

***Bodemgezondheid in de  
biologische kasteelt***

*Deel 2: ziekteverendheid tegen  
bodembonden schimmels*

*Willemijn Cuijpers  
Leen Janmaat*

*Geert-Jan van der Burgt*

LOUIS BOLK  
I  
N  
S  
T  
I  
T  
U  
T

In Nederland vindt het meeste onderzoek voor biologische landbouw en voeding plaats in voornamelijk door het ministerie van LNV gefinancierde onderzoeksprogramma's. Aansturing hiervan gebeurt door Bioconnect, het kennisnetwerk voor de Biologische Landbouw en Voeding in Nederland ([www.bioconnect.nl](http://www.bioconnect.nl)). Hoofduitvoerders van het onderzoek zijn de instituten van Wageningen UR en het Louis Bolk Instituut. Zij werken in de cluster Biologische Landbouw (LNV gefinancierde onderzoeksprogramma's) nauw samen. Dit rapport is binnen deze context tot stand gekomen.

De resultaten van de onderzoeksprogramma's vindt u op de website [www.biokennis.nl](http://www.biokennis.nl). Vragen en/of opmerkingen over het onderzoek aan biologische landbouw en voeding kunt u mailen naar: [info@biokennis.nl](mailto:info@biokennis.nl).

De informatie in deze brochure is met de grootst mogelijke zorg opgesteld. Gebruik van deze informatie is geheel op eigen risico. De auteurs aanvaarden geen enkele aansprakelijkheid voor schade (direct dan wel indirect) welke veroorzaakt kan zijn door het gebruik van de gegevens uit deze publicatie.

Alle foto's in dit rapport zijn ontleend aan het foto archief van WUR glastuinbouw, Bleiswijk.

© [2008] Louis Bolk Instituut

Bodemgezondheid in de biologische kasteelt, Deel 2:  
ziektewerendheid tegen bodemgebonden schimmels.  
Willemijn Cuijpers, Leen Janmaat en Geert-Jan van der  
Burgt, 52 pagina's.

Zoekwoorden: Bodemkwaliteit, bodemgezondheid,  
ziektewerendheid, schimmels.

Dit rapport kan alleen verkregen worden als download  
vanaf [www.louisbolk.nl](http://www.louisbolk.nl)

Publicatienummer LB25

# Voorwoord

De intensieve biologische glastuinbouw heeft te maken met een zich versterkende problematiek: de toename van de ziektedruk door bodemgebonden pathogenen. Een substantieel deel van beschikbaar onderzoeksbudget wordt hiervoor ingezet. Dit rapport is het tweede deel van een tweeluik over bodemgezondheid in de biologische kasteelt, als resultaat van een literatuurstudie.

In deel 1 zijn de begrippen die in de discussie over bodemkwaliteit, bodemgezondheid en ziektewerendheid een rol spelen op een rij gezet. Daar is ook geschetst welke indicatoren bruikbaar zouden zijn om de ziektewerendheid makkelijk te kunnen duiden, en zijn teeltmaatregelen op hoofdlijnen besproken die de ziektewerendheid kunnen beïnvloeden. In dit tweede deel wordt nader ingegaan op zes bodemgebonden schimmelziektes.

De auteurs danken Pim Paternotte van Wageningen Glastuinbouw voor zijn kanttekeningen bij het concept verslag.



# Inhoud

Voorwoord	3
Inhoud	5
Samenvatting	7
Summary	9
1 Fusarium voetrot, verwelkingsziekte en interne vruchtrot	11
1.1 Probleemschets	11
1.2 Karakteristiek schimmel	11
1.3 Herkennen	13
1.4 Teeltmaatregelen	14
1.5 Actieve bestrijding	17
1.6 Antagonisten	17
2 Zwartwortelrot ( <i>Phomopsis sclerotioides</i> )	19
2.1 Probleemschets	19
2.2 Karakteristiek schimmel	19
2.3 Herkennen	19
2.4 Teeltmaatregelen	20
2.5 Antagonisten	20
3 Kurkwortel ( <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> )	23
3.1 Probleemschets	23
3.2 Karakteristiek schimmel	23
3.3 Herkennen	23
3.4 Teeltmaatregelen	24
3.5 Antagonisten	25
4 Pythium voetrot, kiemplantenziekte	27
4.1 Probleemschets	27
4.2 Karakteristiek schimmel	27
4.3 Herkennen	28
4.4 Teeltmaatregelen	28
4.5 Actieve bestrijding	30
4.6 Antagonisten	30
5 Rattenkeutelziekte ( <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> )	31
5.1 Probleemschets	31
5.2 Karakteristiek schimmel	31
5.3 Herkennen	32
5.4 Teeltmaatregelen	32
5.5 Actieve bestrijding	32
5.6 Antagonisten	33

6	Verticillium verwelkingsziekte	35
6.1	Probleemschets	35
6.2	Karakteristiek schimmel	35
6.3	Herkennen	36
6.4	Teeltmaatregelen	37
6.5	Actieve bestrijding	38
	Literatuur	45

## *Samenvatting*

In dit tweede deel van dit literatuuronderzoek naar bodemgezondheid in de biologische glastuinbouw is informatie verzameld over 6 belangrijke schimmelpathogenen die in de biologische vruchtgroententeelt van belang zijn: Fusarium, Phomopsis (zwartwortelrot), Pyrenochaeta (kurkwortel), Pythium, Sclerotinia (rattenkeutelziekte) en Verticillium. Behalve aan het herkennen van de ziekte en de ecologie van de pathogenen, is specifiek aandacht besteed aan mogelijkheden die biologisch werkende glastuinders hebben om met teeltmaatregelen de ziekten te bestrijden. Afhankelijk van het soort pathogeen zal de keuze op een andere set maatregelen vallen.

- Algemene maatregelen zijn het gebruik van compost of andere organische toevoegingen, en de introductie van wisselgewassen.
- Specifiekere maatregelen zijn het introduceren of stimuleren van antagonisten.
- Tenslotte zijn er nog maatregelen die als laatste redmiddel een plek hebben in de biologische teelt, zoals solarisatie, biofumigatie of stomen.

Ter afsluiting wordt in tabelvorm een samenvattend overzicht gegeven aan de teler met handvatten voor sturing op het gebied van bodemgezondheid.





## *Summary*

This is the second part of a literature study on soil health aspects in organic greenhouse production. Information is gathered about six important fungal pathogens: Fusarium, Phomopsis, Pyrenochaeta, Pythium, Sclerotinia and Verticillium. Recognition of the symptoms and ecology of the pathogens is described, as are the opportunities for organic greenhouse growers to control these pathogens. Every type of pathogen needs a specific set of tools.

- Generic measures are organic matter amendments and crop rotation.
- More specific is the introduction of disease-specific antagonists.
- More drastic and less specific are solarisation, biofumigation and steaming.

At the end a table is presented with an overview to support growers to manage the health of their soils.



# 1 *Fusarium* voetrot, verwelkingsziekte en interne vruchtrot

## 1.1 *Probleemschets*

Met name in de gangbare substraatteelt van komkommer spelen ernstige problemen met *Fusarium*, maar ook in de biologische teelt kan *Fusarium* optreden. In de gangbare komkommerteelt is met name *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* problematisch (Paternotte en Janse, 2006b). Daarnaast speelt een rol dat per 2008 chemische middelen op basis van carbendazim zijn verdwenen, en er voor de gangbare teelt dan nog maar één chemisch middel overblijft (Van der Ven, 2007). Dit middel is echter alleen toegelaten in tomaat, meloen en aubergine. In de biologische komkommerteelt is het gebruikelijk om te enten op gronden waar knobbel een groot probleem vormt. In de biologische tomatenteelt is het gebruikelijk om te enten en zijn er ook onderstammen aanwezig die resistent zijn tegen de meeste *Fusarium* soorten. In paprika wordt er alleen bij uitzondering geënt. Een vrij recent probleem in de paprikateelt in Canada, België en Nederland is *Fusarium* binnenrot van de vrucht (Utkhede en Mathur, 2005).

## 1.2 *Karakteristiek schimmel*

### **Voetrot, verwelkingsziekte en externe vruchtrot**

Er zijn verschillende *Fusarium* soorten die in vruchtgroenten een probleem kunnen vormen. In komkommer spelen *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* en *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum* een rol. Tomaat kan aangetast worden door *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, door *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* en door *Fusarium solani*. Deze *Fusarium* soorten zijn primair bodemgebonden pathogenen. *Fusarium oxysporum* kent een aantal verschillende varianten, die aangeduid worden als *forma specialis* (f.sp.) en circa 80 plantensoorten kunnen aantasten. Omdat er geen seksuele stadia bekend zijn van *Fusarium oxysporum* zijn ze ingedeeld in de klasse van de Deuteromycota (Fungi imperfecti). *Fusarium oxysporum* is uniek in het opzicht dat ze drie soorten asexuele sporen produceert: macroconidiën, microconidiën en chlamydosporen. De macroconidiën en microconidiën worden op het stengeloppervlak van geïnfecteerde planten geproduceerd, en kunnen in een later stadium zorgen voor verspreiding naar naburige planten. Chlamydosporen hebben dikke celwanden, en functioneren vooral als rustsporen die lang in de bodem kunnen overleven (Ohara en Tsuge, 2004). Ze worden gevormd wanneer de groeicondities voor de schimmel suboptimaal worden, of wanneer de plant afsterft. Begininfectie van planten ontstaat door chlamydosporen die kiemen en vervolgens de wortel binnendringen. In de plant worden zowel hyphen als microconidiën gevormd. De microconidiën kunnen in de plant getransporteerd worden via het vaatstelsel en elders kiemen en myceliumgroei veroorzaken. Als reactie op de myceliumgroei produceert de plant inwendig verdikkingen van parenchymcellen. Als dat snel en volledig genoeg gebeurt is de plant resistent, maar als dit te langzaam of onvolledig gebeurt wordt de opname van water geblokkeerd en verwelkt de plant. Uiteindelijk groeit de schimmel ook buiten op de plantenstengel, en produceert dan macroconidiën. Wanneer deze op de bodem komen kunnen ze rustsporen vormen, de chlamydosporen. De optimum temperaturen voor ontwikkeling van de pathogeen verschillen per *Fusarium* soort. De meeste aantasting wordt bij *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* veroorzaakt bij temperaturen tussen 17 en 24°C.

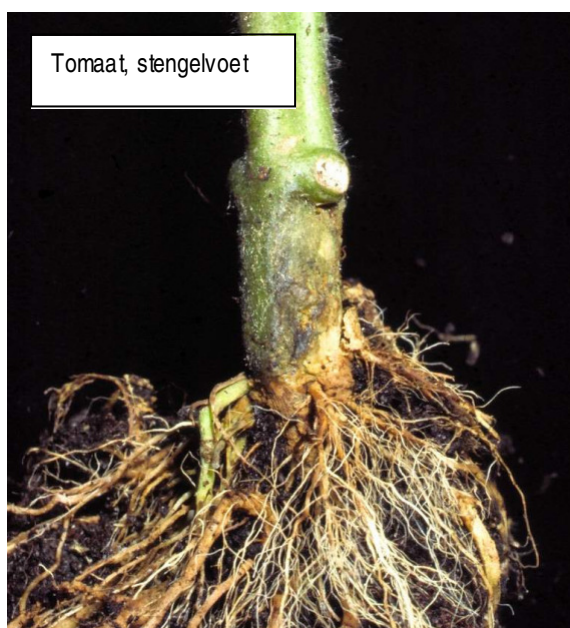
*Fusarium solani* wordt ingedeeld bij de Ascomycota en is de asexuele, anamorfe vorm van de schimmel. De teleomorfe (seksuele) vorm heeft een andere naam, en heet *Nectria haematococca*. Ook *Fusarium solani* produceert macroconidiën, microconidiën en chlamydosporen. Bovendien produceert met name *F. solani* uitwendig op aangetast plantmateriaal veel peritheciën. In deze peritheciën zitten asci met daarin ascosporen. Ascosporen zijn sporen die gemakkelijk door de lucht worden verspreid.

*Fusarium* soorten hebben een goed saprofytisch vermogen, en het onderwerken van organisch materiaal kan hun aantallen laten toenemen. Veel pathogene *Fusarium* soorten zijn echter slechte concurrenten, en kunnen geen substraat koloniseren dat al door andere organismen bezet is (Serra-Wittling et al., 1996). Dit kunnen zowel niet-pathogene *Fusarium* soorten zijn, andere schimmels, actinomyceten of bacteriën.

### **Interne vruchtrot**

Meerdere verwante *Fusarium* soorten kunnen binnenrot in paprika veroorzaken. In Canada werden *Fusarium subglutinans* (Utkhede en Matur, 2005), *Fusarium proliferatum* en *Fusarium verticillioides* (*Fusarium moniliforme*) gevonden (Yang et al, 2005). In Vlaams onderzoek werd onder andere *Fusarium proliferatum* gevonden (Sauviller et al, 2007). Daarnaast wordt uit de vruchten ook een waarschijnlijk nieuwe, nog niet eerder beschreven *Fusarium* soort geïsoleerd. In Nederland zijn in een aantal gevallen ook *F. oxysporum*, *F. solani* en *F. proliferatum* gevonden (Paternotte en Bloemhard, 2004). De verschillende (aseksuele, anamorfe) *Fusarium* soorten die binnenrot veroorzaken, kennen eenzelfde (seksuele, teleomorfe) vorm met de naam *Gibberella fujikuroi*. Infecties van paprika door *Fusarium solani* zijn waarschijnlijk niet als binnenrot, maar eerder als externe vruchtrot te classificeren (Sauviller et al, 2007). De *Fusarium* soorten die binnenrot bij paprika veroorzaken, hebben een bredere waardplantenreeks. Er is nog weinig bekend over de epidemiologie van deze *Fusarium* soorten bij paprika, maar gedeeltelijk wel bij andere gewassen. *Fusarium subglutinans* veroorzaakt behalve bij paprika, ook vruchtrot bij ananas en mango. *Fusarium proliferatum* heeft een zeer brede waardplantenreeks en komt onder andere voor bij asperge, maïs, rijst, sorghum, tomaat, tarwe, ui en knoflook. De *Fusarium* soorten uit deze groep kunnen mycotoxines produceren. De microconidiën en schimmeldraden van *Fusarium verticillioides* kunnen twee jaar lang overleven op gewasresten van sorghum. Voor *Fusarium subglutinans*, *Fusarium proliferatum* en *Fusarium verticillioides* werden op maïsresten overlevingsperiodes van 630 dagen gevonden. Op oppervlakkige gewasresten overleefden de schimmels beter dan op in de grond begraven gewasresten, mogelijk door hernieuwde infectie met door de lucht verplaatste sporen (Cotten en Munkvold, 1998). Bij interne vruchtrot komt de schimmel waarschijnlijk binnen in het bloemstadium of jonge vruchtstadium. Vermeedelijk komt de schimmel via de (afstervende) stamper de vrucht binnen, waarna vooral tijdens de rijping de schimmel verder groeit in de vruchtwand en zaadlijst (Sauviller et al, 2007).

### 1.3 Herkennen



De verschillende *Fusarium* soorten veroorzaken ook verschillende symptomen in het gewas. In komkommer ontstaat bij *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* een gezwollen, witte plantvoet. De planten gaan van onderen af slap en de bladeren sterven af. De stengelvoet gaat rotten, en wordt in een later stadium bedekt met witte, pluizige schimmeldraden en roze sporen. Ook hoger aan de stengel kunnen strepen van verkleurd weefsel met roze sporen ontstaan (Paternotte en Janse, 2006a). Bij aantasting door *Fusarium oxysporum* f.sp.

*cucumerinum* gaat de plant helemaal slap zonder dat de stengelvoet aangetast wordt. De optimum temperatuur ligt hier tegen de 30°C. *Fusarium solani* geeft in komkommer alleen voet- en wortelrot.

In tomaat veroorzaakt *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* verwelkingsziekte, terwijl *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* voet- en wortelrot veroorzaakt. *Fusarium solani* veroorzaakt voetrot in tomaat.

In paprika veroorzaakt *Fusarium solani* stengel- en uitwendige vruchtrot, terwijl *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici* stengelrot veroorzaakt. Stengelaantasting door *Fusarium solani* begint vaak bij de hoofdvertakking van de stengels, maar kan ook op de stengelvoet voorkomen. Externe vruchtrot begint meestal op het kroontje en wordt in de praktijk "kroontjesrot" genoemd. De vruchtlichamen van *Fusarium solani* zijn soms zichtbaar in de vorm van kleine rode puntjes op de stengelvoet en de vruchten (Paternotte en Bloemhard, 2004).



Paprika, interne vruchtrot

De *Fusarium* soorten die interne vruchtrot veroorzaakt groeien in eerste instantie binnenin de vrucht op de vruchthuid of het zaad. De eerste symptomen zijn necrose (zwarte plekjes) aan de binnenzijde van de vruchtwand, gevolgd door de groei van witroze schimmelpuis en het zwart verkleuren van de zaden. Pas bij een sterke uitbreiding van de infectie worden de symptomen aan de buitenkant zichtbaar. Deze symptomen zijn pas bij de oogst of enkele dagen daarna te zien. Er kunnen

lichtgekleurde, zachte plekken verschijnen waar vocht uit kan komen. De plekken verkleuren naar bruin en de hele vrucht kan wegrotten (Sauviller et al, 2007 ; Utkhede en Mathur, 2005).

## 1.4 Teeltmaatregelen

### Klimaat en onderstammen

*Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* heeft vooral kans in een zwak gewas. In de gangbare komkommerteelt werden met name een te lage worteltemperatuur en donker weer aangewezen als de boosdoeners (Paternotte en Janse, 2006a). Enten op *Fusarium* resistente onderstammen is in principe mogelijk maar heeft in de gangbare komkommerteelt onacceptabele gevolgen voor de productie (Paternotte en Janse, 2006b).

Klimaatfactoren lijken een belangrijke rol spelen bij het ontstaan van binnenrot in paprika door verschillende *Fusarium* soorten. Infectie vindt vooral plaats in perioden met veel instraling en een groot verschil tussen maximum en minimum kasluchttemperatuur tijdens de bloei. Vochtige omstandigheden verhogen de kans op infectie. De kaslucht warmt 's ochtends sneller op dan de bloemen, waardoor er condens op de bloemen ontstaat, wat infectie bevordert. Uit een experiment van het Proefstation voor de Groenteteelt in Sint-Katelijne-Waver bleek verneveling in de ochtend het percentage binnenrot juist te verkleinen. Mogelijk hangt dit samen met de tragere temperatuurstijging in de kas waarin verneveld werd (Van Herck, 2007). Een andere verklaring kan zijn dat er andere condities (RV, condens) nodig zijn voor vrijkomen van sporen in de lucht dan voor infectie. Teeltadviezen zijn op dit moment niet eenduidig. Een voorlopig advies is om tijdig en traag op te stoken, zodat de luchttemperatuur niet te snel stijgt in vergelijking met de planttemperatuur (Sauviller et al, 2007). Daarnaast wordt geadviseerd om minder lage temperaturen aan te houden in de nacht, waardoor minder grove vruchten ontstaan (Paternotte en Bloemhard, 2004). De eerste symptomen van interne vruchtrot treden vaak op in de loop van mei, 7 à 8 weken na bloei en zetting. De infectie is dan rond midden maart gebeurd. In maart is sprake van een vrij sterke toename van de instraling. Vooral situaties waarbij de buitentemperatuur erg laag is, en er in de ochtend plotseling felle instraling is, zijn kritiek. Als er dan met te grote raamopening gelucht wordt, valt er veel koude lucht op het gewas wat kan leiden tot zeer hoge luchtvochtigheid of condensatie bij de bloemen. De kans is groter als het gewas vooraf minder is

opgestookt (Köhl et al., 2007). Verder lijken zwaardere gewassen met grovere bloemen gevoeliger te zijn voor binnenrot. De grofheid van de bloem is deels een raseigenschap, maar wordt ook door verschil in dag- en nachttemperatuur veroorzaakt. Tenslotte is bedrijfshygiëne belangrijk, omdat de schimmel kan groeien op dode vruchten die op de grond terecht komen, of op verzwakte plekken van de vrucht zoals neusrotplekken of drukplekken (Sauviller et al, 2007).

### **Ziektewerende compost**

Er zijn veel voorbeelden van ziekteverdringende composten tegen *Fusarium* bekend. Het probleem is dat het moeilijk is om een consistent ziekteverdringend product te maken, en daarnaast zijn de toegepaste hoeveelheden compost in potproeven voor jaarlijkse toepassing in de praktijk vaak te hoog. In een biotoets met ziekteverdringende GFT compost bleek een toenemende hoeveelheid compost een betere ziekteverdringende werking te geven. Een toevoeging van 10% (v/v) compost verminderde de aantasting na 8 weken van 83% naar ca. 30%. Bij gebruik van 30% compost werd de aantasting naar 10% teruggebracht. Een hoeveelheid van 10% compost (v/v) in de bovenste 25 cm van de bodem komt overeen met ca. 200 ton/ha. Het verhitten van de compost had geen effect op de ziekteverdringende werking in vergelijking met onverhitte compost. De micro-organismen in de grond waren belangrijker voor de ziekteverdringende werking, dan de micro-organismen in de compost. In de eerste weken na toediening zorgde de compost voor een significante toename van de aantallen schimmels in de grond, maar niet van bacteriën. De respiratie was 5x zo hoog in de mengsels met compost, dan in de controle. Uit dit experiment bleek dat algemene ziekteverdringende werking een belangrijke rol speelt in de onderdrukking van *Fusarium* (Serra-Wittling et al, 1996). In een potproef met een mengsel van papierpulpcompost en veen (33% v/v) bleek deze de ziekteverdringende werking van tomaat tegen *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* sterk te vergroten. In de tomatenplant werd door de compost geïnduceerde resistentie opgewekt, door veranderingen in de wortelcellen van de tomaat, waaronder verdikking van de celwand en coating van de tussencelruimten. Hierdoor konden *Fusarium* schimmeldraden alleen nog de epidermis en buitenste cortex binnendringen, maar niet het binnenste weefsel van de wortel. Toevoeging van de mycoparasiet *Pythium oligandrum* aan de compost vergrootte de geïnduceerde resistentie nog sterker (Pharand et al, 2002). In een biotoets met *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in tomaat werden de planten in pure compost gezet, gemaakt van kurk of druivenresten (pitten, schillen), en vergeleken met substraat op basis van veen of vermiculiet. De compost van druivenresten kon de ziektedruk met 92% terugbrengen, en ook de kurkcompost had een ziekteverdringend effect. De pH en de algemene microbiële activiteit konden samen 91% van de variatie in ziektegevoeligheid verklaren. Een hoge pH en hoge microbiële activiteit ( $\beta$ -glucosidase activiteit) stimuleerden de ziekteverdringende werking tegen *Fusarium*. Een hoge pH beperkt de beschikbaarheid van macro- en micronutriënten. Pathogene micro-organismen zijn hier veel gevoeliger voor dan de plant. De initiële microbiële samenstelling van de composten correleerde zeer sterk met de ziekteverdringende werking. Zeer significant waren de rol van oligotrofe en cellulolytische actinomyceten, en de verhouding tussen oligotrofe actinomyceten/oligotrofe bacteriën en cellulolytische actinomyceten/cellulolytische bacteriën. Significant waren de rol van de totale hoeveelheid schimmels en de verhouding tussen oligotrofe en copiotrofe bacteriën (Borrero et al., 2004).

### **Klei en bekalking**

Hoewel behalve biotische factoren ook abiotische factoren een rol spelen in de ziekteverdringende werking van gronden, is hier in het algemeen veel minder over bekend. Voor *Fusarium* is bekend dat het type klei in de bodem een rol kan

spelen bij de ziekteverendheid, en dat een hoger gehalte aan montmorilloniet de ziekteverendheid bevordert. Höper et al. (1995) hebben in een biotoets onderzocht wat het effect van de toediening van klei (25% m/m) en bekalking is op de ziekteverendheid van een zure grond (pH 4) tegen *Fusarium oxysporum*. De grootste verhoging van de ziekteverendheid werd bereikt na 6 maanden, door bij pH 7 illiet of montmorilloniet (twee kleisoorten) aan de grond toe te voegen. De derde kleisoort (kaoliniet) had een wat minder sterk effect. De toevoeging van montmorilloniet of illiet en het verhogen van de pH zorgen er allebei voor dat de hoeveelheid met EDTA extraheerbaar ijzer afneemt. Hoe minder ijzer er biologisch beschikbaar is, hoe beter de ziekteverendheid is, aangezien de pathogene *Fusarium oxysporum* slecht om ijzer kan concurreren. Bodems die ziekteverend zijn tegen *Fusarium* hebben in het algemeen een hogere pH of Ca gehalte dan ziektegevoelige bodems. Uiteindelijk waren in deze studie indirect de biologische mechanismen verantwoordelijk voor de verhoging van de ziekteverendheid na 6 maanden, aangezien direct na toediening van klei of kalk er geen betere ziekteverendheid werd gemeten. Een aantal biologische parameters waren na 6 maanden positief gecorreleerd met de ziekteverendheid. Een hogere totale biomassa bacteriën zorgde voor een betere algemene ziekteverendheid. Daarnaast was in ziekteverende bodems de respiratie hoger na toevoeging van glucose aan de bodem. De microflora in ziekteverende bodems reageerde sneller en sterker op toevoeging van glucose dan in ziektegevoelige bodems. Dit betekent dat competitie om glucose een grotere rol speelde in de ziekteverende grond, en dat deze gronden een hoger niveau van fungistase hadden. Behalve algemene ziektevering speelde ook specifieke ziektevering een rol. De hoeveelheid pseudomonaden en de totale hoeveelheid *Fusarium oxysporum* in de grond was positief gecorreleerd met de ziekteverendheid. De verhouding tussen pathogene en niet-pathogene *Fusarium* varieerde na 6 maanden van 1:81 tot 1:14 in ziekteverende gronden, tot 1:4 in ziektegevoelige grond (Höper et al, 1995). In een ander experiment met *Fusarium* gevoelige gronden bleek dat toevoeging van montmorilloniet klei aan de ziektegevoelige grond (25% w/w) de ziekteverendheid verhoogde, terwijl toevoeging van talk (25% w/w, om de textuur maar niet de chemie van de grond te veranderen) de ziekteverendheid verslechterde. Opvallend was dat de pathogene *Fusarium* slechter overleefde in de ziektegevoelige grond. Veel lagere aantallen pathogenen konden het gewas dus veel zieker maken. Dit was gekoppeld aan de algemene ziekteverendheid en het niveau van fungistase in de grond. De ziekteverende grond had een microflora die sterk reageerde op de toevoeging van glucose. Dit betekent dat door tekort aan energie de sporen van de pathogene *Fusarium* niet tot kieming kunnen komen, waardoor de pathogene *Fusarium* beter in de bodem overleeft, maar niet schadelijk is voor het gewas (fungistase). In de ziektegevoelige grond reageerde de microflora minder sterk op het toevoegen van glucose, waaruit blijkt dat fungistase een minder grote rol speelt. Hoewel er weinig sporen van de pathogene *Fusarium* in de grond overleven, kunnen ze door gebrek aan concurrentie met de rest van het bodemleven de planten sterk aantasten. Hoe de toevoeging van klei precies werkt is nog niet bekend (Amir en Alabouvette, 1993).

### **Effect van EC**

Uit onderzoek naar natuurlijke ziekteverendheid tegen *Fusarium oxysporum* van 40 grondsoorten in Algiers bleek dat hogere zoutconcentraties de ziekteverendheid van de grond verbeterden (Amir en Riba, 1990). Eén van de meest ziekteverende gronden had een EC van 2.17 (mS/cm), terwijl één van de meest ziektegevoelige gronden een EC had van 0.43 (mS/cm) (Amir en Alabouvette, 1993). Asperge is een zouttolerant gewas. In veldproeven in de aspergeteelt is gebleken dat eenmalige toepassing van NaCl (560 kg/ha) de aantasting door *Fusarium oxysporum* kan verminderen. Ziekteonderdrukking met behulp van NaCl ging samen met een verandering in de rhizosfeer, en



liet een toename van de hoeveelheid fluorescente pseudomonaden en Mn-reducerende bacteriën zien (Elmer, 1995). Gelijktijdige toepassing van NaCl met niet-pathogene (antagonistisch werkende) Fusarium soorten in asperge, verminderde de ziekteverendheid van de niet-pathogene Fusarium niet. Hieruit volgt dat NaCl waarschijnlijk niet direct toxisch is voor Fusarium. (Elmer, 2004). In onderzoek door het LBI naar ziekteverendheid van 18 biologische kasgronden tegen Fusarium oxysporum in 2007, bleek dat hoge zoutconcentraties (hoge EC, gekoppeld aan hoge Mg concentraties) een positief effect hadden op de ziekteverendheid. Mogelijk is hier ook sprake van een indirect effect op de (antagonistische) microflora, die door de hogere zoutconcentraties wordt gestimuleerd.

## 1.5 Actieve bestrijding

Biofumigatie door het onderwerken van planten uit de Brassicaceae familie is ook voor Fusarium uitgeprobeerd. Het blijkt dat de isothiocyanaten die daarbij vrijkomen een toxisch effect hebben op de conidiën en chlamydosporen in de grond, maar alleen een zwak remmend effect op de myceliumgroei (Smolinska et al., 2003).

## 1.6 Antagonisten

### **Antagonisten tegen Fusarium verwelkingsziekte en voetrot**

In bodems die van nature ziekteverend zijn tegen Fusarium worden zowel niet-pathogene Fusarium soorten gevonden, als fluorescente Pseudomonas soorten (Lemanceau et al, 1992) Niet-pathogene Fusarium oxysporum werkt antagonistisch tegen de pathogene vormen van Fusarium oxysporum, primair door middel van competitie om glucose. Daarnaast kunnen ook fluorescente pseudomonaden zoals Pseudomonas putida effectief werken om Fusarium te onderdrukken. Fluorescente pseudomonaden produceren fluorescente sideroforen. Sideroforen zijn meestal eiwitten, die moeilijk oplosbaar ijzer ( $Fe^{3+}$ ) binden in een vloeibaar ijzerchelaat, dat vervolgens makkelijker door het organisme opgenomen kan worden. Op die manier verliest Fusarium het in de competitie om ijzer van de pseudomonaden. Niet-pathogene Fusarium oxysporum is minder gevoelig voor ijzercompetitie dan pathogene Fusarium oxysporum soorten. De combinatie van fluorescente pseudomonaden en niet-pathogene Fusarium heeft dan ook een versterkend effect op de ziekteverendheid (Lemanceau et al, 1993). In onderzoek van de universiteit Utrecht blijken fluorescerende pseudomonas stammen in staat om Fusarium verwelking in radijs te onderdrukken door het opwekken van systemische resistentie in de plant. De combinatie van twee pseudomonas stammen Pseudomonas putida RE8 en Pseudomonas fluorescens RS111a bleek beter te werken dan alleen de afzonderlijke stammen, waarschijnlijk doordat de mechanismen waarmee beide stammen Fusarium onderdrukken niet hetzelfde zijn (Boer et al, 2001). Voor de Pseudomonas soort P. stutzeri is bijvoorbeeld aangetoond dat ze wel de vorming van conidia en de vorming en kieming van chlamydosporen remt, maar dat ze geen effect heeft op de groei van mycelium (Toyota and Kimura, 1993). Een derde mechanisme waarmee Pseudomonas werkzaam is tegen Fusarium, is door de productie van antibiotica. Op haar beurt produceert de plant pathogene Fusarium echter weer fusariumzuur: een stof die zowel de plantencellen aantast, als de antibioticaproductie door Pseudomonas onderdrukt. De aanwezigheid van micronutriënten kan deze wederzijdse relaties echter beïnvloeden. Het is gebleken dat de toevoeging van zink in substraatteelt van tomaat de ziekteverende effecten van Pseudomonas kon

versterken, door de productie van fusariumzuur door pathogene *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* bijna volledig te onderdrukken (Duffy en Défago, 1997).

Een andere manier waarop antagonisten werkzaam zijn, is door de productie van celwandafbrekende enzymen. Een belangrijke component van de celwand van schimmels is chitine. Antagonisten die chitinolytische enzymen produceren, hebben de potentie om tegen pathogene bodemschimmels te werken. In een biotoets met komkommer was een combinatie van de twee chitinolytische bacteriën *Paenibacillus* sp. 300 en *Streptomyces* sp. 385 heel effectief in de onderdrukking van *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* (Singh et al, 1999).

Larkin en Fravel hebben in een biotoets getest wat het effect is van het inoculeren van zaailingen van tomaat met verschillende antagonisten op het ziekteverloop, bij besmetting van een natuurlijke grond met *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Niet-pathogene vormen van *Fusarium oxysporum* en *Fusarium solani* waren de beste en meest betrouwbaar werkende antagonisten (met tot 92% reductie van ziekte). Ook isolaten van *Gliocladium virens*, *Trichoderma hamatum*, *Pseudomonas fluorescens* en *Burkholderia cepacia* zorgden voor significante, maar minder consistente, ziekte onderdrukking (30-65%). Twee commerciële producten met *Gliocladium virens* GL-21 (SoilGard®) en *Trichoderma harzianum* Rafai T-22 (in Nederland als Trianium® beschikbaar) zorgden voor 62-68% reductie. Combinaties van verschillende antagonisten waren niet effectiever dan het gebruik van één enkele antagonist (Larkin en Fravel, 1998).

Verschillende stammen van de mycoparasiet *Gliocladium virens* zijn in combinatie met de bacterie *Bacillus subtilis* (onder andere in het commerciële middel Kodak®) toegepast tegen een combinatie van *Fusarium oxysporum* en *Meloidogyne incognita* in katoen. De zaden van katoen werden gecoat met de antagonisten. Het is bekend dat de aanwezigheid van *Meloidogyne* de symptomen van een *Fusarium* aantasting sterk kan verergeren. In deze proef hadden de antagonisten *Gliocladium virens* stam G-6 en de twee *Bacillus* soorten geen direct effect op *Meloidogyne*, maar konden ze de aantasting wel sterk verminderen (Zhang et al., 1996). In 2006 is een strain van *Bacillus subtilis* (QST 713) (onder andere in het commerciële middel Serenade®) door het CTGB op bijlage 1 geplaatst; de volgende stap is een annex III herbeoordeling. De mycoparasiet *Gliocladium virens* GL-21 is in de VS commercieel verkrijgbaar als SoilGard®, maar heeft voor zover bekend in Nederland geen toelating.

### **Antagonisten tegen interne vruchtrot**

In een veldproef zijn 7 antagonisten getest op hun werkzaamheid tegen interne vruchtrot in paprika, veroorzaakt door *F. subglutinans*. Hierbij werden de bloemen besproeid met oplossingen van de antagonisten, één dag voor inoculatie met de *Fusarium* schimmel. Het commercieel verkrijgbare preparaat van de mycoparasiet *Gliocladium catenulatum* strain J1446 (PreStop®) was net zo werkzaam als de twee chemische fungiciden die werden getest, en kon gemiddeld 42% van de aantasting voorkomen. Daarnaast was ook *Bacillus subtilis* (in het middel Quadra 137) effectief in het voorkomen van vruchtrot. Iets minder goed werkzaam waren de antagonisten *Streptomyces griseovirides* strain K-61 (Mycostop®) en *Trichoderma harzianum* Rafai strain T-22 (toegepast als het middel PlantShield®, maar ook verkrijgbaar als Trianium®) (Utkhedde en Mathur, 2005).

## 2 Zwartwortelrot (*Phomopsis sclerotioides*)

### 2.1 Probleemschets

*Phomopsis* is een bodemgebonden schimmel die als waardplant alleen komkommerachtigen (Cucurbitaceae) kan aantasten, zoals komkommer, meloen, augurk en courgette. Hoewel de symptomen van aantasting door de schimmel al eind jaren twintig beschreven zijn, is de schimmel zelf pas in 1965 beschreven en geïsoleerd (Van Kesteren, 1967). In de jaren zeventig was de ziekte een groot probleem, die de planten vernielde op het moment dat de oogst begon. In die tijd is er vrij veel over *Phomopsis* gepubliceerd, maar na de overgang op substraatteelt is de ziekte nauwelijks meer actueel. Recent duikt de ziekte soms op in de biologische teelt in de grond, en in 2002 is hij voor het eerst gesignaleerd in de gangbare bodemgebonden teelt van komkommer in onverwarmde kassen in Italië (Cappelli et al., 2004).

### 2.2 Karakteristiek schimmel

*Phomopsis sclerotioides* behoort tot de schimmelgroep van de Ascomyceten. De schimmel kan zich verspreiden door de lucht, door het water of door de grond of het substraat. Onder gunstige omstandigheden kan de schimmel via rustsporen wel 10 jaar in de grond overblijven. De schimmel vormt bij temperaturen van 15, 20 en 25°C steeds meer sclerotia bij oplopende temperatuur. De optimumtemperatuur voor komkommertegroei in combinatie met *Phomopsis* ligt echter bij 20°C. Zowel bij lagere als bij hogere temperaturen treedt er meer aantasting van de plant op (Ebben en Last, 1973).

### 2.3 Herkennen



Bij aantasting door *Phomopsis* worden de wortels aangetast, waardoor de wateropname wordt geblokkeerd. Meestal wordt de ziekte 3-4 weken na planten zichtbaar (Hönick, 1975). Zware besmetting van jonge planten kan voor het afsterven van de plant zorgen, maar het is ook mogelijk dat de plant het opvangt met een groeiachterstand in combinatie met kleine, intens groene bladeren. Bij een minder zware besmetting, of pas in een later stadium van de plantengroei, treedt in eerste instantie geen afwijkende groei op, totdat de groei plotseling stopt en het niveau van bladveroudering en verwelking van de onderste bladeren plotseling toeneemt. De bladsymptomen lijken in eerste instantie op die van verwelkingsziekten. De fijnere wortels sterven af, en de hoofdwortels van de plant verkleuren van geelbruin naar zwart. Hierbij wordt

met name de schors aangetast, waardoor deze er makkelijk vanaf gehaald kan worden. Er zijn twee typen zwarte beschadigen te zien: 'pseudosclerotia': heel kleine, scherp afgebakende zwarte, hoekige vlekken, veroorzaakt door de groei van donkere, dichte intracellulaire hyphen; en 'pseudostromata': donker gekleurd dekweefsel dat eruitziet als zwarte lijnen, en dat platen vormt die het schors- en vaatweefsel van de plant binnendringen (Ebben en Last, 1973). Bij een bodemtemperatuur hoger dan 20°C vormt de schimmel microsclerotien die met met een loep zichtbaar zijn als een mozaïekpatroon van zwarte hoekige vlekken. Bij lagere temperaturen treden er voornamelijk bruine beschadigen aan de wortel op. Stengelinfectie is mogelijk als de schimmel vanuit de wortel omhooggroeit. Dit ziet eruit als beschadigen waaruit een geelachtige gom wordt afgescheiden.

## 2.4 Teeltmaatregelen

### Onderstammen

Bij een niet te hoge infectiedruk kan een resistente onderstam van *Cucurbita ficifolia* (vijgenbladpompoen) worden gebruikt voor komkommer en augurk (Hönick, 1975). Het gebruik van deze onderstam wordt in de gangbare teelt echter niet aangeraden vanwege het negatieve effect op productieniveau.

### Broeiveur met stobalen en champost

Ebben en Spencer (1978) ontdekten dat de natuurlijk voorkomende populatie actinomyceten op stobalen in een broeiveursysteem in staat waren om in zekere mate ziekteverend te werken tegen *Phomopsis*. De natuurlijke populatie actinomyceten blijft circa 3-4 maanden hoog genoeg om *Phomopsis* te onderdrukken, maar wordt met het wegroten van het stro vervangen door minder ziekteverende organismen. Om die reden hebben ze ook geëxperimenteerd met verhoogde bedden van champost die van nature rijk was aan actinomyceten. In de controle bedden op basis van veen werden beschadigen aan de wortels geconstateerd na 6.5 weken, in de bedden met champost na 13 weken. Na 17 weken was de aantasting in de champost nog steeds lager, maar de onderdrukking was net zoals in de stobalen onvoldoende om gedurende het hele seizoen gehandhaafd te blijven (Ebben en Spencer, 1978).

## 2.5 Antagonisten

Ebben en Spencer isoleerden een groot aantal antagonisten van *Phomopsis* uit komkommergrond, en selecteerden twee soorten voor verder onderzoek. Ze bekeken de mogelijkheden om de antagonisten *Streptomyces griseus* en *Penicillium lilacinum* te introduceren in de broeiveur bestaande uit stobalen en gesteriliseerde grond, en in verhoogde bedden met veen. De antagonist *Streptomyces griseus* kon zich niet langer dan 2 weken op veen handhaven, maar wel op stobalen. De antagonist *Penicillium* was niet effectief in het onderdrukken van *Phomopsis* in potproeven of in het veld. In een veldproef werd *Streptomyces griseus* toegediend aan de plantgaten in de broeiveur, en daarna maandelijks gedurende 7 maanden. In de stobalen ontwikkelde zich een natuurlijke populatie actinomyceten, maar de aantallen waren niet hoger wanneer *Streptomyces* eraan toegevoegd was. Nadat de balen gingen rotten, ca. 4-5 maanden na planten namen de aantallen actinomyceten weer af. Na 14 weken hadden de stobalen met *Streptomyces* veel minder aantasting dan de controle. Aan het eind van de proef waren de wortels in

de broeiveur met stro gezonder dan die in veenbedden, maar er was geen verschil in opbrengst (Ebben en Spencer, 1978).

Bochow (1989) onderzocht de effecten van twee antagonisten: *Bacillus subtilis* T99 en *Streptomyces graminofaciens* N6 op de onderdrukking van *Phomopsis sclerotoides* in komkommer. Bij *Bacillus subtilis* werd in mei en juli toegepast in een kasteelt in een natuurlijk met *Phomopsis* besmette bodem, met een komkommengewas dat in maart geplant was. In de maand na toepassing was de opbrengst 20% hoger dan in de controle. *Streptomyces graminofaciens* was iets minder effectief in het onderdrukken van *Phomopsis*, en kon bij hoge inoculumdichtheden ook negatieve stress effecten bij de plant veroorzaken. Het gelijktijdige gebruik van twee isolaten van *Streptomyces graminofaciens* N6 en G223 verhoogde de efficiëntie (Bochow, 1989).

Moody en Gindrat testten in een biotoets met komkommer 4 kasgronden en 3 akkergronden op natuurlijke ziekteverendheid tegen *Phomopsis*. Ze vonden een veenachtige akkergrond die ziekteverend was tegen *Phomopsis sclerotoides*. Hieruit isoleerden ze verschillende microorganismen (bacteriën en schimmels) en nematoden met een antagonistische werking tegen *Phomopsis*. De antagonist *Gliocladium roseum* werd uitgekozen omdat het op labschaal een destructieve antagonist van *Phomopsis* is. Wanneer inoculum van de antagonist gekweekt werd op een mengsel van veen, grond en nutriënten, en vervolgens aan een niet-ziekteverende minerale bodem werd toegevoegd, kreeg deze bodem ook een ziekteverende werking. Een inoculum op basis van coniferenschorspellets en nutriënten was minder lang effectief wanneer het aan een bodem werd toegevoegd (Moody en Gindrat, 1977).

Vanachter et al. (1988) onderzochten op labschaal de werking van verschillende *Trichoderma* isolaten op *Phomopsis sclerotoides* en *Pyrenochaeta lycopersici* (kurkwortel). Ze vonden dat *Trichoderma longibrachiatum* antibiotica produceert die heel sterk werken tegen zwartwortelrot, maar niet tegen kurkwortel. Antibiotica geproduceerd door *Trichoderma harzianum*, *T. hamatum* en *T. koningii* waren tegen beide pathogenen werkzaam. *Trichoderma longibrachiatum* parasiteerde echter niet op *Phomopsis*, *Trichoderma harzianum* in lichte mate, en *T. hamatum* en *T. koningii* waren hierin het sterkst. In experimenten waarin de *Trichoderma* isolaten aan niet-steriele grond werden toegevoegd, was *Trichoderma hamatum* het meest veelbelovend. Deze antagonist vormt maar heel langzaam conidiën (die gevoelig zijn voor fungistase in de bodem), maar vormt overvloedig chlamydo-sporen, waardoor hij beter in de bodem kan overleven.



### 3 Kurkwortel (*Pyrenochaeta lycopersici*)

#### 3.1 Probleemschets

Kurkwortel is in het verleden een belangrijke reden geweest om op substraat te gaan telen. In Zuid Europa werd in de gangbare teelt in de grond tot voor kort methylbromide gebruikt om kurkwortel te bestrijden. Nu dit middel vanaf 2005 is verboden, is kurkwortel weer een belangrijk probleem in de gangbare grondteelt van tomaat (Ekengren, 2008). In de biologische glastuinbouw in Nederland spelen problemen van kurkwortel vooral in de paprikateelt, waarbij vaak sprake lijkt van een combinatie met aaltjesproblematiek. Uit proeven met ongeënte onderstammen op biologische bedrijven bleek dat er geen koppeling is in resistentie tussen knol en kurk. Sommige onderstammen die sterk zijn tegen wortelknobbelaaltje zijn juist zwak tegen kurkwortel (Hogendonk en Steenberg, 2004).

#### 3.2 Karakteristiek schimmel

Kurkwortel werd pas in 1966 geïdentificeerd als *Pyrenochaeta lycopersici*. De schimmel maakt alleen asexuele sporen: conidia met pycnidia. In de bodem produceert de schimmel microsclerotia, een compacte structuur van gepigmenteerde schimmeldraden. De microsclerotia kunnen inactief in de bodem tot wel 15 jaar overleven. De schimmel is ecologisch gezien een obligate parasiet met een slecht concurrentie vermogen (Hasna, 2007). Afhankelijk van de herkomst van het isolaat heeft de schimmel een optimum temperatuur variërend van 15-20°C (gematigd klimaat) tot 26-30°C (Mediterrane oorsprong) (Ekengren, 2008). Bekende waardplanten van kurkwortel komen uit de Solanacea en Cucurbitacea plantenfamilies: paprika, tomaat, aubergine, komkommer, meloen en courgette. Daarnaast is ook bekend dat spinazie (Chenopodiaceae) en saffloer (Asteraceae) aangetast kunnen worden. (Grove en Campbell, 1987)

#### 3.3 Herkennen



Kurkwortel tast het wortelstelsel van de plant aan, waarbij de opname van water en nutriënten belemmerd wordt. De planten krijgen hierdoor een groeiachterstand en de productie loopt terug. De aantasting breidt zich geleidelijk uit, beginnend met rotting van de haarwortels, gevolgd door bruine plekken op kleinere

wortels en typische verkurkte plekken op grotere wortels. (Hasna, 2007) Uiteindelijk kan de schors van de wortel afvallen, waardoor de vaatbundels zichtbaar worden. Meestal verloopt de aantasting langzaam, en vertonen de planten pas 2-3 maanden na infectie duidelijke symptomen (Ekengren, 2008).

### 3.4 Teeltmaatregelen

In een praktijkproef in de kas met solarisatie door middel van polyethyleenfolie gedurende 8 weken in de periode juli-augustus, werd kurkwortel het eerste jaar teruggebracht van 73% naar 11% aantasting. Tegelijkertijd werd ook de aantasting door *Meloidogyne* gehalveerd. De bodemtemperatuur in de laag van 15-20 cm lag in die periode tussen de 32 en 45°C (Ioannou, 2000). Een dergelijke lange braakperiode is voor de praktijk echter niet haalbaar. Er is daarom ook geëxperimenteerd met solarisatie van stroken tussen de tomaten tijdens de teelt. In de open teelt van cherry tomaat (Californië) werd solarisatie gedurende het hele teeltseizoen (half april tot september) toegepast, waarbij het gewas geplant werd door 5 cm grote gaten in de folie. Het percentage met *Verticillium dahliae* geïnfecteerde planten werd hierdoor teruggebracht van 99 naar 6%. Het gewas geeft in de beginperiode nog zo weinig schaduw dat de bodem voldoende kan opwarmen. Wanneer de plastic folie pas halverwege het seizoen (eind juni) wordt aangebracht in stroken tussen de bestaande planten, heeft dat alleen effect op het aantal microsclerotia tussen de plantrijen, maar niet in de plantrij. Het effect tussen de plantrijen in werkte ook in het jaar erna door (Morgan et al., 1991). Mogelijk kan solarisatie in een wisselsysteem met strokenteelt bij ernstige aantasting door kurkwortel perspectief bieden. Solarisatie gedurende korte perioden (2-3 weken) is mogelijk perspectiefvol wanneer dit gecombineerd wordt met andere maatregelen, zoals het gebruik van organische meststoffen of biologische bestrijding.

Het effect van compostsoorten op ziekteverendheid tegen kurkwortel varieert. Hasna et al. (2007) hebben in een biotoets gekeken naar het effect van toediening van verschillende soorten compost (20% v/v) aan met kurkwortel besmette grond. Een compost op basis van paardenmest en veen gaf een significante verergering van de aantasting (+19%), terwijl een GFT compost op basis van 70% groenafval en 30% paardenmest gemengd met stro een vermindering van de aantasting (-13%) liet zien. In het onderzoek werd een significante relatie gevonden tussen de hoeveelheid ammoniumstikstof en de kurkwortel aantasting: hoe meer ammonium, hoe sterker de aantasting. Deze relatie is bevestigd door Workneh en Van Bruggen (1994a) en ook voor andere wortelrot veroorzakende ziekten gevonden. Daarnaast werd een verband gevonden met de calcium (Ca) concentratie in het substraat: hoe meer calcium, hoe lager de aantasting. Calcium is belangrijk als bescherming van de plant tegen celwand-afbrekende enzymen die door schimmelpathogenen geproduceerd worden. Een ander interessant aspect is dat de ziekteverende GFT compost een grotere hoeveelheid actinomyceten bevatte. De ziekteverende GFT compost had een hogere leeftijd (3 maanden regelmatig omzetten gevolgd door 1.6 jaar buiten op hoop) dan de niet-ziekteverende GFT uit de studie. Het aantal actinomyceten neemt vaak toe met de leeftijd van de compost, als er vooral nog cellulose en lignine over is (Hasna et al., 2007).



## 3.5 Antagonisten

### Natuurlijk voorkomende antagonisten

In een vergelijking van 3 gangbare en 3 biologische bedrijven wat betreft de ziekteverendheid tegen kurkwortel in tomaat, vonden Workneh en Van Bruggen (1994b) een positief verband tussen ziekteverendheid en (1) de totale microbiële activiteit; (2) de diversiteitsindex voor verschillende functionele groepen actinomyceten; (3) de totale populatie actinomyceten; (4) het percentage cellulose afbrekende actinomyceten. Het verband met de natuurlijk voorkomende actinomyceten werd ook door Hasna et al. (2007) gevonden voor de samenstelling van composten met een ziekteverende werking tegen kurkwortel.

### Schimmelende nematoden

In praktijkonderzoek in de biologische tomatenteelt in Zweden is geprobeerd of de inzet van schimmelende nematoden (*Aphelenchus avenae* en *Aphelenchoides* spp.) voldoende beheersing van kurkwortel kan geven. Schimmelende nematoden voeden zich waarschijnlijk vooral met schimmeldraden, maar niet met rustsporen zoals microsclerotia. Beide soorten nematoden vertoonden goede groei op kurkwortel op agarplaten, maar gaven de voorkeur aan *Verticillium dahliae* of een saprofytische schimmel. In potproeven was een lage dichtheid van 3 schimmelende nematoden (*Aphelenchus avenae*) per ml grond voldoende om kurkwortel te kunnen onderdrukken. Bij de schimmelende nematode *Aphelenchoides* spp. lukte dat niet. Vervolgens is geprobeerd om *Aphelenchus avenae* in een zwaar besmet praktijkperceel (85% plantaantasting) te introduceren, maar de aantallen nematoden waren hier waarschijnlijk niet hoog genoeg om effect te scoren. (Hasna, 2007). De twee schimmelende nematoden komen beide voor op biologische glastuinbouwbedrijven in Nederland. In onderzoek door het LBI in 2006 (Cuijpers 2006, ongepubliceerde data) bleek een verband tussen het aantal schimmelende nematoden en de mate van ziekteverendheid van de grond tegen *Fusarium oxysporum*. Hoe meer schimmelende nematoden er van nature op het bedrijf voorkomt, hoe beter de ziekteverendheid tegen *Fusarium*. De vraag is of en hoe telers het voorkomen van deze nematodensoorten verder kunnen stimuleren.



## 4 *Pythium voetrot, kiemplantenziekte*

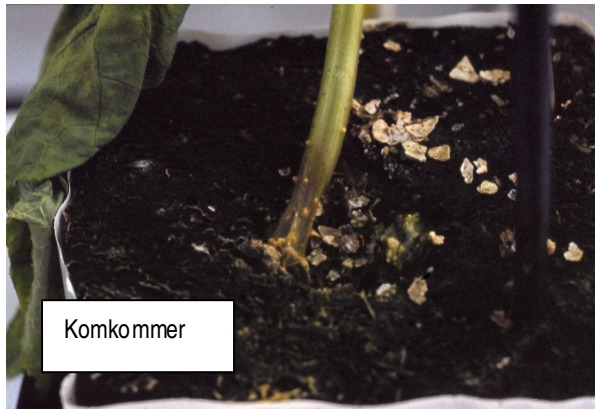
### 4.1 *Probleemschets*

Er zijn verschillende *Pythium* soorten die komkommer kunnen aantasten, waaronder *Pythium aphanidermatum* en *Pythium ultimum*. *Pythium aphanidermatum* in komkommer is een lastige ziekte in de substraatteelt, maar speelt in het algemeen minder in de biologische grondteelt. *Pythium* is een schimmel die goed is aangepast aan hoge vochtgehalten, en doet het goed in substraten zoals steenwol dat veel vocht kan vasthouden, en waarin nutriënten gerecirculeerd worden (Postma et al., 2000). In de biologische grondteelt is in het algemeen sprake van hoge organische stofgehalten in de bodem, gecombineerd met een hoge bodemleven activiteit. Hierdoor is de concurrentie in de bodem groot en kan er sprake zijn van een hoog niveau van algemene ziekteverendheid door microbiostase: het remmen van de kieming van sporen van (pathogene) schimmels door een tekort aan energie. Mogelijk speelt ook een rol dat de temperatuur in substraat sneller kan oplopen dan in de bodem, wat voor *Pythium aphanidermatum* een gunstige situatie is. *Pythium ultimum* veroorzaakt behalve in komkommer, ook kiemplantenziekte in onder andere bladgewassen zoals kropsla, spinazie en peterselie.

### 4.2 *Karakteristiek schimmel*

*Pythium* is in bepaald opzicht een buitenbeentje onder de bodemgebonden plant-pathogene schimmels. Samen met *Phytophthora nicotianae* behoort *Pythium* tot de oömyceten, een groep organismen die meer verwant is met bruine algen dan met schimmels. *Pythium* soorten zijn in het algemeen slechte concurrenten in vergelijking met andere micro-organismen in de rhizosfeer. Als compensatie hiervoor zijn *Pythium* soorten afhankelijk van de productie van overlevingsstructuren zoals oösporen en sporangia, die snel kunnen kiemen in reactie op exudaten van kiemende zaden. Op die manier kan *Pythium* snel de zaden koloniseren wanneer de rest van de microflora nog niet zo actief is op het zaadoppervlak (Van Dijk en Nelson, 2000). Oösporen hebben een dikke celwand waarmee ze droge perioden kunnen doorstaan en tot 12 jaar in de grond kunnen overleven. Sporangia van *Pythium ultimum* kunnen binnen één tot anderhalf uur door vluchtige of niet-vluchtige componenten van zaadexudaten tot kieming komen. De kiembuis van *Pythium* groeit heel snel naar het zaad toe, en binnen 2-4 uur na planten kunnen de zaden al geïnfecteerd zijn. In een besmette grond kan binnen 12 tot 24 uur na planten de kolonisatie maximaal zijn. Het is dus belangrijk dat elke vorm van ziekteonderdrukking heel snel moet kunnen plaatsvinden (McKellar en Nelson, 2003). De sporangia kunnen direct kiemen door het vormen van een kiembuis, maar ze kunnen ook eerst door asexuele voortplanting zwemsporen (zoösporen) vormen. Bij voldoende vochtgehalte in de grond kunnen de zwemsporen actief naar de wortel 'zwemmen' en daar een kiembuis vormen waarmee ze de wortel binnendringen. *Pythium* kan zich door deze zwemsporen ook via het drainwater verspreiden. Hoge temperaturen stimuleren *Pythium aphanidermatum*: de optimum groeitemperatuur ligt tussen 35 en 40°C. (Postma et al., 2000). Een hoge relatieve vochtigheid stimuleert infectie.

### 4.3 Herkennen



symptomen zijn vaak verglazing van de stengel net boven de grond en bruin worden. De plant verwelkt en sterft af. Dit kan ook gebeuren zonder dat de stengel aan de buitenkant zichtbaar is aangetast. *Pythium* veroorzaakt ook wortelrot, waarbij de schors loskomt van de rest van de wortel.

*Pythium* speelt voornamelijk een rol in de vroege groeistadia in de bodem of op substraat. In substraatsystemen kunnen ook volwassen planten worden aangetast, maar meestal treedt de ziekte direct na het planten op (Postma et al., 2000). In de bodemgebonden grondteelt gaat het meestal om verwelkingsziekte van jonge planten. De schimmel dringt via de wortels de plant binnen, waarna hij de stengel in kan groeien. De eerste bovengrondse

### 4.4 Teeltmaatregelen

#### Ziektewerende compost

Het gebruik van ziektewerende composten is met name effectief in de onderdrukking van oömycete plantenpathogenen zoals *Pythium*. In de derde fase van het composteringsproces, tijdens het rijpen, wordt de compost gekoloniseerd door veel natuurlijke biologische bestrijders van oömyceten. Onrijpe of onvoldoende gestabiliseerde compost is niet alleen een voedingsbodem voor ziektewerende micro-organismen, maar ook voor plantenpathogenen die een goed saprofytisch concurrentievermogen hebben. Vers organisch materiaal zoals wikke, dat wordt ondergewerkt als groenbemester, zal *Pythium* ook stimuleren als er direct na het onderwerken sla geplant wordt. Na een korte periode is het materiaal al zodanig gekoloniseerd door het bodemleven, dat het juist ziektewerend werkt tegen *Pythium*. Afhankelijk van het soort uitgangsmateriaal kunnen verschillende schimmelsoorten de compost koloniseren. Als het uitgangsmateriaal voornamelijk uit sterk aan lignine gebonden cellulose en hemicellulose bestaat, zoals boomschors, wordt de compost voornamelijk door *Trichoderma* soorten gekoloniseerd. Daarentegen levert uitgangsmateriaal op basis van druivenschillen en -pitten, met weinig cellulose-achtige bestanddelen en veel suikers, een compost die gedomineerd wordt door *Penicillium* en *Aspergillus* soorten. Zo'n 24 tot 48 uur na de temperatuurpiek tijdens het composteren koloniseren copiotrofe bacteriën, zoals *Bacillus*, *Pseudomonas* en *Pantoea* (*Enterobacter*) soorten de composthoop. *Pseudomonas* soorten zijn facultatief copiotroof, en heel effectief in het ziektewerendheid tegen *Pythium*. Oligotrofe bacteriën gaan pas domineren na 18 tot 24 dagen in de rijpingsfase. In de praktijk worden composten op een natuurlijke manier niet door een zo diverse groep organismen gekoloniseerd, dat ze tegen een breed spectrum aan ziekten werkzaam zijn. Volgens Hoitink en Boehm kunnen de meeste composten van nature de oömyceten *Pythium* en *Phytophthora* onderdrukken. Voor bodemgebonden pathogenen die meer van specifieke ziektewering afhankelijk zijn ligt dit totaal anders. *Rhizoctonia* werd bijvoorbeeld maar door 20% van 71 commerciële naaldboomschors-composten onderdrukt, terwijl al deze composten consistent *Pythium* onderdrukten (Hoitink en Boehm, 1999).

In een experiment waarin verschillende bladcomposten vergeleken werden wat betreft ziekteverendheid tegen *Pythium ultimum* in katoen, bleek dat de ziekteonderdrukkende composten een microflora bevatte die in staat was om snel linolzuur (een vetzuur dat zaden uitscheiden bij kieming) te metaboliseren. De ziekteverende microflora werkte niet direct op de kieming of myceliumgroei van *Pythium*, en was ook niet actief door de productie van antibiotica. Antibiotica zijn secundaire metabolieten die vaak pas in latere groeistadia van micro-organismen gevormd worden, en hun werking is waarschijnlijk niet snel genoeg om de kieming van sporen te voorkomen. De ziekteverende microflora kon de exudaten van katoenzaad zeer snel omzetten, waardoor de sporen van *Pythium* niet meer geactiveerd werden. De microflora in ziekte-geleidende bladcomposten was niet in staat om linolzuur om te zetten. Het blijkt essentieel te zijn dat de zaden zo'n 4 tot 8 uur met de ziekteverende compost in contact zijn geweest vóórdat ze in contact komen met *Pythium* (McKellar and Nelson, 2003). Uit deze resultaten blijkt dat algemene ziektevering voor *Pythium* waarschijnlijk één van de belangrijkste mechanismen is om de ziekte te onderdrukken. Inbar et al. (1991) ontdekten een rechtstreeks verband tussen microbiële activiteit (uitgedrukt als hydrolyse van fluoresceïne diacetaat (FDA)) en de ziekteverendheid van potgrondmengsels. Uit onderzoek van Boehm et al. (1997) blijkt dat potgrondmengsels op basis van veen de eerste 10 weken na oppotten steeds verder afnemen in microbiële activiteit, totdat ze onder een drempelwaarde voor ziekteverendheid komen. In de eerste 10 weken treedt er een voortdurende verschuiving op in de samenstelling van de bacteriën: ziekteverende bacteriën worden opgevolgd door grampositieve en oligotrofe soorten. Gram-positieve bacteriën en oligotrofe soorten domineren in ziektegeleidende, vergaand gestabiliseerde organische stof. *Pseudomonaden*, *Pantoea* (*Enterobacter*) soorten en andere copiotrofe soorten zoals *Trichoderma* overheersen juist in ziekteverende composten en grondsoorten. De onderzoekers concluderen dat de beperkte duur van de ziekteverendheid van de compost wordt veroorzaakt doordat er steeds minder energie beschikbaar komt voor de micro-organismen in de potgrondmengsels, in de vorm van snelafbreekbare koolwaterstoffen zoals cellulose (Boehm et al., 1997). Het compostingsniveau van veen blijkt belangrijk in het vermogen om *Pythium* te onderdrukken. Hoe verder het veen gecomposteerd is, hoe minder ziekteverend het wordt. Daar tegenover staat dat sterk gecomposteerd veen in combinatie met rijpe gecomposteerde naaldbomenschors weer heel effectief *Pythium* kan onderdrukken. Wanneer komkommer gezaaid werd in de ziekteverende mengsels bleken *Pseudomonas* soorten te domineren op de wortels. Op komkommerwortels die groeiden in het ziekteverende mengsel van veen met naaldbomenschorscompost bleek 23% van de geïsoleerde bacteriën een ziekteonderdrukkend effect op *Pythium* te hebben, terwijl dat bij het ziektegeleidende veen maar 1% van de bacteriën was. Het was vooral het mengsel van micro-organismen dat effectief was, en niet zo zeer één enkele bacteriestam (Boehm et al., 1993).

### **Onderstammen**

Bepaalde *Cucurbita* onderstammen zijn in hoge mate tolerant voor *Pythium*. Er zijn bij komkommer verder geen rasverschillen bekend wat betreft vatbaarheid voor *Pythium*.

## 4.5 Actieve bestrijding

In de substraatteelt wordt besmet substraat soms gestoomd. Het blijkt dat in gebruikte steenwol de ziekteverendheid van tegen *Pythium* wordt aangetast door het stomen. De microflora die zich tijdens de voorgaande komkommerteelt in het substraat heeft gevormd, zorgt in een vervolggewas juist voor een betere weerstand tegen *Pythium*, mits het voorgaande gewas niet hevig besmet is geweest (Postma et al., 2000).

## 4.6 Antagonisten

Omdat *Pythium* voor de kieming van de sporen sterk afhankelijk is van externe plant exudaten zoals onverzadigde vetzuren, zijn micro-organismen die de productie of activiteit van deze exudaten verminderen potentieel belangrijke antagonisten. Bepaalde soorten bacteriën vormen een associatie met plantenzaden. Een voorbeeld is *Enterobacter cloacae*, waarvan gebleken is dat deze de uitscheidingsproducten (exudaten) van kiemende zaden als enige koolstof- en energiebron kan gebruiken. *Enterobacter* is in het bijzonder effectief tegen *Pythium*, hoewel hij ook andere bodempathogenen kan onderdrukken. Normaal gesproken zorgen de exudaten van kiemende zaden ervoor dat de sporen van plantpathogene schimmels zoals *Pythium ultimum* gaan kiemen, en het zaad aantasten. Doordat *Enterobacter* met name onverzadigde vetzuren heel efficiënt metaboliseert, nog voordat deze de sporen van *Pythium* kunnen stimuleren om te kiemen, heeft deze bacterie een ziekteonderdrukkende werking. Ook andere met zaden geassocieerde bacteriën zoals *Pseudomonas* soorten zijn in staat om zaadexudaten te inactiveren, en kunnen zo *Pythium* onderdrukken. Voor onderdrukking van *Pythium aphanidermatum* in de rhizosfeer van komkommer kon de kieming van oösporen met 57% geremd worden door deze bacterie-soorten (Van Dijk en Nelson, 1997; Van Dijk en Nelson, 2000).

## 5 *Rattenkeutelziekte (Sclerotinia sclerotiorum)*

### 5.1 *Probleemschets*

*Sclerotinia sclerotiorum* is één van de meest niet-specifieke plantenpathogenen, met waardplanten uit maar liefst 64 plantenfamilies, en meer dan 400 plantensoorten (Bolton et al, 2006). De meeste van de gevoelige plantensoorten zijn tweezaadlobbigen, maar sommige eenzaadlobbigen kunnen ook worden aangetast. Gevoelige plantensoorten zijn onder andere komkommer, paprika, boon, sla, selderij en broccoli. Mais is een voorbeeld van een niet-waardplant. In sla en selderij komt ook *Sclerotinia minor* voor, die dezelfde symptomen veroorzaakt, maar een veel kleinere waardplantenreeks heeft.

### 5.2 *Karakteristiek schimmel*

*Sclerotinia sclerotiorum* is een schimmel die nauw verwant is aan *Botrytis cinerea*. Het zijn allebei necrotrofe schimmels (levend van dood plantmateriaal), die door toxische stoffen zoals oxaalzuur de cellen van de gastheer doden. Vervolgens breken ze het plantenweefsel af en gebruiken het voor hun eigen groei (Van Kan, 2006). *Sclerotinia* soorten kunnen zich zowel door de bodem als door de lucht verplaatsen. Bovengrondse plantendelen kunnen worden aangetast als de sclerotieën kiemen. Sclerotieën zijn goed beschermde, gepigmenteerde rustsporen die uit schimmeldraden bestaan. De sclerotieën van *Sclerotia sclerotiorum* zijn groot (2-10 mm diameter), glad en afgerond, terwijl die van *S. minor* klein (0.5-2 mm), ruw en hoekig zijn. Als ze kiemen kunnen ondergronds schimmeldraden ontstaan, en vlak boven de grond (in geval van *S. sclerotiorum*) vruchtlichamen (apotheciën). De apotheciën produceren ascosporen, die door de lucht verplaatst worden. Op de grens van bodem en lucht kan de infectie zowel door ascosporen als door sclerotieën veroorzaakt worden. Ondergrondse infecties ontstaan door schimmeldraden die door de sclerotieën geproduceerd worden. Ongeveer 90% van de levenscyclus van *Sclerotinia* speelt zich af in de bodem. De sclerotieën gaan kiemen door de aanwezigheid van nutriënten, en kunnen vervolgens op (dood) organisch materiaal in de bodem groeien. De schimmeldraden kunnen vervolgens de wortels van waardplanten infecteren. Bovengrondse infecties kunnen (alleen bij *S. sclerotiorum*) door ascosporen ontstaan. Onder gunstige omstandigheden (genoeg vocht en een externe energiebron zoals dood plantenweefsel of verwelkte bloemblaadjes) ontkiemen ascosporen binnen 3-6 uur. Kieming is temperatuur afhankelijk en piekt rond de middag. De apotheciën kunnen zo'n 20 dagen overleven bij temperaturen tussen 15-20°C, maar verschrompelen in minder dan 10 dagen bij 25°C. Ze zijn de belangrijkste manier van verspreiding van de schimmel. Ze infecteren eerst dood plantenweefsel, dat overgroeid wordt met mycelium, en vervolgens de levende plant infecteert. Sclerotieën zijn hele persistente rustsporen, die jarenlang overleven onder allerlei bodemomstandigheden. Sclerotieën kunnen ook door (irrigatie)water verspreid worden, en blijven in stromend water zo'n 10-21 dagen levensvatbaar. Ze kunnen slecht tegen herhaaldelijk droog en nat worden, zoals in de bovenste bodemlaag. Uit de scheuren die dan in de sclerotieën ontstaan lekken nutriënten weg, en ze worden makkelijker door micro-organismen aangetast.

### 5.3 Herkennen



De symptomen van *Sclerotinia* beginnen op hde stengel. De symptomen wisselen afhankelijk van de waardplant, maar er zijn een aantal algemene kenmerken. Het meest algemene zijn onregelmatig gevormde, waterige vlekken op de stengels en bladeren. De vlekken worden geleidelijk groter, en bedekt met witte, pluïzige schimmeldraden. Als de schimmel zich verder ontwikkeld wordt de plant een zachte, slijmerige, waterige massa. Als een gedeelte van de plant is afgestorven, ontstaan op de witte schimmeldraden zwarte, zaad-achtige rustsporen, de sclerotia. Behalve waterige symptomen, kunnen er ook droge beschadigingen ontstaan op de stam of stengels. In de stengelholten ontstaan dan de zwarte sclerotia. Bij sla worden eerst de buitenste bladeren aangetast, waarna de schimmel naar binnen beweegt. De bladeren verwelken en vallen van de krop. Het hart kan overeind blijven, maar wordt een natte, slijmerige massa.

### 5.4 Teeltmaatregelen

Vanwege de lange overlevingstijd van de rustsporen is vruchtwisseling voor het onder controle houden van *Sclerotinia* onvoldoende. De meeste sclerotia in de bovenste 2-3 cm van de bodem kiemen binnen een jaar, en produceren dan ascosporen. Kieming van sclerotia treedt op bij bodemtemperaturen tussen 10 en 25°C en in een vochtige bodem. De dieperliggende sclerotia kiemen minder makkelijk en overleven veel langer. Diepere grondbewerking wordt dan ook in het algemeen ontraden.

### 5.5 Actieve bestrijding

Solarisatie is een succesvolle manier om sclerotia-vormende pathogenen (zoals *Sclerotinia*, *Rhizoctonia* en *Verticillium*) te bestrijden. De afdekking van de vochtige grond met polyethyleenfolie zorgt voor een temperatuur stijging van 10-15°C in de bovenste 15 cm. De sclerotia die in de bovenste bodemlaag zitten worden gedood door directe inactivering door de temperatuurverhoging, of door indirecte chemische of microbiologische processen in de verwarmde bodem. In de kas is het effect van solarisatie in kortere tijd te bereiken dan in de open teelten (Clarkson



en Whipps, 1992). In Spanje kon de aantasting met *Sclerotinia cepivorum* in knoflook in de open teelt teruggebracht worden van 17 naar 1% in 6 weken tijd (Melero-Vara et al, 2000). In Nieuw-Zeeland werd de levensvatbaarheid van de sclerotiën van *Sclerotinia sclerotiorum* (op een diepte van 10 cm in de bodem) teruggebracht van 95 naar 52% bij solarisatie gedurende 4 weken, en van 89 naar 0% bij een solarisatie duur van 8 weken. De bodemtemperatuur varieerde daarbij van 33 tot 35 °C. De proef werd uitgevoerd in een biologisch productiesysteem, waar tegelijkertijd ook natuurlijke antagonisten op de sclerotiën teruggevonden werden (Swaminathan et al, 1999). De toepassing van een korte solarisatieduur wordt waarschijnlijk veel effectiever wanneer tegelijkertijd wordt gewerkt met een temperatuur-tolerante antagonist, zoals *Talaromyces flavus*.

## 5.6 Antagonisten

Verschillende antagonisten zijn getest op hun werkzaamheid tegen *Sclerotinia*. Het beste moment om biologische bestrijding toe te passen is tijdens het ruststadium van *Sclerotinia*, als de schimmel niet mobiel is, of tijdens de kieming, waarbij de schimmel het meest gevoelig is voor aantasting. Kandidaten voor biologische bestrijding moeten niet alleen de schimmeldraden zodanig verzwakken, dat er geen energie meer overblijft voor de vorming van rustsporen, maar moet ook de sclerotiën zelf kunnen verzwakken of doden (Tu, 1997). De hyperparasiet *Talaromyces flavus* kon in een veldproef de aantasting van zonnebloemen met 42-68% terugbrengen (McLaren et al, 1983). *Talaromyces flavus* kan zowel de hyphen als de sclerotiën aantasten. De mycoparasiet *Coniothyrium minitans* (commercieel verkrijgbaar als Contans®) is gespecialiseerd in *Sclerotinia*, en kan zowel de hyphen als de sclerotiën aantasten. Waarschijnlijk zorgt de uitscheiding van  $\alpha$ -1,3 glucanase ervoor dat de sclerotiën aangetast en vernietigd worden. De schimmel heeft minstens 2 maanden nodig om de sclerotiën te vernietigen. Contans® moet in water opgelost worden verspoten over de bodem, en vervolgens met een frees of rotoorkoep gelijkmatig door de bodem heengewerkt worden, voorafgaand aan het planten. In een 5-jarig onderzoek hebben Gerlagh et al. (1999) laten zien dat een gewasbehandeling door bladbespuiting met *C. minitans* (3x in het seizoen) gedurende een aantal opeenvolgende jaren in gevoelige gewassen, de aantasting in een vervolggewas (een epidemie in bonen) met de helft kon terugbrengen. Ze suggereren dat sterk aangetaste gewassen aan het einde van de teelt het beste met een spray van *C. minitans* behandeld kunnen worden, voordat ze ondergewerkt worden in de grond. Een coating van het zaad van komkommer met de mycoparasiet *Trichoderma harzianum* kon de uitval door *Sclerotinia* bij kieming terugbrengen met 69% en de aantasting van planten 20 dagen na opkomst met 80%. De coating kon de uitval bij kieming in sla terugbrengen met 46%, en de aantasting van planten met 72%. Het planten van zaailingen van sla en zonnebloem in potten met grond gemengd met een *Trichoderma* preparaat gaf alleen bij zonnebloem een significant effect (Inbar et al, 1996). Een andere mogelijke kandidaat is *Gliocladium virens*, maar deze was in een veldproef met sla veel minder effectief dan *Coniothyrium minitans*. *C. minitans* infecteerde in het veld meer dan 80% van de sclerotia, terwijl *G. virens* maar 15% van de sclerotia aanpakte (Budge et al, 1995). Ook *Sporidesmium sclerotivorum* is een mycoparasiet die op sclerotiën parasiteert. *Sporidesmium sclerotivorum* is een heel selectieve antagonist, die alleen tot kieming komt als er specifieke signaalstoffen worden uitgescheiden door *Sclerotinia sclerotiorum* of *S. minor*. Op sclerotiën van *Verticillium* of *Rhizoctonia* heeft de mycoparasiet geen enkel effect (Mischke, 1998). Zowel *S. sclerotivorum* als *C. minitans* zijn maar matig effectief in het verzwakken van de schimmeldraden, omdat hun groeisnelheid veel lager ligt dan die van *Sclerotinia*. Een nadeel van heel specifieke antagonisten is ook dat ze weer uitsterven bij afwezigheid van de gastheer. *Sporidesmium sclerotivorum* is daarnaast moeilijk op grote schaal te

kweken, en heeft dan ook nog geen praktijktoepassing. Een aantal andere antagonisten zijn op labniveau effectief gebleken tegen *Sclerotinia*, maar het is onbekend of deze ook in het veld werkzaam zijn (*Gliocladium roseum*, *Trichothecium roseum*, *Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Alternaria* spp., *Epicoccum* spp. en *Penicillium* spp.).

## 6 *Verticillium* verwelkingsziekte

### 6.1 *Probleemschets*

Verwelkingsziekte door *Verticillium dahliae* is een recent gesignaleerd probleem in de biologische teelt van paprika en tomaat. De schimmel kan in korte tijd grote uitval veroorzaken in het gewas. Hoewel een hoge ziektedruk van *Verticillium* alleen al voldoende is om het gewas onderuit te laten gaan, wordt de gevoeligheid van het gewas flink vergroot door de aanwezigheid van plant-pathogene nematoden.

### 6.2 *Karakteristiek schimmel*

*Verticillium dahliae* behoort tot de Deuteromycota, een groep schimmels waarvan onbekend is of ze een sexueel stadium kennen. Andere *Verticillium* soorten die in Nederland voorkomen zijn *Verticillium albo-atrum* en *Verticillium longisporum*. *Verticillium albo-atrum* maakt geen microsclerotien, maar wel donkergekleurd rust-mycelium (Barbara en Clewes, 2003) en houdt van lagere temperaturen. *Verticillium longisporum* (vaak ook beschreven als *V. dahliae* var. *longisporum*) is vooral een probleem in gewassen uit de kruisbloemigenfamilie (Cruciferae of Brassicaceae), zoals bloemkool en koolzaad, en maakt ook micro-sclerotien, die zo'n 13 jaar in de bodem kunnen overleven (Debode et al., 2005) (Zeise en Von Tiedemann, 2002). *Verticillium dahliae* heeft een zeer brede waardplantenreeks, variërend van nachtschade-achtigen (tomaat, paprika, aubergine, aardappel) tot leguminososen (lupine), composieten (sla, artisjok) (Collado-Romero et al., 2007), ganzevoet-achtigen (spinazie) (Du Toit et al., 2005), cucurbitaceae (komkommer, meloen), aardbei en vlas. Ook een aantal onkruiden kunnen een reservoir vormen van virulente *Verticillium* isolaten: onder andere gewone melkdistel, herderstasje en kleverige nachtschade (Vallad et al., 2005). Om genetisch materiaal uit te wisselen kunnen de schimmeldraden (hyphen) met elkaar samensmelten. Als de hyphen van twee schimmels op deze manier kunnen samensmelten, behoren ze tot dezelfde vegetatieve compatibiliteitsgroep (VCG). De *Verticillium dahliae* die in Nederland voorkomt, bestaat waarschijnlijk uit twee VCG's (Hiemstra en Rataj-Guranowska, 2003) (Goud en Termorshuizen, 2002). De groepsindeling zegt jammer genoeg niets over de waardplantenreeks of de agressiviteit van de *Verticillium dahliae* die op een bepaald gewas zit. Wel is bekend dat bijvoorbeeld de *Verticillium dahliae* die van paprika afkomstig is (een paprika isolaat), in het algemeen heel agressief is, en veel andere waardplanten ook kan aantasten. Paprika daarentegen wordt zelden ziek van *Verticillium dahliae* die van andere waardplanten afkomstig is, behalve van tomaat of aubergine (Bhat en Subbarao, 1999). Infecties kunnen binnendringen door wondjes op de wortels, bijvoorbeeld wanneer deze door plant-parasitaire aaltjes aangeprikt zijn. Wanneer aaltjes en *Verticillium* tegelijkertijd aanwezig zijn, kunnen al bij veel lagere *Verticillium*-druk in de bodem problemen optreden in het gewas. Behalve als rustsporen overleven de schimmeldraden en sporen ook op gewasresten en onkruiden. Problemen treden vaak als eerste op in plekken waar structuur- of vochtproblemen aanwezig zijn, en breiden zich daarvandaan uit: bij het betonpad, onder de goten of op plekken waar in het verleden de structuur vernield is.

### 6.3 Herkennen



Veel symptomen van *Verticillium dahliae* kunnen ook door andere verwelkingsziekten of door vochttekort veroorzaakt worden. De ziekte begint met het geelworden van de onderste bladeren. Vervolgens gaan de planten slap hangen. Omdat de schimmel parasiteert op de vaten, kan het zijn dat in eerste instantie maar één stengel of kant van de plant slap gaat. Bij paprika krullen de bladranden om, waarna de hele plant verwelkt, een groeiachterstand krijgt en doodgaat. De vruchten blijven vaak aan de verwelkte planten hangen.



Bij het in de lengterichting doorsnijden van de stengel is een bruine verkleuring van de vaten zichtbaar. In het algemeen is de schimmel pas aan te tonen door DNA analyse of door kweek op een semi-selectief medium, waarbij na een aantal weken de typische, spiraalsgewijs gerangschikte sporendragers (conidiophoren) en later de zwarte clusters van rustsporen (microsclerotia) onder de microscoop te zien zijn (Bhat et al, 2003). Door Wageningen UR Glastuinbouw wordt de schimmel ook makkelijk uit plantmateriaal geïsoleerd op een algemene voedingsbodem met antibiotica.



## 6.4 Teeltmaatregelen

### Vruchtwisseling en wisselteelt

Vruchtwisseling zou voor *Verticillium dahliae* in een aantal teelten een oplossing kunnen zijn, maar vanwege het agressieve karakter van het isolaat dat juist op paprika gevonden wordt, zijn er in dit geval maar weinig alternatieven mogelijk. Mogelijkheden zijn een beperkt aantal kruisbloemigen, en planten uit de grassenfamilie (granen), die buiten de waardplantenreeks vallen. Bhat en Subbarao hebben in een uitgebreide waardplantentest verschillende isolaten van verschillende planten op hun beurt weer getest op de hele waardplantenserie. Uit de familie van de Solanaceae hebben ze veel isolaten en waardplanten meegenomen (paprika, chili peper, aubergine, aardappel en tomaat), uit de Cucurbitaceae familie hebben ze alleen watermeloen meegenomen. Van de 14 geteste isolaten waren er 11 pathogeen en zeer agressief op watermeloen. Alleen isolaten van bloemkool en kool zorgden niet voor verwelking (Bhat en Subbarao, 1999). Het is onbekend of de isolaten ook op komkommer zo agressief zijn. Daarnaast zijn de rustsporen (microsclerotien) van *Verticillium dahliae* heel persistent, en kunnen wel 14 jaar in de bodem overleven. Het uitbreiden van de vruchtwisseling met één extra gewas (zoals in een wisselkassysteem) levert in dat geval te weinig resultaat. Methoden om *Verticillium* te bestrijden zullen dus ook effect moeten scoren in de aanpak van de microsclerotien.

De gewasresten van planten uit de Brassicaceae familie worden als biofumigatie-materiaal gebruikt, vanwege de vluchtige verbindingen die vrijkomen bij de afbraak van glucosinolaten, karakteristieke zwavel-bevattende bestanddelen in Brassica soorten. Bij de afbraak van glucosinolaten komen sulfiden, isothiocyanaten, thiocyanaten en nitrilen vrij, die schimmelremmende of schimmeldodende eigenschappen hebben. Door combinatie van biofumigatie met solarisatie wordt de effectiviteit groter. Uit onderzoek blijkt dat verse broccoli resten *Verticillium dahliae* rustsporen beter onderdrukken dan gedroogde resten, over een temperatuur range van 10 tot 35°C. De grootste afname in micro-sclerotien treedt op bij temperaturen boven 20°C, met optima bij 25 en 30°C. Het grootste gedeelte van de werking treedt op binnen 15 dagen na onderwerken. Het is aan te raden het gewas onder te werken bij een bodemtemperatuur van minimaal 20°C (Subbarao en Hubbard, 1996). Broccoli is resistent tegen *Verticillium dahliae* isolaten uit bloemkool en kool, en immuun tegen een hele reeks andere isolaten van *Verticillium dahliae* (artisjok, paprika, chili pepers, katoen, aubergine, sla, munt, aardappel, aardbei, tomaat en watermeloen) en *Verticillium albo-atrum* (alfalfa) (Shetty et al., 2000) (Bhat en Subbarao, 2001). Bloemkool is juist erg gevoelig. In een veldproef met een normale rotatie van bloemkool en broccoli, liepen de aantallen micro-sclerotien na het onderwerken van gehakselde gewasresten van broccoli na oogsten van de koppen (57 ton/ha) gelijk of zelfs sterker terug dan in chemische behandelingen met metam natrium of trichloornitromethaan ('chloropicrin'). Het wel of niet afdekken van de ondergewerkte gewasresten gedurende 2 weken had geen invloed op de aantallen rustsporen. Vier weken na onderwerken van de broccoli werd er een *Verticillium*-gevoelige bloemkool cultivar geplant, die het hele teeltseizoen gevolgd werd. In vergelijking met de controle behandeling leidde dit tot een significante opbrengstverhoging van meer dan 50% (Subbarao et al., 1999). Er zijn twee hypothesen die de werking van broccoli kunnen verklaren: één is uit het vrijkomen van vluchtige componenten die toxisch zijn voor schimmels. In het

bovenstaande onderzoek is dat echter niet waarschijnlijk, omdat het gebruik van plastic afdekking geen extra effect opleverde. De andere hypothese is de zogenaamde lignine-melanine hypothese: broccoli resten bevatten veel lignine, en enzymen die lignine afbreken, breken ook melanine af. Melanine is een belangrijke component van overlevingsstructuren zoals micro-sclerotiën, en beschermt deze tegen abiotische en biotische stressfactoren. Als de lignine uit de broccoli lignine-afbrekende micro-organismen in de bodem stimuleert, kan dat ervoor zorgen dat tegelijkertijd de micro-sclerotiën worden aangetast. Om dat te testen zijn in een potproef verschillende gewasresten uitgetest op hun effectiviteit tegen het verminderen van de aantallen microsclerotiën van *Verticillium longisporum* in de grond: broccoli, bloemkool, Sarepta mosterd (*Brassica juncea*), Engels raaigras en maïs. Alle gewasresten werden toegepast in een hoeveelheid van 10% (w/w), met uitzondering van Engels raaigras, Sarepta mosterd en maïsbladeren, die werden toegepast in een hoeveelheid van 5% (w/w). Er werden twee bodemtypes getest, die natuurlijk besmet waren met *V. longisporum*. De bodemtypes reageerden verschillend op de gewasresten. In het eerste bodemtype verminderden broccoli, bloemkool en raaigras het inoculum niveau met 90%, en Sarepta mosterd met 50%. In het tweede bodemtype verminderden raaigras en maïs het inoculum niveau met 50% of meer. In dit experiment waren raaigras en maïs effectiever dan cruciferen. Hoewel de vluchtige componenten uit Sarepta mosterd in labproeven de micro-sclerotiën van *Verticillium* aantastten, hadden de vluchtige componenten uit broccoli en bloemkool geen enkel effect op de micro-sclerotiën. Het gehalte aan lignine en het soort lignine in het gewas is dus betrokken bij het verminderen van de aantallen micro-sclerotiën. Blad van broccoli en maïs was daarbij effectiever dan stengels of wortels (Debode et al., 2005)

## 6.5 Actieve bestrijding

Actieve bestrijding kan op een aantal manieren, door de inzet van in meerdere of mindere mate destructieve teeltmaatregelen (biologische grondontsmetting door stomen, solarisatie, inundatie, anaërobie of biofumigatie). In eerste instantie kunnen er met destructieve maatregelen snelle reducties van de aantallen rustsporen in de bodem bereikt worden, maar het effect van deze maatregelen op de rest van het bodemleven zou ook negatief kunnen werken. In het onderzoek wordt meestal alleen gekeken naar reductie van het pathogeen of de plantgezondheid na toepassing van deze maatregelen, maar niet naar het effect op algemene of specifieke ziekteverendheid van de bodem. Uitzondering is een veldexperiment waarin na afloop de ziekteverendheid tegen *Fusarium oxysporum* f.sp. asparagi werd gemeten, en geen nadelige effecten werden gezien (Blok et al., 2000).

### Solarisatie tijdens het groeiseizoen

Omdat solarisatie van de grond plaats moet vinden in de periode dat ook de productie volop draait, is er onderzoek gedaan naar het effect van plastic mulching onder het gewas (cherry tomaten), waarbij de planten door het plastic heen geplant werden. Mulches die gedurende het hele teeltseizoen (half april tot september) werden toegepast waren even effectief als mulches van braakliggende grond in het terugbrengen van de hoeveelheid *Verticillium dahliae* in de grond. Het lijkt echter ook belangrijk dat het gewas niet teveel schaduw produceert op het moment dat de mulches toegepast worden (Morgan et al., 1991) Het is de vraag of dit bij een langer teeltseizoen en een forsere gewasstand in de zomer ook een effectieve methode is.

Minuto et al. (2006) hebben een combinatie van solarisatie en de antagonistische actinomyceet *Streptomyces griseovirides* (Mycostop®) gebruikt tegen een aantal bodemgebonden schimmelpathogenen in de tomatenteelt.

Solarisatie bleek heel effectief te zijn in het terugbrengen van de aantasting, maar in de manier waarop de antagonist in deze proef werd toegepast, had het combineren van solarisatie met de antagonist geen effect op de aantasting door *Verticillium* (zie ook de paragraaf over antagonisten).

In een nabootsing van solarisatie, hebben Tjamos en Fravel (1995) naar het effect van blootstelling van microsclerotien van *Verticillium dahliae* aan warmte gekeken, en naar het effect van een additionele toevoeging van de antagonistische schimmel *Talaromyces flavus*. Het bleek dat relatief lage temperaturen de kieming van microsclerotien en de vorming van nieuwe gemelaniseerde microsclerotien al remmen. De combinatie van het toevoegen van *T. flavus* 2, 3 en 5 weken na het zaaien van aubergine, in combinatie met het behandelen van microsclerotien van *Verticillium dahliae* gedurende 3 dagen met relatief lage temperaturen (35°C gedurende 10 uur, gevolgd door 38°C gedurende 14 uur), was voldoende om *Verticillium* verwelking in aubergine van 60% naar 10% terug te brengen (Tjamos en Fravel, 1995). Dit geeft mogelijkheden om kortere solarisatie, of bij lagere temperaturen, te combineren met de toevoeging van een hittetolerante antagonist.

### **Biologische grondontsmetting**

In een veldproef is gekeken naar effect van het onderwerken van broccoli en Engels raaigras op de overleving van sporen van *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *asparagi* en *Rhizoctonia solani*. Daarnaast is gekeken naar het effect van deze behandelingen op de ziekteverendheid van de grond tegen *Fusarium oxysporum* f.sp. *asparagi*. Voor de behandeling met broccoli werden 4 weken oude planten uitgeplant en gedurende 5 weken ter plekke geteeld. De biomassa was toen zo'n 38 ton/ha. In het geval van Engels raaigras werd vers gemaaid gras van een productiegrasland gebruikt in een hoeveelheid van 40 ton/ha (versgewicht). De gewasresten werden ondergewerkt tot een diepte van 20-25 cm, en vervolgens werden de pathogenen in nylon zakjes begraven op een diepte van 15 cm. Het veld werd 's nachts beregend met ca. 50 mm water en vervolgens bedekt met plastic folie. Na 15 weken (in de periode half juli tot eind oktober) werd gekeken hoeveel pathogenen de behandeling overleefd hebben. In dit experiment was er alleen effect als de grond afgedekt werd met folie. In dat geval werden de aantallen sporen van alle drie de pathogenen sterk teruggebracht. De plots die afgedekt werden met folie zonder toevoeging van organische stof bleven 3-4 weken anaëroob. De anaërobe situatie alléén had geen effect op de pathogenen. Raaigras had in de behandelingen een iets sterker effect dan broccoli. Interessant is dat in deze proef ook gekeken is naar het effect van de behandelingen op de ziekteverendheid tegen *Fusarium oxysporum* f.sp. *asparagi*. Dit is gedaan door grondmonsters die direct na afloop van de verschillende behandelingen genomen zijn, eerst met rogge te begroeiën, waardoor de grond kon herkoloniseren met micro-organismen, en daarna te besmetten met *Fusarium*. Vervolgens werd er asperge in de potjes geplant, en gekeken naar de aantasting. Er bleken geen verschillen in ziekteverendheid tegen *Fusarium* te zijn ontstaan na het toepassen van de biofumigatie methode (Blok et al., 2000). Het is opvallend dat de behandelingen zonder afdekking met folie in dit experiment geen effect hadden. Mogelijk ligt dit eraan dat de hoeveelheid broccoli kleiner was (38 in plaats van 57 ton/ha), en dat er andere delen van de broccoliplanten gebruikt zijn (de hele plant in plaats van de gewasresten met voornamelijk blad), met mogelijk andere gehalten aan glucosinolaten of lignines. Daarnaast kan de van nature aanwezige antagonistische microflora er anders uitzien op de verschillende locaties van de experimenten.

In een vervolggewas experiment is gekeken naar het effect van biologische grondontsmetting met Italiaans raaigras gedurende 12 weken op een vervolggewas asperge. Het onderwerken van 62 ton/ha tot een diepte van 80 cm bleek de grootste reductie in ziekte-aantasting te geven (van 61% *Fusarium* aantasting in de controle naar 15%). Het

onderwerken van 42 ton/ha tot een diepte van 40 cm zorgde voor een reductie van 61% naar 27%. De hoeveelheid sporen van *Verticillium* werd zowel op 20 als op 60 cm diepte significant teruggebracht in alle behandelingen, waarbij de behandelingen tot 80 cm diep het meest efficiënt waren (Blok et al., 2008).

López-Escudero et al. (2007) hebben in labtoetsen de werkzaamheid van verschillende soorten gedroogd plantmateriaal tegen de microsclerotia van *Verticillium dahliae* getest. Vervolgens hebben ze in een biotoets gekeken naar het effect van het plantmateriaal op *Verticillium dahliae* in katoen. Het gaat om planten uit de Cistaceae, Brassicaceae en Lamiaceae families: *Cistus* roos (*Cistus albidus* en *Cistus salvifolius*), *Diploaxis virgata* (een brassicaceae die verwant is aan zandkool), kuiflavendel (*Lavandula stoechas*) en Spaanse marjolein (*Thymus mastichina*). Het plantenmateriaal werd gedroogd, fijngemalen en in een hoeveelheid van 2% w/w door de grond gemengd. Vervolgens werd de grond gedurende 3,6 en 9 weken anaëroob geïncubeerd bij 22°C. Plantenresten van *T. mastichina*, *L. stoechas* en *D. virgata* konden afhankelijk van het *Verticillium* isolaat binnen 3 tot 6 weken de levensvatbaarheid van de microsclerotia tot nul terugbrengen. In een biotoets met katoen werd het materiaal weer in een hoeveelheid van 2% w/w door de grond gemengd, en gedurende 6 weken anaëroob bewaard bij 22°C. Daarna kon de grond 1 dag acclimatiseren, waarna er katoen in gezaaid werd. *C. albidus* en *L. stoechas* zorgden voor een complete ziekteonderdrukking bij beide isolaten, de andere planten zorgden voor vrijwel volledige ziekteonderdrukking. *T. mastichina* en *L. stoechas* zorgden de eerste paar weken echter ook voor vertraagde plantengroei, wat betekent dat de wachttijd van een dag te kort was om fytotoxische effecten te voorkomen. Het is de vraag of deze planten op veldniveau net zo'n goede resultaten opleveren als in de potproeven. De hoeveelheid gedroogd materiaal waarmee gewerkt is, is erg groot (omgerekend 50 ton/ha gedroogd materiaal). Praktisch voordeel is dat er met gedroogd materiaal is gewerkt, in tegenstelling tot andere biofumigatie proeven waarin vaak snel met vers materiaal gewerkt moet worden om vervluchting van de werkzame stof te voorkomen. In de labtoets bleek daarnaast een tijdsperiode van 3 weken voor één van de isolaten ook al voldoende om de hoeveelheid microsclerotia terug te brengen (López-Escudero et al., 2007).

## Antagonisten

Wat betreft de inzet van antagonisten zijn de mogelijkheden beperkt. In juni 2007 stonden er maar vier antagonisten tegen schimmelziekten op de toegelaten lijst van de CTGB. Binnen Europa zijn nog 3 andere antagonisten tegen schimmelziekten op de markt. In de Verenigde Staten zijn in de biologische teelt zeker 6 middelen toegelaten voor bodemgebonden schimmelziekten. Registratie is een groot knelpunt in de ontwikkeling van potentiële biologische middelen tot commerciële producten. (Dissevelt, 2005) Veel antagonisten zijn wel in-vitro of in potproeven getest, maar niet in grondteelten. Bottleneck is vaak dat er nog maar weinig bekend is over de ecologie en de ideale condities voor het organisme in de bodem (vocht, temperatuur, pH, aanwezigheid van geschikt organisch materiaal), en of dit combineerbaar is met de randvoorwaarden voor een geslaagde teelt. In het algemeen geldt dat het curatief inzetten op een zwaar besmette grond weinig effectief zal zijn, en dat de meeste slagingskans aanwezig is wanneer het plantmateriaal al van te voren geïnculeerd wordt met de betreffende antagonist. De antagonist kan dan het wortelmilieu van de plant koloniseren, en 'met de wortel meegroeien', waardoor de ziekteverwekker een achterstand heeft. Voor effect van het volvelds toedienen van antagonisten is vaak een lange adem nodig, als de bodemcondities al gunstig genoeg zijn om kolonisatie van de hele bodem mogelijk te maken. In Tabel 6-1 en Tabel 6-2 staan overzichten van antagonisten tegen respectievelijk *Verticillium dahliae* en *Verticillium albo-atrum*.



### **Antagonistische schimmels**

Een potentiële antagonist van *Verticillium dahliae* is de bodemschimmel *Talaromyces flavus*. *Talaromyces flavus* grijpt op verschillende manieren aan op *Verticillium*: door productie van antibiotica, door parasitisme en door competitie. *T. flavus* produceert ook een aantal celwand afbrekende enzymen, waarbij glucose-oxidase waarschijnlijk specifiek een rol speelt bij antagonisme tegen *Verticillium dahliae*, door vertraging van de kieming, hyphengroei en melanisering van nieuw gevormde microsclerotia (Madi et al., 1997). Parasitisme werkt waarschijnlijk langzamer dan antibiose of competitie, en *T. flavus* is waarschijnlijk het meest effectief in de rhizosfeer, en nog specifiek op de worteltip, waar ook *Verticillium* gewoonlijk de plant binnendringt. Een bijzondere eigenschap van *T. flavus* is dat het een schimmel is die goed tegen hoge temperaturen kan, wat hem heel geschikt maakt in combinatie met solarisatie. Daarbij kan ook minder rigoreuze solarisatie (minder hoge temperaturen, gedurende kortere tijd) effectief zijn (Tjamos en Fravel, 1997). De schimmel is door Prophyta korte tijd op de markt gebracht als Protus® tegen *Verticillium* in aardbei, maar op dit moment niet meer commercieel verkrijgbaar.

De antagonistische schimmels *Gliocladium roseum* en *Gliocladium catenulatum* (als Prestop® (Verdera) in EU) bleken effectief te werken tegen de microsclerotieën van *Verticillium dahliae*, wanneer ze in een potproef door de grond gemengd werden (Keinath et al., 1991).

*Pythium oligandrum* (als Polyversum® (Polyversum) in de EU) is een mycoparasiet van een aantal pathogene bodemschimmels. Al-Rawahi en Hancock hebben de gevoeligheid van *Verticillium dahliae* voor verschillende isolaten van *Pythium oligandrum* getest in 3-4 maanden substraatteelt van paprika. Uit de proeven bleek dat *Pythium oligandrum* niet zozeer de infectie van de planten met *V. dahliae* verminderde, maar wel dat de ziekte verschijnselen in de planten verminderden. Zonder toevoeging van *Pythium* viel de opbrengst terug tot 35% van de gezonde controleplanten, en met *Pythium* liep de opbrengst tot 63% terug. *Pythium oligandrum* had zonder de aanwezigheid van *Verticillium* sowieso een stimulerend effect op de vegetatieve groei en opbrengst (Al-Rawahi en Hancock, 1998).

### **Antagonistische bacteriën**

Screening van de rhizosfeer van waardplanten van *Verticillium* en van een braakliggende bodem leverde een groot aantal antagonistische bacteriën op. Antagonistische bacillus soorten, waaronder *Bacillus pumilus* (als Sonata® (AgraQuest), Ballad® (AgraQuest) en YieldShield® (Gustafson, LLC) in VS), werden voornamelijk uit de grond geïsoleerd. Dit geldt ook voor twee antagonistische *Streptomyces* soorten. In de rhizosfeer domineerden antagonistische *Pseudomonas* soorten, vooral *Pseudomonas putida* en daarnaast onder andere *Pseudomonas fluorescens* en *Pseudomonas chlororaphis* (als Cedomon® in EU). Daarnaast behoorden een groot aantal antagonisten tot de Enterobacteriaceae (*Serratia*, *Pantoea* en *Enterobacter* soorten) (Berg et al., 2002).

Actinomyceten, waar de streptomyceten onder vallen, produceren allerlei secundaire metabolieten, antibiotica en enzymen die schimmelgroei beïnvloeden. Ze vormen dan ook een belangrijke bron van schimmel-antagonisten. Twee *Streptomyces* soorten zijn in een potproef getest tegen *Verticillium albo-atrum*: *Streptomyces pulcher* en *Streptomyces canescens*. Deze soorten waren effectief in het remmen van de kieming van sporen, de hyphengroei en de sporenproductie van *Verticillium*. Het coaten van de zaden met *Streptomyces canescens* was voor de onderdrukking van *Verticillium* net zo efficiënt als het inoculeren van de bodem 7 dagen voorafgaand aan zaaien, waarbij de ziekte 63 dagen na zaaien volledig onderdrukt werd (El-Abyad et al, 1993).

Minuto et al. (2006) hebben in een veldproef met een grondteelt van tomaat de antagonistische werking van *Streptomyces griseoviridis* (Mycostop®) getest tegen onder andere *Verticillium dahliae*. Mycostop is één van de

weinige biologische middelen die in Nederland toegelaten zijn tegen schimmelziekten. In het experiment werd zowel de werking van *Streptomyces griseoviridis* alléén, als in combinatie met solarisatie toegepast. Behalve de natuurlijk aanwezige pathogenen, werd er nog extra *Verticillium dahliae* toegevoegd aan de grond. In de proef kon geen onderscheid gemaakt worden tussen verwelking van de planten door *Verticillium dahliae*, en verwelking door *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. In de proef werd Mycostop toegepast door middel van irrigatie of door spuiten, direct na het planten en vervolgens drie keer herhaald over periodes van 4-5 weken. De tomatenplanten waren 40-50 dagen oud toen ze uitgeplant werden. In de opkweekfase hadden ze geen behandeling met Mycostop gekregen. Hoewel de infectie van de planten aan het einde van de proef lager was in de behandelingen met Mycostop, waren de verschillen met de controle niet significant (Minuto et al., 2006). *Streptomyces griseoviridis* koloniseert de wortels van de waardplant. Het is bekend dat in de competitie met plantopathogenen, het belangrijk is dat de antagonist voldoende tijd heeft om de wortels te koloniseren, voordat de plant met de pathogeen in aanraking komt. Wellicht dat er meer potentieel in het gebruik van Mycostop zit, als de planten al in de opkweekfase met de actinomyceet behandeld worden.

Tabel 6-1: Antagonisten tegen *Verticillium dahliae*. Gearceerde referenties duiden op een proef waarin de werking van de antagonist niet kon worden aangetoond.

Antagonist	Veldproef	Potproef	In vitro	Commercieel (* niet toegelaten juni 2007 CTGB)
<i>Streptomyces griseoviridis</i>	(Minuto et al., 2006)			Mycostop® (Verdera Oy) (Ag-Bio)
<i>Talaromyces flavus</i>		(Nagtzaam et al., 1998) (Fahima en Henis, 1995) (Tjamos en Fravel, 1997)	(Madi et al., 1997) (Nagtzaam et al., 1998) (Marois et al., 1984) (Tjamos en Fravel, 1995)	Protus® (Prophyta, niet verkrijgbaar)
<i>Fusarium oxysporum</i>	(Malandraki et al., 2008)	(Nagtzaam et al., 1998) (Malandraki et al., 2008)	(Malandraki et al., 2008)	
<i>Gliocladium roseum</i>		(Nagtzaam et al., 1998)	(Keinath et al., 1991)	
<i>Bacillus subtilis</i>		(Nagtzaam et al., 1998)	(Berg en Ballin, 1994)	*Kodiak® (Gustafson, LLC) en *Serenade® (AgraQuest)
<i>Bacillus pumilus</i>			(Berg et al., 2002)	*Sonata® (AgraQuest), *Ballad® (AgraQuest) en *YieldShield® (Gustafson, LLC)

Pythium oligandrum	(Al-Rawahi en Hancock, 1998)	(Al-Rawahi en Hancock, 1998)	*Polyversum® (Polyversum)
Trichoderma harzianum	(Ordentlich et al., 1990)	(Pilar Santamarina en Roselló, 2006)	Trianum® (Koppert)
Heteroconium chaetospira	(Narisawa et al., 2000)		
Pseudomonas putida	(Berg et al., 2001)	(Berg et al., 2001) (Berg et al., 2002) (Berg en Ballin, 1994)	
Serratia plymuthica	(Berg et al., 2001)	(Berg et al., 2001)	
Pseudomonas chlororaphis		(Berg et al., 2001) (Berg et al., 2002)	Cedomon® (BioAgri)
Pseudomonas fluorescens	(Malandraki et al., 2008)	(Malandraki et al., 2008) (Berg et al., 2002) (Malandraki et al., 2008)	
Xanthomonas maltophilia		(Berg en Ballin, 1994)	
Gliocladium catenulatum		(Keinath et al., 1991)	*Prestop® (Verdera)

Tabel 6-2: Antagonisten tegen *Verticillium albo-atrum*

Antagonist	Veldproef	Potproef	In vitro	Commercieel
Streptomyces pulcher			(El-Abyad et al., 1993)	
Streptomyces canescens		(El-Abyad et al., 1993)	(El-Abyad et al., 1993)	



# Literatuur

## Hoofdstuk 1

- Amir, H. and O. Riba. (1990). **Influence de la salinité des sols de palmeraies sur les Fusarium. II : Action des sels de sebhka sur l'évolution dans le sol de 2 souches de F. oxysporum pathogènes.** Revue d'écologie et de biologie du sol 27(2), pp. 147-158.
- Amir, H. and C. Alabouvette. (1993). **Involvement of soil abiotic factors in the mechanisms of soil suppressiveness to Fusarium wilts.** Soil Biology and Biochemistry 25(2), pp. 157-164.
- Boer, M. de, I. van de Sluis, J.J.B. Keurentjes, L.C. van Loon en P.A.H.M. Bakker. (2001). **Onderdrukking van Fusarium door combinaties van stammen van fluorescente Pseudomonas spp.** Gewasbescherming 32(2), p.49.
- Borrero C., M.I. Trillas, J. Ordovás, J. Tello and M. Avilés. (2004). **Predictive factors for the suppression of Fusarium wilt of tomato in plant growth media.** Phytopathology 94(10), pp. 1094-1101.
- Cotton, T.K. and G.P. Munkvold. (1998). **Survival of Fusarium moliniforme, F. proliferatum and F. subglutinans in maize stalk residue.** Phytopathology 88 (6) pp. 550-555.
- Duffy, B.K. and G. Défago. (1997). **Zinc improves biocontrol of Fusarium crown and root rot in tomato by Pseudomonas fluorescens and represses the production of pathogen metabolites inhibitory to bacterial antibiotic biosynthesis.** Phytopathology 87(12), pp. 1250-1257.
- Elmer, W.H. (1995). **Association between Mn-reducing root bacteria and NaCl applications in suppression of Fusarium crown and root rot of asparagus.** Phytopathology 85(12), pp. 1461-1467.
- Elmer, W.H. (2004). **Combining nonpathogenic strains of Fusarium oxysporum with sodium chloride to suppress fusarium crown rot of asparagus in replanted fields.** Plant Pathology 53, pp. 751-758.
- Herck, L. van. (2007). **Effect ochtendverneveling op binnenrot bij paprika.** ProeftuinNieuws 7, 30 maart 2007. Leuven.
- Köhl J., P.H.B. de Visser en J. Wubben. (2007). **Risico's op schimmelaantasting in vruchtgroenten: literatuurstudie.** Rapportage van project 'Risicoschatter voor schimmelaantasting in vruchtgroenten; voorfase' van onderzoeksprogramma Energie (LNV-DK-03-06). Wageningen UR Glastuinbouw, Wageningen.
- Larkin, R.P. and D.R. Fravel. (1998). **Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of Fusarium wilt of tomato.** Plant Disease 82(9), pp. 1022-1028.
- Lemanceau, P., P.A.H.M. Bakker, W.J. de Kogel, C. Alabouvette and B. Schippers. (1992). **Effect of Pseudobactin 358 production by Pseudomonas putida WCS358 on suppression of Fusarium wilt of Carnations by nonpathogenic Fusarium oxysporum Fo47.** Applied and Environmental Biology 58(9), pp. 2978-2982.

Lemanceau, P., P.A.H.M. Bakker, W.J. de Kogel, C. Alabouvette and B. Schippers. (1993). **Antagonistic effect of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and Pseudobactin 358 upon pathogenic *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi***. Applied and Environmental microbiology 59(1), pp. 74-82.

Ohara, T. and T. Tsuge. (2004). **FoSTUA, encoding a basic helix-loop-helix protein, differentially regulates development of three kinds of asexual spores, macroconidia, microconidia, and chlamydoconidia, in the fungal plant pathogen *Fusarium oxysporum***. Eukaryotic Cell, 3(6), pp. 1412-1422.

Paternotte, P. en C. Bloemhard. (2004). ***Fusarium dwarslijger* in paprikateelt**. Groenten & Fruit, week 28, 2004.

Paternotte, P. en J. Janse. (2006a). **Teeltomstandigheden en *Fusarium* als oorzaak van uitval bij komkommer**. Wageningen UR Glastuinbouw, Wageningen.

Paternotte, P. en J. Janse. (2006b). **Biologische bestrijding van *Fusarium* in komkommer. Testen van onderstammen op resistentie en gebruikswaarde. Testen van biologische middelen op effectiviteit tegen *Fusarium***. Praktijkonderzoek Plant en Omgeving, Naaldwijk.

Pharand, B., O. Carisse and N. Benhamou. (2002). **Cytological aspects of compost-mediated induced resistance against *Fusarium crown and root rot* in tomato**. Phytopathology 92(4), pp. 424-438.

Sauviller, C., L. van Herck, R. Aerts en K. Heungens. (2007). **Binnenrot bij paprika**. Proeftuin Nieuws, 6, 16 maart 2007. Leuven.

Serra-Wittling, C., S. Houot and C. Alabouvette. (1996). **Increased soil suppressiveness to *Fusarium wilt* of flax after addition of municipal solid waste compost**. Soil Biology and Biochemistry 28(9), pp. 1207-1214.

Singh, P.P., Y.C. Shin, C.S. Park and Y.R. Chung. (1999). **Biological control of *Fusarium wilt* of cucumber by chitinolytic bacteria**. Phytopathology 89(1), pp. 92-99.

Smolinska U., M.J. Morra, G.R. Knudsen and R.L. James. (2003). **Isothiocyanates produced by Brassicaceae species as inhibitors of *Fusarium oxysporum***. Plant Disease 87(4), pp. 407-412.

Toyota, K. and M. Kimura. (1993). **Colonization of chlamydoconidia of *Fusarium oxysporum* f.sp. *raphani* by soil bacteria and their effects on germination**. Soil Biology and Biochemistry, 25(2), pp. 193-197.

Utkhede R.S. and S. Mathur. (2005). **Biological and chemical control of fruit rot in greenhouse sweet peppers (*Capsicum annum* L.) caused by *Fusarium subglutinans***. Journal of Biological Sciences 5(5), pp. 610-615.

Ven, E. van der. (2007). ***Fusarium*bestrijding in de problemen**. Groenten & Fruit, week 25, 2007.

Yang, J., W. Zhu, P. Kharbanda and R. Howard. (2005). **Molecular identification of *Fusarium* species, causal agent of internal fruit rot of greenhouse sweet peppers in western Canada**. Poster Abstracts 2005 APS annual meeting, Texas.

Zhang, J., C.R. Howell and J.L. Starr. (1996). **Suppression of Fusarium colonization of cotton roots and Fusarium wilt by seed treatments with Gliocladium virens and Bacillus subtilis.** Biocontrol Science and Technology 6, pp. 175-187.

## Hoofdstuk 2

Bochow, H. (1989). **Use of microbial antagonists to control soil borne pathogens in greenhouse crops.** Acta horticulturae 255, pp. 271-280.

Cappelli, C., V.M. Stravato, G. Carannante and R. Parisella. (2004). **First report of cucumber black root rot caused by Phomopsis sclerotioides in Italy.** Plant Disease 88(4), p. 425.

Ebben, M.H. and F.T. Last. (1973). **Cucumber black root rot caused by Phomopsis sclerotioides.** Annals of applied biology 73(3), pp. 259-267.

Ebben, M.H. and D.M. Spencer. (1978). **The use of antagonistic organisms for the control of black root rot of cucumber, Phomopsis sclerotioides.** Annals of applied biology 89(1), pp. 103-106.

Hönick, A. von. (1975). **Versuche zur Bekämpfung der Schwarzen Wurzelfäule an Gurken (Phomopsis sclerotioides).** Gemüse 11(5), pp. 137-140.

Kesteren, H.A. van. (1967). **"Black root rot" in Cucurbitaceae caused by Phomopsis sclerotioides nov.spec.** Netherlands Journal of Plant Pathology 73(4), pp. 112-116.

Moody, A.R. and D. Gindrat. (1977). **Biological control of cucumber black rot by Gliocladium roseum.** Phytopathology 67(9), pp. 1159-1162.

Vanachter, A., E. van Wambeke and C. van Assche. (1988). **In vitro evaluation of the antagonistic properties of Trichoderma spp. against Pyrenochaeta lycopersici and Phomopsis sclerotioides.** Bulletin OEPP 18(1), pp. 1-7.

## Hoofdstuk 3

Cuijpers, W.J.M. (ongepubliceerde data). **Onderzoeksresultaten van een biotoets, 2006.** Louis Bolk Instituut.

Ekengren S.K. (2008). **Cutting the Gordian knot: taking a stab at corky root rot of tomato.** Plant Biotechnology 25, pp. 265-269.

Grove, G.G. and R.N. Campbell. (1987). **Host range and survival in soil of Pyrenochaeta lycopersici.** Plant Disease 71(9), pp. 806-809.

Hasna, M.K. (2007). **Corky root disease management in organic tomato production: composts, fungivorous nematodes and grower participation**. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

Hasna, M.K., A. Mårtensson, P. Persson and B. Rämert. (2007). **Use of composts to manage corky root disease in organic tomato production**. *Annals of Applied Biology* 151, pp. 381-390.

Hogendonk, L. en P. Steenbergen. (2004). **Onderstammen voor biologisch geteelde groentegewassen. Onderzoek op praktijkbedrijven bij komkommer, aubergine, tomaat en paprika**. Praktijkonderzoek Plant en Omgeving, Sector Glastuinbouw, Naaldwijk.

Ioannou, N. (2000). **Soil solarization as a substitute for methyl bromide fumigation in greenhouse tomato production in Cyprus**. *Phytoparasitica* 28(3), pp. 248-256.

Morgan, D.P., J.A. Liebman, L. Epstein, and M.J. Jimenez. (1991). **Solarizing soil planted with cherry tomatoes vs. solarizing fallow ground for control of Verticillium wilt**. *Plant Disease* 75(2), pp. 148-151.

Workneh, F. and A.H.C. van Bruggen. (1994a). **Suppression of corky root of tomatoes in soils from organic farms associated with soil microbial activity and nitrogen status of soil and tomato tissue**. *Phytopathology* 84(7), pp. 688-694.

Workneh, F. and A.H.C. van Bruggen. (1994b). **Microbial density, composition and diversity in organically and conventionally managed rhizosphere soil in relation to suppression of corky root of tomatoes**. *Applied soil ecology* 1, pp. 219-230.

#### **Hoofdstuk 4**

Boehm, M.J., L.V. Madden and H.A.J. Hoitink. (1993). **Effect of organic matter decomposition level on bacterial species diversity and composition in relationship to Pythium damping-off severity**. *Applied and Environmental Microbiology* 59(12), pp. 4171-4179.

Boehm, M.J., T. Wu, A.G. Stone, B. Kraakman, D.A. Iannotti, G.E. Wilson, L.V. Madden and H.A.J. Hoitink. (1997). **Cross-polarized magic-angle spinning <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopic characterization of soil organic matter relative to culturable bacterial species composition and sustained biological control of Pythium root rot**. *Applied and Environmental Microbiology* 63(1), pp. 162-168.

Dijk, K. van, and E.B. Nelson. (1997). **Inactivation of seed exudate stimulants of Pythium ultimum sporangium germination by biocontrol strains of Enterobacter cloacae and other seed-associated bacteria**. *Soil Biology and Biochemistry* 30(2), pp. 183-192.

Dijk, K. van, and E.B. Nelson. (2000). **Fatty acid competition as a mechanism by which Enterobacter cloacae suppresses Pythium ultimum sporangium germination and damping-off**. *Applied and Environmental Microbiology* 66(12), pp. 5340-5347.



Hoitink, H.A.J. and M.J. Boehm. (1999). **Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon.** Annual Review of Phytopathology 37, pp. 427-446.

Inbar, Y., M.J. Boehm and H.A.J. Hoitink. (1991). **Hydrolysis of fluorescein diacetate in sphagnum peat container media for predicting suppressiveness to damping-off caused by *Pythium ultimum*.** Soil Biology and Biochemistry 23(5), pp. 479-483.

McKellar, M.E. and E.B. Nelson. (2003). **Compost-induced suppression of *Pythium* damping-off is mediated by fatty-acid-metabolizing seed-colonizing microbial communities.** Applied and Environmental Microbiology 69(1), pp. 452-460.

Postma, J., M.J.E.I.M. Willemsen-de Klein and J.D. van Elsas. (2000). **Effect of the indigenous microflora on the development of root and crown rot caused by *Pythium aphanidermatum* in cucumber grown on rockwool.** Phytopathology 90(2), pp. 125-133.

## Hoofdstuk 5

Bolton, M.D., B.P.H.J. Thomma and B.D. Nelson. (2006). ***Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen.** Molecular Plant Pathology 7(1), pp. 1-16.

Budge, S.P., M.P. McQuilken, J.S. Fenlon and J.M. Whipps. (1995). **Use of *Coniothyrium minitans* and *Gliocladium virens* for biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* in glasshouse lettuce.** Biological Control 5(4), pp. 513-522.

Clarkson, J. and J. Whipps. (1992). **Control of sclerotial pathogens in horticulture.** Pesticide Outlook, June 1992, pp. 97-101.

Gerlagh, M., H.M. Goossen-van de Geijn, N.J. Fokkema and P.F.G. Vereijken. (1999). **Long-term biosanitation by application of *Coniothyrium minitans* on *Sclerotinia sclerotiorum* infected crops.** Phytopathology 89(2), pp. 141-147.

Höper, H., C. Steinberg and C. Alabouvette. (1995). **Involvement of clay type and pH in the mechanisms of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt of Flax.** Soil Biol. Biochem. 27 (7): pp. 955-967.

Inbar, J., A. Menendez and I. Chet. (1996). **Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and its role in biological control.** Soil Biology and Biochemistry 28(6), pp. 757-763.

Kan, J.A.L. van. (2006). **Licensed to kill: the lifestyle of a necrotrophic plant pathogen.** Trends in Plant Science 11(5), pp. 247-253.

McLaren, D.L., S.R. Rimmer and H.C. Huang. (1983). **Biological control of *Sclerotinia* wilt of Sunflowers by *Talaromyces flavus*.** Phytopathology 73, 822.

Melero-Vara, J.M., A.M. Prados-Ligero and M.J. Basallote-Ureba. (2000). **Comparison of physical, chemical and biological methods of controlling garlic white rot.** European Journal of Plant Pathology 106(6), pp. 581-588.

Mischke, S. (1998). **Mycoparasitism of selected sclerotia-forming fungi by *Sporidesmium sclerotivorum***. Canadian Journal of Botany 76, pp. 460-466.

Swaminathan, J., K.L. McLean, J.M. Pay and A. Stewart. (1999). **Soil solarisation: a cultural practice to reduce viability of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in New Zealand soils**. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 27(4), pp. 331-335.

Tu, J.C. (1997). **An integrated control of white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) of beans, with emphasis on recent advances in biological control**. Botanical Bulletin of Academia Sinica 38, pp. 73-76.

## Hoofdstuk 6

Al-Rawahi, A.K. and J.G. Hancock. (1998). **Parasitism and biological control of *Verticillium dahliae* by *Pythium oligandrum***. Plant Disease 82(10), pp. 1100-1106.

Barbara, D.J. and E. Clewes. (2003). **Plant pathogenic *Verticillium* species: how many of them are there?** Molecular Plant Pathology 4(4), pp. 297-305.

Berg, G., N. Roskot, A. Steidle, L. Eberl, A. Zock and K. Smalla. (2002). **Plant-dependent genotypic and phenotypic diversity of antagonistic rhizobacteria isolated from different *Verticillium* host plants**. Applied and Environmental Microbiology 68(7), pp. 3328-3338.

Berg, G., A. Fritzae, N. Roskot and K. Smalla. 2001. **Evaluation of potential biocontrol rhizobacteria from different host plants of *Verticillium dahliae* Kleb.** Journal of Applied Microbiology 91(6), pp. 963-971.

Berg, G. and G. Ballin. (1994). **Bacterial antagonists to *Verticillium dahliae* Kleb.** Journal of Phytopathology 141(1), pp. 99-110.

Bhat R.G. and K.V. Subbarao. (1999). **Host range specificity in *Verticillium dahliae***. Phytopathology 89(12), pp. 1218-1225.

Bhat R.G. and K.V. Subbarao. (2001). **Reaction of broccoli to isolates of *Verticillium dahliae* from various hosts**. Plant Disease 85(2), pp. 141-146.

Bhat, R.G., R.F. Smith, S.T. Koike, B.M. Wu and K.V. Subbarao. (2003). **Characterization of *Verticillium dahliae* isolates and wilt epidemics of pepper**. Disease 87(7), pp. 789-797.

Blok, W.J., J.G. Lamers, A.J. Termorshuizen and G.J. Bollen. (2000). **Control of soilborne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping**. Phytopathology 90(3), pp. 253-259.

Blok, W.G., T.C.M. Coenen, A.J. Termorshuizen and J.G. Lamers. (2008). **The potential of biological soil disinfestation to manage fusarium foot and root rot in *Asparagus***. Acta Horticulturae 776, pp. 135-144.

- Collado-Romero, M., M. Berbegal, J. Mercado-Blanco, J. Armengol, J. García-Jiménez and R.M. Jiménez-Díaz. (2007). **Detection of *Verticillium dahliae* isolates differing in vegetative compatibility in infected artichoke plants by multiplex, nested PCR.** *Acta Horticulturae* 630, pp. 367-371.
- Debode, J., E. Clewes, G. de Backer and M. Höfte. (2005). **Lignin is involved in the reduction of *Verticillium dahliae* var. *longisporum* inoculum in soil by crop residue incorporation.** *Soil Biology and Biochemistry* 37, pp. 301-309.
- Dissevelt, M. (2005). **De mogelijkheden van biologische bestrijding van bodemziekten met commerciële producten.** *Gewasbescherming* 36(1), p. 19.
- El-Abyad, M.S., M.A. El-Sayed, A.R. El-Shanshoury and S.M. El-Sabbagh. (1993). **Towards the biological control of fungal and bacterial diseases of tomato using antagonistic *Streptomyces* spp.** *Plant and Soil* 149, pp. 185-195.
- Fahima, T. and Y. Henis. (1995). **Quantitative assessment of the interaction between the antagonistic fungus *Talaromyces flavus* and the wilt pathogen *Verticillium dahliae* on eggplant roots.** *Plant and Soil* 176, pp. 129-137.
- Goud, J.C. and A.J. Termorshuizen. (2002). **Pathogenicity and virulence of the two Dutch VCGs of *Verticillium dahliae* to woody ornamentals.** *European Journal of Plant Pathology* 108, pp. 771-782.
- Hiemstra, J.A. and M. Rataj-Guranowska. (2003). **Vegetative compatibility groups in *Verticillium dahliae* isolates from the Netherlands as compared to VCG diversity in Europe and in the USA.** *European Journal of Plant Pathology* 109, pp. 827-839.
- Keinath, A.P., D.R. Fravel and G.C. Papavizas. (1991). **Potential of *Gliocladium roseum* for biocontrol of *Verticillium dahliae*.** *Phytopathology* 81(6), pp. 644-648.
- López-Escudero, F.J., C. Mwanza and M.A. Blanco-López. (2007). **Reduction of *Verticillium dahliae* microsclerotia viability in soil by dried plant residues.** *Crop Protection* 26, pp. 127-133.
- Madi, L., T. Katan, J. Katan and Y. Henis. (1997). **Biological control of *Sclerotium rolfsii* and *Verticillium dahliae* by *Talaromyces flavus* is mediated by different mechanisms.** *Phytopathology* 87(10), pp. 1054-1060.
- Malandraki, I., S.E. Tjamos, I.S. Pantelides and E.J. Paplomatas. (2008). **Thermal inactivation of compost suppressiveness implicates possible biological factors in disease management.** *Biological Control* 44(2), pp. 180-187.
- Marois, J.J., D.R. Fravel and G.C. Papavizas. (1984). **Ability of *Talaromyces flavus* to occupy the rhizosphere and its interaction with *Verticillium dahliae*.** *Soil Biology and Biochemistry* 16(4), pp. 387-390.
- Minuto, A., D. Spadaro, A. Garibaldi and M.L. Gullino. (2006). **Control of soilborne pathogens of tomato using a commercial formulation of *Streptomyces griseoviridis* and solarization.** *Crop Protection* 25, pp. 468-475.

- Morgan, D.P., J.A. Liebman and L. Epstein. (1991). **Solarizing soil planted with cherry tomatoes vs. solarizing fallow ground for control of *Verticillium* wilt.** *Plant Disease* 75(2), pp. 148-151.
- Nagtzaam, M.P.M., G.J. Bollen and A.J. Termorshuizen. (1998). **Efficacy of *Talaromyces flavus* alone or in combination with other antagonists in controlling *Verticillium dahliae* in growth chamber experiments.** *Journal of Phytopathology* 146, pp. 165-173.
- Narisawa, K., K.T. Ohki and T. Hashiba. (2000). **Suppression of clubroot and *Verticillium* yellows in Chinese cabbage in the field by the root endophytic fungus *Heteroconium chaetospira*.** *Plant Pathology* 49, pp. 141-146.
- Ordentlich, A., A. Nachmias and I. Chet. (1990). **Integrated control of *Verticillium dahliae* in potato by *Trichoderma harzianum* and captan.** *Crop Protection* 9(5), pp. 363-366.
- Pilar Santamarina, M. and J. Roselló. (2006). **Influence of temperature and water activity on the antagonism of *Trichoderma harzianum* to *Verticillium* and *Rhizoctonia*.** *Crop Protection* 25(10), pp. 1130-1134.
- Shetty, K.G., K.V. Subbarao, O.C. Huisman and J.C. Hubbard. 2000. **Mechanism of broccoli-mediated *Verticillium* wilt reduction in cauliflower.** *Phytopathology* 90(3), pp. 305-310.
- Subbarao, K.V. and J.C. Hubbard. (1996). **Interactive effects of broccoli residue and temperature on *Verticillium dahliae* microsclerotia in soil and on wilt in cauliflower.** *Phytopathology* 86(12), pp. 1303-1310.
- Subbarao, K.V., J.C. Hubbard and S.T. Koike. (1999). **Evaluation of broccoli residue incorporation into field soil for *Verticillium* wilt control in cauliflower.** *Plant Disease* 83(2), pp. 124-129.
- Tjamos, E.C. and D.R. Fravel. (1995). **Detrimental effects of sublethal heating and *Talaromyces flavus* on microsclerotia of *Verticillium dahliae*.** *Phytopathology* 85(4), pp. 388-392.
- Tjamos, E.C. and D.R. Fravel. (1997). **Distribution and establishment of the biocontrol fungus *Talaromyces flavus* in soil and on roots of solanaceous crops.** *Crop Protection* 16(2), pp. 135-139.
- Toit, L.J. du, M.L. Derie and P. Hernandez-Perez. (2005). ***Verticillium* wilt in spinach seed production.** *Plant Disease* 89(1), pp. 4-11.
- Vallad, G.E., R.G. Bhat, S.T. Koike, E.J. Ryder and K.V. Subbarao. (2005). **Weedborne reservoirs and seed transmission of *Verticillium dahliae* in lettuce.** *Plant Disease* 89(3), pp. 317-324.
- Zeise, K. and A. von Tiedemann. (2002). **Host specialization among vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae* in relation to *Verticillium longisporum*.** *Journal of Phytopathology* 150, pp. 112-11