

8  
Bibliotheek  
Proefstation  
Naaldwijk

A  
3  
W  
11

PROEFSTATION VOOR DE GROENTEN- EN FRUITTEELT ONDER GLAS,  
TE NAALDWIJK.

De invloed van bladplukken op de mate van stengelaantasting door *Botrytis cinerea* in opgepotte tomatplanten.

door:  
M.A.de Waard.

Naaldwijk, 1966.

2239415

A  
3  
W  
11

Stamboek no. 114

PROEFSTATION VOOR DE GROENTE- EN FRUITTEELT ONDER GLAS TE MAALDWEK

De invloed van bladplukken op de mate van stengelaantasting door Botrytis cinerea in opgepotte tomatenplanten

Algemeen inleiding

Botrytis cinerea Pers. ex. Fr. is één van de belangrijke schimmelziekten die voorkomen in een tomatengewas. In het gewas komt alleen de imperfecte vorm van de schimmel voor; de perfecte vorm van de schimmel wordt Botryotinia genoemd, maar deze is alleen in oude cultures op kunstmatige voedingsbodems waargenomen. Botryotinia behoort samen met het geslacht Sclerotinia tot de familie der Sclerotiniaceae. Deze familie behoort tot de Helotiales, een orde behorende tot de Eu-ascomyeten. De imperfecte vorm van de schimmel is van het Botrytis-type. De conidiën worden in trossen op de conidioforen gevormd. Via bladlittkens, sneei- of natuurlijke wonden kunnen kienbuizen de tomatenplant binnendringen. Aantasting van gezond en onbeschadigd weefsel door kienbuizen is vrijwel onmogelijk.

De groei van de schimmel is het snelst en de aantasting van de plant is dus het grootst bij een hoge relatieve luchtvochtigheid. In de praktijk komt een hoge luchtvochtigheid vooral voor in koude warenhuizen bij donker weer. Sneeiwonden en breukvlakken drogen hierdoor slechts langzaam op. Deze vochtige omstandigheden scheppen een gunstig klimaat voor de sporekieming en het binnendringen van de kienhyfe in de plant.

De sporen kunnen zelfs met het bloedingsap dat zich op de wond bevindt, door de plant worden opgesogen (Wilson, 1963). In verwarmde warenhuizen is de luchtvochtigheid lager en de kans op infectie dus ook geringer.

B.cinerea kan tomaat op 3 manieren aantasten, te weten:

- a) blad- en stengelaantastingen
- b) vruchtval
- c) stip

- ad a) Blad- en stengelaantastingen worden veroorzaakt door infecties via sneeivonden, bladlittekens of beschadigingen. Bladeren vergelen en verdrogen, bladsteel en stengel verbruinen, worden saacht en vochtig en zijn tenslotte met conidioforen bedekt.
- ad b) Vruchtval wordt veroorzaakt door infectie van natuurlijke wonden: het afsterven en necrotiseren van de puntjes der kelkblaadjes. Vanuit het afgestorven weefsel groeit de schimmel via de vrucht naar de vruchtsteel. In de vruchtsteel wordt in reactie op de schimmel en abscissielaag gevormd, waardoor de vrucht wordt afgestoten.
- ad c) Stip is een afsterven van de epidermis van de vrucht. Volgens Ainsworth e.a. (1938) is een infectiehyfe 's nachts, wanneer zich op de vrucht een waterfilm bevindt, in staat de vruchtwand te penetreren. 's Morgens droogt de vrucht op en de penetratiehyfe sterft daardoor af. De epidermiscel waarin de penetratiehyfe was doorgedrongen, eveneens omliggende cellen die reeds door pectolytische enzymen zijn aangetast, sterven af. De aantasting is op de uitgegroeide vrucht als lichtgekleurde, ringachtige vlekjes te zien. De aantasting komt dus niet tot staan doordat het vruchtweefsel overgevoelig is en afsterft.

B.cinerea in een tomatengevas kan vrijwel niet met chemische middelen bestreden worden. Voor zover bestrijding mogelijk is, kan dit alleen preventief met cultuurmaatregelen gebeuren. Enkele van deze cultuurmaatregelen zijn:

- a) droogstoken, teneinde de luchtvochtigheid te verlagen
- b) hygiënische maatregelen
- c) dieven en bladplukken bij snel drogend weer
- d) een hoge stikstofbemesting; een hoog stikstofniveau in de grond verlaagt het aantal stengelaantastingen (Verhoeff, 1965).
- e) de wijze van bladplukken. De afstand tot de stengel waarop het blad geplukt wordt is waarschijnlijk van invloed op de Botrytis-aantasting.

## Inleiding tot de proef

Uitgangspunt voor deze proef is de reeds aangetoonde correlatie tussen de wijze van bladplukken en de mate van Botrytis aantasting (Verheeff & Weber, 1966). In inoculatieproeven met potplanten vonden zij dat wanneer het blad op 1 cm van de stengel werd afgesneden, het percentage aangetaste planten hoger was dan wanneer het blad volgens de normale behandeling van de stengel werd geplukt. Wird het blad op 3 cm van de stengel afgesneden, dan werd het percentage aangetaste stengels daarentegen lager. De vorming van een abscissielaag op de grens tussen stengel en bladsteel geeft een verklaring voor deze uitkomsten. De abscissielaag wordt in reactie op de schimmelinfektie gevormd, waardoor de bladsteelrest van de stengel wordt afgestoten. De afstotingslaag ontstaat reeds voordat de schimmel zelf ter plaatse aanwezig is.

Wanneer het blad op 1 cm van de stengel wordt afgesneden ontstaat ook wel een abscissielaag, maar de afstoting is onvolledig omdat het gewicht van het bladsteelrestje te gering is om de vaatbundels, waarin geen abscissielaag wordt gevormd, te verbreken. De afgestorven bladsteel vormt nu een geschikte voedingsbodem om de stengel van hieruit te infekteren. Is de afstand tot de stengel waarop het blad wordt afgesneden groter, dan is ook het gewicht van de bladsteel hoger. Dit vergroot de kans dat de bladsteel wordt afgestoten voordat de schimmel de stengel bereikt heeft.

## Doelstelling

De opzet van deze proeven is om bij potplanten na te gaan op welke afstand van de stengel het "bladplukken" het laagste percentage aangetaste planten geeft. Met name zal het aantastingspercentage nagegaan worden, wanneer het blad op zo'n grote afstand wordt afgesneden dat het onderste paar blaadjes (juk) van het samengestelde blad op de bladsteelrest achterblijft.

## Uitvoering

De proeven werden uitgevoerd op een tablet in een kas met tomataplanten van het ras "Moneymaker". De planten werden gepoot in potten met gesticte grond. De diameter van de potten was 12 à 15 cm.

De plaatsen op de bladsteel waar het blad werd afgesneden, zijn:

- I. Juist na het eerste juk van het samengestelde blad
- II. Juist voor het eerste juk van het samengestelde blad
- III. Op de helft van de afstand tussen stengel en eerste juk
- IV. Op een vierde van de afstand tussen stengel en eerste juk

Deze 4 behandelingen zullen in het vervolg van het verslag aangeduid worden als behandeling I, II, III en IV.

De snijvlakken van de bladsteelresten worden geïnoculeerd met een ponsstukje agar van een op gewijzigde Richard's agar groeiende, 6 tot 12 dagen oude cultuur van B. cinerea. De gewijzigde Richard's agar bevat per 1000 ml water 10 gr  $\text{KNO}_3$ , 0.25 gr  $\text{MgSO}_4$ , 5 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 50 gr saccharose, een spoortje  $\text{FeCl}_3$  en 20 gr agar. De inkubatie temperatuur van de Botrytis cultures was 23°C.

Om de schimmel zo goed mogelijk op de plant te laten aanslaan, werden de inoculaties 's middags uitgevoerd. Twee nachten volgend op iedere inoculatie werden de planten in een nevelkooi geplaatst. In deze kooi zorgt een vernevelaar automatisch voor een permanente zeer hoge luchtvochtigheid. Bij langdurige zonneschijn werd het dek van de kas gekrijt. De temperatuur in de nevelkooi varieerde van 20° tot 30°C. Tijdens de afstotingsperiode van de bladstelen werden 's morgens telkens de afgestoten bladstelen geteld en de lengten ervan gemeten. Van de afgestoten bladstelen werd tevens gemeten hoever de schimmel nog van het bladlitteken verwijderd was. Aan het eind van elke proef werd geteld hoeveel inoculaties waren gelukt, hoeveel bladstelen verdroogd aan de stengels bleven hangen en hoeveel stengels waren aangetast. Bij de vermelding der resultaten zijn alle aantallen in percentages van het totale aantal geslaagde inoculaties weergegeven.

Bij de beoordeling van de stengelaantastingen werd een bruin-zwarte verkleuring van het bladlitteken reeds als een aantasting beschouwd. Ook bladlittkens zonder duidelijke verkleuringen, maar waar de blad-

steelrest verdroogd aan de stengel was blijven hangen, werden als aangetast beschouwd, omdat de schimmel onder gunstige omstandigheden gemakkelijk uit de bladsteel kan uitgroeien en de stengel kan aantasten.

De proef werd onder verschillende omstandigheden en/of voorwaarden herhaald (zie tabel I) om een zo volledig mogelijk beeld te verkrijgen.

Tabel I: Overzicht van de nitvoering der proeven

proef	leeftijd planten in weken	planten gepoot in	stikstofgebrek	toegepaste behandelingen	aantal planten per behandeling	aantal inoculaties per behandeling
1	5	potten	matig	I, III, IV	30	60
2	4	"	matig	I, II, III	30	120
3	6	"	groot	I, II	40	80
4 <sup>a</sup>	4	"	matig	I, II	20	40
4 <sup>b</sup>	8	"	groot	I, II	35	70
5	10	emmers	geen	I, II, III	12	48

Van de tomatplanten werden telkens het derde en vierde samengestelde blad behandeld. In de proeven 2 en 4 werden bovendien het vijfde en zesde behandeld. De planten van proef 5 werden 2 maal bijgemest met mengmeststof 12-10-18.

In proef 3 werd tegelijkertijd de groeisnelheid van Botrytis in bladstelen met behandeling I en II nagegaan. De groeisnelheid van Botrytis in vitro werd eveneens gemeten door bladstelen op dezelfde wijze te inoculeren en uit te leggen in petri-schalen.

Eveneens werd nagegaan hoever de inwendige groei van de schimmel vooruitloopt op de uitwendige symptomen. Dit gegeven is noodzakelijk om te weten of de stengel reeds door schimmel aangetast kan worden, terwijl deze volgens de uitwendige symptomen de stengel nog niet bereikt heeft.

De inwendige groei werd nagegaan door 5 mm lang stukjes bladsteel 1 min. in 0.1 % Shell-uitvloeier, 30 sec. in alcohol 96 % en 30 sec. in 2 % sublimaat uitwendig te ontsmetten. De stukjes werden vervolgens gespoeld in stromend leidingwater en uitgelegd op Richard's

agar in petri-schalen. Is de schimmel in een stukje aanwezig, dan groeit deze binnen 3 dagen uit op de agarplaat.

### Resultaten

- a) In tabel V is het percentage bladstelen dat na inoculatie met B.cinerea na verloop van tijd van de stengel is afgestoten weergegeven. In de laatste kolom van de tabel is het percentage bladstelen vermeld, dat verdroogd aan de stengel is blijven hangen.

Tabel II: Verband tussen inoculatie en afstoting van bladsteelrest in % bij verschillende manieren van "bladplukken"

Proef	Behandeling	dagen na inoculatie										totaal afgevallen in %	niet afgevallen in %
		4	5	6	7	8	9	10	11	15			
1	I (na 1 <sup>o</sup> juk)	0	x	x	41	21	13	9	7			91	9
	III (op de helft)	0	x	x	79	14	5	0				98	2
	IV (op een vierde)	0	x	x	72	9	9	0				81	19
2	I (na 1 <sup>o</sup> juk)	2	x	x	35	14	25	13	4	7		100	0
	II (voor 1 <sup>o</sup> juk)	1	x	x	41	28	20	10	0	0		100	0
	III (op de helft)	10	x	x	39	22	3	4	4	8		90	10
3	I (na 1 <sup>o</sup> juk)	5	50	38	0							93	7
	II (voor 1 <sup>o</sup> juk)	4	40	25	0							69	31
4 <sup>a</sup>	I (na 1 <sup>o</sup> juk)	x	28	53	15	1	0					97	3
	II (voor 1 <sup>o</sup> juk)	x	51	38	3	1	0					93	7
4 <sup>b</sup>	I (na 1 <sup>o</sup> juk)	x	0	28	20	12	8	0				68	32
	II (voor 1 <sup>o</sup> juk)	x	5	45	5	2	0	0				57	43
5	I (na 1 <sup>o</sup> juk)	x	x	2	35	44	9	5				95	5
	II (voor 1 <sup>o</sup> juk)	x	x	50	21	10	2	0				83	17
	III (op de helft)	x	x	10	0	10	10	0				30	70

Een kruisje in de tabel wil zeggen, dat op deze dagen geen waarnemingen gedaan konden worden.

- b) Tabel III geeft het percentage stengels dat na inoculatie van de bladsteelresten met B. cinerea door de schimmel is aangetast. In proef 1 zijn de aantastingspercentages (getallen tussen haakjes) ook berekend wanneer als criterium voor aantasting niet de uitwendige symptomen, maar het uitgroeien van de schimmel op gewijzigde Richard's agar wordt aangenomen.

Tabel III: Percentages aangetaste stengels bij verschillende manieren "bladplukken"

Behandeling	I	II	III	IV
Proef	(na 1 <sup>o</sup> juk)	(voor 1 <sup>o</sup> juk)	(op de helft)	(op een vierde)
1	0(1)		12(16)	43(69)
2	1	7	14	
3	11	36		
4 <sup>a</sup>	6	10		
4 <sup>b</sup>	42	55		
5	11	21	80	

- c) In tabel IV zijn de gemiddelde lengten van de bladsteelresten weergegeven bij verschillende manieren van bladplukken.

Tabel IV: Verband tussen de wijze van "bladplukken" en de lengte van de bladsteelrest in mm.

Behandeling	I	II	III	IV
Proef	(na 1 <sup>o</sup> juk)	(voor 1 <sup>o</sup> juk)	(op de helft)	(op een vierde)
1	91		46	22
2	83	78	41	
3	76	67		
4 <sup>a</sup>	68	63		
4 <sup>b</sup>	83	77		
5	102	80	40	



- d) De getallen in tabel V geven de gemiddelde afstand weer, die de schimmel in de geïnoculeerde bladsteelresten nog van de stengel scheidt op het moment dat de bladsteelrest wordt afgestoten.

Tabel V: Verband tussen de afstoting van de bladsteelrest en de groei van de schimmel in mm bij verschillende manieren van bladplukken

Proef	Behandeling	dag na inoculatie					
		5°	6°	7°	8°	9°	10°
2	I (voor 1° juk)			x	31	32	23
	II (na 1° juk)			x	27	28	13
	III (op de helft)			x	6	0	0
4 <sup>a</sup>	I (voor 1° juk)	16	15	9			
	II (na 1° juk)	17	8	4			
4 <sup>b</sup>	I (voor 1° juk)		16	14	3		
	II (na 1° juk)	40	16	10			
5	I (voor 1° juk)	x	30	43	47	53	
	II (na 1° juk)	x	40	19	19		
	III (op de helft)	x	0		0		

- e) De getallen in tabel VI geven de groei van de schimmel weer in geïnoculeerde bladsteelresten zowel in vivo als in vitro. Alle getallen zijn het gemiddelde van 20 waarnemingen.

Tabel VI: Inwendige groei op uitwendige symptomen van B. cinerea in bladsteelresten in mm

Maximale groei	dagen na inoculatie							gem./dag
	2	3	4	5	6	7		
uitwendig (in vivo)	7	16	x	x	60		14	
inwendig (in vivo)	15	25	x	x	x			
uitwendig (in vitro)	7	18	27	x	x	56	10	
inwendig (in vitro)	15	25	35	x	x	x		

- f) De getallen in tabel VII geven de groei van de schimmel in mm weer in geïnoculeerde bladsteelresten, waarbij het blad of na (I) of voor (II) het eerste juk werd weggesneden, Elk getal is een gemiddelde van 20 metingen .

Tabel VII: Verband tussen de wijze van blad afsnijden en de groei van de schimmel in mm

Behandeling	dagen na inoculatie			gem./dag
	2	3	4	
I(voor 1 <sup>e</sup> juk)	11	22	34	12
II(na 1 <sup>e</sup> juk)	11	25	37	13

#### ----- Bespreking van de resultaten -----

De methode van bladplukken, waarbij het blad na het eerste juk van het samengestelde blad wordt weggenomen, geeft in vergelijking met bladplukken voor het eerste juk in alle proeven een daling van het percentage door B.cinerea aangetaste stengels te zien. Deze daling varieert van 4 tot 25 %.

Bladplukken op een grotere afstand van de stengel verlaagt in alle proeven het percentage aangetaste stengels.

De resultaten van de 5 proeven kunnen onderling niet altijd vergeleken worden, omdat de omstandigheden bij de proeven vaak verschilden.

Planten in proef 3 en 4<sup>b</sup>, die van dezelfde partij waren hadden stikstofgebrek; de groei van de planten stond stil, de bladeren waren lichtgroen van kleur. Dit kan onder meer de reden zijn waarom het percentage aangetaste stengels bij deze proeven zo hoog ligt.

Bij een temperatuur hoger dan 30°C is de groei van de schimmel zeer traag. De inoculaties slaan bij deze temperatuur moeilijk aan (proef 2).

Een hoge temperatuur tijdens de afstotingsperiode veranfelt de uitdroging van de bladsteelrest; het gewicht hiervan wordt dan snel verlaagd, waardoor de kans dat de bladsteelrest met een vaatbundel-

streng aan de stengel blijft hangen, wordt verhoogd (proef 3).

De leeftijd van de behandelde planten is van grote invloed op de afstoting der bladsteelresten. In proef 5 (geen N gebrek) blijft bij behandeling III 70 % van de bladsteelresten verdroogd op de stengel achter, i.t.t. de proeven 1 en 2 (matig N gebrek), waar dit resp. 2 en 0 % is. Hetzelfde zien we tussen de verschillende behandelingen in proef 4<sup>a</sup> en 4<sup>b</sup>. Waarschijnlijk worden de vaatbundelstrengen met jongere planten een relatief grotere bladsteelrest nodig is om deze te verbreken. De bladsteelrest kan ook d.m.v. een vesel uitgedroogd weefsel uit de onderrand van de bladsteel aan de stengel blijven hangen.

Vaak is een tik tegen plant of bladsteelrest reeds voldoende om deze tijdens de afstotingsfase van de plant te doen vallen. Het bladlitteken is dan al gevormd, maar de afstoting vindt niet plaats.

De afstand waarop de schimmel nog van de stengel verwijderd is op het moment dat de bladsteel wordt afgestoten varieert, maar is bij behandeling I en II groter dan bij behandeling III. Veel bladsteelresten worden van de stengel gestoten wanneer de schimmel op minder dan 10 mm van het bladlitteken verwijderd is. De inwendige groei van de schimmel kan maximaal 10 mm op de uitwendige groei vooruitlopen. De kans dat de schimmel in deze gevallen de stengel bereikt heeft is dus aanwezig. Dit is ook in overeenstemming met het feit dat in alle proeven het percentage aangetaste stengels altijd groter is dan het percentage bladsteelresten dat verdroogd aan de stengel blijft hangen.

Wanneer stengelgedeelten met bladlittekens, waarop geen uitwendige symptomen te zien zijn en waarvan de bladsteelrest is afgestoten, uitgelegd worden op Richard's agar, dan blijkt dat de schimmel toch in het weefsel aanwezig kan zijn (tabel III). Volgens dit criterium worden de aantastingspercentages van de stengel aanzienlijk verhoogd. Deze verhoging is bij behandeling III en IV groter dan bij behandeling I. Waarschijnlijk is de schimmel in de vorm van een latent mycelium in de buitenste cellen van het bladlitteken aanwezig (Wilson, 1963).

De groeisnelheid van de schimmel in de bladsteel is zowel in vivo als in vitro  $\pm$  12 mm per dag. Het achterlaten van het eerste

juk op de bladsteelrest is van geen invloed op de groeisnelheid van de schimmel in vergelijking met de groei in een bladsteel zonder blad.

**Samenvatting en conclusie**  
 ~~~~~

1. In potproeven met tomatplanten zijn een aantal factoren nagegaan die bij bladplukken van belang zijn in verband met stengelaantastingen door Botrytis cinerea.
2. Bladplukken na het eerste juk van het samengestelde blad verlaagt het aantal stengelaantastingen in vergelijking met bladplukken voor het eerste juk.
3. Bij oudere planten wordt de bladsteelrest moeilijker afgetoten dan bij jongere. Mechanisch verwijderen van onvolledig afgetoten of vergeelde bladstelen kan het aantal stengelaantastingen verlagen.
4. Stengels kunnen ter plaatse van de bladlittkens aangetast zijn zonder dat dit in symptomen tot uiting komt.

Proefstation Maaldwijk,  
 augustus 1966,  
 AdW.

De proefnemer,  
 M.A. de Waard.

Literatuur

1. Verhoeff, K., -1965      Studies on Botrytis cinerea in tomatoes.  
Neth.J.Plant Path. 71: 167-175.
2. Verhoeff, K., -1965      De invloed van de bemesting van tomaten-  
planten op het optreden van Botrytis cinera.  
Verslag Proefstation Naaldwijk.
3. Verhoeff, K., -1964      Literatuur-overzicht over Botrytis cinerea  
Pers. ex Fr.  
Verslag Proefstation Naaldwijk.
4. Weber, L., -1966      Optreden en verspreiding van Botrytis cinera  
in een tomatengewas bij verschillende bemes-  
tingenniveaus in een onverwarmd warenhuis.  
Verslag Proefstation Naaldwijk.
5. Wilson, A.R., -1963      Stem Infection by Botrytis cinerea.  
Scot.Hort.Res.Inst. Ann.Rep. 1963-1964 : 75.