



Bestrijding van Botrytis met UV

In vitro proeven Botrytis tulipae 2007

I. Pennock-Vos & H.A.E. de Werd



Bestrijding van Botrytis met UV

In vitro proeven Botrytis tulipae 2007

I. Pennock-Vos & H.A.E. de Werd

P 13

M

2286554

© 2007 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

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

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

Opdrachtgever: Cleanlight b.v.

Projectnummer: 3234048200

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit

Adres : Prof. Van Slogterenweg 2, Lisse
Tel. : 0317 - 47 83 00
Fax : 0317 - 47 83 01
E-mail : infobollen.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

	pagina
1 INLEIDING	5
2 MATERIAAL EN METHODE	7
3 RESULTATEN	9
4 CONCLUSIES EN DISCUSSIE	11

1 Inleiding

UV-C kan in principe sporen en mycelium van Botrytis doden. Of een toepassing effectief is hangt af van de dosering. De dosering wordt bepaald door de combinatie van intensiteit van de lampen, belichtingsduur en de afstand tussen lamp en gewas. Ook moet de schimmel bereikbaar zijn voor de lichtstralen.

In een veldproef bij een tulpenkweker in Breezand zijn tulpen behandeld d.m.v. belichting met UV-lampen om Botrytis te bestrijden (zie apart verslag veldproef). Een tractor met een constructie in de hef waaronder UV lampen zijn bevestigd (constructie door Dubex B.V.), rijdt hierbij over de paden, met de lampen boven het gewas. Door met verschillende snelheden te rijden, worden behandelingen uitgevoerd met verschillende doseringen UV.

Om de effecten van de UV belichting op Botrytis beter te kunnen bepalen, zijn behalve het gewas ook petrischalen met Botrytis op dezelfde wijze behandeld. De opzet en resultaten van deze aanvullende in vitro proeven staan beschreven in dit verslag. De opzet en resultaten van de gewasbehandeling staan in een aparte rapportage beschreven.

In de beschreven proeven zijn verschillende schimmelstructuren (zoals schimmeldraden en schimmelsporen) met UV behandeld. De resultaten geven een indicatie of de dosering die het gewas krijgt in principe voldoende zou moeten zijn om de schimmelstructuren te doden als die voldoende bereikbaar zijn.

Verschillen in gevoeligheid tussen verschillende stadia van de schimmel kunnen gebruikt worden om de gewasbehandeling op die momenten uit te voeren dat de schimmel het gevoeligst is.

Aangenomen wordt, dat mycelium (van kiemende sporen) gevoeliger is voor de UV behandelingen dan de sporen zelf (pers. mededeling Dhr. Aiking). Omdat mycelium dat al in het blad binnengedrongen is niet geraakt kan worden zouden dan vooral kiemende of sporen met kiembuizen behandeld moeten worden. Daarom kan het beste tijdens een infectiekans behandeld worden, wanneer de omstandigheden voor kieming van sporen optimaal zijn. Daarnaast is het mogelijk dat wanneer het blad al geïnfecteerd is en mycelium uit de plant weer naar buiten groeit UV behandeling ook effectief is. Op deze manier kan de myceliumgroei en daarmee de vorming van nieuwe sporen beperkt of voorkomen worden.

2 Materiaal en Methode

Petrischalen met voedingsbodem voor *Botrytis* zijn geënt met *Botrytis tulipea*. Ze zijn op de grond (op het betonnen pad) gezet, waarna behandelingen met verschillende doseringen UV zijn uitgevoerd. Ook werden petrischalen in het gewas gezet, en behandeld met UV belichting.

In de eerste proef zijn de doseringen gevarieerd door de rijsnelheid van de trekker. In de tweede proef zijn ook twee verschillende afstanden tussen de lampen en de schalen toegepast. Dit veroorzaakt ook verschillen in doseringen UV en daardoor mogelijk verschillen in effecten van de behandelingen. De afstanden zijn zo gekozen dat de kortste afstand (5-7 cm) vergelijkbaar is met de afstand tussen de lampen en de bovenzijde van het tulpengewas bij een gewasbehandeling. De grotere afstand (12-14 cm) is bij benadering vergelijkbaar met de afstand tussen de lampen en het midden van het gewas.

Eerste proef: ingezet 13 april, beoordeeld 15 en 16 april

Bij de petrischalen op het pad zijn ongekiemde sporen, gekiemde sporen (een dag tevoren geënt, dus net gekiemd) en mycelium (dag tevoren myceliumsuspensie geënt, dus nog niet zichtbaar op de schalen) behandeld. De afstand tussen lampen en petrischalen was ongeveer 15-20 cm.

Per behandeling zijn 3 schalen ingezet.

UV behandelingen: onbehandeld, 1-2- 3- 4- 5- en 6 km/uur.

Bij de petrischalen in het gewas zijn gekiemde en ongekiemde sporen alleen behandeld met snelheden van 1 en 5 km/uur. De schalen stonden boven in het gewas. De afstand tussen lampen en de petrischalen was hierbij 5 - 10 cm. Per behandeling zijn 5 schalen ingezet.

Op de schalen met gekiemde of ongekiemde sporen is 50 µl van een sporensuspensie, ongeveer 100 sporen per schaal, geënt. Na de behandelingen worden de aantallen uitgegroeide kolonies geteld (en vergeleken met de controle schalen). Van de schalen met mycelium zijn na de behandelingen met UV per schaal 5 ponsstukjes overgeënt op voedingsbodem. Het aantal ponsstukjes waaruit *Botrytis* uitgroeide, is na incubatie beoordeeld.

Tweede proef: ingezet 9 mei, beoordeeld 15 mei.

De tweede proef is een herhaling van de eerste proef met enkele aanpassingen. Bij de schalen op het pad zijn nu 2 herhalingen ingezet, en de afstand tussen de schalen en de UV lampen was 5-7 cm. De behandelingen zijn in een overdekte opslagplaats uitgevoerd om geen last te hebben van de wind. Daarnaast zijn er nog schalen op de grond behandeld met een afstand tussen schalen en lampen van 12-14 cm, bij 1- 3- en 5 km/uur. De behandelingen van schalen in het gewas was vergelijkbaar met de eerste proef.

De resultaten van beide proeven met petrischalen buiten het gewas zijn geanalyseerd door toepassing van Anova ($p < 0,05$).

3 Resultaten

In onderstaande tabellen worden de gemiddelde resultaten per behandeling weergegeven. De tellingen per petrischaal zijn opgenomen in de bijlage.

Eerste proef

Tabel 1; schalen (met gekiemde of ongekiemde sporen) behandeld met UV op het pad. Aantallen uitgegroeide kolonies.

UV beh	ongek sp	gek sp
0	29.0	40.3
1	26.3	59.0
2	36.3	58.0
3	39.0	43.7
4	35.0	61.0
5	35.7	53.3

Bij de ongekiemde behandelde sporen zijn er na UV behandeling 1 minder uitgegroeide kolonies. Het verschil met de onbehandelde controle is echter niet statistisch significant en dus te wijten aan de normale variatie in aantallen uitgegroeide kolonies. Bij de andere behandelingen groeiden niet significant meer of minder kolonies uit dan bij de controle.

Ook wanneer gekiemde sporen waren behandeld met UV groeiden niet minder kolonies uit dan bij de controle. Ook hier zijn de verschillen tussen behandelingen niet statistisch significant. (Anova, $P < 0,05$).

Tabel 2; schalen (met mycelium) behandeld met UV op het pad. Aantallen ponsjes waaruit Botrytis groeide (n=5).

UV beh	Uitgroei Botr.
0	1.8
1	3
2	2.6
3	2.8
4	2
5	2.8

Bij mycelium behandeld met UV groeide niet minder Botrytis uit dan bij de onbehandelde controle.

Tabel 3; schalen (met gekiemde of ongekiemde sporen) behandeld met UV in het gewas. Aantallen uitgegroeide kolonies.

UV beh	ongek sp	gek sp
1	56.2	36.6
5	59.6	51.6

In het gewas is geen extra onbehandelde controle meegenomen. De behandeling in deze tabel zijn vergeleken met de onbehandelde controle (UV beh 0) in tabel 1.

Er is geen bestrijdend effect van UV belichting op gekiemde of ongekiemde sporen op petrischalen in het gewas waargenomen.

Tweede proef

Tabel 4; schalen behandeld met UV op het pad. Aantallen uitgegroeide kolonies/ponsstukjes.
Afstand lampen- schalen: 5-7 cm.

UV beh	ongek sp	gek sp	mycelium
0	51	70.5	0.5
1	40.5	66	0
2	43.5	430	3.5
3	43	95	2.5
4	89	236	2
5	59	284	2
6	44	222	1

UV belichting bij deze afstand tussen schalen en lampen lijkt een effect te hebben bij de hoogste 3 doseringen bij ongekiemde sporen. Deze verschillen zijn echter niet statistisch betrouwbaar. Er is geen verklaring bekend voor de toename van de uitgroei van gekiemde sporen na behandeling 2, 4, 5 en 6 bekend.

Uitgroei van mycelium was niet geheel betrouwbaar te beoordelen in deze proef, omdat er naast Botrytis ook Penicillium uit de ponsjes groeide. De resultaten voor mycelium in tabel 4 geven de uitgroei van Botrytis weer. Penicillium kan de uitgroei van Botrytis verminderd hebben.

Tabel 5; schalen behandeld met UV op het pad. Aantallen uitgegroeide kolonies/ponsstukjes
Afstand lampen- schalen: 12-14 cm.

UV beh	ongek sp	gek sp	mycelium
1	22.75	166	3.75
3	52	180	3.75
5	52.75	291	3.25

UV behandeling 1 geeft in deze proef significant minder uitgroei van ongekiemde sporen dan behandeling 3 en 5 waarbij de rijnsnelheid hoger lag (tabel 5) en minder uitgroei dan bij onbehandelde sporen (beh 0 in tabel 4). UV behandeling 1 en 3 geven significant minder uitgroei van gekiemde sporen dan behandeling 5 (tabel 5), maar meer dan onbehandelde gekiemde sporen (beh 0 in tabel 4). Behandeling van mycelium had in deze proef geen effect.

Tabel 6; schalen behandeld met UV in het gewas. Aantallen uitgegroeide kolonies.

UV beh	ongek sp	gek sp
1	76	256
5	59.2	240.8

Bij deze behandelingen is geen effect van UV belichting op gekiemde of ongekiemde sporen op petrischalen in het gewas gevonden.

4 Conclusies en discussie

Op basis van de resultaten van deze proeven kan geconcludeerd worden dat de doseringen die in de veldproef toegepast zijn onvoldoende zijn om het merendeel van de schimmelstructuren van *Botrytis tulipea* te doden. Een enkele keer lijkt er een beperkt effect van de hoogste doseringen UV belichting op de ongekiemde sporen te zijn. Hier treedt echter de tegenstelling op dat dit effect wel gezien is bij een grotere afstand tussen lampen en sporen en niet bij een kortere afstand. Op gekiemde sporen of mycelium, waar juist het meeste effect verwacht werd, is geen werking aangetoond.

Door de geringe infectiedruk voor *Botrytis tulipea* in 2007 ontstond in de parallel lopende veldproef helaas geen vuuraantasting. Hierdoor kunnen de in vitro resultaten niet vergeleken worden met de werking van de behandelingen in het veld. Aangezien in de veldproef geen schadelijke neveneffecten waargenomen zijn, kan de dosering UV misschien nog verder verhoogd worden. Omdat een lagere rijpsnelheid praktisch niet haalbaar is, zou een hogere dosering gerealiseerd moeten worden door het aantal lampen in de constructie te vergroten of sterkere lampen te gebruiken.

Bij de proeven met de schimmel op de petrischalen is het in theorie mogelijk dat de schimmelstructuren omgeven worden door een waterfilmpje. Het is onwaarschijnlijk dat de invloed hiervan zo groot is, dat daardoor de werking volledig te niet wordt gedaan. Wel kan enige verstrooiing van het UV licht door een waterfilmpje optreden, waardoor de minimaal benodigde dosering iets hoger is dan op een droog oppervlak. In de praktijk zal het gewas rond infectiekansen echter ook vaak vochtig zijn. Als een hogere dosering nodig is, zou dit waarschijnlijk ook voor toepassing in het gewas gelden.

Bijlage: tellingen per petrischaal

Eerste proef

Tabel 1; schalen behandeld met UV op het pad.
Aantallen uitgegroeide kolonies.

Behandeling: km/uur	Ongekiemde sporen	Gekiemde sporen
0 (onbeh.)	32	36
0	30	59
0	25	26
1	19	63
1	32	64
1	28	50
2	30	60
2	43	67
2	36	47
3	34	49
3	40	54
3	43	28
4	30	51
4	43	70
4	32	62
5	36	58
5	35	48
5	36	54
6	31	63
6	24	36
6	34	54

Tabel 2; schalen behandeld met UV op het pad.
Aantallen ponsjes waaruit Botrytis groeide (n=5).

Behandeling: km/uur	Mycelium
0 (onbeh.)	0
0	3
0	1
0	4
0	1
1	3
1	3
1	3
1	3
1	3
2	2
2	3
2	2
2	3
2	3
3	3
3	3
3	2
3	2
3	4
4	2
4	5
4	3
4	0
4	0
5	4
5	4
5	2
5	2
5	2
6	3
6	4
6	2
6	2
6	4

Tabel 3; schalen behandeld met UV in het gewas. Aantallen uitgegroeide kolonies.

Behandeling: km/uur	Ongekiemde sporen	Gekiemde sporen
1	50	38
1	44	39
1	63	54
1	82	4
1	42	48
5	61	39
5	82	62
5	70	45
5	37	65
5	48	47

Tweede proef

Tabel 4; schalen behandeld met UV op het pad. Aantallen uitgegroeide kolonies/ponsstukjes.

Behandeling: km/uur	Afstand 5-7 cm		
	Ongekiemde sporen	Gekiemde sporen	Mycelium
0 (onbeh.)	56	75	1
0	46	66	0
1	38	60	0
1	43	72	0
2	37	453	4
2	50	407	3
3	39	83	2
3	47	107	3
4	46	212	1
4	132	260	3
5	65	280	2
5	53	288	2
6	36	216	0
6	52	228	2

Tabel 5; schalen behandeld met UV op het pad. Aantallen uitgegroeide kolonies/ponsstukjes

Behandeling: km/uur	Afstand 12-14 cm		
	Ongekiemde sporen	Gekiemde sporen	Mycelium
1	30	176	5
1	35	192	5
1	20	132	4
1	6	164	1
3	64	0*	3
3	51	180	5
3	44	176	3
3	49	184	4
5	52	292	4
5	43	288	3
5	52	292	4
5	64	292	2

0*: geen kolonies zichtbaar, wel microscopisch gekiemde sporen zichtbaar

Tabel 6; schalen behandeld met UV in het gewas. Aantallen uitgegroeide kolonies.

Behandeling: km/uur	Ongekiemde sporen	Gekiemde sporen
1	75	276
1	83	264
1	62	260
1	82	272
1	78	208
5	41	256
5	59	232
5	34	276
5	72	196
5	90	244

