

Epidemiologie en beheersing van Fusarium in tulp

Experimenten, onderzoek en literatuurstudie naar aspecten
van verspreiding en beheersing van zuur in tulp

M.F.N. van Dam, M. de Boer, H.A.E. de Werd, S.J. Breeuwsma en A.J.M. van Haaster

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector bloembollen en bolbloemen
juli 2006
PPO 320943

© 2006 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veeleelvoudigd, 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.



Projectnummer: PPO 320943

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Sector bloembollen en bolbloemen

Adres : Prof. Van Slogterenweg 1
: Postbus 85, 2160 AB LISSE
Tel. : 0252 – 46 21 21
Fax : 0252 – 46 21 00
E-mail : infobollen.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	5
INLEIDING	7
1 BESTRIJDING VAN LATENTE INFECTIES IN PLANTGOED	9
1.1 Inleiding	9
1.2 Bestrijdende werking van UV-licht op Fusariumsporen bij tulpenbollen.....	10
1.2.1 Materiaal en methode.....	10
1.2.2 Resultaten.....	10
1.3 Bestrijding van latent zuur met UV-licht	11
1.3.1 Materiaal en methode.....	11
1.3.2 Resultaat.....	12
1.4 Heetstook ter bestrijding van latent zuur	13
1.4.1 Materiaal en methode.....	13
1.4.2 Resultaten.....	13
1.5 Bestrijding van latent zuur door middel van fungicidentoepassing bij onderdruk	14
1.6 Gammastraling	14
1.6.1 Materiaal en methode.....	14
1.6.2 Resultaat.....	14
1.7 Detectie van latent zuur met infraroodmetingen.....	15
1.7.1 Materiaal en methode.....	15
1.7.2 Resultaat.....	15
1.8 Conclusie en Discussie.....	16
2 REMMING VERSPREIDING EN INFECTIE FUSARIUM IN GROND DOOR MIDDEL VAN GNO'S	19
2.1 Inleiding	19
2.2 Materiaal en methode.....	19
2.3 Resultaten.....	20
2.4 Conclusies en discussie	21
3 VERSPREIDING VAN FUSARIUM VANUIT HET PLANTGOED EN VANUIT DE GROND	23
3.1 Inleiding	23
3.2 Besmetting en infectie door Fusarium uit de grond in en de invloed van stikstof.....	23
3.2.1 Materiaal en methode.....	23
3.2.2 Resultaten.....	24
3.3 Verspreiding van Fusarium vanuit ziek plantgoed	26
3.3.1 Materiaal en methode.....	26
3.3.2 Resultaten.....	27
3.4 Conclusies en discussie	28
KENNISOVERDRACHT	29
Open dagen.....	29
Publicaties.....	29

Samenvatting

Het onderzoek naar zuur in tulp, door PPO bloembollen en bolbloemen in Lisse, heeft zich na 2003 vooral toegelegd op de aanpak van het probleem bij de bron: Hoe krijgt een teler zijn plantgoed schoon? Hoe voorkomen teler en handelaar infectie door Fusarium op alle momenten in de keten?

Dit heeft uiteindelijk geleid tot de volgende onderzoeksonderwerpen:

- Een inventarisatie van mogelijkheden ter bestrijding van latente infecties in plantgoed. O.a. de mogelijkheden van heetstook en UV-licht tegen besmetting en infectie door Fusarium;
- Een screening van mogelijkheden van het inzetten van gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong (GNO's) en natuurlijke vijanden tegen zuur in tulp;
- Veldproeven met als doel de rol van grondbesmetting en partijbesmetting te bepalen. Ook de rol van stikstof daarbij werd getoetst.

Bestrijding van latent zuur

Met latent zuur in tulp wordt bedoeld: Fusarium die zich na infectie in de buitenste bolrok heeft genesteld, maar die nog niet tot een zichtbare infectie is uitgegroeid. De schimmel is doorgaans als een pakketje mycelium aanwezig in de ademholtes van de huidmondjes. Op voor de schimmel gunstige momenten kan dit uitgroeien tot zuur. Met een goede bestrijdingsmethode van latent zuur is de tulpenteelt gebaat.

Een combinatie van tijdsduur en sterkte van UV-licht die in deze proef werd gebruikt bleek niet voldoende om Fusariumsporen aan de buitenkant van de bol volledig te bestrijden. Ondanks het feit dat de proefopstelling niet ideaal was, werd toch 42% van de sporen op de bollen gedood.

Latent zuur werd ook maar ten dele bestreden door een bestraling met UV. Het bleek dat vooral de meest agressieve van de twee gebruikte Fusariumstammen het beste werd bestreden. Latent zuur blijft echter moeilijk te bestrijden.

Een combinatie van beide, sterke vermindering van het aantal sporen op de bol en het ten dele doden van latente infecties, zou toch nog kunnen bijdragen aan een vermindering van Fusarium in de praktijk. Dat is dan ook de reden dat hiervoor een vervolgonderzoek is aangevraagd.

Heetstook van tulpen bleek weliswaar goed ter werken tegen latent zuur, maar was tegelijkertijd meestal funest voor de bol. Spruit en wortelkrans werden dusdanig verhit dat verdere uitgroei van wortels en plant niet meer mogelijk bleek. Heetstook is in de praktijk betrekkelijk eenvoudig uit te voeren. Er zijn wellicht combinaties van temperaturen te vinden waarbij nog wel doding van latent zuur plaatsvindt maar waarbij geen schade aan de bol optreedt.

GNO's en natuurlijke vijanden

Gewasbescherming wordt tegenwoordig steeds meer uitgevoerd met niet-chemische middelen ter vermindering van de milieubelasting. In dit deel van het fusariumproject zijn de mogelijkheden onderzocht om infectie vanuit de grond door Fusarium te voorkomen door middel van GNO's en natuurlijke vijanden. De keuze voor de GNO's is op basis van de resultaten van een project geweest (gefinancierd door het ministerie van LNV) waarin veel verschillende GNO's zijn gescreend tegen een aantal schimmels. Daarnaast zijn er een aantal antagonistische micro-organismen onderzocht waarvan bekend is dat ze Fusarium oxysporum in verschillende gewassen kunnen onderdrukken. Het betrof een kasproef met als doel om snel aan te kunnen tonen of ze in principe een werking kunnen hebben tegen *F. oxysporum* f.sp. *tulipea* in tulp.

De behandelingen met diverse GNO's en aantal biologische bestrijders hadden weinig tot geen effect op de zuuraantasting. Er was slechts één behandeling waarmee nog een redelijk effect werd bereikt. Dit betrof de niet-pathogene Fusarium oxysporum stam 47. Omdat de proefomstandigheden niet optimaal waren is het mogelijk dat hiervan meer effect verwacht kan worden onder meer gunstige omstandigheden.

Er zijn twee Pseudomonas stammen getoetst. Deze hebben geen effect gehad op de aantasting door Fusarium. Dit kan verklaard worden uit het feit dat deze bacteriën eerst de wortel van de bol moeten koloniseren om uiteindelijk Fusarium te kunnen bestrijden. Ook hiervan is een beter resultaat mogelijk, omdat de bewor-

teling in de proef niet goed was.

De GNO's (waarvan er drie in dit onderzoek zijn getoetst) zijn niet in staat gebleken Fusarium te onderdrukken. Het is mogelijk dat deze GNO's geen effect hebben tegen Fusarium. Het is ook mogelijk dat het door de grond mengen van deze GNO's de werkzaamheid heeft verminderd waardoor de toegepaste dosering niet voldoende is geweest.

Bij één GNO werd de aantasting door Fusarium zelfs versterkt. Dit zou veroorzaakt kunnen zijn door fyto-toxische effecten van deze stof op de bol.

Veldproeven grond- en partijbesmetting

Zuur in tulp kan het beste bij de bron worden aangepakt. De ziekte kan zich verschuilen in de vorm van een besmetting met sporen in de grond en op de bollen van het plantgoed.

Een hogere besmetting van de grond waarin tulpen worden geplant geeft een hoger percentage zuur na het rooien. De in de praktijk gebruikte standaard bolontsmetting voor het planten gaf een goede bescherming tegen nieuwe zuuraantasting vanuit de grond. Extra zuur dat door grondbesmetting wordt veroorzaakt kan blijkbaar goed worden bestreden met de plantgoedontsmetting. Hiermee wordt doorgroei van latent zuur echter niet tegengegaan.

Een hogere stikstofgift (200 in plaats van 150 kg/ha) in de vorm van een gedeelde bijmestgift in het voorjaar, bleek sterk te tenderen naar een hoger percentage zuur.

Met de resultaten van voorgaande jaren blijft de conclusie: "Meer stikstof geeft meer zuur".

Naarmate er meer zure bollen in plantgoed in de herfst aanwezig zijn worden er ook meer zure bollen aangetroffen in de partij na het rooien in de daaropvolgende zomer. Er was ook toename van zuur tijdens de bewaring in alle gevallen, behalve bij gezond plantgoed (0%). De standaard bolontsmetting werkte effectief tegen zuur vanuit ziek plantgoed. Het resultaat van plantgoed met 10% zuur en boldompeling was vergelijkbaar met dat van een partij met 0% zuur zonder boldompeling.

Twee normale teeltmaatregelen: plantgoed uitzoeken en plantgoed ontsmetten, blijken dus een goed effect te hebben bij het voorkómen van zuur. Het uitzoeken van een partij bollen heeft volgens de proef vooral effect in de vorm van verminderde toename van zuur tijdens de bewaring. De besmetting die in het plantgoed zat zorgt voor aanhoudende hoge besmetting en veroorzaakt daarmee blijkbaar nog nieuwe infecties in een later traject van de bewaring.

Inleiding

PPO heeft van 2001 tot 2003 praktijkonderzoek naar Fusarium in tulp uitgevoerd met als doel om te achterhalen wat de belangrijkste oorzaken zijn van het fusariumprobleem in de huidige bedrijfsvoering. Het onderzoek heeft veel informatie opgeleverd over de potentiële infectiemomenten bij de teelt en verwerking van tulpen, over de rol van latente infecties en over de mogelijkheden om oplossingsrichtingen op het eigen bedrijf te onderzoeken (o.a. via de zuurcheck). Dit geeft mogelijkheden om infectie van Fusarium in de keten te voorkomen.

Uit onderzoek naar de oorzaak van zuur blijkt telkens dat we te maken hebben met een ketenprobleem. Er zijn verschillende momenten tijdens de teelt, de verwerking en de bewaring bij teler en afnemer, waarbij verspreiding van sporen en infectie van zuur in tulp kan optreden. Het onderzoek naar de oorzaak van het zuurprobleem in de praktijk geeft dan ook steeds als uitkomst dat de teler en afnemer moeten zoeken naar oplossingen in de keten van oorzaken. Er is dus niet één oplossing waar iedereen van kan profiteren, per situatie kan/zal een andere aanpak nodig zijn.

Het onderzoek vanaf 2003 heeft zich vooral toegelegd op de aanpak van het probleem bij de bron van het probleem: Hoe krijgt een teler zijn plantgoed schoon? Hoe voorkomen teler en handelaar infectie door Fusarium op alle momenten in de keten? Er is onderzoek uitgevoerd om een aantal zaken over sporenverspreiding en infectie op te helderen. Doel hiervan was om te komen tot:

- Een inventarisatie van mogelijkheden ter bestrijding van latente infecties in plantgoed;
- Een manier waarmee latent zure bollen kunnen gedetecteerd;
- Een screening van mogelijkheden van het inzetten van gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong (GNO's) en natuurlijke vijanden tegen zuur in tulp;
- Antwoorden op vragen rond de verspreiding van zuur via besmet plantgoed en via besmette grond.

Dit verslag behandelt het onderzoek in drie hoofdstukken. In hoofdstuk 1 draait het om de vraag hoe latente infecties kunnen worden bestreden. Hierbij is, na een inventarisatie van mogelijkheden, een selectie gemaakt waarmee ook experimenten zijn uitgevoerd. Zo zijn UV-licht en heetstook onderzocht op hun werking op latent geïnfecteerde bollen. Er is een inventarisatie gemaakt van de mogelijkheden van toediening van fungiciden met onderdruk. Verder is er gekeken naar de mogelijkheid van detectie van latent zuur met infrarood temperatuurmetingen en naar het effect van gammastraling op latent zuur.

Het 2^e hoofdstuk behandelt een proef waarin het effect van GNO's en natuurlijke vijanden werd onderzocht. In het derde hoofdstuk wordt ingegaan op de invloed op zuur na het rooien en na de bewaring van besmet plantgoed en van besmette grond. Ook de invloed van stikstof op het ontstaan van (extra) zuur is in de proeven meegenomen.

1 Bestrijding van latente infecties in plantgoed

1.1 Inleiding

Met latent zuur in tulp wordt bedoeld: Fusarium die na infectie zich in de buitenste bolrok heeft genesteld, maar die nog niet tot een zichtbare infectie is uitgegroeid. De schimmel is doorgaans als een kluwen mycelium aanwezig in de ademholtes van de huidmondjes. Op voor de schimmel gunstige momenten kan dit verder uitgroeien tot zuur. Latent zuur is verraderlijk omdat het niet zichtbaar en dus ook niet uit te selecteren is. Op elk moment in de bewaring en ook na het planten in de grond kan latent zuur onverwacht uitval door zuur veroorzaken, het zogenaamde “laat zuur”. Met een goede bestrijdingsmethode van latent zuur is de tulpenteelt dus gebaat.

Tussen 1970 en begin jaren 80 is onderzoek verricht naar het vóórkomen en bestrijden van latente infecties. Hieruit bleek ondermeer dat:

- Boldompelingen met formaline, benomyl, en een pimarinic-derivaat onvoldoende bestrijding van latent zuur gaven;
- Heteluchtbehandeling wel enig effect had, maar dat hierbij vrij snel beschadiging van de centrale spruit optrad;
- Warmwaterbehandelingen met toevoeging van chemische middelen onvoldoende effect hadden;

In recente proeven met reinigingsmiddelen (2003) bleek doding van sporen wel mogelijk. Latente infecties konden hiermee echter niet worden gedood.

In de internationale onderzoeksliteratuur kwam een aantal dodings- of ontsmettingsmethoden naar voren waarmee ziekteverwekkers gedood kunnen worden. Het was uit de informatie niet altijd duidelijk of er een schadelijk effect op het plantmateriaal te verwachten is. Algemeen geldt dat toepassing vlak na het rooien bij tulpen het beste lijkt te werken, omdat het groeipunt dan nog niet ontwikkeld is.

De in de literatuur gevonden methoden met aanduiding van werkingsprincipe:

- UV-licht: beschadigt DNA in cellen, eenvoudig toepasbaar
- Infrarood: verhitting en beschadiging cellen
- Straling o.a. gammastraling: beschadiging DNA
- Onder- of bovendruk in combinatie met fungiciden: betere indringing middelen
- Injectie systemische middelen: betere indringing
- Inbrengen antagonisten, mechanisch of met levende vector
- Elektrisch pulserende velden: werking onbekend
- Ultrasound of microgolven: verhitting? Beschadiging cellen?
- Stoom: verhitting

Een aantal methoden leek niet praktisch inzetbaar (o.a. injectie van middelen, stoom) of waren te weinig perspectiefvol (elektrisch pulserende velden, ultrasound, antagonisten). Infrarood wordt in de praktijk bij tulp op bescheiden schaal geprobeerd.

Voor dit onderzoek is een selectie van de meest perspectiefvolle methoden verder onderzocht. Hierbij is naast effectiviteit ook rekening gehouden met de praktische toepasbaarheid binnen het bollenbedrijf. Bij de keuze is ook gekeken naar aanwezige kennis, beschikbaarheid van de techniek en de mogelijkheid om met een relatief eenvoudige proefopzet een eerste idee te krijgen van de werking. De volgende technieken werden beproefd:

- De bruikbaarheid van UV-licht op fusariumsporen en op kunstmatig latent zuur gemaakte bollen (par. 1.2.1 en 1.2.2);
- De bruikbaarheid van heetstoom op kunstmatig latent zuur gemaakte bollen (par. 1.2.3);
- Toepassing van bestrijdingsmiddelen bij onderdruk; literatuuronderzoek (par. 1.2.4);

- Een kleine proef met ontsmetting door middel van gammastraling (par. 12.25);
- Detectie van latent zuur met behulp van infrarood temperatuurmeting (par. 1.2.6).

Naar deze methoden is literatuuronderzoek gedaan of er zijn experimenten uitgevoerd om de bruikbaarheid ervan voor de praktijk te toetsen.

1.2 Bestrijdende werking van UV-licht op Fusariumsporen bij tulpenbollen

1.2.1 Materiaal en methode

Doel van de proef was om te bepalen of Fusariumsporen aan de buitenkant van de bol bij een blootstelling aan UV-licht werden gedood.

In deze proef werden tulpenbollen aan de buitenkant besmet met Fusariumsporen door middel van een dompeling in een sporensuspensie. Vervolgens werden de bollen met UV-C-licht van boven en van onderen beschenen. De bollen lagen daarbij stil in een gaasbak. De proef werd uitgevoerd met de cultivar 'Leen van der Mark', en met 22 bollen per behandeling. De behandelingen waren:

- 1) in sporensuspensie gedompeld en met UVC beschenen,
- 2) in sporensuspensie gedompeld en in bewaring gelegd.

Beide behandelingen werden uitgevoerd bij 21 °C en bij RV gelijk aan de buitenlucht.

72 Uur na inzetten werd de hoeveelheid Fusariumsporen bepaald.

Waar hier wordt gesproken van een aantal sporen, wordt steeds bedoeld het aantal sporen dat na uitplaten tot uitgroei in staat blijkt. Dode sporen worden dus niet meegeteld.

Controle van de sporensuspensie

Van de dompelvloeistof met sporen werd een monster op groeimedium geplaatst. Een deel van de platen werd met de bollen onder UV geplaatst en een deel werd niet met UV behandeld.

Bij de groeimediumplaten die onder UV-licht hadden gestaan groeide geen Fusarium uit. Bij de controle behandeling (geen UV) groeide wel Fusarium uit.

Controle op de besmetting van de bollen

Van 2 bollen per behandeling werd direct na de dompeling in de sporensuspensie de hoeveelheid levende sporen bepaald. Dit was bedoeld als controle op het slagen van de besmetting. Per bol waren gemiddeld $2.9 \cdot 10^4$ sporen aanwezig.

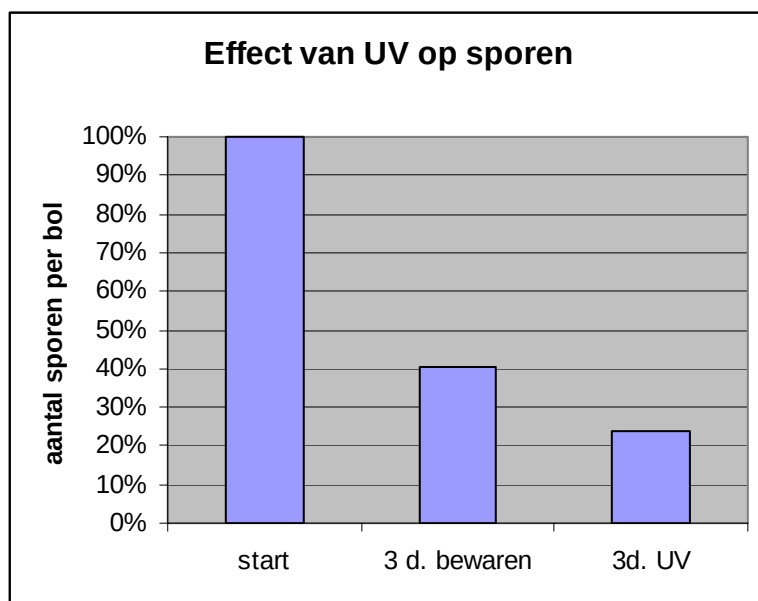
1.2.2 Resultaten

Doding van sporen op de bol door UV-licht

Van de overige 20 bollen per behandeling werd het aantal sporen bepaald na de behandeling. Beoordeeld werd of de behandeling met UV-licht een afname van het aantal sporen te zien gaf.

Na de 72 uur durende UV-behandeling respectievelijk 72 uur bewaring zonder UV werd het aantal sporen per bol bepaald. Gemiddeld werd op de bollen die waren bestraald met UV-licht 6870 sporen per bol gevonden. Op de controle bollen (zonder UV-behandeling) werden 11790 sporen aangetroffen.

Drie dagen na de dompeling in de sporensuspensie bleek het aantal Fusariumsporen sterk afgenomen. Bij de bollen die met UV waren behandeld was het aantal sporen sterker afgenomen. Een UV-behandeling gaf een reductie van het aantal levende sporen van 76% terwijl bewaring zonder UV een reductie van 59% te zien gaf (zie grafiek 1). De UV-behandeling gaf daarmee ten opzichte van de droge bewaring een reductie van 42% van het aantal levende sporen.



Grafiek 1. Aantal kiemende sporen per bol na 3 dagen bewaring of 3 dagen UV-behandeling in procenten ten opzichte van het aantal kiemende sporen direct na dompeling in een sporensuspensie.

1.3 Bestrijding van latent zuur met UV-licht

1.3.1 Materiaal en methode

Doel van deze proef was om latent zuur te doden met behulp van UV-licht. In de voorgaande proef (par. 1.2) was de opzet om uitwendig sporen te doden. Latent zuur zit dieper, in de buitenste bolrok en is daarom moeilijker te doden.

De kaal gemaakte bollen werden latent zuur gemaakt door ze gedurende 2 dagen te incuberen met een ponsje uit een groeimedum waarop *Fusarium*mycelium was gekweekt.

Er werden in deze proef afzonderlijk van elkaar 2 *Fusarium*stammen gebruikt; Tu41 en Tu67, respectievelijk een normaal en een middelmatig sterk agressief isolaat van *Fusarium oxysporum* f.sp. *tulipae*.

In een test met de bij deze proeven gebruikte UV-lamp werd de doding van mycelium op voedingsbodem detecteerbaar vanaf 40 uur belichting. Voor deze proef werd op basis van het voorgaande gekozen voor een belichting van de bollen met UV-C gedurende 48 uur dan wel 72 uur.

Behandelschema UV-bestraling

Bollen:	Behandeling:	Beoordeling via:
Latent zuur	UV 48 uur	broei / groeimedum / visueel
Latent zuur	UV 72 uur	broei / groeimedum / visueel
Gezond	UV 48 uur	broei / groeimedum / visueel
Gezond	UV 72 uur	broei / groeimedum / visueel
Latent zuur	Geen	broei / groeimedum / visueel
Latent zuur	Geen	broei / groeimedum / visueel
Gezond		broei /

Toelichting op het behandelschema.

Broei: Van de behandelde bollen werd een deel in bloei getrokken. De bollen kregen daartoe 7 weken 5 °C en werden daarna geplant en gedurende 2 weken bij 9 °C beworteld en in de kas (18 °C) gezet. Na enige tijd werden de bollen hiervan op aantasting door *Fusarium* beoordeeld. Voor het planten werden de bollen in

0,5% formaline ontsmet om nieuwe infecties op de bol te voorkomen.

groeimedium: Van een deel van de bollen werd bolweefsel van de plek waar de latente infectie was gemaakt uitgeplaat op groeimedium medium. Hiervan werd het aantal overlevende en gedode latente infecties bepaald.

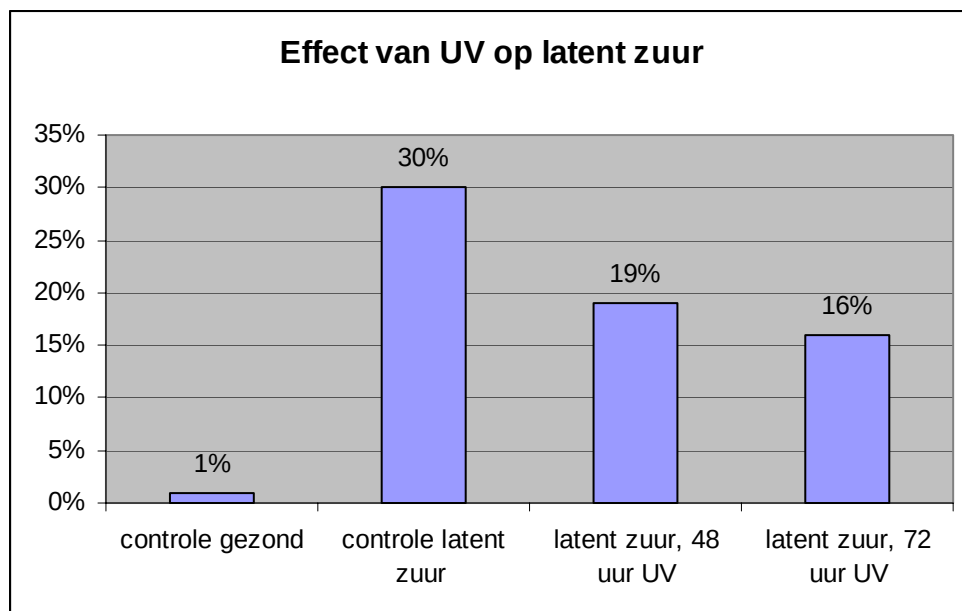
Visueel: Een deel van de bollen werd bewaard bij 25 °C en 100% RV. Deze bollen werden regelmatig visueel beoordeeld op aantasting door Fusarium.

In de proef werden controles ingezet om het percentage geslaagde latente infecties te bepalen en om het effect van UV-licht op de afbroei vast te stellen.

1.3.2 Resultaat

Bij de experimenten bleek er geen effect te zijn van de UV-behandeling op de latente infecties op de bollen. De stukjes bolhuid met latente infectie groeiden op een voedingsbodem in dezelfde mate uit, of ze nu wel of niet eerst door UV waren ontsmet.

UV-behandeling bestreed wel Fusarium zonder bolrok in groeimedium. Dit bleek bij een controle op de ponsjes groeimedium met Fusarium die waren gebruikt voor het infecteren van de bollen.



Grafiek 2. Percentage door zuur aangetaste bollen tijdens afbroei van een partij met latent zure bollen (en een controle-behandeling), al dan niet met UV behandeld (48 uur of 72 uur) aan het begin van de bewaring.

De latent geïnfecteerde bollen werden ook afgebroeid (zie grafiek 2). Hier bleek wel een effect door de UV-behandeling op te treden. Van de bollen die niet latent zuur waren gemaakt (controle gezond) werd slechts 1% zuur na opplanten in de kas. Van de bollen die latent zuur waren gemaakt (controle latent zuur) werd gemiddeld 30% door zuur aangetast in de kas. Daarnaast bleek na 48 uur UV nog 19% door zuur te worden aangetast en na 72 uur belichten werd 16% zuur; bijna een halvering van de 30% zuur van de controle (latent zuur zonder UV).

De hier genoemde afname in zuuraantasting werd vooral gezien bij de Fusariumstam Tu67, de meest agressieve van de twee gebruikte stammen.

Er zijn geen negatieve bijeffecten op de groei waargenomen van de UV-behandeling in de afbroei.

1.4 Heetstook ter bestrijding van latent zuur

1.4.1 Materiaal en methode

Heetstook als ziektebestrijding heeft als doel ziektekiemen te doden zonder schade aan de bollen te veroorzaken. In het verleden werd tegen Fusarium in tulpen in onderzoek gebruik gemaakt van een snel stijgende temperatuurreeks tot 44 °C. Ook werden behandelingen geprobeerd met sterk wisselende temperaturen (bijvoorbeeld afwisselend 25 °C, 38 °C, 25 °C en 44 °C), om via het schokeffect doding van latent zuur te krijgen. De temperaturen werden steeds 1 of 2 dagen gegeven.

In deze proef werd een heetstookbehandeling gegeven op de manier zoals dat bij hyacinten gebruikelijk is tegen geelziek. De volgende behandeling werd aan de tulpen in deze proef gegeven:

In een klimaatkast kregen 100 latent zure bollen achtereenvolgens 4 dagen 25 °C, 2 weken 30 °C, 2 weken 38 °C en 2 dagen 44 °C. 50 Bollen werden hierna verder behandeld voor afbroei (zoals bij de UV-behandelingen). Hiermee kan worden vastgesteld of de spruitaanleg ongehinderd was verlopen. Van de overige 50 bollen werd het stukje bolrok waar de infectie was gemaakt, uitgeplaat op groeimedium. Hiervan werd het percentage overleving bepaald.

Bij de controlebehandelingen met gezonde bollen werd dezelfde warmtebehandeling gegeven tot aan 44 °C. Vervolgens werd na resp. 1, 2 en 3 dagen 44 °C telkens 50 bollen uitgehouden. Hiervan werden er 25 behandeld voor broei en werden er 25 verder bewaard bij 25 °C en 100 % RV. Deze werden gedurende de bewaring visueel beoordeeld op zuur vanuit de plaats van de latente infectie.

Behandelschema heetstook

Bollen:	Behandeling:	Beoordeling via:
Latent zuur	heetstook	broei / groeimedium
Gezond	heetstook	broei / visueel
Gezond	Geen	broei / visueel
Latent zuur	Geen	broei / groeimedium

Toelichting op het behandelschema.

Broei: Van de behandelde bollen werd een deel in bloei getrokken. De bollen kregen daartoe 7 weken 5 °C en werden daarna geplant en gedurende 2 weken bij 9 °C beworteld en in de kas (18 °C) gezet. Na enige tijd werden de bollen hiervan op aantasting door Fusarium beoordeeld. Voor het planten werden de bollen in 0,5% formaline ontsmet om nieuwe infecties op de bol te voorkomen.

groeimedium: Van een deel van de bollen werd bolweefsel van de plek waar de latente infectie was gemaakt uitgeplaat op groeimedium medium. Hiervan werd het aantal overlevende en gedode latente infecties bepaald.

Visueel: Een deel van de bollen werd bewaard bij 25 °C en 100% RV. Deze bollen werden regelmatig visueel beoordeeld op aantasting door Fusarium.

In de proef werden controles ingezet om het percentage latent zuur in de partij en het aantal geslaagde latente (gemaakte) infecties te bepalen. Tevens was er een controle om van gezonde bollen het effect van heetstook op de afbroei vast te stellen.

1.4.2 Resultaten

Bij deze proef werden bollen na 1, 2 of 3 dagen 44 °C apart gehouden voor beoordeling op doding van de aangebrachte latente infectie. Van 85% van de latent zure bollen, die na de behandeling werden getoetst op nog levend zuur, was de infectie gedood.

Na de behandeling was direct een kleurverschil (donkerdere kleur van de rok) van de bollen waarneembaar. Daarnaast bleken enkele verkalkte plekkjes of bruine vlekjes te zien op de inoculatieplaats. Sommige bollen waren ook inwendig verkalkt/versteend. Ook de behandeling met maar 1 dag 44 °C gaf teveel bolbeschadiging, zodat geconcludeerd werd, dat heetstook in deze vorm ongeschikt is als middel tegen latent zuur. De heetgestookte tulpen presteerden erg slecht in de broeierij. Bollen behandeld met 1 dag 44 °C gaven aanvankelijk nog wel wat beworteling, maar bijna alle spruiten bleken verdroogd.

Na 2 of 3 dagen 44 °C gingen bijna alle bollen verloren. De bollen kregen geen wortels en de spruit in de bol of de hele bol verdroogde.

1.5 Bestrijding van latent zuur door middel van fungiciden-toepassing bij onderdruk

Er is een literatuurstudie verricht naar de mogelijkheden van de toepassing van fungiciden bij onderdruk. Van dit onderdeel is een apart verslag gemaakt onder de titel: "Toepassing fungiciden met drukverschillen tegen latent zuur in tulp", onderdeel van "Vermindering Fusarium in de keten bij tulp", PPO 320943 / PT 11617, januari 2005.

Het overzicht van eerder onderzoek liet zien dat in meerdere gevallen schade ontstond aan bolweefsel, maar dat er ook behandelingen mogelijk waren die wel effectief waren zonder dat onacceptabele schade ontstond. Met tulp werden goede resultaten behaald. Het lijkt daarom de moeite waard te onderzoeken of toepassing van fungiciden bij onderdruk een doding van latent zuur in tulp kan geven zonder onacceptabele neveneffecten op de bol of de spruit.

In het rapport worden de belangrijkste variabelen toegelicht die bij verder onderzoek in ogenschouw genomen dienen te worden. Deze variabelen zijn: hoe de onderdruk toepassen, welk niveau van onderdruk, en hoe lang.

1.6 Gammastraling

1.6.1 Materiaal en methode

Doorstraling met gammastraling is een methode om ziektekiemen, onder andere in voedsel, te doden. In het verleden is in bolgewassen geprobeerd hiermee mijten en alen te doden, maar de dosis was vaak te hoog waardoor de bollen ook werden gedood. Het is inmiddels mogelijk om veel lagere doseringen te geven aan producten en daarom is besloten te kijken of de verlaagde doses wel met succes aan bollen konden worden gegeven ter bestrijding van ziekten. De gewassen tulp, iris en krokus werden daarvoor gekozen.

In een klein experiment zijn gezonde tulpenbollen met de laagst mogelijke dosis en een hogere gammastraling bestraald. Er werden 2 behandelingen (0,5 kGray¹ en 1,0 kGray) en een controle uitgevoerd met elk 40 bollen. De bollen werden afgebroeid ter beoordeling van het percentage overleving van de bollen na de behandeling.

1.6.2 Resultaat

Bij 0,5 kGray was de spruit ernstig in de groei geremd. Ook is bruinverkleuring in de bolbodem zichtbaar. Bij de een dosering van 1 kGray is de hele bol gedood en al het weefsel bruin verkleurd. Tijdens de verdere bewaring werden de bollen door *Penicillium* aangetast.

De spruit in de bol bleek in alle gevallen deze behandelingen niet te hebben overleefd zoals i te zien is op foto 1. Afbroei was daarom niet mogelijk. Een proef met latent zure bollen is niet meer ingezet, omdat daarvan geen bruikbaar resultaat te verwachten viel.

¹ De van oudsher bekende eenheid van geabsorbeerde dosis is de rad. Deze komt overeen met een energieafgifte van 0,01 Joule per kilogram van het bestraalde materiaal. Een geabsorbeerde dosis van 1 gray komt in oude eenheden uitgedrukt overeen met 100 rad.



Foto 1. Van boven naar beneden tulpenbollen onbehandeld, bollen blootgesteld aan 0,5 kGray en bollen blootgesteld aan 1,0 kGray gammastraling. Links de buitenkant van de bol en rechts een doorsnede.

1.7 Detectie van latent zuur met infraroodmetingen

1.7.1 Materiaal en methode

Voor een effectieve bestrijding van latent zuur zou een goede detectiemethode behulpzaam kunnen zijn voor het kunnen selecteren van geïnfecteerde bollen. Er werd een experiment uitgevoerd om te zien of detectie door middel van een infraroodmeting mogelijkheden bood. De hypothese hierbij was, dat een geïnfecteerde bol door stress een verhoogd niveau van ademhaling zou hebben. Daardoor kan de bol een iets hogere temperatuur krijgen (in de orde van grootte van 0,1 °C) wat met infrarood-apparatuur zou kunnen worden gemeten.

Voor de meting werd gebruik gemaakt van zogenaamde MIPS-apparatuur (multiple imaging plant stress). Het experiment werd uitgevoerd in samenwerking met Dr. J. Snel van Plant Research International BV. Een aantal tulpenbollen werd ziek of latent ziek gemaakt en daarna met de MIPS-apparatuur gemeten.

1.7.2 Resultaat

De hypothese bleek niet te bewijzen. Het wel of niet aanwezig zijn van bolhuid en het feit of de bolhuid strak om de bol zaten bleken sterk van invloed te zijn op het meetresultaat. Eventuele verschillen in temperatuur werden daardoor niet zichtbaar. Er was geen aanknopingspunt voor een vervolg hierop.

1.8 Conclusie en Discussie

BESTRIJDENDE WERKING VAN UV-LICHT OP FUSARIUMSPOREN BIJ TULPENBOLLEN

Een combinatie van tijdsduur en sterkte van UV-licht die in deze proef werd gebruikt bleek niet voldoende om Fusariumsporen aan de buitenkant van de bol volledig te bestrijden. In de gekozen proefopstelling konden delen van bollen niet worden beschenen, doordat o.a. het draad van de gaasbakken schaduw werpt op de bollen. Waar geen UV-licht valt is ook geen werking te verwachten.

Ondanks het feit dat de proefopstelling niet ideaal was, werd toch 42% van de sporen op de bollen gedood. UV-licht gaf een sterke vermindering van het aantal levende sporen op tulpenbollen ten opzichte van bewaring zonder UV-licht.

De werking van een UV-lamp wordt ondermeer bepaald door het product van lichtsterkte en tijdsduur (kWh x h). Een effect dat in 10 uur met een lamp van 10 Watt bereikt wordt is bij benadering gelijk aan het effect van een 1000 Watt lamp in 6 minuten.

Voor de proeven werd een zwakke UV-lamp gebruikt: type PL-S, dit is een 9 Watt UV-C lamp (253,7 nm).

Voor het zelfde resultaat zouden later ook lampen van een hoge intensiteit kunnen worden gebruikt, zodat een veel kortere belichtingsduur kan worden gebruikt. Dit is dan tevens veel makkelijker toepasbaar in de praktijk tijdens de verwerking van de bollen in het oogstseizoen.

BESTRIJDING VAN LATENT ZUUR MET UV-LICHT

Latent zuur werd maar gedeeltelijk bestreden door een bestraling met UV-licht. Het bleek dat vooral de agressievere stam (van de twee gebruikte stammen) het beste werd gedood. Wat hieraan ten grondslag ligt is niet uit dit onderzoek na te gaan. Het verschil kan van genetische oorsprong zijn: de agressieve stam zou een zwakke mutatie kunnen zijn van de 'normale' fusariumschimmel. Daarnaast kan het zo zijn dat de agressieve stam de bol oppervlakkiger infecteert dan de normale stam, waardoor de agressieve stam eerder wordt gedood door UV-licht. De komst van de agressieve fusariumstam, een aantal jaren geleden, maakte dat een groter deel van het sortiment gevoeliger werd voor aantasting door deze schimmel. Een goede bestrijding van de agressieve stam brengt het Fusarium probleem weer terug naar de oude situatie. Vergeleken met de relatief eenvoudige bestrijding van de zuurschimmel op een voedingsbodem, is de bestrijding van latent zuur in een bolrok erg lastig. Bij een te ontwikkelen praktijktoepassing zal de bol van alle kanten beschenen moeten worden. Lastig daarbij is, dat de bolhuid ook een hindernis vormt om de infecties op en in de bolrok overal goed te kunnen 'raken'.

De twee effecten van UV-licht (een sterke vermindering van het aantal sporen op de bol in combinatie met het - ten dele - doden van latente infecties) zouden toch nog kunnen bijdragen aan een verminderd fusariumprobleem. UV-licht blijkt bovendien praktisch onschadelijk voor de bollen.

Voor een praktische toepasbaarheid zouden bollen onder lampen van een hoge intensiteit gedurende korte tijd moeten kunnen worden behandeld. Verder moet worden gedacht aan een opstelling met ronddraaiende bollen. Met een verbeterde opstelling waarbij de bollen beter rondom geraakt kunnen worden en bij een verhoogde UV-lichtsterkte lijken hier dus nog mogelijkheden te liggen. Hierover is ook gesproken met een bedrijf dat installaties voor UV-ontsmetting ontwerpt. In overleg met PPO hebben zij een proefopstelling gemaakt voor verdere experimenten met de uitwendige ontsmetting van latent geïnfecteerde en besmette tulpen.

HEETSTOOK TER BESTRIJDING VAN LATENT ZUUR

Heetstook van tulpen bleek weliswaar goed te werken tegen latent zuur, maar was tegelijkertijd meestal funest voor de bol. Spruit en wortelkrans werden dusdanig verhit dat verdere uitgroei van wortels en plant niet meer mogelijk bleek. Hiermee is nog niet gezegd dat heetstook niet voor dit doel toepasbaar is. Heetstook is, technisch gezien, in de praktijk betrekkelijk eenvoudig uit te voeren. Bij de meeste bedrijven is de outillage in principe aanwezig. Als het wel zou lukken om met behoud van de bol latent zuur te doden is heetstook een aantrekkelijke praktische methode. Er zijn wellicht combinaties van temperaturen te vinden waarbij nog wel doding van latent zuur maar geen schade aan de bol optreedt.

ONDERDRUK

Uit literatuuronderzoek naar toepassing van onderdruk liet zien dat er voor tulpen wel mogelijkheden lijken te zijn. Er is een voorstel ingediend voor verder onderzoek, maar dit is niet positief beoordeeld door de begeleidingscommissie zuur. Er waren vooral twijfels over de praktische toepasbaarheid op bollenbedrijven. Voor het met onderdruk behandelen van bollen beschikt men niet over daarvoor geschikte apparatuur. Bovendien is de aanschaf ervan erg kostbaar.

GAMMASTRALING

De ontsmetting met gammastraling biedt geen verder perspectief als bestrijdingsmethode van latente infecties. Blootstelling aan gammastraling gaf bij lage doses al onherstelbare beschadiging aan de spruit en de wortelkrans van tulpen.

DETECTIE MET BEHULP VAN INFRAROODMETING

Infraroodmeting is niet in te zetten als methode voor de detectie van latent zure bollen.

2 Remming verspreiding en infectie Fusarium in grond door middel van GNO's

2.1 Inleiding

In het onderzoek naar manieren om infectie te voorkomen zijn in dit deel van het project de mogelijkheden onderzocht om infectie vanuit de grond te voorkomen. Aangezien er geen fungiciden beschikbaar zijn die in de grond kunnen worden toegepast (naast de bolontsmetting) zijn de mogelijkheden van alternatieve bestrijdingsmiddelen onderzocht. Hiertoe zijn Gewasbeschermingsmiddelen van Natuurlijke Oorsprong (GNO's) getest waarvan bekend is dat ze een effect tegen schimmels hebben. De keuze voor de GNO's is gebaseerd op de resultaten van een project (gefinancierd door het ministerie van LNV) waarin veel verschillende GNO's zijn gescreend tegen een aantal schimmels. Daarnaast zijn er een aantal antagonistische micro-organismen onderzocht waarvan bekend is dat ze *Fusarium oxysporum* in verschillende gewassen kunnen onderdrukken. Deze alternatieve bestrijdingsmiddelen zijn in eerste instantie onderzocht in een kasproef om snel aan te kunnen tonen of ze in principe een werking kunnen hebben tegen *F. oxysporum f.sp. tulipea* in tulp.

2.2 Materiaal en methode

In een kasproef zijn een aantal GNO's (Gewasbeschermingsmiddelen van Natuurlijke Oorsprong) en een aantal biologische bestrijders getoetst op hun vermogen om zuuraantasting van tulpen vanuit de grond te voorkomen. Hiertoe werd in zandgrond een besmetting met *Fusarium* aangebracht. Vervolgens werden de GNO's of biologische bestrijders door deze grond gemengd. Daarna zijn de bollen geplant. Na een aantal weken zijn de bollen beoordeeld op aantasting door zuur tijdens de nateelt in de kas.

Behandeling	Opmerkingen
1. controle	Zonder Fusariumbesmetting <i>de nu volgende behandelingen zijn allen besmet met Fusarium oxysporum f.sp. tulipae</i>
2. controle	Alleen fusariumbesmetting
3. Pseudomonas stam SS101 WT	Hiervan is goede werking tegen o.a. Pythium en Olpidium bekend
4. Pseudomonas stam WCS 358	Bestrijder van Fusarium in radijsteelt
5. F. oxysporum 47	Een niet pathogene Fusarium die aantasting door pathogene Fusarium stammen in verschillende gewassen kan beheersen
6. GNO 1:	Op basis van tijm/oregano-olie
7. GNO 2:	Op basis van kaneelolie
8. GNO 3:	Reinigingsmiddel op basis van citrusschil-extract

De proef werd uitgevoerd op 3-liter potten, per behandeling zijn er 5 herhalingen van 5 tulpen per pot geplant van de cultivar 'White Dream'.

De bollen werden 4 dagen voor het planten ontsmet in 0.5% formaline en teruggedroogd gedurende 1 nacht.

De grond werd besmet en behandeld op 23-12-2004.

De bollen werden geplant op 28-12-2004 en in de kas bij 18°C geteeld. De bollen werden na 4 weken beoordeeld op aantasting door zuur.

Op basis van eerdere proeven voor andere toepassingen werden de onderstaande doseringen van de

GNO's resp. biologische bestrijder toegepast :

- *Pseudomonas* SS101 WT en WCS 358 : 10^7 cfu/ml grond
- *Fusarium oxysporum* 47: 10^4 sporen/ml grond
- GNO's: 1, 2 en 3: concentratie van elk 100 ppm.

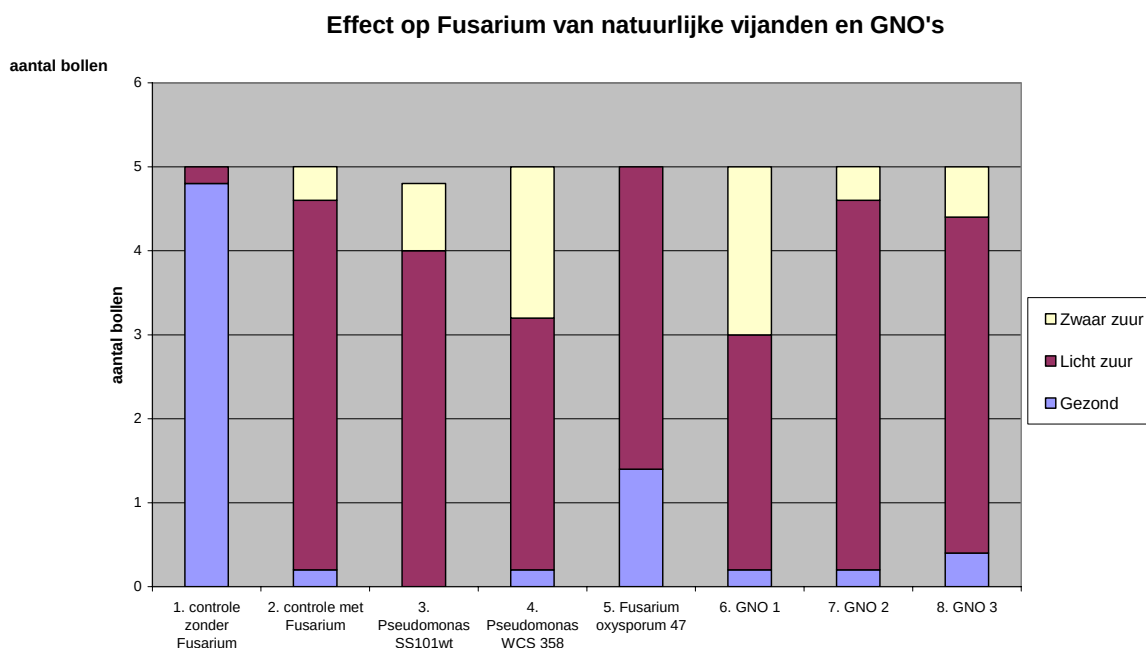
2.3 Resultaten

Bij het beoordelen van de bollen bleek dat de bollen zeer slecht waren beworteld als gevolg van wortelverbranding door formaline. Hierin waren de bollen ontsmet voorafgaand aan de behandelingen.

Dat de bollen geen tot weinig wortels hadden gevormd had een lichte invloed op de Fusariumaantasting. Aangenomen werd dat er door de slechte beworteling minder Fusariumaantasting kon plaatsvinden.

Aan het bovengrondse gewas waren geen verschillen waarneembaar. Zowel de controle zonder Fusarium, controle met Fusarium en de verschillende behandelingen kwamen slecht op. Een enkele bol kwam na 4 weken in bloei. Andere bollen zijn gaan kiepen en zweten als gevolg van de slechte waterhuishouding.

Bij de beoordeling van de bollen zijn alle bollen bij de bolbodem doorgesneden. De bollen werden beoordeeld op a) geen aantasting, b) lichte Fusariumaantasting waarbij een klein plekje van de bolbodem door Fusarium is aangetast of c) zware Fusarium aantasting waarbij de gehele bolbodem of bol is aangetast. (zie grafiek 3)



Grafiek 3. Resultaat van het inzetten van antagonisten en GNO's in een kasproef, waarbij tulpen op met *Fusarium* besmette grond werden geplant.

De controlebehandelingen zonder Fusarium (behandeling 1) was, op één bol na, geheel gezond.

De bollen van de controlebehandeling met Fusarium (behandeling 2) waren, op een enkele zwaar aangetaste bol na, allemaal licht aangetast door Fusarium. Deze behandeling was wat het aantal gezonde bollen betreft gelijk aan de behandelingen met *Pseudomonas* (behandeling 3 en 4) en aan de GNO's (behandeling 6, 7, 8). De behandeling met de meest gezonde bollen was die waarbij de niet-pathogene *Fusarium oxysporum* stam 47 (behandeling 5) was ingezet.

Bij de behandeling met *Pseudomonas* WCS 358 (behandeling 4) en bij de behandeling met de GNO 1 (behandeling 6) is een toename van het aantal zwaar aangetaste bollen te zien ten opzichte van controle 2.

2.4 Conclusies en discussie

De behandelingen met diverse GNO's en aantal biologische bestrijders hadden weinig tot geen effect op de zuuraantasting. Er was slechts één behandeling waarmee nog een redelijk effect werd bereikt. Dit betrof de niet-pathogene *Fusarium oxysporum* stam 47. Hiervan was de effectiviteit maar gering, zodat er geen aanleiding is om deze *Fusarium* als biologische bestrijder tegen zuur in tulp te zetten. Echter, aangezien de proef niet onder optimale omstandigheden is verlopen kan er wellicht meer verwacht worden van deze biologische bestrijder onder optimale omstandigheden.

De twee getoetste *Pseudomonas* stammen hebben geen effect gehad op de aantasting door *Fusarium*. Dit kan verklaard worden uit het feit dat deze bacteriën eerst de wortel van de bol moeten koloniseren om vervolgens op die wortels actief stoffen te gaan produceren waarmee *Fusarium* bestreden wordt. Aangezien de bollen nauwelijks beworteld waren, konden de *Pseudomonas* stammen R1SS101 en WCS 358 niet de wortels koloniseren. En daardoor zijn ze niet in staat geweest om de stoffen te produceren waarmee *Fusarium* bestreden kan worden.

Toediening van WCS 358 lijkt de aantasting te versterken. Om een uitspraak te kunnen doen over de mogelijkheden van deze antagonisten zou de toets herhaald moeten worden.

De GNO's zijn niet in staat gebleken *Fusarium* te onderdrukken. Het is mogelijk dat deze GNO's geen effect hebben tegen *F. oxysporum f.sp. tulipae*. Het is ook mogelijk dat het door de grond mengen van deze GNO's de werkzaamheid heeft verminderd waardoor de toegepaste dosering niet voldoende is geweest. De verergerde aantasting door GNO 1 zou veroorzaakt kunnen zijn door fytotoxisch effecten van deze stof op de bol.

3 Verspreiding van Fusarium vanuit het plantgoed en vanuit de grond

3.1 Inleiding

Zuur in tulp (*Fusarium oxysporum* f.sp. *tulipae*) kan volgens velen het beste bij de bron worden aangepakt. De ziekte kan zich verschuilen in de vorm van een besmetting met sporen in de grond en op de bollen van het plantgoed. Daarnaast kunnen in het plantgoed ook zieke bollen aanwezig zijn. Deze vormen voor het plantgoed een infectiebron, maar spelen ook een rol in de ontwikkeling van zuur tijdens de bewaring na het rooien.

In dit deel van het onderzoek is nagegaan in welke mate besmetting van plantgoed en grond een rol spelen in de aantasting. Daarnaast is ook onderzocht of een zware stikstofbemesting tijdens de teelt bijdraagt aan extra zuurinfecties.

In een soortgelijke grondbemettingsproef in 2002 - 2003 werd toename van het percentage zuur als gevolg van een hoge stikstofgift alleen geconstateerd bij de hoogste besmetting van de grond uit de toenmalige reeks, namelijk bij 10.000 sporen per gram grond. De proef van 2003 - 2004 is een herhaling met een extra besmettingstrap en een extra controle met bolontsmetting, zoals de praktijk dat doet. Dit laatste is bedoeld om de proef naar de praktijk vergelijkbaar te houden, omdat zonder ontsmetting vrij forse percentages zuur kunnen ontstaan.

In principe gaan we ervan uit dat meer stikstof ook meer zuur veroorzaakt, aangezien het tegendeel nooit blijkt. Bovendien is in gladiool en lelie wel deze relatie aangetoond.

In voorgaande jaren bleek er een sterke relatie te zijn tussen percentage zure bollen in het plantgoed en het zuurpercentage van de partij na het rooien. Daarom zijn aan het onderzoek naar het effect van partijbesmetting extra behandelingen toegevoegd met bolontsmetting om deze effecten scherper te kunnen analyseren.

De beschreven proeven zijn een herhaling van proeven die een jaar eerder ook werden uitgevoerd in PPO-project 320791. Dit keer werd één extra nivo van besmetting aan de grond (zie 3.2) toegevoegd. Ten opzichte van project 320791 werd het toevoegen van zure bollen op de regel weggelaten. Er zijn tevens enkele controlebehandelingen toegevoegd, waarbij de bollen ook werden ontsmet volgens de gangbare praktijk. Hieronder volgt een nadere uitwerking van de twee proefonderdelen: 3.2 besmetting vanuit de grond in combinatie met de invloed van stikstof en 3.3 besmetting vanuit ziek plantgoed. Conclusie en discussie volgen daarna in paragraaf 3.4.

3.2 Besmetting en infectie door Fusarium uit de grond in en de invloed van stikstof

3.2.1 Materiaal en methode

In deze proef werd getest of Fusarium uit de grond gezonde bollen kan aantasten en zuur kan veroorzaken gedurende de teelt of tijdens de daaropvolgende bewaarperiode.

In deze proeven werd gebruik gemaakt van de voor Fusarium gevoelige cultivar 'White Dream'. Voor de proef werden de bollen goed uitgezocht op zuur en vervolgens ontsmet in 0.5 % formaline en teruggedroogd.

De grond werd voor het planten gestoomd. Hierna werden veuren gefreesd, waarin sporen van *Fusarium oxysporum* f.sp. *tulipae* werden aangebracht in 4 doseringen.

In deze proef werd ook onderzocht of een hoge N-bemesting (200 kg/ha) zou leiden tot verhoogde zuuraantasting gedurende de teelt en de daarop volgende bewaring. Hiertoe werd een extra serie besmette veldjes aangelegd zoals hierboven beschreven, waaraan in het voorjaar extra stikstof werd toegevoegd.

De proeven werden uitgevoerd in Lisse op zandgrond in veldjes van 1,5 m, normale bedbreedte, 4 regels per bed en in 4 herhalingen.

Behandelingen besmetting vanuit de grond in twee stikstofdoseringen:

Nr. Besmetting	N-bemesting
1. Controle (geen besmetting)	normaal (= 150 kg N per ha)
2. Zuur 100 sporen/g grond	normaal
3. Zuur 1000 sporen/ g grond	normaal
4. Zuur 10.000 sporen/g grond	normaal
5. Zuur 100.000 sporen/ g grond	normaal
6. Zuur 10.000 sporen/g grond	normaal +bollen gedompeld voor het planten
7. Controle (geen besmetting)	hoog (= 200 kg N per ha)
8. Zuur 1000 sporen/ g grond	hoog
9. Zuur 10.000 sporen /g grond	hoog
10. Zuur 100.000 sporen/ g grond	hoog

De sporen voor de besmetting werden geoogst van zure bollen, een mengsel van 2 cultivars. Na het bereiden werd het aantal levende sporen in het inoculum vastgesteld door middel van uitplaten op voedingsbodem. Met deze uitkomst werd de aan de grond toe te dienen hoeveelheid bepaald.

Behandeling 6 is een herhaling van behandeling 4 (10.000 sporen per gram grond) waarbij de bollen werden gedompeld kort voor het planten. Het betrof een dompeling gedurende 15 minuten in een bad met 0,5% captan + 0,3% prochloraz + 1% Topsin M.

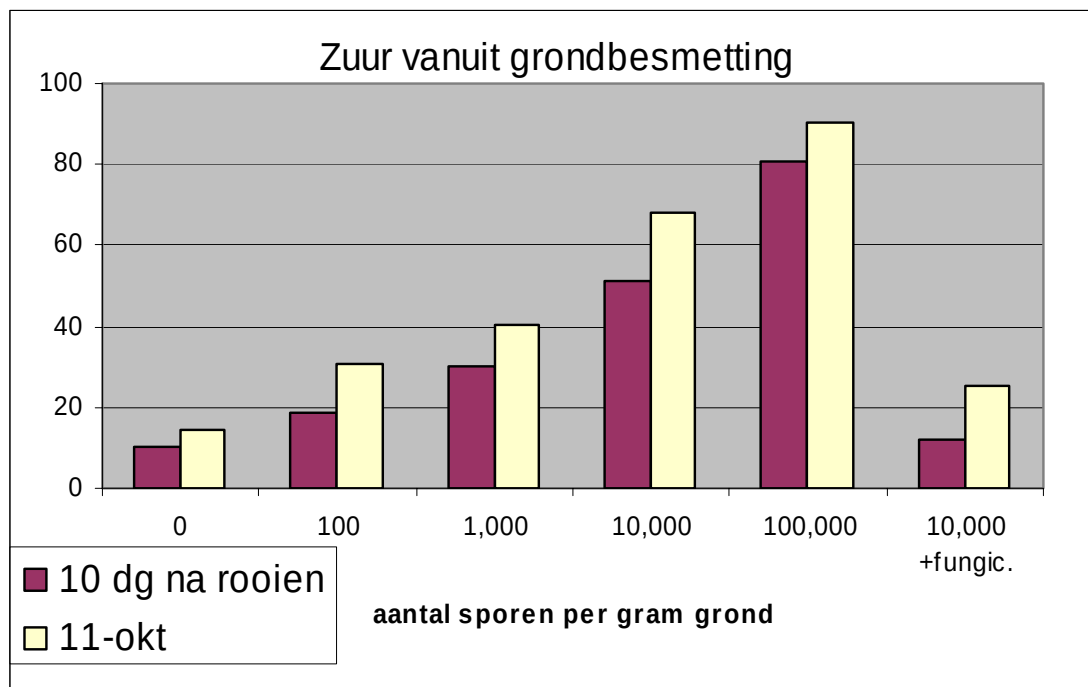
Stikstofbemesting werd in principe rond planten (voorraadbemesting) en in de periode vanaf eind maart tot half april (bijbemesting) gegeven. Voor het bijmesten werd de gift steeds bepaald aan de hand van een stikstofmonster. In het voorjaar van 2004 werd steeds voldoende stikstof in de grond aangetroffen. Er werd daarom uiteindelijk alleen stikstof gestrooid in de behandelingen met extra bemesting. Daar werd 50 Kilo N per ha in de vorm van kalksalpeter gestrooid, verdeeld over 3 maandelijkse giften.

Aan het eind van de proef werd het stikstofgehalte van de veldjes nog een keer bepaald. Op 5 juli (1 dag na het rooien) was de hoeveelheid stikstof in de veldjes met de normale stikstofgift nog 24 kg nitraat-N/ha en in de veldjes met extra bemesting 101 kg nitraat-N/ha.

Een deel (1/3) van de bollen werd na het rooien en drogen beoordeeld op het percentage zuur. Hiermee werd het zuurpercentage aan het begin van de bewaarperiode vastgesteld. Van de resterende bollen (2/3 deel) werd op 11 oktober het percentage zuur beoordeeld, na een ongestoorde luchtige bewaring bij 20 °C.

3.2.2 Resultaten

Op de twee beoordelingsdatums (10 dagen na rooien en op 11 oktober) was een duidelijke relatie zichtbaar tussen het aantal sporen dat in de grond was aangebracht en het zuurpercentage (grafiek 4).



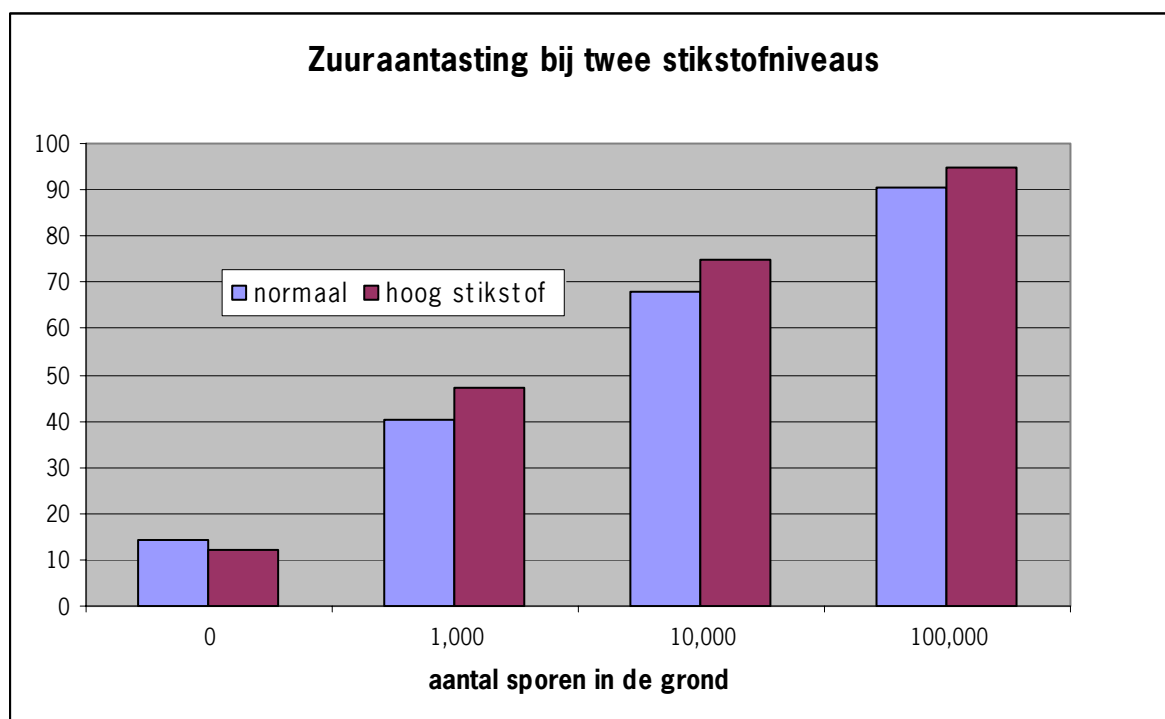
Grafiek 4. Percentage zuur bepaald op 2 tijdstippen na het rooien, als gevolg van een voor het planten aangebrachte grondbesmetting met *Fusarium oxysporum f.sp. tulipae*.

Tussen de twee beoordelingsdata nam het percentage zuur met gemiddeld bijna 11% toe. Deze toename was voor alle niveaus van besmetting gelijk. Bij de controle, waarbij geen sporen waren toegevoegd aan de grond, was de toename van het percentage zuur tijdens de bewaring lager.

De behandeling waarbij de bollen ook werden ontsmet (laatste twee staven in grafiek) gaf een zuurpercentage dat vergelijkbaar was met de onbesmette controle. Hiermee werd tevens het nut van de boldompeling duidelijk aangetoond.

Het percentage zuur dat ontstond bij de onbesmette controle werd waarschijnlijk veroorzaakt door latente infectie die in de partij reeds aanwezig was. Latente infectie laat zich niet stoppen door uitwendige bolontsmetting (zowel formale als de bolontsmetting voor het planten). Dit werd in onderzoek van Bergman e.a. in het verleden ook aangetoond. Zie ook hiervoor de inleiding van hoofdstuk 1 in dit verslag.

In de proef was extra stikstof toegediend in combinatie met een besmetting met 0 (controle), 1000, 10.000 en 100.000 sporen per gram grond (grafiek 5). Hierbij bleek dat er extra zuur optrad in de behandelingen met extra stikstof ten opzichte van de normale dosering. De verschillen waren echter niet betrouwbaar; er is sprake van een tendens. De F-waarde van 0,06 zegt ons dat het voor 94% geen toeval is dat er meer zuur optreedt door meer stikstof. De afspraak is om pas bij 95% van een betrouwbaar verschil te spreken. Gemiddeld kwam het zuurpercentage bij de extra stikstofgift aan het eind van de bewaring een krappe 4% hoger uit ten opzichte van de normale stikstofdosering.



Grafiek 5. Percentage zure bollen na de bewaring (beoordeeld op 11 oktober), van bollen blootgesteld aan vier besmettingsniveaus (*Fusarium oxysporum f.sp. tulipae*) en twee stikstofniveaus tijdens de teelt.

3.3 Verspreiding van *Fusarium* vanuit ziek plantgoed

3.3.1 Materiaal en methode

In dit deel van de proeven werd getest wat de invloed is van een bepaald percentage ziek (zuur) plantgoed op het percentage zuur dat na het rooien en na een bewaarperiode in die partij ontstaat.

In deze proeven werd uitgegaan van de gevoelige cultivar 'White Dream' en van veldjes van 1.5 m (180 bollen zift 9/10 per veldje). Per behandeling werden 4 herhalingen aangelegd.

Voor inzetten van de proef werd de partij bollen eerst goed op zuur uitgezocht en uitwendig ontsmet met formaline (15 minuten dompelen in 0,5% formaline).

Behandelingen

1. Controle
2. Plantgoed met 2% zuur (4 zure bollen/180 bollen)
3. Plantgoed met 5% zuur (9 zure bollen/180 bollen)
4. Plantgoed met 10 % zuur (18 zure bollen/180 bollen)
5. Plantgoed met 20 % zuur (36 zure bollen/180 bollen)
6. Controle met bolontsmetting voor het planten
7. Plantgoed met 10% zure bollen en met bolontsmetting voor het planten

De bolontsmetting in behandeling 6 en 7 werd uitgevoerd als dompeling gedurende 15 minuten in 0,5% captan + 0,3% prochloraz + 1% Topsin M kort voor het planten.

Ook de kisten werden ontsmet in formaline, gelijk met het ontsmetten van de bollen en teruggedroogd.

De zieke bollen die gebruikt werden voor de besmetting in de proef waren een mengsel van bollen afkomstig uit een partij 'Prominence' en 'White Dream'.

Een deel (1/3) van de bollen werd na het rooien en drogen beoordeeld op het percentage zuur, waarmee het zuurpercentage aan het begin van de bewaarperiode werd vastgesteld. Van de resterende bollen werd na een ongestoorde luchtige bewaring bij 20 °C het percentage zuur beoordeeld op 11 oktober.

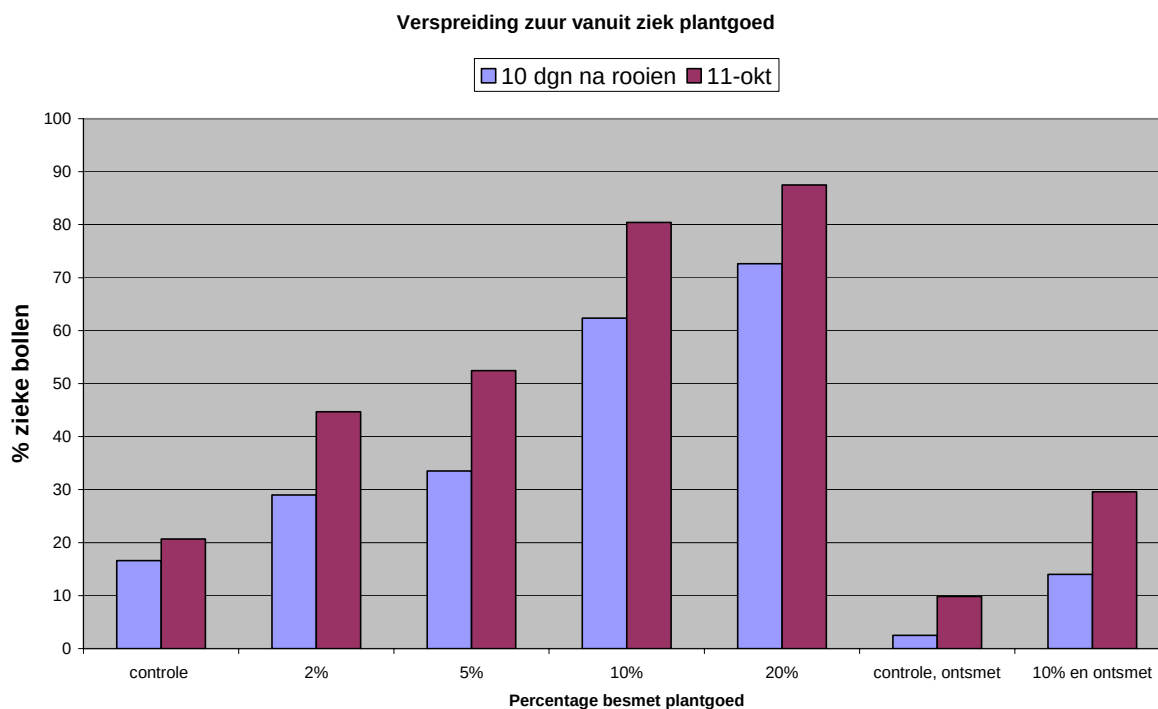
3.3.2 Resultaten

De resultaten van dit onderzoek zijn te zien in grafiek 6. Een aantal conclusies geldt voor zowel het eerste als voor het tweede tijdstip van vaststellen van het zuurpercentage, namelijk:

- Een oplopend percentage zuur in het plantgoed voor het planten geeft een oplopend percentage zuur na het rooien en na bewaring tot 11 oktober.
- het percentage zuur uit een partij met 2% ziek plantgoed is ongeveer gelijk aan dat van een partij met 5% zuur in het plantgoed.
- het percentage zuur van een partij met 10% ziek plantgoed is na het rooien en aan het eind van de bewaring ongeveer gelijk aan dat van een partij met 20% zuur in het plantgoed. Deze waarden liggen hoger dan bij de partijen met 2 en 5% ziek plantgoed.
- Het percentage zuur van de controle met 0% zuur in het plantgoed is gelijk aan het percentage zuur in de behandeling met 0% zuur + bolontsmetting en de behandeling met 10% zuur + bolontsmetting.
- Tijdens de bewaring nam het zuurpercentage van de behandelingen zonder bolontsmetting toe met gemiddeld ruim 14%. De toename was binnen deze groep behandelingen het minst bij de controle met 0% zuur in het plantgoed.
- Het zuurpercentage in de controle met 0% zuur werd veroorzaakt door het in de partij aanwezige latente zuur.
- Het zuurpercentage van de behandelingen met bolontsmetting gaf aan dat de boldompeling voor het planten effectief blijkt te werken, óók voor een partij met 10% zure bollen.

Voor het tijdstip 11 oktober gold:

- Op het tijdstip 11 oktober gaf 10% zuur + bolontsmetting een hoger percentage zuur dan de controle met 0% zuur. De bolontsmetting bleek, bij 10% zuur in het plantgoed, daarmee niet voldoende om toename van infectie door zuur tijdens de bewaring te stoppen.



Grafiek 6. Percentage zuur bepaald op 2 tijdstippen na het rooien, als gevolg van een voor het planten aangebrachte partijbesmetting van 2, 5, 10 en 20% met *Fusarium oxysporum* f.sp. *tulipae*.

3.4 Conclusies en discussie

T.a.v. grondbesmetting en stikstof:

- *Conclusie:* Een hogere besmetting van de grond waarin tulpen worden geplant geeft een hoger percentage zuur na het rooien.
Discussie: Tulpen telen op land met een geschiedenis van Fusarium blijft dus een risico met zich meedragen. Desondanks teelt de praktijk nog wel eens twee jaar achtereen tulpen op hetzelfde perceel, terwijl daar niet altijd grote problemen optreden. Waarschijnlijk geeft de bolontsmetting daar voldoende bescherming aan het plantgoed mee. Toch blijft voorzichtigheid geboden. Van de fusariumschimmel is bekend dat deze speciale sporen (chlamydosporen) maakt die zeer lange tijd in de grond kunnen overleven. Teelt van een gevoelige cultivar op een perceel waar 6 tot 8 jaar eerder zuur was opgetreden kan daarom nog risico inhouden. De in de teelt gebruikte fungiciden beschermen de bol tegen nieuwe infectie, maar doden geen sporen.
- *Conclusie:* De in de praktijk gebruikte standaard bolontsmetting voor het planten gaf een goede bescherming tegen nieuwe zuuraantasting vanuit de grond.
Discussie: Waarschijnlijk voorkomt bolontsmetting ook de meeste problemen met het overdragen van zuur via de grond. Bolontsmetting wordt ook nog steeds gezien als een van de meest effectieve manieren om aantasting door zuur in het veld te voorkomen. Daarnaast is tegen het uitlopen van latent zuur en tegen nieuwe infecties in het najaar een temperatuur onder 12 °C gunstig.
- Bij een hogere stikstofgift (200 in plaats van 150 kg/ha) die werd gegeven in de vorm van een gedeelde bijmestgift in het voorjaar, bleek er een sterke tendens naar een hoger percentage zuur. In project 320791, waarin een soortgelijke vergelijking een jaar voor deze proef werd uitgevoerd, gaf extra stikstof ook méér zuur maar alleen bij de hoogste besmetting (toen 10.000 sporen per gram grond). Dit jaar is er een tendens naar meer zuur bij alle getoetste graden van besmetting. Omgekeerde effecten zijn in het fusariumonderzoek niet gevonden, waarmee de stelling gehandhaafd blijft dat meer stikstof ook meer zuur geeft.

T.a.v. partijbesmetting

- Meer zuur in het plantgoed gaf meer zuur in de partij na het rooien.
- Er was toename van zuur tijdens de bewaring. Dit was niet het geval voor de behandelingen met 0% ziek in het plantgoed.
- Een bolontsmetting werkte effectief tegen zuur vanuit ziek plantgoed.
- Bij 10 % partijbesmetting was er, ondanks een bolontsmetting, toch nog een significante toename van zuur gedurende de bewaring tot 11 oktober.

Twee normale teeltmaatregelen: plantgoed uitzoeken en plantgoed ontsmetten, blijken dus een goed effect te hebben bij het voorkomen van zuur. Het uitzoeken van een partij bollen heeft volgens de proef vooral effect in de vorm van verminderde toename van zuur tijdens de bewaring. De besmetting die in het plantgoed zat zorgt voor aanhoudende hoge besmetting en veroorzaakt daarmee blijkbaar nog nieuwe infecties in een later traject van de bewaring. Uitzoeken van plantgoed zal in de praktijk nog veel effectiever zijn dan in deze proeven, omdat in de praktijk de bollen ook nog worden verwerkt (pellen, sorteren en tellen) en er zich onderweg dus ook veel meer infectiekansen voordoen.

Kennisoverdracht

Open dagen

- Posterpresentatie open dagen broeierij PPO Lisse, 13 - 14 februari 2004;
- Posterpresentatie open dagen teelt PPO Lisse, 27 mei 2004;
- Posterpresentatie open dagen broeierij PPO Lisse, 10 - 11 februari 2005;
- Posterpresentatie op Anthos bijeenkomst voor exporteurs op 21 juni 2005

Publicaties

- Dam, M. van ; Breeuwsma, S. ; Werd, R. de "Veldproeven zuur: besmetting grond en partij laag houden : onderzoek tulp" Bloembollenvisie, (2003) 26, p. 26-27