadigingen van vruchten dienen dus in ieder geval zoveel mogelijk voorkomen te worden om infectie van buitenaf tegen te gaan. Eerder onderzoek dat werd uitgevoerd werd bij het Belgische praktijkonderzoek kon eveneens geen relatie aantonen tussen behandelingen met EC, de grootte en frequentie van druppelbeurten en het optreden van *Fusarium* vruchtrot (Sauviller *et al.* 2015ab).

De proeven met de sapstroommeters geven een goed inzicht in de activiteit van de plant en geven aan dat de lichtinstraling een belangrijke stuurfactor is. Bij de metingen liep de sapstroom namelijk gelijk op met de instraling en het wegschermen van de instraling werkte gelijk door in een sterke verlaging van de sapstroom. Het toepassen van verschillende schermstrategieën blijkt niet van invloed te zijn op de activiteit van de sapstroom. Het effect van een koudere kop bij uitstraling bij heldere nachten lijkt hiermee geringer te zijn op het ontwikkelen van een infectie dan eerder werd gedacht. Daarmee komen we tot de conclusie dat alleen de mate van schermen niet van invloed is op het voorkomen van *Fusarium* vruchtrot. Ook in ander onderzoek naar vruchtrot in paprika werd gevonden dat infectie meer lijkt op te treden in periodes met veel instraling. Hieraan werd nog wel toegevoegd dat dit veroorzaakt zou worden door grote verschillen tussen minimum- en maximumtemperaturen (Paternotte & Bloemhard 2003). De kasproef met verschillende daglichtsommen die werd uitgevoerd binnen dit project laat zien dat er ook verschil in infectie kan optreden als de kastemperaturen gelijk blijven. Op welke wijze de complexe interacties tussen licht, temperatuur en vocht precies op elkaar ingrijpen en hoe dit de infectie stimuleert of remt blijft nog een vraag voor de toekomst. Betere detectietechnieken om de infectie in de jonge bloemen en vruchten nauwkeuriger te volgen, kunnen hieraan bijdragen. Het verdient in ieder geval aanbeveling om bij ontwikkeling van nieuwe kasconcepten (zoals Het Nieuwe Telen of Venlow Energy Kas) het monitoren op *Fusarium* vruchtrot voort te blijven zetten, zodat er meer zicht komt op de weerbare eigenschappen van een gewas tegen *Fusarium* vruchtrot.

13.6 Voedingsanalyses als indicatie

Op dit moment lijkt er geen sterk verband te zijn met voedingselementen en de gevoeligheid van een gewas voor *Fusarium* vruchtrot. Eerder onderzoek dat door Groen Agro Control binnen het monitoringsonderzoek op praktijkbedrijven werd verricht, duidde erop dat een hogere sulfaatconcentratie in voedings- en drainmonsters gecorreleerd was met minder vruchtrotinfecties (BijdeVaate *et al.* 2015). Om te testen of er via een extra sulfaatgift gestuurd kon worden op een lagere gevoeligheid voor *Fusarium* infectie is aanvullend onderzoek verricht bij WUR Glastuinbouw. Er werd een kasproef uitgevoerd met daarin verschillende behandelingen met meststoffen, oa. sulfaat en plantversterkende middelen. Er leek een trend zichtbaar dat planten die meer (ammonium)sulfaat kregen toegediend het minst gevoelig waren geworden voor bloeminfectie (BijdeVaate *et al.* 2015).

De invloed van zwavel op de verminderde gevoeligheid voor *Fusarium* vruchtrot is ook interessant. Bij het monitoren van jonge vruchtbeginsels in de Venlow Energy kas was de infectiedruk in het voorjaar significant lager ten opzichte van de referentieteeelt. Tegelijkertijd was er sprake van een intensieve zwavelbehandeling. Bij de start van de proef elke dag en in augustus bij een oplopende ziektedruk is de behandeling verder doorgezet (De Zwart *et al.* 2016). Omdat er niet gemonitord is op zwaveldepositie van de bloemen, blijft het lastig om hier een direct verband te leggen tussen zwavelbehandelingen en infectiedruk.

De relatie met sulfaat vinden we ook terug in de plantsapanalyses die binnen dit project in de lichtproef zijn uitgevoerd. In plantsapanalyses van jonge paprikabladeren zijn er bij het lichtniveau van 8 mol/dag (met een hogere *Fusarium* infectie) ten opzichte van 4 mol per dag significant hogere concentraties aanwezig van: suikers, ammonium, mangaan en aluminium. Een lagere gevoeligheid was gerelateerd aan hogere concentraties van calcium, zwavel (S), fosfaat, silicium, ijzer en koper. Van deze elementen is bekend dat ze vaker in verband worden gebracht met vermindering van ziektegevoeligheid. In lichtproeven met bladpathogenen, zoals Botrytis en meeldauw was een lagere ziektegevoeligheid gecorreleerd met niet alleen hogere concentraties van natrium en mangaan, maar eveneens met hogere concentraties van fosfaat en ijzer in het plantsap (Hofland-Zijlstra *et al.* 2017).

De verbanden tussen de gehalten van voedingselementen in plantsapanalyses van jonge paprikabladeren en *Fusarium* infectiedruk blijven lastig direct te interpreteren als de wekelijkse verschillen minder groter zijn als gevolg van behandelingseffecten. Desondanks kan het volgen van veranderingen in plantsapanalyses wellicht één van de eerste (betaalbare) indicatoren zijn dat de samenstelling van het gewas aan het veranderen is ten gunste van een schimmelinfectie. Nog veel meer monitoringsonderzoek op bedrijfsniveau zal echter nodig zijn om voldoende data te verzamelen om robuuste conclusies te kunnen trekken.

13.7 *Fusarium* detectie

Het meten van de sporendruk in de kaslucht met luchtaanzuigers (zg. airsamplers) gaf geen betrouwbare voorspelling van de infectiedruk in een kas. De variatie die optreedt tussen de individuele monsters was te groot. Daarnaast is de selectiviteit niet absoluut en vindt er ook *Penicillium* groei plaats op de platen waardoor de groei van *Fusarium* kan worden vertraagd en onderschat. Tevens ligt de detectiegrens voor een bloeminfectie laag, enkele sporen in de lucht zijn al voldoende om een infectie te veroorzaken. In Canadees onderzoek werd in commerciële kassen wel een relatie gevonden tussen piekmomenten met de hoogste sporendruk in juni en juli en de uitval van *Fusarium*. Deze hoge sporendruk was gerelateerd aan de momenten met veel instraling, temperatuur en vochtigheid (Yang *et al.* 2014). In België is in de beginjaren van het vruchtrot onderzoek ook veel met sporendrukmetingen gedaan via luchtaanzuigers, maar ook deze onderzoekers konden net als in ons project geen verband vinden tussen de mate van sporen die ingevangen waren met de airsamplers en de mate van vruchtrotinfectie. Binnen het DPA onderzoek heeft Groen Agro Control (Ruud Kaarsemaker) zich daarom ook altijd sterk gemaakt voor een alternatieve monitoringsmethode van sporendetectie op bloemen. Hiervoor werden twee duplomonsters van elk 10 bloemen uit een kas verzameld en doorgemeten op aanwezigheid van *Fusarium*. In proeven met een hoge sporendruk was een relatie te vinden met de gemeten sporendruk op de bloemen (DPA project 2013), maar in het monitoringsonderzoek bij 6 praktijkbedrijven, bleek de natuurlijke sporendruk dat jaar te gering om goede uitspraken over de betrouwbaarheid van de meting. De steekproef van 10 bloemen leek nog te gering vanwege de grote variatie die optrad (BijdeVaate *et al.* 2015).

Uit Nederlands onderzoek met *Botrytis* in cycloam is bekend dat de meeste sporen zich niet in de kaslucht bevinden, maar zich vasthechten aan het gewas (Hofland-Zijlstra *et al.* 2014). Bij *Fusarium* sporen is dit nog eerder het geval dan bij *Botrytis*, omdat de macroconidiën relatief zwaar zijn en voorzien van een slijmlaag (Domsch & Gams 2005).

Als alternatieve meting is daarom de detectie van *Fusarium* in jonge vruchtbeginsels (1-2 cm) ontwikkeld om directer aan de infectie van het gewas zelf te meten. In de kasproef met een kunstmatige infectie bleek dat bij inbreng van *Fusarium* sporen via kaslucht of vruchten binnen 4 dagen in jonge vruchtbeginsels zijn op te sporen. Bij verlaging van de sporendruk raakten minder vruchtjes geïnfecteerd. Een steekproefgrootte van 30-50 vruchtjes lijkt voldoende om betrouwbare uitspraken te kunnen over behandelingseffecten.

Met de hulp van moleculaire detectietechnieken kan specifiek op *F. lactis* worden gescreend. In het derde jaar van het onderzoek is hiertoe een eerste aanzet gegeven om met een moleculaire merker te werken die gericht het *F. lactis* complex kon meten. Daarnaast zou het helemaal compleet zijn om met een multiplex techniek alle *Fusarium* soorten in één meting te bepalen, ook de schimmels die in mindere mate een rol kunnen spelen bij een infectie, zoals *F. proliferatum*, *F. solani* en *F. oxysporum*, (Van Poucke *et al.* 2012). Als aanbeveling is het hoe dan ook aan te raden om afgevalen jonge en oude vruchten te verwijderen als infectiebronnen om de sporendruk zoveel mogelijk te verlagen. Tijdens het bedrijfsbezoek in Engeland kregen we (samen met ADAS onderzoekers) praktisch gedemonstreerd op welke wijze gewasresten routinematig verwijderd kunnen worden bij elke oogstbeurt.

13.8 Witte vlekken

Dit onderzoek heeft nog geen kant-en-klaar recept kunnen ontwikkelen voor de beheersing van inwendig vruchttrot in paprika. Wel heeft het sterk bijgedragen aan een beter inzicht welke maatregelen het meest zinvol zijn en welke maatregelen minder relevant zijn. Bij de kennisinventarisatie, zoals deze in 2013 is uitgevoerd, is een uitgebreide witte vlekkenlijst opgesteld. Een groot aantal van de vragen die toen speelden, vormden de basis van het later uitgevoerde onderzoek en zijn inmiddels beantwoord. De vragenlijst zoals deze in afstemming met een telersafvaardiging van de stuurgroep in september 2017 is opgesteld, geeft aan waar nog de grootste vragen zitten als het gaat om het voorkomen van inwendig vruchttrot in de praktijk (Bijlage 7):

Beantwoorde vragen zijn:

- Komen *Fusarium* sporen die vruchttrot veroorzaken overal voor? Nee. Bij alle proeven die bij WUR Glastuinbouw werden ingezet, was het mogelijk om zonder infectiedruk te starten. Alleen na het inbrengen van sporen, raakten bloemen en jonge vruchtjes besmet. Hygiëne helpt zeker om de sporendruk laag te houden zowel bij de start als tijdens de teelt.
- Eén van de belangrijkste vragen was of antagonisten bij kunnen dragen aan het voorkomen van een infectie. Dat is nu op kleine schaal bewezen met individuele bloemen. Helaas waren toepassingen op praktijkbedrijven minder succesvol.
- Daarnaast waren er veel vragen over de invloed van het klimaat. Daarvan lijkt in ieder geval de invloed van het licht het sterkst. Veranderingen ten gevolge hiervan zijn goed meetbaar aan nutriënten en sapstroom.
- De invloed van vectoren bij de overdracht van *Fusarium* sporen naar bloemen en vruchten lijkt niet relevant. Andere factoren, zoals klimaat zijn meer sturend op de ziekteontwikkeling.

Witte vlekken:

- Antagonisten. De inpassing gedurende het seizoen vergt nog verdere optimalisatie om tot een effectieve aanpak te komen, en om gericht al te starten met behandelingen als de symptomen van vruchtrot nog niet zichtbaar zijn.
- Vroege indicatie *Fusarium* infectie. Het is mogelijk om een eenvoudige praktijktest te ontwikkelen voor het monitoring van *Fusarium* in jonge vruchten (met uitplaten op semiselective medium). De gegevens van deze test zouden evt. gecombineerd kunnen worden met monitoring van nutriënten (plantsap en voeding) en verzameling van klimaatregistratie (instraling).
- Klimaat. Op welke wijze instraling precies ingrijpt op de ziekteontwikkeling op kasniveau is nog niet duidelijk. Nauwkeuriger volgen van het infectieproces op vruchtniveau kan hier wellicht meer zicht op geven.
- Nutriënten. Binnen dit project zijn geen bemestingsproeven uitgevoerd. Het lijkt wel zinvol om proeven uit te voeren waarin bv. sulfaat wordt verhoogd of de effecten van het zwavelen via het zwavelpotje wordt onderzocht op het onderdrukken van de sporendruk.
- Weerbaar substraat. Is de sporendruk in de pot op lange termijn te verlagen door toediening van antagonisten? De tijdsduur van de uitgevoerde proeven was relatief kort. Het lijkt daarom interessant om dit over een langere periode te toetsen met de inzet van moleculaire merkers die zowel de ontwikkeling van de antagonist als die van de pathogeen kunnen monitoren.

14 Aanbevelingen

- Hygiëne, gewasresten ruimen (bloemen, jonge vruchtjes en rijpe vruchten).
- Veredelaars: zaaddesinfectie toepassen bij zaadwinning.
- Monitoring mbv Moleculaire detectie *Fusarium* in jonge vruchtbeginsels.
- Lichtrijke periodes met lage temperaturen (risico).
- Effect van zwavel testen op sporenkieming *F. lactis*.
- Meststoffen: sturen via een sulfaatgift.
- Ethyleen: rassenkeuze afstemmen op soorten die minder ethyleen produceren & teeltmaatregelen die ethyleen productie stimuleren.
- Praktijktoepassing van biologische antagonisten stimuleren.
- In nieuwe kasconcepten blijven monitoren van jonge vruchtbeginsels op de gevoeligheid voor vruchtrot (40-50 vruchtjes/behandeling). Een behandeling kan een tijdstip zijn dat de vruchtjes verzameld worden en evt. verschillende kassen die op hetzelfde moment onderzocht worden.

Literatuur

Arkesteijn, M.; Postma J. (2006)

Pythium biologisch te lijf gaan,: 'Bacterie Lysobacter verslaat Pythium op drie fronten'. Onder Glas 3:13.

Boerrigter, H. (2012)

Invloed van RV en temperatuur op vruchtrotontwikkeling in de naooogst. HenK Voedingstuinbouw. FBR. PT rapport.

BijdeVaate, J., R. Kaarsemaker, N. Beerens, J. Hofland-Zijlstra, R. van den Broek, S. Breeuwsma & M. Noordam (2015)

Verbetering inwendige vruchtkwaliteit paprika. Vertrouwelijk rapport Dutch Product Association.

De Zwart, De Gelder, Hofland-Zijlstra & Noordam (2016).

Paprikateelt in de hoog geïsoleerde VenLow Energy kas. Rapport Kas als Energiebron GTB-1435.

Domsch, K.H & W. Gams (2005).

Compendium of soil fungi. Academic Press, pp. 405.

Frans, M., C. Sauviller, M. Van Mechelen, K. Heungens, K. Van Poucke, B. van Calenberge, L. Van Herck, R. Aerts (2014)

Sustainable control of internal fruit rot in bell pepper: a multidisciplinary approach. [https://lirias.kuleuven.be/bitstream/123456789/485690/1/ISCP+2014+\(KU+LEUVEN\).pdf](https://lirias.kuleuven.be/bitstream/123456789/485690/1/ISCP+2014+(KU+LEUVEN).pdf)

Frans M., Aerts R., Ceusters J., Heungens K., Van Poucke K., Van Herck L., Van Calenberge B., Van Gool S. (2015).

Binnenrot vereist een multidisciplinaire aanpak. Proeftuinnieuws, 25 (16), 32-33.

Frans, M., R. Aerts, S. van Laethem & J. Ceusters (2017)

Environmental effects on growth and sporulation of *Fusarium* spp. Causing internal fruit rot in bell pepper. European Journal of Plant Pathology 149: 875-883.

Helm, vd. F, J.D. Hofland-Zijlstra & D. Ludeking (2012)

Kennisinventarisatie inwendige vruchtkwaliteit paprika. Intern rapport DPA.

Hofland-Zijlstra, J.D., R. van den Broek, R. de Vries, W. van Wensveen, L. van Genuchten en J. van der Meer (2014)

Beheersing Botrytis in potplanten (pilotgewas: cycloam). PT rapport GTB 1320.

Hofland-Zijlstra, J.D., S. Breeuwsma, M. Noordam (2017)

Ontwikkeling teeltstrategie voor weerbare planten tegen bovengrondse ziekten. PT Rapport GTB-1442.

Hofland-Zijlstra, J.D., L. van Genuchten en A. Dik (2012)

Kennisinventarisatie Mycosphaerella in komkommer. PT rapport.

Hofland-Zijlstra, J.D., R.S.M de Vries, L. van Genuchten (2013)

Effectiviteitsscreening van antagonist tegen Mycosphaerella. PT rapport.

Kuiper, I. (2007)

Inventarisatie bij vruchtrot paprika. PT rapport 12500-02.

Postma, J. (2008)

Nieuwe biologische bestrijders van bodempathogene schimmels. Poster BO-06-004-001.05. Thema Effectief en duurzaam middelenpakket.

Sauviller C., Van Herck L., Van Calenberge B., Heungens K., Van Poucke K., Focquet F., Frans M., Aerts R. (2015a).

Water als wapen in de strijd tegen binnenrot? Proeftuinnieuws, 24 (16), 25-26.

Sauviller C., Van Herck L., Van Calenberge B., Heungens K., Van Poucke K., Focquet F., Frans M., Aerts R. (2015b).

Binnenrot bij paprika: naar een duurzame beheersing. Proeftuinnieuws, 25 (7), 34-36.

Sauviller C., Van Mechelen M., Heungens K., Van Poucke K., Focquet F., Van Herck L., Van Calenberge B., Frans M., Aerts R. (2014).

Binnenrot bij paprika: meerdere puzzelstukken nodig voor een effectieve beheersing. Proeftuinnieuws, 23 (7), 27-29.

Sauviller C., Van Mechelen M., Van Herck L., Van Calenberge B., Heungens K., Van Poucke K., Focquet F., Frans M., Aerts R. (2013).

Verdere inzichten in *Fusarium*-binnenrot bij paprika. Proeftuinnieuws, 23 (3), 32-34.

- Van Os, E.A, J.D. Hofland-Zijlstra, R. Hamelink, G. van Leeuwen (2010)
Bestrijding van Botrytis in gerbera tijdens de teelt en in de na-oogstfase. Deelproject 4 van Parapluplan Gerbera: kasklimaat, energie en botrytis bij gerbera; oorzaak, verband en maatregelen. PT Rapport GTB-1057_JV.
- Van Poucke, K., S. Monbaliu, F. Munaut, K. Heungens, S. De Saeger & F. Van Hove (2012)
Genetic diversity and mycotoxin production of *Fusarium lactis* species complex isolates from sweet pepper. International Journal of Food Microbiology 153: 28-37.
- Van Staalduinen, Hofland-Zijlstra, Balk (2014).
Screening van genen voor Botrytis. Artikel in Onder Glas.
- Yang J, P. D. Kharbanda, R. J. Howard & M. Mirza (2009)
Identification and pathogenicity of *Fusarium lactis*, causal agent of internal fruit rot of greenhouse sweet pepper in Alberta. Canadian Journal of Plant Pathology 31: 47-56
- Yang Y., T. Cao, J. Yang, R. J. Howard, P. D. Kharbanda & S. E. Strelkov (2010)
Histopathology of internal fruit rot of sweet pepper caused by *Fusarium lactis*. Canadian Journal of Plant Pathology 32: 86-97.
- Yang Y., N. Bouras, J. Yang, R. J. Howard & S. E. Strelkov (2011)
Mycotoxin production by isolates of *Fusarium lactis* from greenhouse sweet pepper (*Capsicum annuum*). International Journal of Food Microbiology 151: 150-156

Bijlage 1 Doelstelling inwendig vruchtrot project ADAS

Bron: <https://horticulture.ahdb.org.uk/project/pepper-improved-control-Fusarium-internal-fruit-rot-through-increased-knowledge-exchange-0>

PE 022a - Pepper: Improved control of *Fusarium* internal fruit rot through increased knowledge exchange with the Netherlands and targeted application of plant protection products - phase 2

Start Date: 02/07/2015

Completion Date: 31/03/2017

Project Leader: Dr Tim O'Neill, ADAS UK Ltd

Code: PE 022a

Industry representative: Neal Ward, Cantelo Nurseries Ltd

AHDB Horticulture project cost: £56,548

Project Summary:

Internal fruit rot of sweet pepper grown in glasshouses has been an increasing problem worldwide, including the UK, for the last 15 years. The disease causes some losses on production nurseries but more importantly *Fusarium* continues to be a frequent cause of rejection by packhouses and product returns from supermarkets. Losses vary greatly between crops and seasons. We have shown several weakly pathogenic *Fusarium* species are associated with the disease, notably *F. lactis* and *F. oxysporum* in the UK. *Fusarium* spores deposited on the stigma during flowering grow rapidly through the style resulting in infection of seeds and internal fruit wall. Work in PE 007 demonstrated that a single spray of Serenade ASO applied to a crop during flowering can reduce the incidence of infection in fruit developing from treated flowers by around 50%. In PE 022 (phase 1) we showed *F. lactis* commonly occurs on rockwool propagation blocks in production glasshouses, a previously unknown source of the fungus. We also found that a high proportion of flowers and young fruits (1-2 cm diameter) in commercial crops were infected with *F. lactis*, yet only a relatively small proportion of fruit develop internal fruit rot. Results from 2014 and plans for 2015 were shared between the pathology teams at Bleiswijk (Wageningen University & Research, BU Greenhouse Horticulture) and ADAS. This project aims to reduce losses to *Fusarium* internal fruit rot through: (1) continued information exchange and discussion on the disease with Dutch researchers; (2) examination of pepper seeds as a source of *F. lactis* and *F. oxysporum* that leads to growth of the fungi in rockwool propagation cubes; (3) determining the reduction in fruit infection provided by one and several applications of Serenade ASO to a crop row, cube surface and floor; (4) determining if use of biopesticides / plant resistance inducers applied preventatively provide protection to flowers and/or fruit against infection and/or fruit rot development; (5) monitor occurrence of *F. lactis* in flowers, young fruit and mature fruit in an organic pepper crop and a conventional crop; (6) communication of results to growers.

Aims and objectives:

(i) Project aim:

To reduce fruit wastage due to *Fusarium* internal rot through knowledge exchange and by targeted application of plant protection products.

(ii) Project objectives:

1. To continue liaison with the Dutch researchers working on *Fusarium* internal fruit rot and exchange information and results;
2. To investigate occurrence of *Fusarium lactis* and other *Fusarium* species on pepper seed, and infected seed as a possible source of *Fusarium* spp. on rockwool propagation cubes;
3. To determine the reduction in *Fusarium* internal fruit rot achieved by one or several sprays of Serenade ASO to flowers, crop and floor;
4. To examine a range of biopesticides and resistance inducers applied to flowers, leaves and roots on the level of *Fusarium* in flowers and young fruit;
5. To monitor occurrence of *Fusarium lactis* in flowers, young fruit and mature fruit in an organic pepper crop compared with a conventional crop;
6. To communicate results to UK pepper growers.

Bijlage 2 Poster GewasgezondheidsEvent 2015



WAGENINGEN UR
For quality of life

Kleine stappen vooruit tegen Fusarium in paprika

Nancy Beerens, Jantineke Hofland-Zijlstra, Marianne Noordam, Rob van den Broek.

Achtergrond

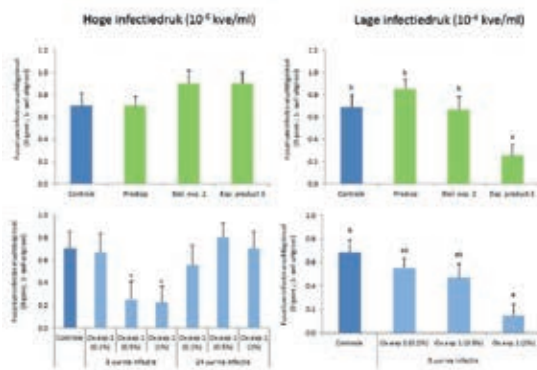
Het ontwikkelen van een beheersstrategie om bloeminfecties door Fusarium in paprika te voorkomen is nog in volle gang. In 2014 is het project Verbetering inwendige vruchtqualiteit paprika uitgevoerd. Hierbij werd een intensieve praktijkmonitoring uitgevoerd op een zestal bedrijven door DLV Plant en Groen Agro Control. Door Wageningen UR Glastuinbouw zijn een aantal snelle screeningstesten uitgevoerd die hieronder zijn weergegeven. Dit project is gefinancierd door Dutch Produce Association (DPA).

Doelstellingen

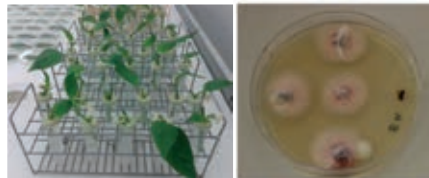
- Effect toetsen van biologische en oxidatieve producten met een contactwerking op jonge gewasscheuten.
- Effect toetsen van diverse producten die de natuurlijke afweerreacties kunnen versterken tegen Fusarium op jonge planten in een kasproef.

Snelle screeningstest op jonge gewasscheuten

- Jonge gewasscheuten met bloemen (Maranello) werden 24 uur voor infectie behandeld met Prestop (Gliocladium catenulatum), Biol. product 2, Exp. product 3 en oxidatief exp.1 (10 bloemen per behandeling).
- Na 7 dagen werden vruchtbeginsels uitgelegd op agar ter beoordeling van de uitgroei van Fusarium.



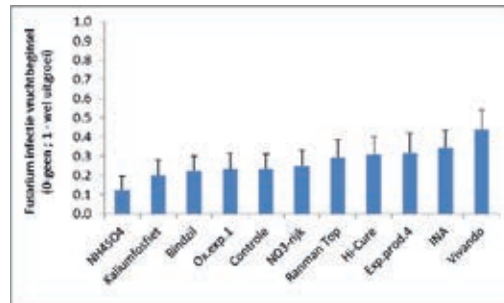
Figuur 2. Fusarium infectie in vruchtbeginsels na behandeling met biologische en oxidatieve producten.



Figuur 1. Opstelling van test met jonge gewasscheuten en Fusarium uitgroei op een voedingsplaat (linksboven).

- Exp. product.3 verminderd vruchtaantasting met 60%.
- Experimenteel oxidatief product met contactwerking was alleen werkzaam als deze in korte tijd (3 uur) na infectie werd toegepast.

Kasproef met jonge paprikaplanten



Figuur 3. Fusarium infectie in vruchtbeginsels na preventieve behandeling met plantversterkende producten.

- Preventieve behandelingen gedurende 3 weken voordat bloemen werden besmet met Fusarium.
- Lage infectieniveau van de controleplanten (snelle vruchtzetting?).
- Geen sterke verschillen tussen de behandelingen.
- Vervolg: met lagere, natuurlijke infectieniveau's en volgen van langere termijn effecten op sporendynamiek in kas.

Vervolgonderzoek binnen Topsector T&U

Binnen het topsectoronderzoek van Tuinbouw & Uitgangsmateriaal wordt er door LTO Glaskracht Nederland, DPA en Wageningen UR Glastuinbouw (i.s.m. Biobest en Horti Nova) de komende vier jaar verder gewerkt aan het ontwikkelen van een systeemaanpak vruchtrot voor gezonde vruchten in de keten.



Wageningen UR Glastuinbouw
Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk
Contact: jantineke.hofland-zijlstra@wur.nl
T + 31 (0)317 48 56 94
www.wageningenUR.nl



Bijlage 3 Poster GewasgezondheidsEvent 2016



WAGENINGEN UR
For quality of life

Ontwikkeling systeemaanpak vruchtkwaliteit

Jantineke Hofland-Zijlstra, Suzanne Breeuwsma & Marianne Noordam

Achtergrond

Binnen het topsectoronderzoek van Tuinbouw & Uitgangsmateriaal wordt er door Dutch Produce Association (DPA), LTO Glaskracht Nederland en Wageningen UR Glastuinbouw in samenwerking met Biobest en Horti Nova binnen een meerjarig project gewerkt aan het ontwikkelen van een systeemaanpak vruchtrot voor gezonde vruchten in de keten. Financiering hiervoor is afkomstig van Ministerie EZ, DPA, Productschap Tuinbouw en de private partners.

Doel

Ontwikkeling van een duurzame systeemaanpak voor vruchtrotproblemen in de glasgroenteteelt gebaseerd op plantweerbaarheid en integrated pest management (IPM) waarbij de inzet van curatieve middelen zoveel mogelijk kan worden verlaagd door meer te focussen op versterking van de gewaskwaliteit.

Uitvoering onderzoek

Eén van de veroorzakers van vruchtrot is *Fusarium lactis* in paprika (Figuur 1). Voor het beheersen van *Fusarium* groei en vermindering van bloeminfecties zijn een aantal proeven ingezet:

- Testen met preventieve toediening van antagonist (schimmels en bacteriën) onder labcondities (Tabel 1, Figuur 2) en op jonge paprikaplanten in een kasproef. In geval van een biologisch preparaat met de werkzame stof *Bacillus subtilis* is de toepassing opgeschaald en werd een vergelijkbare remming aangetoond.
- Kasproeven met jonge paprikaplanten om de invloed van natuurlijke afweerreacties te onderzoeken op de ziekteontwikkeling (Figuur 3) en de klimaatsfactor licht (is nog in afronding).



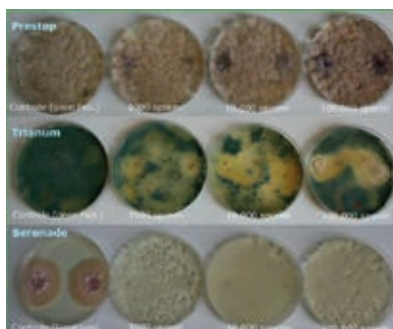
Figuur 1. Overzicht van de kritische momenten in de ziektecyclus met *Fusarium* vruchtrot.

Conclusie

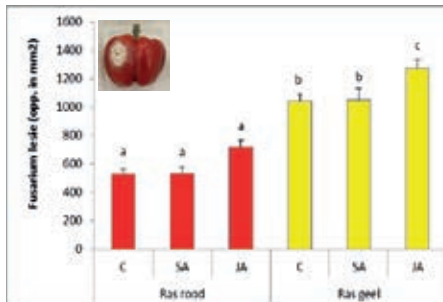
- De preventieve inzet van antagonist vermindert risico op doorgroei naar vruchtbeginsels bij bloeminfecties. Serenade is sinds kort toegelaten als fungicide in de paprikateelt en is met standaard spuitapparatuur toe te passen.
- Er is een nieuwe, veelbelovende antagonist (Biobest exp.2) in ontwikkeling met zicht op registratie.
- Activering van natuurlijke afweerreacties lijken niet direct van invloed op bloeminfecties, maar werken wel door op de vruchtkwaliteit.

Tabel 1. Effectiviteit van antagonist tegen *F. lactis* bij verschillende sporenconcentraties in de eerste test. Per behandeling is het gemiddelde aantal *Fusarium* kolonies per druppel weergegeven. Bij de watercontrole was bij de lage *Fusarium* concentratie een onbekende antagonist aanwezig.

Antagonist \ <i>Fusarium</i> sporen per plaat	0	10	100	1.000	10.000
Controle onbehandeld	0	1	8	164	>300
Controle water (* met onbekende antagonist)	*	*	4	187	>300
Prestop (Gliocladium)	0	0	0	22	>300
Trianium (Trichoderma)	0	0	0	0	>300
Serenade	0	0	0	0	0
Biobest exp.1 - G	0	0	0	47	>300
Biobest exp.2 - T	0	0	0	0	0



Figuur 2. Foto's van de verschillende behandelingen met antagonist en *Fusarium* (sporen per aangebrachte druppel) in een tweede test met hogere sporendichtheden. Links en rechts op de voedingsplaten zijn druppels van *Fusarium* aangebracht nadat de platen een dag eerder waren behandeld met een antagonist. Linksonder is een controleplaat te zien met alleen *Fusarium* zonder toevoeging van een antagonist.



Figuur 3. Doorgroei van *Fusarium* in vruchten afkomstig van jonge paprikaplanten (ras rood of ras geel) die met een plantenhermostorm waren behandeld. SA = JA behandeld om systemische afweer tegen biotrofe ziekteverwekkers te stimuleren; JA = jasmonzuur behandeld ter stimulatie van afweer tegen van necrotrofe ziekteverwekkers.

Vervolgonderzoek

In 2016 wordt de onderdrukking van sporenbouw van *Fusarium* in het substraat onderzocht en welke rol bestuivers kunnen spelen bij vroegtijdige sporendetectie. Daarnaast wordt er gekeken naar de invloed van snelle schommelingen in de waterbalans op de vruchtkwaliteit en de gevoeligheid voor *Fusarium* infectie.

Wageningen UR Glastuinbouw
Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk
Contact: jantineke.hofland-zijlstra@wur.nl
T + 31 (0)317 48 56 94
www.wageningenUR.nl

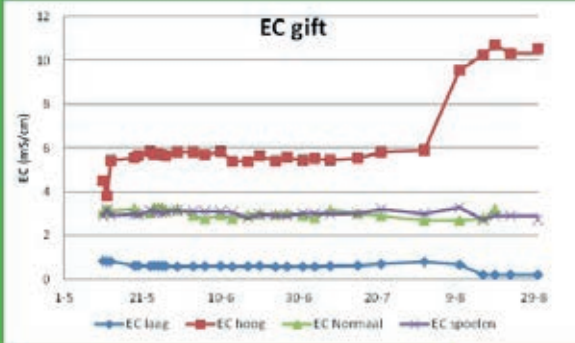


Uw sector investeert in dit project via het
Productieschap
Tuinbouw

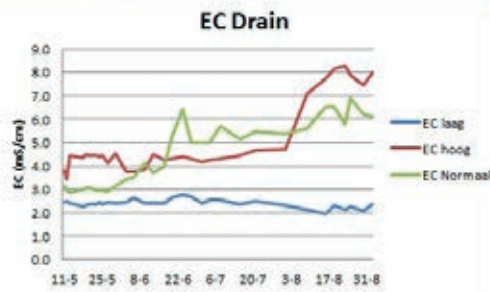


Bijlage 4 EC kasproef gewasontwikkeling

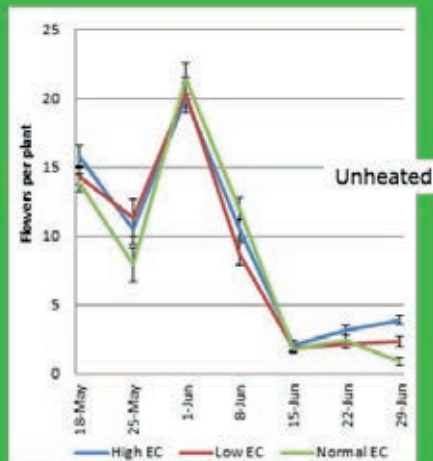
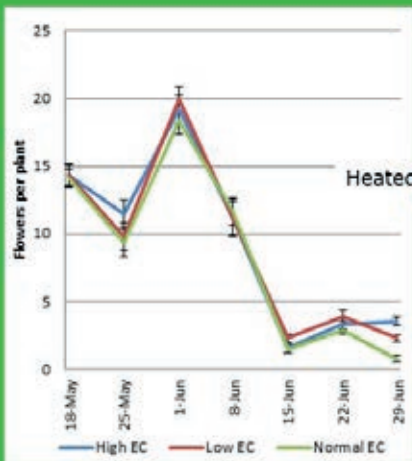
Verloop EC



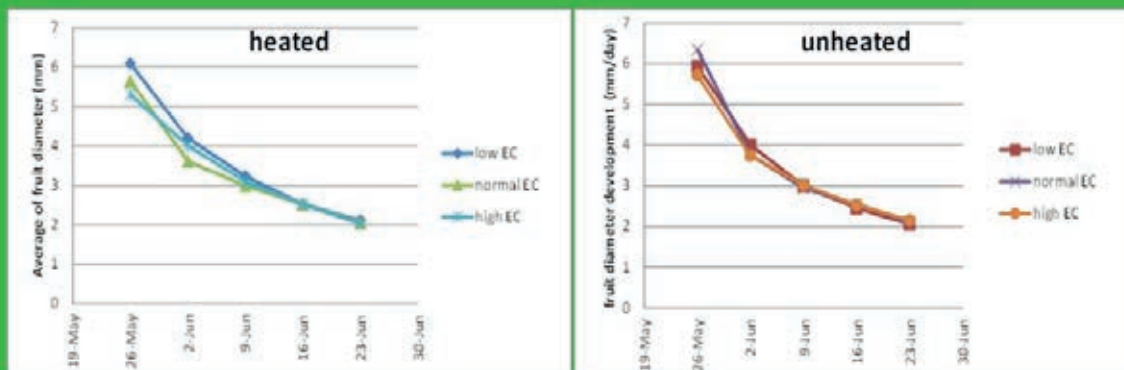
- EC hoog en laag verschillen volgens verwachting.
- Toename in EC drain bij de normale EC.



Resultaten I - Aantal bloemen/plant



Resultaten I Vrucht diameter (mm/dag)



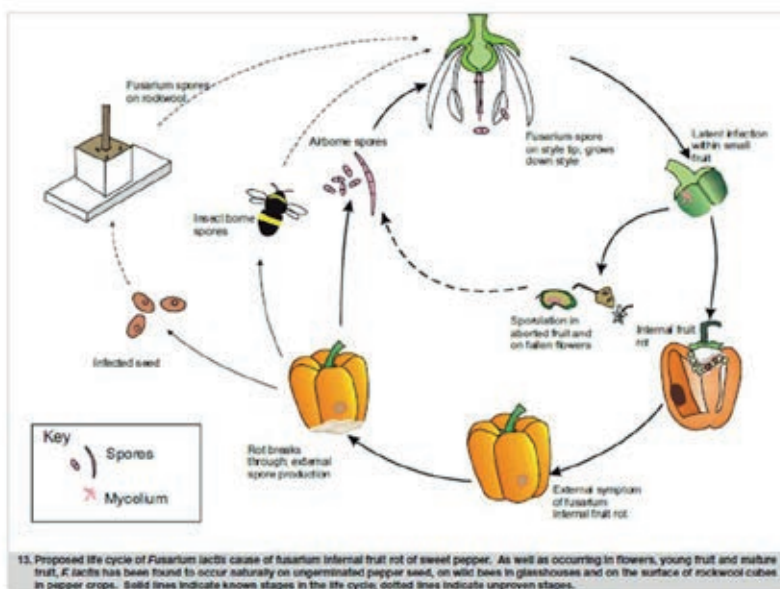
Hogere temp: iets kleinere vruchten per plant.

Bijlage 5 Monitoring op ziektegevoeligheid voor *Fusarium lactis* in de Venlow Energykas

Dit onderzoek is gepubliceerd in: De Zwart, De Gelder, Hofland-Zijlstra & Noordam (2016). Paprikateelt in de hoog geïsoleerde VenLow Energy kas. Rapport Kas als Energiebron GTB-1435.

Inleiding

Eén van de belangrijkste ziekteproblemen in paprika is op dit moment *Fusarium* vruchtrot. Onder gunstige condities kunnen *Fusarium* schimmels via de bloem de vruchtbeginsels infecteren en vervolgens symptomen van inwendig vruchtrot veroorzaken (Figuur 1). Een beginnende aantasting is niet aan de buitenkant te herkennen, maar is pas te beoordelen als de vruchten worden doorgesneden. Aan de binnenkant is dan wit-rose schimmelpuis te zien.



Figuur 1. Levenscyclus van *Fusarium lactis* als veroorzaker van inwendig vruchtrot (HDC. Tim O'Neill & Sarah Mayne, ADAS, UK).

In de VenLow Energy Kas wordt een paprikagewas op een energiezuinige wijze geteeld met handhaving van relatieve hoge luchtvochtigheden. De vraag is wat de invloed is van energiezuinige teeltwijze is op de infectiedruk van *Fusarium* in de vruchten. Om inzicht te krijgen in de natuurlijke infectiedruk zijn vruchtbeginsels uit de Venlow Energy Kas verzameld op vier tijdstippen (mei, juni, aug en sept) en beoordeeld op inwendige uitgroei van *Fusarium* ten opzichte van een referentiekas. Omdat de natuurlijke ziektedruk altijd onzeker is, zijn er daarnaast ook plantendelen met bloemen uit de kas verzameld en kunstmatig geïnfecteerd om de gewasgevoeligheid te beoordelen. Vanwege het uitblijven van *Fusarium*/binnenrot zijn in september ook de vruchtbeginsels uit de IC kas verzameld en beoordeeld op inwendige uitgroei van *Fusarium* ten opzichte van de VenLow kas en een referentie kas.

Doel

Monitoring van de natuurlijke ziektedruk van *Fusarium lactis* in paprikaplanten in de VenLow Energy Kas via het uitplaten van vruchtbeginsels.

Monitoring van gevoeligheid van de paprikabloemen voor infectie na kunstmatige besmetting onder gestandaardiseerde klimaatcondities.

Materialen en uitvoering

Natuurlijke infectiedruk in jonge vruchtbeginsels

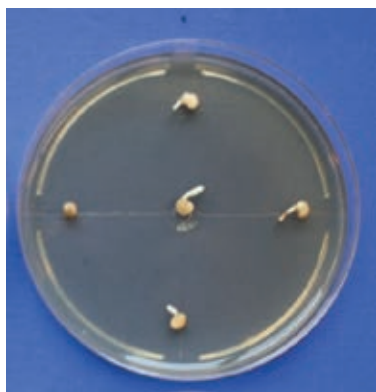
Om zicht te krijgen op de natuurlijke aanwezige infectiedruk in de kas zijn jonge vruchtbeginsels verzameld (ras: Maranello, plantdatum: 7 december 2015) die circa 1-2 weken oud waren. Sporen die op de bloem landen, zijn in staat om binnen enkele dagen (2-5) van de stamper of de meeldraden door te groeien naar het vruchtbeginsel. Door deze na uitwendige desinfectie uit te platen op een selectieve voedingsbodem voor *Fusarium* is goed te onderscheiden welke vruchtjes schoon zijn of besmet zijn geraakt met *Fusarium*. Eénmaal besmette vruchten zijn niet meer te genezen. Hooguit is de ontwikkelingsnelheid te vertragen door vruchten kouder te zetten. De monitoring van vruchtbeginsels is vier keer uitgevoerd (mei, juni, aug, sept). Per keer zijn 50 jonge vruchtbeginsels verzameld van ca 1-2 weken oud. Deze worden random verzameld uit de hele kas (met uitzondering van de plekken waar rood-witte linten voor proeven geplaatst zijn). Als referentie worden ook vruchtbeginsels verzameld uit het paprikagewas in de Emissieloze kas (plantdatum 7 januari 2016 uit rij 8 en 9). De vruchtjes zijn na desinfectie op selectief voedingsmedium geplaatst en in een stoof weggezet bij 25°C. Na ongeveer drie dagen is de eerste *Fusarium* uitgroei bepaald. De eindbeoordeling is na 14 dagen uitgevoerd. Uitgroei van andere schimmels is eveneens genoteerd, voor zover deze gemakkelijk te herkennen waren aan de groeiwijze.

Gevoeligheid van bloemen na kunstmatige infectie

Uit de kas zijn in mei en juni ook gewasscheuten met bloemen verzameld. Deze werden op een buis met water geplaatst om de bloemen vervolgens te besmetten met *Fusarium* sporen ($1 \cdot 10^4$ sporen/ml). Na 6 dagen zijn de vruchtbeginsels geoogst, uitwendig gedesinfecteerd, op specifiek voedingsmedium uitgeplaat en weggezet in een broedstoof bij 25°C. Per keer zijn 50 gewasscheuten verzameld. Ook hiervoor zijn bloemen uit de Emissieloze kas verzameld als referentie.

Zaadtest

Na de eerste beoordelingen van volgroeide, rijpe vruchten waren er verkleurde zaden zichtbaar. Hiervan zijn een aantal witte (30) en verkleurde zaden (50) uitgeplaat en beoordeeld op uitgroei van *Fusarium*. In de eerste test waren alle zaden vooraf gedesinfecteerd (0,5% actief chloor). Er was sprake van volledige doding van schimmelgroei en er werd geen uitgroei van *Fusarium* waargenomen. In de tweede test werd de helft van de zaden niet gedesinfecteerd en de andere helft met een lagere dosering van chloor (0,25% actief chloor).

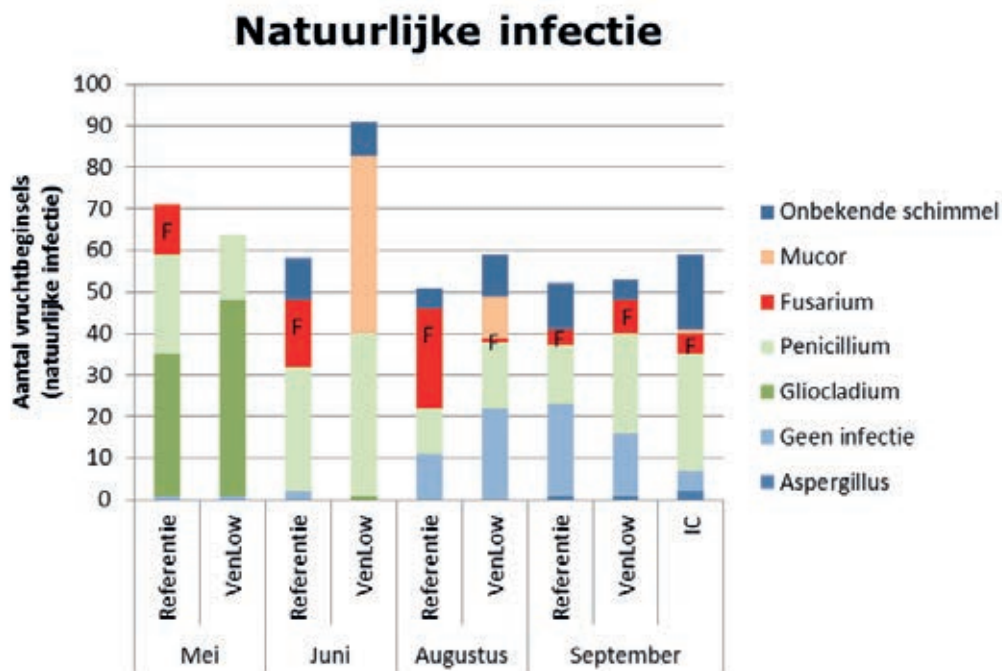


Figuur 2 Foto links: een foto van een paprika met verkleurde paprikazaden. Foto rechts: slechte kieming van bruinkleurige zaden op een petrischaal met wateragar (Foto's: Marianne Noordam).

Resultaten

Natuurlijke infectiedruk in jonge vruchtbeginsels

In de Venlow Energy kas was in de eerste meting van mei geen uitgroei te zien van *Fusarium* in de vruchtbeginsels, terwijl in de referentiekas wel bij een aantal vruchten *Fusarium* uitgroei (Figuur 3). Opvallend was dat er veel kolonies met *Gliocladium* (nieuwe naam: *Clonostachys rosea*) werden aangetroffen. Deze schimmel wordt ook als commerciële antagonist ingezet. Ook uit eerder onderzoek blijkt dat deze actief de groei van *Fusarium* kan remmen bij lage sporendichtheden. Deze antagonistische schimmel is echter spontaan in het gewas opgekomen en niet actief via teelthandelingen toegevoegd.



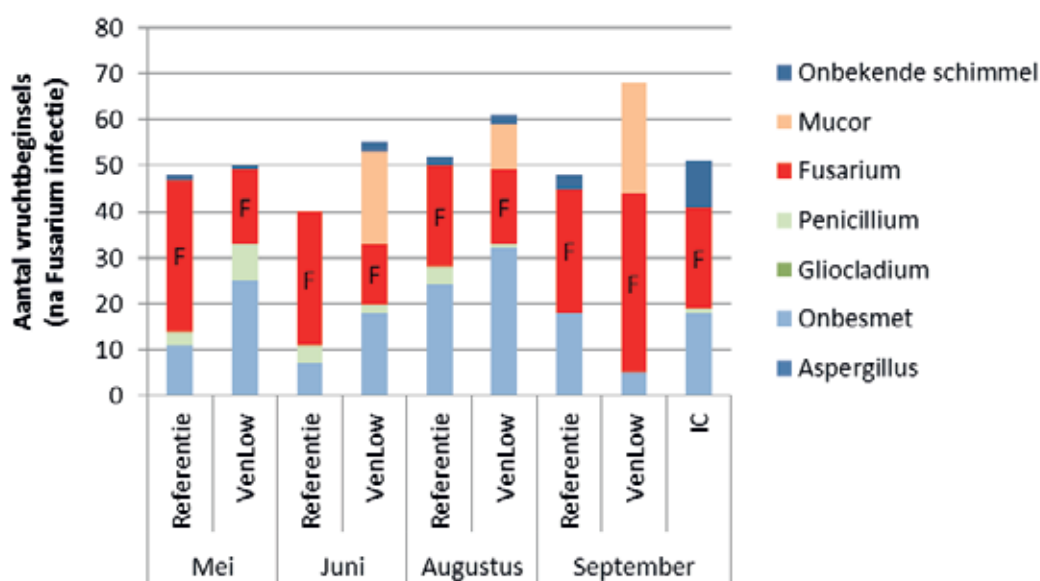
Figuur 3 Natuurlijke infectiedruk van vruchtbeginsels uit de Venlow Energy Kas, IC kas en een referentieafdeling in mei, juni, augustus en september 2016.

In de tweede meetronde van juni blijven de vruchtbeginsels uit de VenlowEnergy kas vrij van *Fusarium* infectie, terwijl de aanwezigheid van *Fusarium* in de referentie kas toeneemt. Echter de vruchtjes vertonen wel een hoge mate van uitgroei van *Mucor* kolonies. Dit komt overeen met de zichtbare druk van *Mucor* die in deze periode ook in de kas waarneembaar is. In augustus neemt de *Fusarium* druk nog verder toe in de referentiekas, terwijl deze in de Venlow Energy kas nog steeds zo goed als afwezig blijft. De uitgroei van *Mucor* neemt in de VenlowEnergy kas wel weer af wat aantoont dat de vochtige condities in het kasklimaat afnemen. Op het einde van de teelt in september zijn er enkele vruchten met uitgroei van *Fusarium* en wordt er een paar keer *Aspergillus* aangetroffen in alle proeflocaties. Dit is een schimmel die goed kan groeien op zetmeelrijke voedingsbodem en onder (voedselarme) vochtige condities.

Gevoeligheid van paprikabloemen na kunstmatige infectie

De paprikabloemen die kunstmatig zijn besmet met *Fusarium lactis* en onder geconditioneerde omstandigheden zijn weggezet laten opmerkelijke verschillen zien (Figuur 4). In de referentiekas groeit het merendeel van de *Fusarium* die is aangebracht op de bloem goed door naar de vruchtbeginsels, in beide meetrondes. In de Venlow Energy Kas is de uitgroei van *Fusarium* uit de vruchtbeginsels in mei veel geringer, slechts 50% ten opzichte van de referentie afdeling. In juni zien we eveneens een geringe uitgroei van het aantal vruchtbeginsels met *Fusarium*. Tegelijkertijd vinden we ook in deze test een grote hoeveelheid vruchtbeginsels waar *Mucor* uitgroeit. Het is de vraag in hoeverre de aanwezigheid van *Mucor* de doorgroei van *Fusarium* naar de vruchtbeginsels remt. In september lijkt er een kantelpunt bereikt en neemt het aantal vruchtjes met *Fusarium* en *Mucor* uitgroei toe ten opzichte van de referentieteel en de teelt die bij het IC is gemonitord.

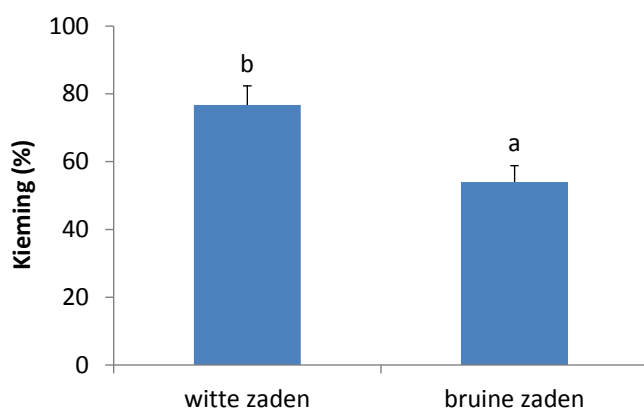
Na Fusarium infectie



Figuur 4 Ontwikkeling van schimmelgroei in jonge vruchtbeginsels na kunstmatige besmetting van bloemen met *Fusarium* uit de Venlow Energy Kas, IC kas en een referentieafdeling in mei, juni, augustus en september 2016.

Zaadtest

In de eerste test werd na volledige desinfectie met 0,5% geen schimmelgroei meer waargenomen. Vervolgens is nog wel een beoordeling gedaan op het aantal zaden dat kiemde (Figuur 5). Het kiemingspercentage lag ruim 40% lager bij de verkleurde zaden.



Figuur 5 Gemiddeld percentage van gekiemde paprikazaden op basis van uitwendige zaadkleur. De verschillende letters op de kolommen geven significante verschillen aan tussen zaadkleuren ($P < 0.05$, Tukey's test).

In de tweede test werd bij de witte zaden opnieuw geen enkele schimmelgroei waargenomen. Terwijl bij de bruinkleurige zaden een natuurlijke uitgroei voorkwam van zowel *Trichoderma* als *Penicillium* soorten in zowel de ontsmette als de niet ontsmette zaden. Slechts bij 1 zaadje uit de partij die niet ontsmet was ($n=25$), werd een *Fusarium* infectie gezien. Verschillende *Trichoderma* soorten zijn in staat om *Fusarium* schimmels te remmen.

Discussie en Conclusie

- In de Venlow Energy Kas wordt in de kritische periode van mei, juni geen natuurlijke druk gevonden van *Fusarium* op de bloemen en in de vruchtbeginsels ten opzichte van de referentieteelt. De gehanteerde klimaatsturing lijkt de natuurlijke opbouw van *Fusarium* sporen in de kas in afdoende mate te remmen. Eind augustus wordt de eerste observatie gedaan en in september neemt de natuurlijke infectiedruk iets toe, maar het gemiddelde infectieniveau ligt genomen over het hele seizoen nog steeds lager ten opzichte van de referentieteelt.
- Het klimaat in de Venlow Energy Kas lijkt niet alleen de opbouw van sporen te beïnvloeden, maar ook een gunstige invloed te hebben op de gevoeligheid van de bloemetjes zelf voor infectie. In juni is er een sterke ontwikkeling van *Mucor* aanwezig, maar die was goed te beheersen met Serenade.
- In witte zaden wordt geen *Fusarium* groei aangetroffen, maar in verkleurde zaden is dat risico wel aanwezig. De natuurlijke aanwezigheid van andere schimmels in verkleurde zaden zoals *Trichoderma* soorten kan uitgroei van *Fusarium* mogelijk remmen.

Bijlage 6 Screening effectiviteit van antagonisten in steenwolmat/pot (competitie)

1A. Voorproef herisolatie van *Fusarium* en bepaling *Fusarium* concentratie in schone matten

Uitvoering bij WUR Glastuinbouw. Bleiswijk

Door: Suzanne Breeuwsma & Jantineke Hofland-Zijlstra. 8 februari 2016

Doel

In deze kleine voorproef wordt in nieuwe schone steenwol potten bepaald of *Fusarium* sporen zijn her te isoleren uit de mat. Daarnaast wordt bepaald hoeveel *Fusarium* sporen moeten worden toegevoegd zodat er na monsternamen genoeg *Fusarium* sporen zijn terug te vinden.

Een bekende hoeveelheid sporen worden toegevoegd aan de bovenste laag van de pot. Na 24 en 72 uur worden op 2 verschillende lagen van de pot plugjes verzameld. De bovenste laag wordt bemonsterd omdat bij gebruikte matten wordt verwacht dat daar de *Fusarium* sporen zitten die afkomstig zijn van afgevallen besmette vruchtjes. De middelste laag wordt bemonsterd omdat de matten die in de hoofproef worden gebruikt van onderen open zijn waardoor de *Fusarium* ook van onderaf in de mat kan komen.

In dit voorproefje maken we echter gebruik van schone potten zodat we de bepalingen kunnen uitvoeren zonder invloeden van de al aanwezige pathogenen/antagonisten in de pot.

De plugjes worden direct op een specifiek *Fusarium* voedingsbodem uitgelegd. Vervolgens wordt de *Fusarium* uitgroei bepaald. Doel is om een *Fusarium* concentratie te vinden waarbij maximaal 100 sporen/plaat uitgroeien.

Materiaal en methode.

Soort matten:

Schone steenwol potten. 3 potten per behandeling.

Besmetting van de matten:

Potten van bovenaf aangieten met 50 – 100 ml *Fusarium* sporensuspensie.

Fusarium concentratie:

- $1 \cdot 10^9$ sp/ml.
- $1 \cdot 10^7$ sp/ml.
- $1 \cdot 10^5$ sp/ml.

De potten worden per concentratie in een bak gezet.

Na 24 uur en na 72 uur worden de matten bemonsterd. Hierbij moet erop worden gelet dat de matten tussentijds niet uitdrogen. Eventueel kan aan elke mat een bekende hoeveelheid water worden toegevoegd.

De matten in de proef worden op 2 lagen bemonsterd (zie Figuur 1):

- Uit de bovenste laag van de pot.
- Uit het midden van de pot.

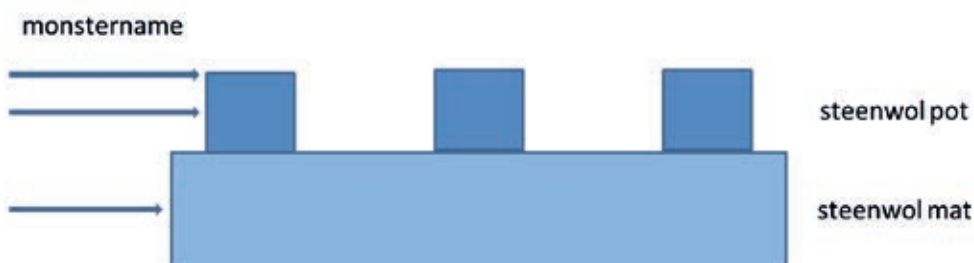
Met een pons (\varnothing 8 mm) wordt een gaatje gemaakt van 2 mm diep in de bovenkant van de pot. Met een pincet wordt dit ponsje uit de steenwolpot gehaald en direct met de bovenkant naar beneden gericht op het Komada medium gelegd. Het midden van de pot en het midden van de mat wordt bemonsterd door met een pons (\varnothing 8 mm) een gat te maken van ongeveer 2 cm diep in het steenwol (foto 1 t/m 3). Van het binnenste deel wordt een ponsje gepakt/afgesneden van ongeveer 2 mm dik en dit wordt direct op het voedingsmedium gelegd. Per bemonsterplaats worden 2 ponsjes gestoken (tegenover elkaar van de pot/mat). Tussen de bemonsteringsplaatsen in worden pons,pincet en mes afgeflambeerd. Per agarplaat worden 4 ponsjes uitgelegd.

De platen worden geïncubeerd bij 22°C. Na 3 en na 5 dagen worden de platen beoordeeld op *Fusarium* uitgroei.



Foto 1 Vlnr: monstername bovenkant gebruikte steenwolpot, monstername midden van de steenwolpot en monstername midden van de steenwolmat.

Na een 3 en 6 dagen incubatie van de platen bij 24°C worden de hoeveelheid sporen per plaat geteld.



Figuur 1. Overzicht monstername in de steenwolmatten en potten.

Uitvoering voorproef 1A.

Inzet op 11 februari 2016

De potten zijn van bovenaf met 100 ml *Fusarium* aangegoten.

Er zijn 2 *Fusarium* concentraties toegevoegd:

- $9.4 \cdot 10^6$ sp/ml. Aan de potten is 90 ml toegevoegd.
- $9.4 \cdot 10^4$ sp/ml. Aan de potten is 100 ml toegevoegd.

Per behandeling zijn de 3 potten in een afgesloten bak gezet in het fyto lab.

Een dag later zijn monsters genomen van de steenwolpotten.

Uit elke pot is uit elke hoek een monster genomen. Deze 4 monsters zijn op 1 PDA plaat + antibiotica gelegd.

Monsters uit het midden van de pot (zie Figuur 1). Met een pons (\varnothing 8mm) werd een gat gemaakt van 2 cm diep.

Na uittrekken van de pons werd een plukje steenwol met een pincet gepakt van het uiteinde van de pons van 1 á 2 mm dik. Dit werd direct op de agar gelegd.

Monsters van bovenste laag. Met een pons (\varnothing 8mm) werd in de bovenste laag gestoken (5 mm diep). Met de mes werd de omtrek van deze pons losgesneden met een dikte van 1 á 2 mm (dit ging soms lastig). Dit werd direct op de agar gelegd.

De platen zijn bij 22°C weggezet.

Beoordeling platen op maandag 15 februari.

Uit alle ponsjes die zijn genomen uit bovenste deel, middelste deel en van beide concentraties groeit *Fusarium* rein uit.

Uit de controle behandeling groeit niks uit.
Van alle behandelingen zijn foto's gemaakt.

1B. Voorproef gebruikte matten

Doel

In dit voorproefje worden gebruikte steenwol potten en matten uit de lichtproef gebruikt.

Er wordt bepaald of er na de teelt *Fusarium* sporen aanwezig zijn in de steenwolpotten en matten.

De bovenste laag wordt bemonsterd omdat bij deze matten wordt verwacht dat daar de *Fusarium* sporen zitten die afkomstig zijn van afgevalen besmette vruchtjes . De matten worden bemonsterd omdat ze van onderen open zijn waardoor de *Fusarium* ook van onderaf in de mat kon komen tijdens de eb/vloed watergift. De potten en onderliggende matten zitten door de wortelgroei nog aan elkaar vast.

Daarnaast wordt bepaald of in deze gebruikte matten een antagonistische werking aanwezig is. Aan de matten wordt een bekende hoeveelheid sporensuspensie van *Fusarium* aangegoten op de matten. Na 1 en 6 dpi worden monsters genomen op de 3 verschillende plaatsen in de mat/pot.

1B-1 Materiaal en methode bepaling *Fusarium* aanwezigheid in de matten.

Van 3 steenwolmat en pot combinaties wordt bepaald hoeveel *Fusarium* sporen er aanwezig zijn.

Op 3 plaatsen worden monsters genomen:

- Uit de bovenste laag van de pot.
- Uit het midden van de pot.
- Uit het midden van de mat.

Met een appelboor worden op 3 plaatsen per steenwolmat/pot combinatie een monster genomen. Plugjes (van 0.8 cm² en van 2 cm diep bij behandeling 2 en 3) worden direct uitgelegd op Komada medium.

Na een 3 en 6 dagen incubatie van de platen bij 24°C worden de hoeveelheid sporen per plaat bepaald.

1B-2 Materiaal en methode bepaling antagonistische werking.

Inzet op 18 februari 2016

Fusarium suspensie is afkomstig uit schudcultuur op CDB. Inzet op 12-2-2016

De gebruikte potten (bewaard bij 5 graden in plastic zakken) zijn van bovenaf met 100 ml *Fusarium* aangegoten

Er zijn 3 *Fusarium* concentraties toegevoegd:

- 1*10⁸ sp/ml. Aan de potten is 100 ml toegevoegd.
- 1*10⁷ sp/ml. Aan de potten is 100 ml toegevoegd.
- 1*10⁵ sp/ml. Aan de potten is 100 ml toegevoegd.

De concentratie van behandeling 2 en 3 is gelijk aan de concentratie uit proef 1A.

Per behandeling zijn de 3 potten in een afgesloten bak gezet in de uitbloeirimte.

Bijlage 7 Vragenlijst praktijkbedrijven 2017

Bedrijfsnaam:	Bezoekdatum: dag-mnd-2017	Periode vanaf week 17	week 18
	Welk ras kende de meeste problemen met vruchtrot op het bedrijf? En vul daar de vragenlijst voor in.		
Kasklimaat	Wat is de ingestelde maximum buis overdag?: 46-50 °C of 51-55 °C of 56-60 °C of 61-65 oC		
	Wat is de ingestelde minimum buis overdag?: 36-40 °C of 41-45 °C of 46-50 °C		
	Hoe wordt er gewerkt met lichtafhankelijke temp. afbouw		
	Hoe groot is de licht afbouw: 1-5oC of 6-10oC of 11-15oC of 16-20oC of 21-25oC		
	Wat is het stralingstra-ject bij afbouw min.buis:		
	Wat is de ingestelde dag tempe- ratuur:		
	Wat is de ingestelde voornacht tempera- tuur:		
	Hoe laat gaat de voornacht in ten opzichte van zon onder:		
	Tot hoe laat duurt de voornacht:		
	Wat is de ventilatietemperatuur?		
	Wordt er afgelucht naar de voornacht toe?		
	Wat is de opstook snelheid van voor- naar nanacht in oC:		
	Wat is de ingestelde nanacht temperatuur		
	Wat is opstook snelheid van nanacht naar dag in oC:		
	Indien geen nanacht, wat is opstooksnelheid van voornacht naar dag in oC/u		
	Hoe laat wil je op dagtemp. zijn t.o.v. zon op:		
	Hoeveel schermuren waren er in:		
	Wordt er geschermd tegen te hoge instraling		
	Bij welke instraling gaat het scherm dicht		
	Hoeveel dagen in het voorjaar was de instralingsom onder het gemiddelde		
Watergift, EC, pH	Hoeveel water wordt er gegeven t.o.v. de instraling (meer of minder dan 1,5x de lichthoeveelheid?)		
	Hoe laat wordt gestart met water geven t.o.v. zon op		
	Hoe laat wordt gestopt met water geven t.o.v. zon onder		
	Wat is de EC in de mat		
	Wat is de pH in de mat		
Nutrienten	Wat zijn de omgerekende analyse cijfers in mmol/l		
in voedingswater of plantsap:	SO4		
	P		
	Si		
	Fe		
	Mn		
	Zn		
	B		
	Cu		
	Mo		
	Wat is de datum van de analyse		
	Wordt het drainwater ontsmet? Zo ja, met welk apparaat?		
Curatieve bestrijding	Worden er oxidatieve middelen meegedruppeld, zo ja: welk middel en welke concentratie		
	Wordt er CaCl2 meegedruppeld		
	Wordt er KCl meegedruppeld		
	Wordt er silicium meegedruppeld		
Preventieve bestrijding	Wordt Serenade (of andere biologische antagonisten) preventief ingezet en zo ja, hoe vaak en hoe wordt dit uitgevoerd (LVM, spuit, lokaal of hele kas?)		
	Zijn er andere gewasbehandelingen of LVM behandelingen uitgevoerd. Zo ja, welk middel, welke concentratie en frequentie (vaker of minder dan na elk zetsel?)		
	Worden er bijen of hommels ingezet		
	Hoeveel uur wordt er per week zwavel verdampt		
Symptomen	Worden er vruchten met binnenrot gevonden tijdens oogsten en sorteren? Zo ja, hoeveel per doos (50 stuks) en per dag?		
	Vertonen de vruchten ook gaten aan de onderkant?		
	Wat was het resultaat van de bewaar- en snijproeven		
Hygiene, gewasverzorging	Worden de toppen meegenomen		
	Worden de afgevallen vruchten meegenomen en hoe vaak? (elke week nagelopen?)		
	Worden zieke vruchten meegenomen (visuele controle, hangen er zieke vruchten aan de plant)		
	Is er zichtbare groei van Fusarium (solani) roze sporedoosjes op stengel of stengelvoet		
Gewasontwikkeling	Welke momenten zijn kritisch geweest voor het krijgen van binnenrot		
	Welke maatregelen zijn dit jaar specifiek genomen om binnenrot te voorkomen		
	Groeide het gewas vegetatief of generatief?		
	Wat is het gemiddelde vruchtgewicht geweest afgelopen jaar?		
	Is de zetting regelmatig geweest of meer wisselvalliger (hoziger); Zo ja, en in welke periode?		

To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life



Wageningen University & Research,
BU Glastuinbouw
Postbus 20
2665 ZG Bleiswijk
Violierenweg 1
2665 MV Bleiswijk
T +31 (0)317 48 56 06
F +31 (0) 10 522 51 93
www.wur.nl/glastuinbouw

Rapport WPR-864

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 5.000 medewerkers en 10.000 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.