

PHYTOPATHOLOGISCH LABORATORIUM

WILLIE COMMELIN SCHOLTEN

JAVALAAN 20 - BAARN

Uienolie als bestrijdingsmiddel tegen

witrot-aantasting (Sclerotium cepivorum

Berk.) van uienplanten.

Ingrid Eegerdingk

Voorwoord

Het onderzoek naar uienolie als mogelijk bestrijdingsmiddel van witrot in ui, is gedaan in de zomer van 1980, als onderdeel van het doctoraal-examen Biologie. Het is uitgevoerd op het Fytopathologisch laboratorium 'William Commelin Scholten' te Baarn onder begeleiding van Dr. B. Schippers.

Bovendien is geparticipeerd in witrot-onderzoek in het veld van het Instituut van Planteziektekundig Onderzoek samen met Stichting Nederlandse Uienfederatie. Voor deze goede samenwerking en genoten hulp wil ik speciaal Drs. van Bakel, C de Geus, d. Hoek en Ing. H Hooghiemstra bedanken.

M. de Gerdinckx

Inhoud

	blz.
1. <u>SAMENVATTING</u>	4
2. <u>INLEIDING</u>	5
2.1. <i>Algemeen</i>	5
2.2. <i>Stimulerende en remmende invloeden op de sclerotiëнкиeming</i>	5
2.3. <i>Bestrijdingsmethode van <u>S. cepivorum</u> aantasting van Alliumsoorten</i>	7
2.4. <i>Doel- en probleem-stellingen van het onderzoek</i>	8
3. <u>MATERIAAL EN METHODE</u>	10
3.1. <u>ALGEMEEN</u>	10
3.1.1. <i>De sclerotiën</i>	10
3.1.2. <i>De synthetische uienolie</i>	10
3.1.3. <i>De veldproeven</i>	10
3.1.4. <i>De laboratorium experimenten</i>	11
3.2. <u>DE EXPERIMENTEN</u>	12
3.2.1. <i>Invloed van uienolie D746 op de kieming van "geluk" en "steenbergen"sclerotiën</i>	12
3.2.2. <i>Invloed van één-jaar oude uienolie C7713 op de sclerotiëнкиeming en het aantal aangetaste uienplanten</i>	12
3.2.3. <i>Invloed van diallyldisulfide, uienwater en verschillende concentraties uienolie op de sclerotiëнкиeming in laboratorium proeven</i>	12
3.2.4. <i>Invloed van verschillende concentraties uienolie op het aantal aangetaste uienplanten in het veld</i>	13
3.2.5. <i>Invloed van herhaalde toediening van uienolie, op verschillende tijdstippen na de eerste toediening, op de sclerotiëнкиeming</i>	13
3.2.6. <i>Invloed van de sclerotiënconcentratie in grond op het aantal aangetaste uienplanten</i>	13
3.2.7. <i>Invloed van de diepte van inoculum op het aantal aangetaste uienplanten</i>	14
3.2.8. <i>Invloed van verschillende voedingsbodems op de sclerotiëнкиeming</i>	14
3.2.9. <i>Indirekte en direkte invloed van uienolie op de sclerotiëнкиeming</i>	14
3.2.10. <i>Bestrijding van witrot in ui d.m.v. <u>Trichoderma harzianum</u> en <u>Coniothyrium minutans</u></i>	15
3.2.11. <i>Vergelijking van methode ("nat zeven" of met een elutriator) voor het verzamelen van sclerotiën uit grond</i>	15
4. <u>RESULTATEN</u>	17
4.1. <i>Invloed van uienolie D746 op de kieming van "geluk" en "steenbergen"sclerotiën</i>	17
4.2. <i>Invloed van één-jaar oude uienolie op de sclerotiëнкиeming en het aantal aantal aangetaste uienplanten</i>	17
4.3. <i>Invloed van diallyldisulfide, uienwater en verschillende concentraties uienolie op de sclerotiëнкиeming</i>	18
4.4. <i>Invloed van verschillende concentraties uienolie op het aantal aangetaste uienplanten in het veld</i>	19
4.5. <i>Invloed van herhaalde toediening van uienolie, op verschillende tijden na de eerste toediening, op de sclerotiëнкиeming</i>	20
4.6. <i>Invloed van de sclerotiënconcentratie in grond op het aantal aangetaste uienplanten</i>	21
4.7. <i>Invloed van de diepte van sclerotiëنینoculum op het aantal aangetaste uienplanten</i>	21

4.8.	<i>Invloed van verschillende voedingsbodems op de sclerotiënkieming</i>	22
4.9.	<i>Indirekte en direkte invloed van uienolie op de kieming van ge-steriliseerde sclerotiën</i>	23
4.10.	<i>Bestrijding van witrot in ui d.m.v. <u>T.harzianum</u> en <u>C.minitans</u></i>	23
4.11.	<i>Vergelijking van methode voor het verzamelen van sclerotiën uit grond</i>	24
5.	<u>DISCUSSIE</u>	25
6.	<u>LITERATUURLIJST</u>	29
7.	<u>BIJLAGEN</u>	32
7.1.	<i>Foto's van kiemende sclerotiën en van door witrot aangetaste uienbollen</i>	32
7.2.	<i>Invloed van uienolie D746 op de kieming van "geluk" en "steenbergen" sclerotiën</i>	34
7.3.	<i>Invloed van één jaar oude uienolie op de sclerotiënkieming</i>	34
7.4.	<i>Invloed van uienwater en verschillende conc. uienolie op de sclerotiënkieming in comwayschalen</i>	35
7.5.	<i>Invloed van diallyldisulfide en verschillende concentraties uienolie op de sclerotiënkieming in "grond-buizen"</i>	35
7.6.	<i>Invloed van verschillende concentraties uienolie op het aantal aangetaste uienplanten in het veld</i>	36
7.7.	<i>Invloed van herhaalde toediening van uienolie op de sclerotiënkieming</i>	36
7.8.	<i>Invloed van verschillende sclerotiën-concentraties op de gemiddelde lengte en gemiddelde aantal bladeren van uienplanten</i>	37
7.9.	<i>Invloed van verschillende dieptes van inoculum per veldje op de uienplant</i>	38

1. Samenvatting

Aantasting van uienplanten door Sclerotium cepivorum berk. komt in Nederland steeds meer voor. Door P. Merriman is hiertegen een bestrijdingsmethode ontwikkeld op basis van stimulatie van sclerotiëнкиeming door uienolie. Na de kieming sterft het sclerotium af omdat er geen infectie plaatsvindt. Eerder gedaan onderzoek in Australië en in Baarn leidde tot positieve resultaten.

In dit onderzoek is deze bestrijdingsmethode verder uitgetest. Gevonden is dat uienolie de sclerotiëнкиeming in laboratoriumproeven stimuleert maar dat de optimale concentratie uienolie varieerde met de proefopzet. Veldonderzoek gaf geen effect te zien van uienolie omdat er te weinig infectie optrad ($\pm 1\%$). Eén-jaar oude uienolie en de waterfractie van de slecht mengbare "water-uienolie" oplossing werken niet stimulerend op de sclerotiëнкиeming. In de zone van 0 tot 15 cm diepte in de grond vindt aantasting van uienplanten plaats. Bij een sclerotië-concentratie van 32 sclerotië/kg grond worden al meer dan 50% van de planten aangetast. In steriele omstandigheden worden ontsmette "cultuur"-sclerotië in hun kieming gestimuleerd terwijl ontsmette "natuurlijke"-sclerotië geremd worden door uienolie. Beiden type sclerotië worden door voedingsstoffen (PDA) gestimuleerd.

Voor verdere ontwikkeling van deze bestrijdingsmethode is het van belang dat er veldonderzoek wordt gedaan naar de werking van uienolie en bij welke sclerotië-dichtheid in de grond aantasting plaatsvindt. In laboratorium moet de preciese werking van uienolie, uien sap en voedingsstoffen op de sclerotiëнкиeming worden onderzocht, omdat hier nog onduidelijkheid over bestaat.

2. Inleiding

2.1. Algemeen.

Een belangrijke ziekte van Allium-soorten is witrot, veroorzaakt door de schimmel Sclerotium cepivorum Berk. De ziekte is in Engeland in 1841 voor het eerst beschreven door Berkeley. Het is nu een vaak voorkomende ziekte in W-Europa, Cyprus, Egypte, India, Ceylon, Australië, Z-Afrika, Kanarische eilanden, Argentinië, Brazilië en N-Amerika (Walker 1969). De ziektesymptomen van de plant zijn afhankelijk van het tijdstip van infectie. Bij aantasting in een vroeg stadium gaat de kiemplant dood, in een later stadium wordt het loof geel en slap en sterft af. Op de bol is dan wit mycelium zichtbaar waarop kleine zwarte sclerotiën worden gevormd. Deze aantasting gaat na de oogst van de bol verder als "storage rot" (Walker 1969, Koomen 1977).

De schimmel, die niet saprofytisch in de grond kan groeien, blijft over in de vorm van sclerotiën (Scott 1956). Dit zijn uit vegetatieve cellen gevormde ruststructuren bestaande uit een dikke gepigmenteerde wand en een kern van stevig in elkaar verweven hyfen. Het eerste teken van sclerotiënkieming is één of meer zwellingen van de wand. Onder druk van binnen barsten deze open en stulpt er een dikke pluk mycelium uit. Hierna gaan de mycelium draden groeien (Coley-Smith 1960, zie bijlage 1). Op de hyfen en kapotte sclerotiën kunnen microconidia gevormd worden. De functie hiervan is onbekend. Het mycelium kan enkele millimeters lang worden en dringt de uienplant binnen via de worteltop en, in mindere mate, via de rest van de wortels en de bol (Coley-Smith 1960).

De kieming van sclerotiën in niet-steriele grond wordt alleen gestimuleerd door exudaten van soorten van het genus Allium of waterige extracten hiervan. Dit specifieke effect treedt alleen op in aanwezigheid van microorganismen op het oppervlak van de sclerotiën of in de bodem. (Coley-Smith, Holt 1966). Onder steriele condities kiemen de sclerotiën zonder gestimuleerd te worden door Allium-soorten. Er is dan geen specifiek response (Coley-Smith ea. 1967). Blijkbaar staan sclerotiën in niet-steriele grond onder mycostatische invloed welke de kieming van sclerotiën remt (Coley-Smith ea. 1967, King Coley-Smith 1969a). Deze mycostatische werking kan soms zo hoog zijn dat er geen infectie van Allium planten plaatsvindt op gronden waar wel hoge aantallen sclerotiën in de grond zijn (Utkhede ea. 1978). Alliumssoorten of waterige extracten hiervan maken dit specifieke effect omkeerbaar (Coley-Smith, Holt 1966). Vluchtige n-propyl- en allyl-sulphides zijn de belangrijkste chemische substanties die hier bij betrokken zijn (Coley-Smith, King 1969).

2.2. Stimulerende en remmende invloeden op de sclerotiënkieming.

De preciese werking van stimulerende en remmende invloeden op de sclerotiënkieming is complex maar is essentieel om te komen tot een goede bestrijding van deze ziekte. Er bestaan verschillende theoriën over sclerotiënkieming. Deze worden besproken aan de hand van in fig.1 getekende interacties.

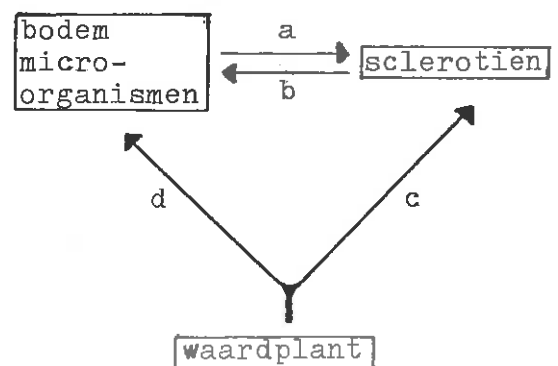


fig.1 Direkte en indirecte invloeden op de sclerotiënkieming van S. cepivorum.

a) Invloed van micro-organismen op sclerotiënkïeming

Zoals al eerder is geconcludeerd hebben micro-organismen een remmende invloed op de sclerotiënkïeming. Er zijn twee theoriën die deze remmende invloed verklaren (Lockwood 1979) nl. "nutrient deprivation" theorie en "vluchtige remstoffen" theorie.

Bij de "nutrient deprivation" theorie berust de mycostase op competitie van voedingsstoffen: de ruststructuur scheidt konstant voedingsstoffen uit welke door omringende micro-organismen worden onttrokken ("nutrient-sink"). De kieming wordt geremd door het onstane tekort aan endogene voedingsstoffen (Ko, Lockwood 1967). In een proefopstelling waarbij constant water langs de sclerotiën druppelde, een "nutrient-sink" nabootsend, bleek dat slechts 1% van de sclerotiën kiemden terwijl van de onbehandelde 68% kiemden (Hsu, Lockwood 1973). Het uitscheiden van voedingsstoffen door sclerotiën is geconstateerd bij het, na drogen weer bevochtigen van sclerotiën (Coley-Smith ea. 1974) en bij cultuursclerotiën (Dickinson, Coley-Smith 1970, Coley-Smith, Dickinson 1971). Toch lijkt het onwaarschijnlijk dat de sclerotiën, die 10 jaar oud kunnen worden (Coley-Smith 1979), als maar voedingsstoffen blijven uitscheiden. Bij onderzoek is gebleken dat cultuursclerotiën wel stoffen uitscheiden maar dat 3-maanden en twee jaar oude sclerotiën dit niet meer doen (Coley-Smith, Dickinson 1971). Bovendien bleek dat, onder steriele omstandigheden, sclerotiën geen of weinig eisen hebben wat betreft externe toegevoegde voedingsstoffen, om te kiemen (Coley-Smith ea, 1967). Verder is bekend dat water, afkomstig van verse veldgrond, die gesteriliseerd is door filtratie (waarbij micro-organismen achterblijven), sclerotiënkïeming remt (King, Coley-Smith 1969). Er moet in het water remmende stoffen hebben gezeten die door micro-organismen zijn gemaakt. Remmende stoffen gevormd door micro-organismen is bekend van de schimmel Penicillium nigricans en van enkele Bacillus soorten (Coley-Smith, Holt 1966, Ghaffar 1969a). P. nigricans vormt het antibioticum Griseofulvin welke op agarplaten de sclerotiëngroei remt (Ghaffar 1969b). Uitsluitel over welke theorie de juiste is, is er niet; misschien is het wel een combinatie van beide.

b) Invloed van sclerotiën op de micro-organismen populatie

Als sclerotiënkïeming geremd wordt door micro-organismen is het van belang om te weten of sclerotiën invloed hebben op die micro-organismen populatie. Hierover is weinig bekend. Alleen van cultuursclerotiën in ongestertiliseerde grond is bekend dat dit tot een toename van de bacteriepopulatie leidde. Deze stimulatie wordt veroorzaakt door lekkage van onbekende substanties uit de sclerotiën (Dickinson, Coley-Smith 1970). Ook is gesignaleerd dat er meer micro-organismen groei is op het oppervlak van een sclerotium die is blootgesteld aan lage relatieve vochtigheid (Papavizas 1977).

c) Invloed van Alliumspecies direkt op de sclerotiënkïeming

Deze direkte stimulerende werking zou sterker zijn dan het remmende effect van micro-organismen zodat de sclerotiën gaan kiemen. Onderzoek naar deze stimulerende werking is moeilijk omdat men dan met steriele omstandigheden werkt waardoor meteen ook de remmende invloed van micro-organismen op de sclerotiënkïeming wordt opgeheven. Het sclerotium kan dan al kiemen zonder beïnvloed te worden door Allium soorten.

In onderzoek onder steriele omstandigheden waarbij uien sap aan de agar werd toegediend kiemde net zoveel sclerotiën als bij toediening van andere plantenextracten en voedingsstoffen (Coley Smith ea.1967). Er is verder geen onderzoek aan die direkte invloed verricht.

d) Invloed van Alliumspecies indirect op de sclerotieënkieming

Dit kan op twee manieren gebeuren: 1) Alliumspecies scheiden een antibioticum uit welke de micro-organismen populatie reduceerd en zo de remmende werking hiervan op de sclerotieënkieming. Bekend is dat wortels van Alliumspecies stoffen met een antibiotische werking uitscheiden. Maar de concentratie van deze stoffen, waarbij sclerotieënkieming plaats vindt, is zo laag, dat er nauwelijks van antibiotische effect gesproken kan worden. Beschadigde wortels scheiden veel meer antibiotica af (Coley-Smith 1968). 2) Waarschijnlijker is dat wortels een inactieve precursor produceren welke door bacteriën in de grond wordt omgezet. Deze inactieve stoffen zijn de weinig vluchtige alkylcysteïne sulphoxides, waarvan de methyl en propylderivaten worden afgegeven door uienplanten. Deze worden door micro-organismen omgezet tot alkylmercaptanen, -sulfiden en disulfiden. De vluchtige propyl- en allylcomponenten hiervan blijken de kieming van sclerotieën te stimuleren (King, Coley-Smith 1968, 1969b, Coley-Smith, King 1969). Zes algemeen voorkomende bodembacteriën bleken instaat te zijn om synthetische precursors om te zetten in deze stoffen (King, Coley-Smith 1969b). Het is niet bekend of de actie van de alkylsulphides direct werkt, door het remmende effect van micro-organismen op sclerotieën kieming te overheersen, of indirect, door antibiotische werking op die micro-organismen. Waarschijnlijk is het laatste (Coley-Smith, King 1969).

2.3. Bestrijdingsmethoden van *S. cepivorum* aantasting van Alliumspecies.

Er bestaat op het moment geen probate bestrijdingstechniek tegen witrot. Ruime vruchtwisseling heeft geen effect omdat sclerotieën 10 jaar oud kunnen worden (Coley-Smith 1979). Chemische bestrijdingsmiddelen zijn in het algemeen weinig effectief. Basamid werkt wel goed maar is economisch niet haalbaar (Scheffer 1979). Calomel geeft ook goede bescherming maar is giftig voor de planten (Ahmed, Tribe 1977).

Zaaien van uienplanten die, na de kieming van sclerotieën en voor de vermeerdering hiervan, vernietigd worden (zog. "Trap-crop"techniek) gaf niet de gewenste resultaten (Merriman, Isaacs 1978). Meer is te verwachten van rasselectie. Er zijn nl. witrot resistente uienrassen gevonden. Deze resistentie wordt niet beïnvloed door milieu-omstandigheden en is dus waarschijnlijk genetisch bepaald (Utkede, Rahe 1978, 1980a).

Goede resultaten zijn te verwachten van biologische bestrijding. Penicillium nigricans geeft goede bescherming tegen witrot met het antibioticum Griseofulvin (Ghaffar 1968a,b, Utkede, Rahe 1980b). Toediening van Trichoderma harzianum gaf een vermindering van het aantal zieke planten van 72% naar 9-30% in het veld te Zien (Abd-El-Moity 1980). Onduidelijk is echter op hoeveel planten deze percentages berusten. Volledige duisternis is essentieel voor dit antagonisme (Abd El Moity, Shatla 1979), waarbij de schimmel op karakteristieke wijze zijn hyfen om die van S. cepivorum windt en secundaire sclerotieënvorming voorkomt (Ghaffar 1969a,b). T. harzianum is altijd in de grond aanwezig maar met te lage concentraties. Door toediening van extra T. harzianum kan het "inoculum potentiaal" worden

bereikt waarbij het effectief wordt als bestrijdingsmiddel (Garret 1958). T.harzianum is al effectief gebleken in de bestrijding van Sclerotium rolfsii (Welts ea.1972, Backman ea.1975, Martur,Sarbhoy 1979).

Behandeling van uienzaad met pycnidiën-maalsel van Coniothyrium minitans heeft ook een goede bescherming gegeven tegen witrot: 70% gezonde planten tegen 22% gezonde van de onbehandelde planten in kasproeven (Ahmed,Tribe 1977). De schimmel dringt zijn gastheer binnen door de hyfen en de sclerotiën. In deze laatste produceert het zijn pycnidia (Ghaffar 1969a). De schimmel is niet pathogeen voor planten (Turner,Tribe 1976).

Door Merriman en zijn medewerkers (1978,1981) is een bestrijdingsmethode ontwikkeld op basis van stimulatie van sclerotiënkïeming door stoffen uitgescheiden door Allium planten. Zij injecteerden natuurlijke en synthetische uienolie in de grond. De sclerotiën in de grond gaan dan kiemen maar sterven af omdat er geen infectie plaats vindt (Coley-Smith 1960). Bodembehandeling in Australië met synthetische uienolie, vier weken voor het zaaien van uien, geeft ruim 50% minder aangetaste planten en 30% meer verkoopbare uien. Natuurlijke uienolie gaf nog iets beter resultaat maar is 100x duurder (Merriman, Isaacs 1979). De beste resultaten werden verkregen bij behandeling met 5% uienolie oplossing, op 10 cm diepte geïnjecteerd, 440liter per ha (Merriman ea.1980).

Synthetische uienolie is een goedkope grondbehandelingsmethode met een smal werkingsspectrum, waarschijnlijk niet giftig voor agrarische ecosystemen en gemakkelijk toe te dienen tijdens het bewerken van de grond ook als er andere gewassen verbouwd worden (Merriman ea. 1980).

2.4. Doel- en probleemstellingen van het onderzoek.

Het doel van dit onderzoek is om meer gegevens te verkrijgen voor een optimale bestrijding van witrot door middel van uienolie, T.harzianum en C.minitans. Het hoofddaccent ligt op de bestrijding d.m.v. uienolie. Het onderzoek is een voortzetting van het in 1979 gedane onderzoek door P.Merriman en I.M.Samson in samenwerking met het IPO en SNUIF. Hierbij werden de volgende resultaten gevonden. In het veld is reductie van sclerotiënpopulatie dichtheid gevonden o.i.v. verschillende concentraties uienolie-oplossingen en een tendens tot afname van het aantal aangetaste platen. In laboratorium experimenten zijn tegenstrijdige uitkomsten gevonden bij het onderzoek naar die concentratie uienolie die de maximale sclerotiënkïeming geeft. Sclerotiën in de zone van 0-12 cm diepte in de grond hebben een duidelijke invloed op de plantegroei, bij 18-20 cm diepte is er geen sinnificante invloed maar er waren wel sporen van aantasting aanwezig (Samson 1980, Merriman ea. 1981).

In dit onderzoek is opnieuw nagegaan welk concentratie uienolie-water oplossing het meeste effect heeft op de sclerotiënkïeming in zowel laboratoriumproeven als in veldexperimenten. Ook is de invloed van diallyl-disulfide, welke van nature voorkomt in knoflook en effectiever zou zijn dan uienolie (Coley-Smith,King 1969), getest evenals de waterfractie van de slecht mengbare uienolie-water oplossing. Door het slechte mengen van deze oplossing is het haast niet mogelijk een homogeen mengsel te injecteren. De vraag is of de stimulerende stof ook in de waterfractie gaat zitten.

Daar door uienolie, zowel in het veld als in laboratorium omstandigheden, max. 70% van de sclerotiën gaan kiemen (Merriman 1981) blijft min. 30% over, die witrot aantasting kan veroorzaken. Dat deze mate

van aantasting niet evenredig afneemt bleek uit een veldproef waarbij de sclerotiënpopulatie door uienolie met 50% verminderd is maar waar geen afname in met witrot geïnfecteerde planten te zien was (Merriman ea. 1980). Daarom is in laboratorium experimenten gekeken of herhaalde toediening (op verschillende tijdstippen) van uienolie, de sclerotiënpopulatie dichtheid in grond verder kunnen verlagen. Verder is nagegaan tot welke diepte in de grond sclerotiën de uienplant kunnen infecteren en welke inoculum dichtheid invloed heeft op het aantal zieke planten. Dit om te bepalen wanneer een veld behandeld moet worden tegen witrot en tot welke diepte de bestrijding van sclerotiën moet plaats vinden.

Er wordt van uit gegaan dat uienolie eenzelfde werkingsspectrum heeft als stoffen uitgescheiden door uienplanten (zie fig. 1). Om hier wat meer van te weten is onderzocht of uienolie een direct effect heeft op sclerotiëнкиeming of indirect via micro-organismen en in hoeverre sclerotiën voedsel afhankelijk zijn.

Verder is meegewerkt aan een onderzoek van het IPO en de SNUIF waarin naast chemische bestrijdingsmiddelen, de bestrijding met uienolie, T.harzianum en C.minitans in het veld is uitgetest.

De methodieken van sclerotiën-telling in grondmonsters, "nat zeven" of met "elutriator" zijn met elkaar vergeleken.

3. Materiaal en methode

3.1. Algemeen.

3.1.1. De sclerotiën.

Er is in de experimenten meestal gewerkt met uit natuurlijke grond afkomstige sclerotiën. Deze worden verzameld (Merriman, Isaacs 1978) door de grond nat te zeven (zeefgrootte 1,0 en 0.25 mm). Vervolgens zijn de sclerotiën met een fijne pincet voorzichtig, onder een binoculair, er uit gepikt en direct na het verzamelen gebruikt. Er is in de proeven alleen gewerkt met "harde" sclerotiën omdat "zachte" sclerotiën minder kiemkrachtig zijn (Samson 1980). De "harde" sclerotiën zijn te herkennen doordat ze iets meegeven, mooi rond en egaal zijn.

In enkele proeven is er met "cultuursclerotiën" gewerkt. Dit zijn sclerotiën die op Potato Dextrose Agar (PDA) zijn gevormd. Dit heeft het voordeel dat het veel tijd vergende verzamelen van sclerotiën uit natuurlijke grond wordt vermeden. Nadeel is dat bij cultuursclerotiën rekening gehouden moet worden met "dormancy" (Coley-Smith 1960) en hogere kiemingspercentages (Coley-Smith 1976).

Gekiemde sclerotiën in grond zijn duidelijk te herkennen aan hun één of meer typerende myceliumplukken (Coley-Smith 1960, zie bijl.1). Op agar kiemen de sclerotiën anders (Coley-Smith ea.1967). Er ontstaan dan max. vijf meridiaan verlopende scheuren of wanduitstulpingen. Zodra hieruit mycelium gaan groeien zijn ze als gekiemd gescoord. Om het percentage kiemkrachtige sclerotiën van een populatie te bepalen zijn de sclerotiën uitgeplaat op PDA-agarplaten na aan de oppervlakte te zijn ontsmet, door gedurende 1 minuut onder te dompelen in sublimaat (0,1% HgCl₂-aquadest).

3.1.2. De synthetische uienolie.

De gebruikte synthetische uienolie (Bush Boake Allen, DLKNA C7713) bestaat uit Diallyl disulfide, Di-isopropyl disulfide, Allyl isothiocyanate, Allyl alcohol, knoflookolie en notenolie (hoeveelheden onbekend) (Merriman ea.1980). Eénmaal is uienolie Bush Boake Allen D746 gebruikt (zie 3.2.1.). De samenstelling hiervan is onbekend. Omdat uienolie moeilijk oplost in water is eerst Teepol of Tween 80 aan de uienolie toegevoegd (+ 0,3 ml per 10 ml uienolie). Daarna is pas het water toegevoegd en is de oplossing goed geschud c.q. geroerd.

3.1.3. De veldproeven.

Om de sclerotiënpopulatie dichtheid in grond van natuurlijke besmette velden te bepalen is er met een grondboor (Ø 1,5 cm) tot 25 cm diepte, 60 steken per veldje van + 7 m². De grond is aan de lucht gedroogd en de sclerotiën telling is verricht met behulp van een elutriator (zie 3.2.11).

De uienplanten -tenzij anders vermeld- Rijnsburger Jumbò zijn gezaaid in de 2-de helft april - begin mei, per 2 cm één zaadje, 2 cm diep, rijafstand 25 cm. Dit werd met een hand-zaaimachine gedaan om een zo'n constant mogelijke onderlinge afstand tussen de planten te

krijgen, daar de mate van infectie omgekeerd evenredig is met de zaai-afstand (Scott 1956b).

Vlak voor het zaaien werd de uienolie in het veld gebracht met behulp van een handinjector, op 10 cm diepte, 25 cm van elkaar, 400 liter per ha, per injectie 2,5 ml. Om de \pm 15 injecties werd de vloeistof in de injector geschud. Vrij snel na het injecteren werden de ontsane gaten in de grond dicht geharkt.

De grond is voor het zaaien behandeld met Phytosol 55% (10 liter per ha, verdund in min. 500 liter water) tegen aantasting van maden van de uienvlieg (*Hylemia antiqua* mg). In verband met vele regenval en lage temperaturen in de maand juli is ter bestrijding van bladvlek-ziekte (*Botrytus squamosa*) enkele keren gespoten met 3 kg maneb/zineb per ha (Koomen 1977, Gids voor ziekte en onkruid bestrijding 1978). Vlak na het zaaien en een maand later is er kunstmest toegediend in de vorm van kalkammonsalpeter (150 kilo/ha -1 kilo in 100 liter water (Koomen 1977)).

Aan het eind van de veldproeven, begin oktober, werden de uienplanten één voor één gerooïd en de bol bestudeerd op aanwezigheid van wit mycelium en/of sclerotiën.

3.1.4. De laboratorium proeven.

De laboratorium proeven zijn allemaal uitgevoerd bij 15°C en bij een zo'n constant mogelijke bodemvochtigheid (\pm 20% water van drooggewicht = \pm pF waarde van 1,7).

Er is gebruik gemaakt van twee proefopstellingen nl. comwayschalen en grond-buizen op een pF-bevochtigingssysteem.

In de comwayschalen (zie Samson 1980) is in de binnenste ring 2 ml water, in de buitenste ring 15 gram "Steenbergen"-grond aangebracht. Op de grond zijn 20 sclerotiën op regelmatige afstand van elkaar geplaatst, die tot de helft in de grond zijn gedrukt. Daarna is de synthetische uienolie met behulp van een injectienaald in 7 druppels van 2 uml toegediend op de grond (800 liter/ha) en zijn de schalen snel afgesloten met glycerine. Het percentage gekiemde sclerotiën werd om de 2-3 dagen gedurende 4-5 weken, onder binoculair, bepaald. Hierbij is de deksel van de comwayschaal afgehaald en vervangen door een PVC-transparant.

In de tweede methode werden PVC-buizen (\varnothing 10 en 20 cm; lengte 30 cm) op een pF-bevochtigingssysteem geplaatst (zie Samson 1980). De buizen bevatten gezeefde (4mm)"Steenbergen" grond, die in lagen werd aangebracht en met een 5 kilo gewicht aangestampt. Door het pF-systeem wordt de grond vochtig gehouden door een kunstmatig grondwaterspiegel. Met behulp van pF-meters is het vochtgehalte in de buizen gedurende de proef gecontroleerd en bij gesteld (optimale pF=1,7).

Nylon zakjes, elk met 20 sclerotiën, werden op 6 cm diepte onder het grondoppervlak in de buizen gebracht. Op 10 cm diepte is 0,5 ml verdunde uienolie, cq. diallyl disulfide, met behulp van een lange naald van een Cornwallpipet geïnjecteerd.

Aan het eind van de proef zijn, direct na het uitgraven, het aantal overgebleven "harde" sclerotiën genoteerd. Aangenomen wordt dat dit overeenkomt met het aantal niet-gekiemde sclerotiën.

3.2. De experimenten.

3.2.1. De invloed van uienolie soort D746 op de kieming van "geluk" en "steenbergen" sclerotiën.

Onderzocht werd of uienolie met een ander nummer dan in de rest van de proeven gebruikte uienolie, nl. D746, sclerotiëнкиeming stimuleert en of er verschil is tussen "geluk sclerotiën, afkomstig van boer Geluk", en de door I.M. Samson gebruikte sclerotiën uit Steenbergen, boer Simons. De proef is uitgevoerd in comwayschalen met 5% uienolie in water en met "Steenbergen"-grond. Gebruikt zijn 10 schalen met "Geluk" sclerotiën, 5 met en 5 zonder uienolie, en 10 schalen met "Steenbergen" sclerotiën, 5 met en 5 zonder uienolie.

3.2.2. De invloed van één jaar oude uienolie C7713 op de sclerotiëнкиeming en het aantal aangetaste uienplanten.

a) invloed op de sclerotiëнкиeming

In comwayschalen is nagegaan of één jaar oude uienolie (C7713) nog stimulerend werkt op de sclerotiëнкиeming. Hiervoor zijn van 10 schalen, met "Steenbergen"-grond en "Geluk" sclerotiën, 5 schalen geïnjecteerd met 5% "één jaar oude uienolie-water oplossing" en 5 schalen niet geïnjecteerd.

b) invloed op het aantal aangetaste uienplanten

In veldproeven is de invloed van één jaar oude uienolie op het aantal geïnfecteerde planten nagegaan. In Steenbergen zijn vier veldjes (1,5 bij 3,0 m) met 5% "één jaar oude uienolie-water oplossing" geïnjecteerd en vergeleken met vier onbehandelde veldjes. Voor het zaaien van de uienplanten is de sclerotiën-concentratie in de grond bepaald.

3.2.3. De invloed van diallyldisulfide, uienwater en verschillende concentraties uienolie op de sclerotiëнкиeming in laboratoriumproeven.

Doel van deze proef is om te na te gaan, wat de invloed is van 5% diallyl disulfide en uienwater (waterfractie van 5% uienolie C7713 oplossing), bij welke concentratie uienolie C7713 (0,1%, 1% en 5%) de meeste sclerotiën kiemen, en of er verschil is in de kiemingspercentage in de "grondbuizen" proef i.v.m. "comwayschalen".

a) de invloed van uienwater en verschillende concentraties uienolie in comwayschalen

Hiervoor zijn van elke uienolie concentratie 5 comwayschalen ingezet plus 5 onbehandelde schalen. Tegelijk zijn 5 schalen ingezet met uienwater. Dit is de waterfractie van 5% uienolie oplossing die drie minuten in een scheidtrechter heeft gestaan. Gewerkt is met "Geluk" sclerotiën en "Steenbergen"-grond.

b) invloed van diallyl disulfide en verschillende concentraties uienolie in grondbuizen

Deze proef is uitgevoerd in (ø 10 cm) buizen op pF-bèvochtigings-systeem. Voor elke behandeling zijn 5 buizen met "Steenbergen" grond gebruikt, per buis één zakje "Geluk" sclerotiën. Na 5 weken is het aantal overgebleven harde sclerotiën geteld.

3.2.4. Invloed van verschillende concentraties uienolie C7713 op het aantal aangetaste uienplanten in het veld.

In Steenberg en is 5% en 0,1% uienolie in viervoud uitgetest op 1,5 bij 3,0 m grootte veldjes. In Dirksland is 0,1%, 1% en 2% uienolie in viervoud uitgetest op 1,5 bij 4,5 m grootte veldjes. Voor het zaaien van de uienplanten is de sclerotien concentratie bepaald.

3.2.5. Invloed van herhaalde toediening van uienolie c7713, op verschillende tijdstippen na de eerste toediening, op de sclerotienkieming.

Doel is om door een zo'n hoog mogelijk aantal gekiemde sclerotien, een zo laag mogelijke sclerotiepopulatie dichtheid in de grond te krijgen. Dit is onderzocht in "grondbuizen" op pF-bevochtigingssysteem en in het veld.

a) herhaalde toediening van uienolie in "grondbuizen"

Op verschillende tijdstippen na de eerste injectie van 5% uienolie is een tweede injectie toegediend. Deze tijdstippen zijn 2½, 5, 8 en 12 weken. Per behandeling (=tijdstip) zijn 6 nylon zakjes met "Geluk"-sclerotien verdeeld over twee, met "Steenbergen"-grond gevulde, buizen (ø 20 cm). In deze buizen zaten nogmaals 2 keer 3 zakjes met sclerotien die vlak voordat de 2-de injectie plaats vond er uit werden gehaald en geteld. Dit om de stimulatie van sclerotienkieming van de 2-de injectie te vergelijken met de eerste injectie. Alle nylon zakjes die twee keer behandeld zijn werden na 16 weken er uit gehaald en geteld te samen met 6 zakjes met sclerotien in één buis die helemaal niet met uienolie behandeld zijn en 6 zakjes die alléén de eerste injectie mee maakte.

b) herhaalde toediening van uienolie in het veld

In Dirksland is op proefvelden (1,5 bij 4,5 m) óf eenmaal geïnjecteerd met uienolie (in april) of tweemaal geïnjecteerd (april en augustus). Dit is gedaan zowel voor 1% als voor 0,1% uienolie oplossing. Elke behandeling is in viervoud gedaan. Vlak voor het zaaien en daarna om de twee maanden (15/4-17/6-13/8 en 6/10) is de sclerotien concentratie in de grond bepaald. Er zijn geen uienplanten gezaaid.

3.2.6. Invloed van sclerotienconcentratie in grond op het aantal aangetaste uienplanten.

a) invloed van verschillende concentraties cultuursclerotien

In Cantonspark in Baarn zijn PVC-buizen (ø 10 cm, lengte 30 cm) in de grond gegraven en gevuld met Lindengrond met verschillende inoculum concentraties nl. 0, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 90 en 128 sclerotien per kilo grond (5 buizen per concentratie). Hiervoor zijn cultuursclerotien gebruikt die al 3½ maand in Lindengrond zaten bij 15°C. Per buis zijn 6 uienzaadjes (cv. Hyduro) gezaaid waarvan, toen de kiemplantjes ± 8 cm hoog waren, het aantal verminderd is tot twee per buis. Hierna is ± één keer per week de hoogte van de planten gemeten en het aantal bladeren per plant geteld. Op het eind is het percentage aangetaste bollen bepaald.

In de eerste maanden is er regelmatig water toegediend in verband met de droogte en de slechte groei van de planten. In augustus werd een aantasting van preimot signaleerd waarvoor drie weken lang, één keer per week, met 1,5 kg/1 parathion 25% per ha, is gespoten.

b) invloed van natuurlijk besmette grond

In Steenbergen is getracht een correlatie te vinden tussen het aantal, van nature in de grond aanwezige sclerotiën en het aantal aangetaste uienplanten. Hiervoor zijn 76 veldjes van 1,25 bij 1,5 m gemonsterd, 30 steken per veld, om de natuurlijke populatie concentratie per veldje te bepalen. Aan het eind van de proef is het aantal zieke en gezonde bollen geteld.

3.2.7. Invloed van de diepte van sclerotiëninoculum op het aantal aangetaste uienplanten.

Om na te gaan bij welke diepte sclerotiën uienziekte veroorzaken, is in onbesmette grond in Z.Flevopolder 12 kuilen gegraven van 75 x 60 cm, 25 cm diep en op een afstand van 40 cm achterelkaar. De oorspronkelijke aarde is daarna weer terug geworpen maar op verschillende niveau's is een 2 cm dikke, sclerotiënrijke (450 "Geluk" sclerotiën per kilo grond) laag aangebracht. De niveau's liggen op 0-2 cm, 5-7 cm, 10-12 cm, 15-17 cm en 20-22 cm onder het grondoppervlak. Elk niveau (en de blanco) is in duplo uitgevoerd. Daarna zijn 5 rijen uienplanten (cv. rivato) gezaaid waarvan drie rijen over de veldjes lopen. Er is bij het zaaien Propachloor en 14 dagen later Grammasone gespoten tegen het onkruid.

Ondanks het zo goed mogelijk aanstampen van de terug geworpen aarde in de kuilen, is de capillairewerking van de grond op sommige plaatsen verbroken. Dit, te samen met de droogte in de eerste twee maanden leidde tot grote groeiverschillen in de uienplanten.

Alleen die planten die op 24-6-80 groter dan 7 cm waren, zijn voor de berekening van de resultaten gebruikt. Hiervan is het percentage aantasting, de mate van aantasting en het gewicht van de bol^mbepaald. Bij de mate van aantasting werd er onderscheid gemaakt tussen matige -planten waarvan de bol nog vrij gaaf is, begroeid met mycelium met geen of weinig sclerotiën- en ernstige -planten waarvan de bol uitgedroogd en uitgeholt is en vol met sclerotiën zit- aantasting.

3.2.8. Invloed van verschillende voedingsbodems op de sclerotiëнкиeming.

Om te bestuderen of sclerotiëнкиeming beïnvloed wordt door exogene voedingsstoffen zoals in de voedsel "deprivatie" theorie wordt verondersteld, zijn \pm 60 ontsmette "Steenbergen" sclerotiën op PDA-agar en op water-agar gelegd. Eénkeer per week, drie weken lang, is het aantal gekiemde sclerotiën en het aantal sclerotiën waarbij na kieming secundaire sclerotiën zijn ontstaan, bepaald. Ook het kiemingspercentage van cultuursclerotiën op PDA-agar is bepaald om na te gaan of deze gelijk is aan natuurlijke sclerotiën.

3.2.9. Diekte en indirecte invloeden van uienolie op de kieming van gesteriliseerde sclerotiën.

Doel is om na te gaan of uienolie de sclerotiëнкиeming direct stimuleert of dat micro-organismen in de grond hierbij een rol spelen. De proef is uitgevoerd in comwayschalen met in de buitenste ring acht wateragar ponsjes (ϕ 12,5 mm, hoogt 8mm), waarop per ponsje één ontsmette "Steenbergen"-sclerotie, en in de binnenste ring óf 1 druppel (\pm 10 ul) uienolie 5%, óf 10 ul steriel water óf 10 ul uienolie 5% met 5 gram "Steenbergen" grond. Elke behandeling is in 10-voud gedaan bij 20°C. De proef heeft maximaal drie weken geduurd omdat op dat moment te veel verontreiniging uit de grond op de agarponsjes kwam.

Om de zeven dagen is het percentage gekiemde sclerotiën bepaald. De proef is herhaald met, naast 5%, ook 1% uienolie en daarna nogmaals met cultuursclerotiën.

3.2.10. Bestrijding van witrot in ui door middel van *Trichoderma harzianum* en *Coniothyrium minitans*.

T.harzianum is in kolven opgekweekt op gekookte, biologisch dynamische tarwe korrels. Na een maand is het mengsel gedroogd en fijn gehakt. Dit is op het veld gestrooid in de goten waarin later de uienzaden kwamen (14 gr/m²). In andere proefvelden, eveneens in de zaaigoten, is *C.minitans* gestrooid, die op gekookte rijst is opgekweekt. De proefvelden in Dirksland waren 1,5 bij 5,4 m groot. De proef is in viervoud gedaan. Voor het zaaien zijn grondmonsters genomen om de sclerotiedichtheid in de grond te bepalen. Bij de oogst is het aantal zieke en gezonde bollen geteld.

3.2.11. Vergelijking van methodes ("net zeven" of met een "elutriator") voor het verzamelen van sclerotiën uit grond.

Omdat er op het PAGV te Alkmaar een andere sclerotiën verzamel methode gebruikt wordt dan de eerder beschreven "nat zeven" methode van Merriman en Isaacs (1978), zijn deze methodes met elkaar vergeleken wat betreft de hoeveelheid gevonden sclerotiën en de kiemkracht van de sclerotiën na het verzamelen.

De PAGV-methode is als volgt; Aan 500 gr luchtdroge grond wordt water en een eetlepel natrium-oxalaat toegevoegd. Dit laatste bewerkstelligt dat de Ca-bruggen waarmee de kleideeltjes met elkaar zijn verbonden, verbroken worden. Na één uur wordt de grondoplossing in een zog.

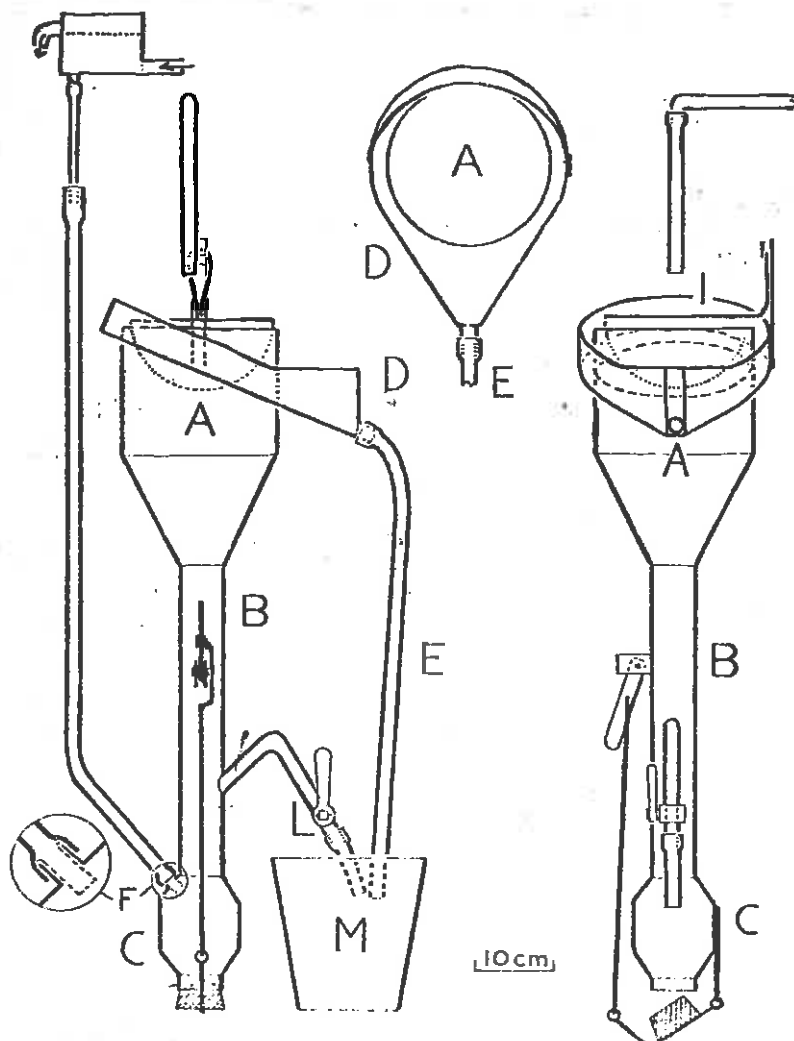


fig. 2. Diagram van een elutriator. Links en rechts van op zij gezien, middelste tekening van boven gezien, schaal 1:10. (uit Seinhorst 1964)

elutriator gebracht, een apparaat dat wordt gebruikt bij de scheiding van nematodencysten uit grondmonsters (Seinhorst 1964) (zie fig. 2). Het principe van de scheiding berust op het verschil in soortelijk gewicht van de gronddeeltjes en de sclerotiën. Door de opwaartse stroom van 3 cm/sec. (in buis B) blijven de sclerotiën drijven. Deze stroom wordt bereikt door een constante stroom water (3,2 liter/min.) onder in scheidings (F) in te laten. Het water stroomt vervolgens door de scheidingsbuis (B) en verlaat over de rand van (A) het apparaat. Via de kraag (D) en een buis (E) komt het op zeef (M) (maaswijdte 210 μ) terecht, waar de lichtere sclerotiën samen met lichte deeltjes achterblijven. De zwaardere sclerotiën blijven in deel A of in het bovenste deel van B zweven. De zware gronddeeltjes bezinken in C. Na twee minuten spoelen wordt de kraan (L) geopend waardoor alle zwevende deeltjes, waaronder de sclerotiën op de zeef (M) worden opgevangen. Na deze eerste scheiding vindt nog een fijnere scheiding plaats (Seinhorst 1974). Hierbij zorgt een geringe opwaartse stroom van een 1:1 mengsel ethanol 96% en tetrachloorkoolstof ervoor, dat alle deeltjes met een soortelijk gewicht van minder dan 1,200, via een verloopgedeelte, op een filtreerpapiertje in een Büchner-trechter opgevangen worden. Van zes bodem

Van zes bodemmonsters is het aantal gevonden sclerotiën vergeleken. Bovendien is gekeken naar de kiemkracht op PDA-agar van 75 sclerotiën om na te gaan of het tetra-chloor mengsel invloed heeft op de sclerotiën.

4. Resultaten

De proeven in Steenberg en Dirksland zijn mislukt omdat er zeer lage percentages met witrot geïnfecteerde uienplanten ($\pm 1,5\%$) zijn gevonden. Dit terwijl de sclerotiën-concentratie in de grond ± 25 sclerotiën/kilo grond bedroeg. Hierdoor waren geen statistisch significante verschillen in de verschillende proeven te bespeuren. De precieze resultaten van de proeven 4.2.b., 4.6.b. en 4.10. zijn niet bekend. Deze gegevens zijn te verkrijgen bij PAGV in Alkmaar.

4.1. Invloed van uienolie D746 op de kieming van "geluk" en "steenbergen" sclerotiën.

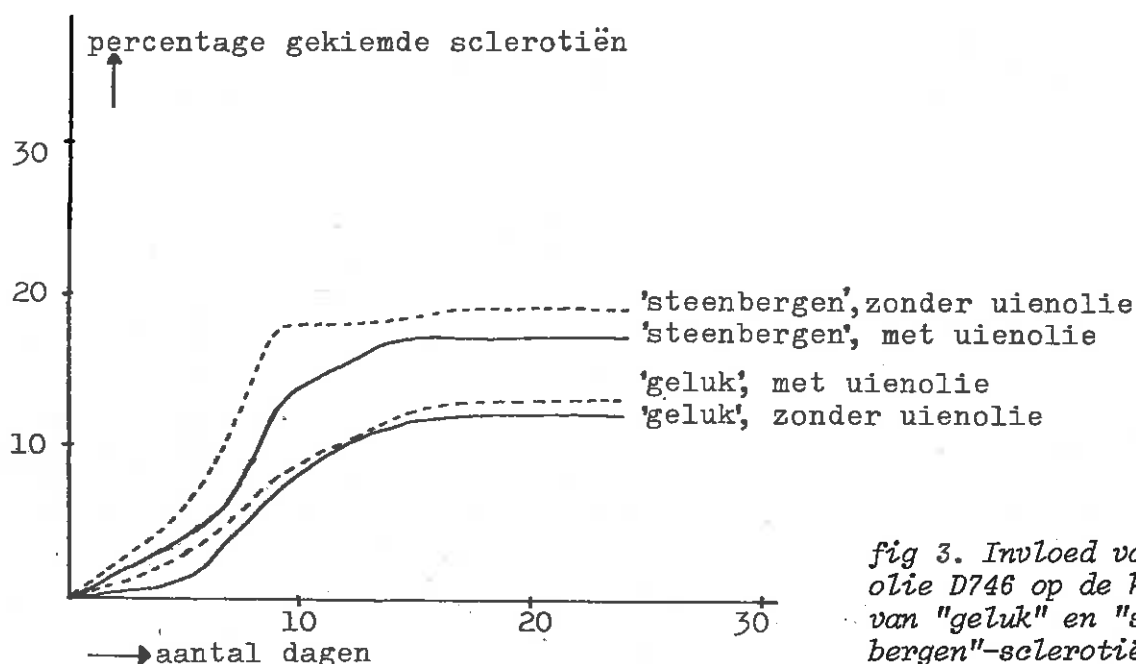


fig 3. Invloed van uienolie D746 op de kieming van "geluk" en "steenbergen"-sclerotiën.

Er is in comwayschalen geen invloed van 5%-uienolie D746 op de sclerotiënkieming gevonden.

De kiemingspercentages van "Steenbergen" en "Geluk" sclerotiën zijn bijna gelijk. Zonder uienolie toediening is het resp. 19% en 12%.

De kiemingspercentages van elke comwayschaal apart staan in bijlage 2.

4.2. De invloed van één jaar oude uienolie op de sclerotiënkieming en het aantal aangetaste uienplanten.

a) invloed op de sclerotiënkieming

Eén jaar oude 5%-uienolie C7713 stimuleert in comwayschalen de sclerotiënkieming niet (zie fig 4). Het percentage gekiemde sclerotiën is zelfs lager dan zonder uienolie maar dit is niet stat. significant verschillend (Wilcoxon toets).

De kiemingspercentages van elke comwayschaal apart staan in bijlage 3.

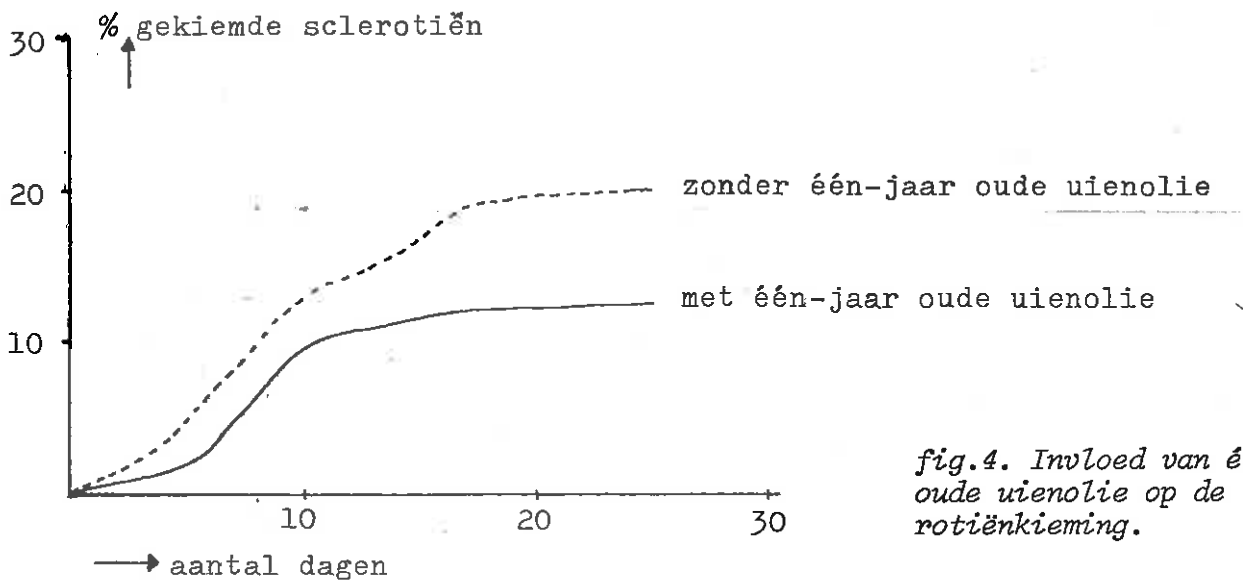


fig.4. Invloed van éénjaar oude uienolie op de sclerotiëнкиeming.

b) invloed op aantal aangetaste uienplanten

Deze proef, gedaan in Steenberg, is mislukt door de zeer lage percentage aangetaste uienplanten. De preciese resultaten van deze proef zijn niet bekend (zie inleiding).

4.3. De invloed van diallyldisulfide, uienwater en verschillende concentraties uienolie C7713 op de sclerotiëнкиeming in laboratoriumproeven.

a) invloed van uienwater en verschillende concentraties uienolie in comwayschalen

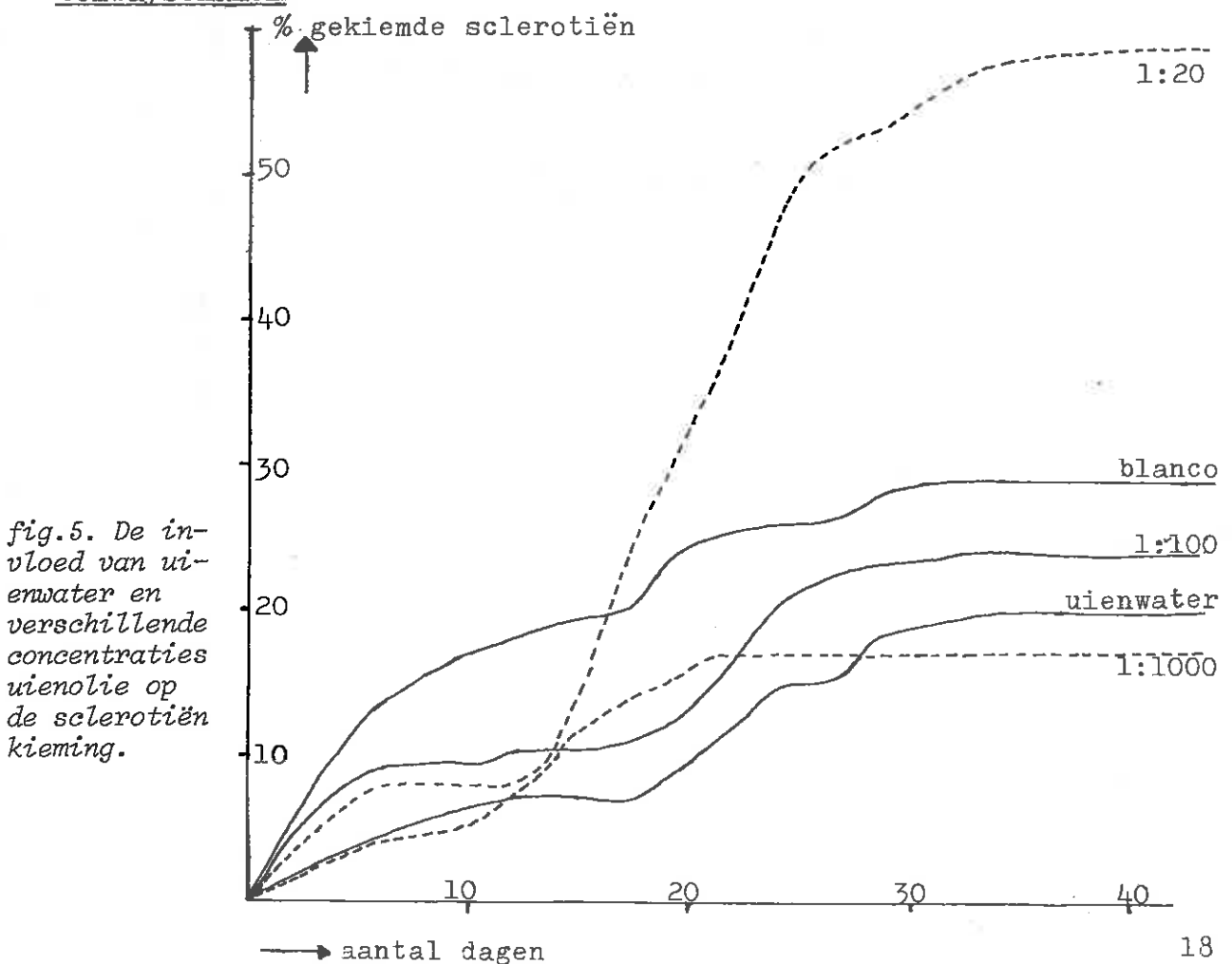


fig.5. De invloed van uienwater en verschillende concentraties uienolie op de sclerotiëнкиeming.

Toediening van 5%-uienolie oplossing stimuleert de kieming van sclerotiën in comwayschalen (zie fig.5). Bijna 60% van de sclerotiën kiemde terwijl bij géén uienolie toediening nog geen 30% kiemde (stat. significant verschil, ééNZ. overschr.kans 5%, Wilcoxon toets). Andere uienolie-concentraties toonde geen stimulerende werking. Bij uienwater (de waterfractie van 5% uienolie-oplossing) toediening kiemde 20% van de sclerotiën terwijl bij 5% uienolie-oplossing bijna 60% kiemde (stat. sign.verschil, ééNZ. overschr. <2,5%, Wilcoxon). De kiemingspercentages per comwayschaal per dag staan in bijlage 4.

b) invloed van diallyl-disulfide en verschillende concentraties uienolie in "grondbuizen"

behandeling	% harde sclerotiën
diallyl-disulfide	49
uienolie 5%	43
uienolie 1%	40
uienolie 0,1%	49
water (blanco)	57,5

tabel 1. Percentage overgebleven harde sclerotiën na behandeling met diallyl-disulfide en verschillende concentraties uienolie.

Aan het eind van deze proef is het aantal terug gevonden "harde" sclerotiën geteld. Aangenomen wordt dat dit overeenkomt met het aantal niet-gekiemde sclerotiën.

Behalve de 5% uienolie-oplossing, zoals in de comwayschalen, stimuleert 1% uienolie-oplossing nu ook de sclerotiëнкиeming (stat. sign. verschil, ééNZ. overschr. 5%, Wilcoxon-Y²toets). Bij diallyl-disulfide en 0,1% uienolie werden wel minder harde sclerotiën terug gevonden maar dit is niet significant verschillend met de blanco. Het percentage niet-gekiemde sclerotiën is lager dan in de comwayschalen proef.

De kiemings-percentages per buis staan in bijlage 5.

4.4. Invloed van verschillende concentraties uienolie c7713 op het aantal aangetaste uienplanten in het veld.

Ook hiervoor geldt dat, door de te lage percentages aangetaste uienplanten, er geen verschillen te zien waren bij wel of geen toediening van uienolie.

Voor gedetailleerde gegevens zie bijlage 6.

4.5. Invloed van herhaalde toediening van uienolie C7713, op verschillende tijdstippen na de eerste behandeling, op de sclerotiënkleming.

a) herhaalde toediening van uienolie in "grond buizen"

behandeling	tijdstip van meting in weken				
	2½	5	8	12	16
blanco					25
1 ^e uienolie injectie	48	33	36,5	28	31,5
1 ^e uienolie injectie+2 ^e na 2½ weken					25
1 ^e uienolie injectie+2 ^e na 5 weken					32
1 ^e uienolie injectie+2 ^e na 8 weken					30
1 ^e uienolie injectie+2 ^e na 12 weken					31

tabel 2. Percentage overgebleven harde sclerotiën na behandeling met 0, 1 of 2 keer met uienolie in "grond buizen".

Na 16 weken is er geen verschil zichtbaar van de invloed van uienolie, één of twee keer toegediend, op het percentage teruggevonden "harde" sclerotiën. Ook is er geen verschil met de onbehandelde sclerotiën. De percentages liggen allen tussen de 25 en 32 %. Deze percentages zijn lager dan die, die zijn gevonden in de vorige "grond buizen" proef (zie tabel 1). Voor meer gedetailleerde resultaten zie bijlage 7.

b) herhaalde toediening van uienolie in het veld

behandeling	% overgebleven sclerotiën
uienolie 0,1% 1x geïnjecteerd	113,5
uienolie 1% 1x geïnjecteerd	41
uienolie 0,1% 2x geïnjecteerd,	56
uienolie 1% 2x geïnjecteerd	42,5
uienolie 1% spuiten over de grond	60
onbehandeld	52,5

tabel 3. Percentage overgebleven sclerotiën na 0, 1 of 2 keer behandeling met uienolie in veld.

De sclerotiënpopulatie in onbehandelde grond, waar geen uienplanten op staan, neemt gedurende zes maanden met 50% af. Eén maal of twee maal injecteren van uienolie geeft een afname van sclerotiën te zien tussen de 40 en 60%, met uitzondering van uienolie 0,1%, 1x toegediend, waarbij de sclerotiën populatie niet afnam. Door de lage aantallen gevonden sclerotiën (zie bijlage 7) en de altijd mogelijke afwijkingen in de bepalingmethode, kunnen geen conclusies uit deze cijfers getrokken worden.

4.6. Invloed van sclerotiënconcentratie in grond op het aantal aangetaste uienplanten.

a) invloed van verschillende concentraties cultuursclerotiën

Ziekte symptomen in uienplanten in buizen in het Cantonspark werden al gevonden bij een concentratie van 2 sclerotiën per kilo grond. Door witrot gedode planten kwamen voor bij 64 of meer sclerotiën per kilo grond (zie tabel 4)

aantal sclerotiën per kilo grond	aantal gestorven planten	aantal zieke planten	aantal gezonde planten
0	-	-	10
1	-	-	10
2	-	2	8
4	-	5	5
8	-	4	6
16	-	5	5
32	-	7	3
64	1	7	2
90	1	5	3
128	4	4	2

tabel 4. Invloed van verschillende concentraties cultuursclerotiën op uienplanten

De metingen gedurende het groeiseizoen aan de lengte van de planten en aantal bladeren per plant is dus danig verstoord door de vraat van preimot, dat deze niet gebruikt kunnen worden om een correlatie hiermee met de concentratie sclerotiën in de grond, aan te tonen (zie bijlage 8).

b) invloed van natuurlijk besmette grond

In Steenberg is getracht een correlatie te vinden tussen het aantal, van nature in de grond aanwezige sclerotiën en het aantal aangetaste uienplanten. Van deze proef zijn geen gegevens (zie inleiding hfdst. 4) alleen is bekend dat de gem. sclerotiën concentratie 26 sclerotiën/kilo grond bedraagt. Dit gaf slechts 1,0% aangetaste uienplanten.

4.7. Invloed van de diepte van sclerotiëninoculum op het aantal aangetaste uienplanten.

Er is in de proefvelden (zie tabel 5) 90-93% van het oorspronkelijk aantal kiemplanten, na zo'n vijf maanden, teruggevonden als volwassen uienplant. Alleen in de proefvelden, waar de bovenste laag van twee centimeter uit sclerotiënrijke grond bestaat, werd slechts 72,5% van de uienplanten teruggevonden. Dit betekent dat er planten tijdens het groeiseizoen zijn afgestorven.

Bij de oppervlakte-inoculum laag was van de overgebleven planten ongeveer 51% ziek, ziekte die vaak in een vergevorderd stadium was. Bij de diepte 10-12 cm was 26% van de planten ziek, vaak nog in

diepte inoculum (cm)	aantal uienplanten	% teruggevonden planten	% zieke planten van de teruggevonden planten	mate van aantasting	gem. gewicht van uienbollen
blanco	138	93	0		32
20-22	54	91	0		26
15-17	77	90	1	m	35
10-12	97	91	26	$\frac{2}{3}$ m $\frac{1}{3}$ e	29
5-7	150	93	5	m	28
0-2	171	725	51	$\frac{2}{3}$ e $\frac{1}{3}$ m	35

m= matig, e= ernstig (zie bijl.9)

tabel 5. Invloed van verschillende dieptes sclerotiëninoculum op het percentage teruggevonden en zieke planten.

het beginstadium van aantasting. Diepte van 5-7 cm gaf 5% zieke planten te zien, 15-17 cm slechts 1% (= één plant). Een correlatie tussen gemiddeld bolgewicht en inoculum-diepte is niet gevonden, waarschijnlijk omdat dit erg afhankelijk is van de zaaiafstand die niet zo regelmatig was in deze proef. Voor meer gedetailleerde informatie zie bijlage 9.

4.8. Invloed van de verschillende voedingsbodems op de sclerotiënkleming.

aantal sclerotiën + soort	voedingsbodem	7 dagen		14 dagen		21 dagen	
		% gek.	% sec.	% gek.	% sec.	% gek.	% sec.
60 Steenbergen	PDA	78	0	80	78	-	-
64 Steenbergen	wateragar	23	0	50	0	59	0
50 cultuur	PDA	92	0	92	92	-	-

tabel 6. Percentage sclerotiënkleming en sec.-sclerotievorming op verschillende voedingsbodems.

Binnen zeven dagen kiemt bijna 80% van de "Steenbergen"-sclerotiën op PDA-agar terwijl op wateragar slechts 23% is gekiemd. (stat. sign. verschil, Y^2 -toets eenz. overschr. $< \frac{1}{2}$ %) Dit laatste kiemingspercentage neemt in het verloop van de tijd wel toe maar is na drie weken niet meer te volgen door verontreiniging van de agarschalen, door onvolkomen ontsmetting van de sclerotiën. Er worden op wateragar i.t.t. PDA-agar geen secundaire sclerotiën gevormd. Het kiemingspercentage van "cultuur"-sclerotiën op PDA is iets hoger dan van natuurlijke sclerotiën.

4.9. Indirekte en direkte invloed van uienolie op de kieming van gesteriliseerde sclerotiën.

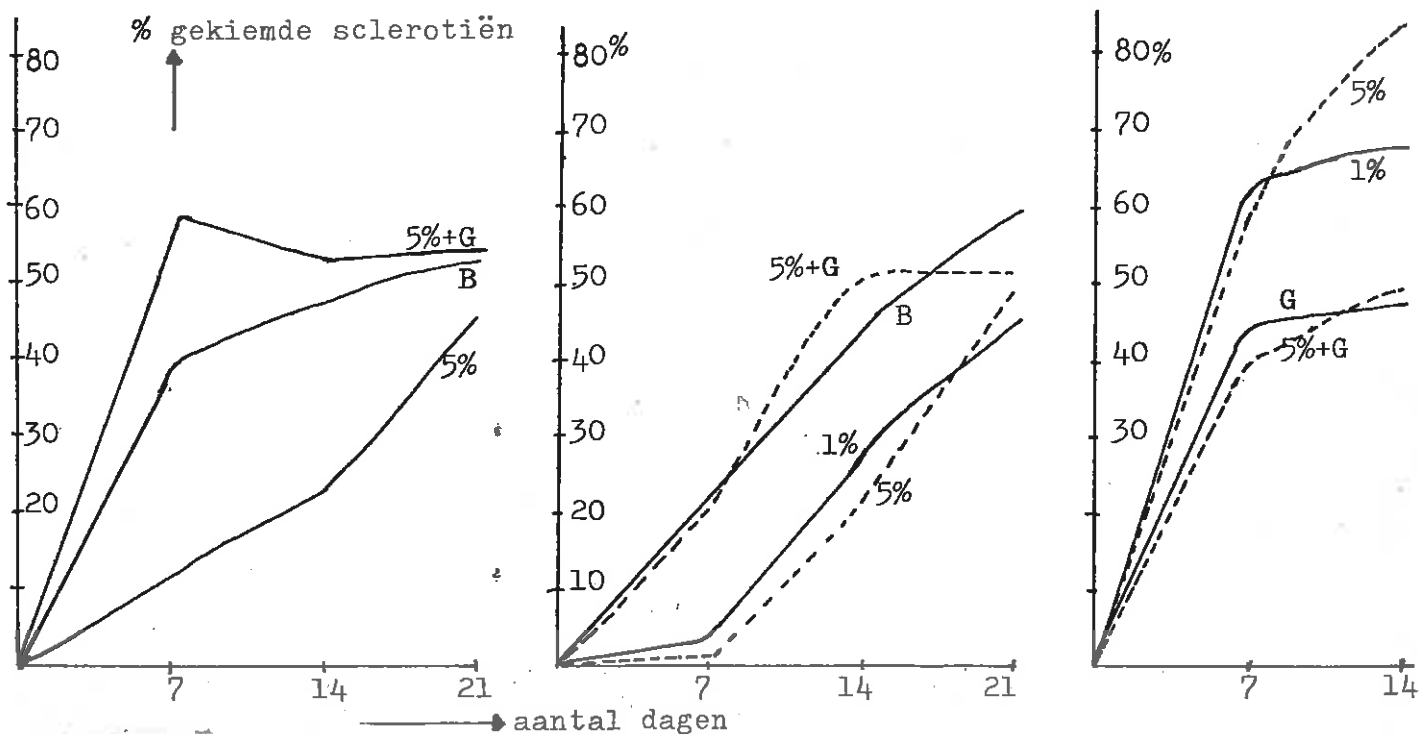


fig.6. Kiemingspercentages van sclerotiën o.i.v. vluchtige componenten van 1% en 5% uienolie (= 1% + 5%), van 5% uienolie met grond (= 5% + G) en water (= B). Fig. a en b met natuurlijk voorkomende sclerotiën, fig. c met cultuursclerotiën.

Zowel in fig. 6a als in de herhaling fig. 6b is te zien dat vluchtige componenten van uienolie een remmend effect hebben op de kieming van "Steenbergen"-sclerotiën in vergelijking met de blanco (gemeten na zeven dagen) (stat. sign. verschil, Wilcoxon eenz. overschr. $\frac{1}{2}\%$). De blanco en de uienolie waarvan componenten eventueel door micro-organismen uit de grond zijn omgezet, geven een ongeveer gelijk kiemings-percentage te zien.

Na 21 dagen liggen alle kiemings-percentages tussen de 45 en 60%. Dat de kiemings-percentages in fig 6b lager liggen dan in fig 6a komt door verschil in telmethodiek. Het kiemings beeld van sclerotiën op agar is moeilijk te bepalen maar binnen één proef is wel consequent geteld.

Bij "cultuur"-sclerotiën (fig. 6c) is ook geen verschil in kiemings-percentages o.i.v. water of 5%-uienolie + grond, gevonden. Maar er is nu stimulering door vluchtige componenten van 1% en 5% uienolie, zowel na 7 als na 14 dagen t.o.v. de blanco (stat. sign. verschil, Wilcoxon eenz. overschr. resp. $< 5\%$ en $\frac{1}{2}\%$). Kiemings-percentages van 65 tot 85% worden al na twee weken bereikt o.i.v. uienolie. Deze proef met "cultuur"-sclerotiën is maar één keer uitgevoerd.

4.10. Bestrijding van witrot in ui d.m.v. *Trichoderma harzianum* en *Coniothyrium minitans*.

Deze proef, gedaan in Dirksland is mislukt door de lage percentages aangetaste uienplanten. De preciese resultaten zijn niet bekend (zie inleiding hfdst. 4).

4.11. Vergelijking van methodes ("nat zeven" of met een "elutriator") voor het verzamelen van sclerotiën uit grond.

proefveld	"nat zeven"			"elutriator"
	harde	zachte	totaal	totaal
A20	44	15	59	52
A26	38	10	48	46
A27	58	28	86	91
A28	39	10	49	52
B 7	18	19	27	28
B24	53	32	85	87

tabel 7. Aantal gevonden sclerotiën na "nat zeven" en na spoelen in een "elutriator".

behandeling	sclerotiën	% kieming
"nat zeven"	harde	81,5
" "	zachte	37
" "	totaal	68,5
"elutriator"	totaal	72

tabel 8. Percentage gekiemde sclerotiën na "nat zeven" en na spoelen in een "elutriator".

Er is geen verschil tussen het aantal getelde sclerotiën, die op twee verschillende manieren uit de grond verzameld zijn (zie tabel 7). Wel blijkt dat in Alkmaar, doordat de sclerotiën droog geteld worden, er geen verschil wordt gemaakt tussen harde en zachte sclerotiën, waarvan de kiemings-percentages duidelijk anders zijn (zie tabel 8). Het tetra-chloor mengsel wat in Alkmaar wordt gebruikt heeft geen invloed op de sclerotiëнкиeming op agar (72% tegen 68,5% na "nat zeven")!

5. Discussie

Uienolie stimuleert in laboratoriumproeven de kieming van Sclerotium cepivorum sclerotiën in grond: 5% uienolie-water oplossing veroorzaakt in de comwayschalen proef 60% kieming van de sclerotiën tegen 30% in de controle schalen, 5% en 1% uienolie veroorzaakt in grond buizen proef resp. 60 en 57% kieming tegen 42,5% in de controle buizen. Bij deze laatste wordt er van uit gegaan dat alle verdwenen sclerotiën gekiemde sclerotiën zijn.

De resultaten van de comwayschalen proef verschillen met die van de grond-buizen proef, die (volgens Samson 1980) overeenkomen met de resultaten van veldproeven.

In eerder gedaan onderzoek vond men in comwayschalen stimulatie bij zowel 0,1%, 1% en 5% uienolieoplossing waarbij 0,1% de meeste kieming gaf (Samson 1980, Merriman ea. 1981). In veldproeven (Merriman ea. 1980) gaf 5% uienolieoplossing het meeste effect en 25% uienolie had geen effect. Het blijkt dus dat er uiteenlopende resultaten worden verkregen van reactie van sclerotiën op verschillende concentraties uienolie.

De grondstructuur, vochtigheid en temperatuur zijn waarschijnlijk van invloed op de verspreiding van uienolie in de grond. Dit te samen met de afstand van de sclerotium tot de plaats van injectie zijn de fysische factoren die de concentratie vluchtige uienolie-componenten, die de kieming stimuleren, beïnvloeden. Daarnaast zijn biotische factoren van belang zoals micro-organismen.

De comwayschalen zijn geen goede proefopstelling om deze natuurlijke veld condities na te bootsen. Redenen zijn: de andere grondstructuur, de andere microflora (het grondoppervlak is bedekt met mycelium draden), de toenemende grondvochtigheid (door verdamping van water in de binnenste ring gevolgd door condensatie tegen de deksel waarna het op de grond terecht komt) en omdat de sclerotiën maar voor de helft omringd zijn met grond.

Voor uienolie-concentratie onderzoek geeft veldonderzoek het meest reële beeld. Het is dan ook jammer dat de veldproeven in Dirksland en Steenbergens mislukt zijn doordat er zeer lage percentages met witrot geïnfecteerde uienplanten zijn gevonden (1%). De oorzaak hiervan is niet bekend. Misschien door klimatologische omstandigheden door het warme voorjaar en zeer natte zomer wat niet bevorderlijk werkt op sclerotiëнкиeming (Entwistle, Muasinghe 1978). De grond had een besmettingsgraad van gem. 0,026 sclerotiën/gram grond.

Uit de inoculum-concentratie proeven in Cantonspark in buizen in de grond, blijkt dat 0,002 sclerotiën/gram grond al infectie van uienplanten optreedt en dat bij 0,03 sclerotiën/gram al meer dan 50% infectie optreedt. Er is in deze proeven gewerkt met cultuursclerotiën die eerst drie maanden in grond hebben gezeten. Rekening moet dan gehouden worden met het feit dat deze sclerotiën een hoger kiemingspercentage hebben o.i.v. uienplanten en uien sap (>95%) dan natuurlijke sclerotiën (30-55%) in het veld (Coley-Smith 1976).

De gevonden inoculumconcentraties zijn zeer laag i.v.m. wat uit literatuur bekend is. Adams en Papavias (1971) vonden onder laboratorium condities dat 5 sclerotiën/gram grond 20% infectie bij zaailingen gaf en 25 sclerotiën/gram 60% infectie. Papavias (1972) rapporteerde van proeven gedaan met natuurlijk besmette grond met concentratie van 0-3,0 sclerotiën/gram. Hierbij werden in laboratorium 15 tot 42% van de zaailingen geïnfecteerd. In een geval zelfs 40% infectie van een grondmonster waarin geen sclerotiën waren gedetecteerd. Zelf be-

twijfelt hij dan ook in hoeverre zijn detectiemethode geschikt is. Utkede ea. (1978) vonden optreden van de ziekte in veldproeven bij concentraties ongeveer 10 maal hoger dan onze gevonden getallen nl. 0,02 en 0,25 sclerotiën/gram grond.

Het is niet mogelijk deze concentraties met elkaar te vergelijken in afwezigheid van gegevens die ook van invloed zijn zoals ph, vochtigheid, micro-organismen samenstelling en andere factoren die de bodem-ecosystemen bepalen.

Experiment waarbij herhaalde toediening van 5% uienolie oplossing plaats vond, is niet gelukt. Na 16 weken bleek zowel bij de blanco als bij de 1 maal en 2 maal toegediende uienolie \pm 70% gekiemd - cq. verdwenen- te zijn. De meest aannemelijke verklaring van de oorzaak van dit hoge kiemingspercentage is, dat bij het inzetten van de proef de grond, waarin de zakjes met sclerotiën bevonden, zeer stevig is aangestampt met een vijf kilo gewicht om een goede cappillaire werking te krijgen. Hierbij kunnen de sclerotiën beschadigd zijn. Wandbeschadiging van sclerotiën leidt tot onmiddellijke kieming (Coley-Smith 1960). In de andere grond-buizen proef (3.2.3b) is minder hard aangestampt.

In het veld leidde zowel nul, één als twee keer uienolie injectie tot tot 50% vermindering van de sclerotiënpopulatie in de grond behalve één keer injecteren met 0,1% uienolie-oplossing. Uit deze resultaten is niets te concluderen omdat het aantal gevonden sclerotiën zeer laag is (gem. 10 sclerotiën per pond grond).

Uienolie no D746 en één jaar oude uienolie gaven geen toename in sclerotiëнкиeming te zien. De één jaar oude uienolie was ook niet meer een heldere vloeistof, er bevond een troebele neerslag in. Eerder gevonden stimulatie van sclerotiën in het veld door diallyl-disulfide (Samson 1980, Merriman ea. 1981) is in het grond-buizen experiment ook gevonden maar niet stat. sign. verschillend.

De waterfractie, afkomstig van een 5% uienolie-water oplossing, stimuleert de sclerotiëнкиeming niet terwijl de 5% oplossing zelf dit wel doet. Dit betekent, omdat de uienolie snel gaat drijven en de essentiële stoffen niet in het water gedeelte gaan, dat vlak voor elke uienolie injectie de oplossing goed geschud moet worden. Dit is in het veld niet uitvoerbaar. Er moet dan ook naar een andere formulering worden gezocht.

De diepte van infectie (inoculum) heeft wel degelijk invloed op het aantal geïnfecteerde uienplanten. De ziekte werd gevonden in de zone van 0-15 cm. Dieper werd slechts éénmaal een zieke plant gevonden. De meeste aantasting en wegvallen van planten was in de oppervlakte laag. De infectie vond hier in een vroeg stadium plaats. Het ziektebeeld was dan ook vergevorderd, er was vaak weinig van de uienbol over.

Dat in de laag van 5-7 cm diepte minder infecties is opgetreden dan op 10-12 cm diepte is misschien te verklaren door klimatologische omstandigheden. Op het moment dat de worteltop door de 5-7 cm laag heen groeide was het midden zomer, dus hoge grond temperaturen, en erg vochtig. Dit werkt niet bevordelijk op sclerotiëнкиeming (Entwistle, Munasinghe 1978). De aantasting van de uienplanten veroorzaakt door de 10-12 cm laag, is nog in een vroeg stadium; de uienbol was nog gaaf. In eerder gedaan onderzoek bleek ook dat inoculum op diepte van 0-2 en 10-12 cm sterke invloed had op de ontwikkeling van de uienplant. De hoogte van de uienplant en het drooggewicht was sterk verminderd. Maar er waren ook sporen van aantasting gevonden in de 18-20 cm laag (Samson 1980).

In steriele omstandigheden in comwayschalen is gevonden dat ontsmette "cultuur"-sclerotiën in hun kieming gestimuleerd worden door zowel voedingsstoffen (PDA i.p.v. wateragar) als door vluchtige componenten

van uienolie. Ontsmette "natuurlijke" sclerotiën worden gestimuleerd door voedingsstoffen (PDA) maar geremd door vluchtige componenten van uienolie. Deze remming wordt opgeheven als grond aan de uienolie wordt toegevoegd die óf de remmende component omzet in een andere stof óf de uienolie absorbeert waardoor minder vluchtige componenten vrijkomen.

Coley-Smith e.a. (1967) hebben een vergelijkbaar onderzoek onder steriele condities gedaan. Hierbij bleek dat de ene cultuur-sclerotiën stam (J4) wel hogere kiemingspercentages gaf op PDA-agar i.v.m. water-agar maar een andere stam (J 11) niet. De conclusie van dit artikel, dat sclerotiën geen of weinig eisen hebben wat betreft externe toegevoegde voedingsstoffen, lijkt dan ook wat voorbarig.

Ze hebben daarnaast de invloed van uiensap op de sclerotieënkieming getoetst. Geconcludeerd werd dat uiensap in steriele omstandigheden geen specifiek effect heeft. Hierbij twee opmerkingen over de proefopstelling: 1) er is gewerkt met "cultuur"-sclerotieën die, zoals boven te zien is, anders kunnen reageren dan "natuurlijke"-sclerotieën 2) er is uiensap aan de agar toegevoegd en niet ruimtelijk gescheiden gehouden van de sclerotium; deze kan dan functioneren als voedingsstof. Ook al zou deze laatste conclusie juist zijn dan is het m.i. onterecht de volgende conclusie te trekken, dat de stimulerende werking van uiensap op de sclerotieënkieming in niet-steriele grond niet direct is maar indirect, door de remmende werking van micro-organismen op de sclerotieënkieming op te heffen. (Coley-Smith ea. 1967, 1968). Van hun zelf (King, Coley-Smith 1968, 1969b) is de theorie afkomstig en bewezen, dat uiensap eerst in de grond door micro-organismen moet worden omgeven dat van die stof(fen) van belang is te weten of ze een specifiek stimulerend effect hebben op de sclerotieënkieming. Dit is door hun niet onderzocht.

Zowel bij "nat-zeven" methode als met de "elutriator" zijn evenveel sclerotieën geteld. De kiemkracht van de sclerotieën na behandeling is gelijk. Voordeel van de elutriator is de enorme tijdwinst. Nadelen zijn de hogere kosten van de apparatuur en het werken met tetrachloorkoolstof. Inhaleren hiervan is zeer giftig voor mensen. Misschien is het mogelijk om i.p.v. met tetrachloor te werken, te doen met 0,25% NClO -oplossing (Papavizas 1972) of 2,5 M sucrose-oplossing (Utkede, Rahe 1979).

De ontwikkeling van de bestrijding van witrot met uienolie is nog steeds in een beginstadium. Toch zijn er positieve resultaten te verwachten en is het, ook omdat het een goedkoop middel is, van belang dat het onderzoek wordt voortgezet. Dit belang is niet alleen voor de S. cepivorum-bestrijding maar ook voor de bestrijding van andere ziekte veroorzakers die op ongeveer gelijke manier, meer of minder specifiek, reageren op hun "hostplant" zoals de schimmels Stromatinia gladioli (Jeves, Coley-Smith 1980), Verticillium dahliae, Macrophymina phaseolina, maar ook de niet-schimmel Heterodera rostochiensis (Coley Smith 1976, Jeves, Coley-Smith 1980).

Voor de ontwikkeling van uienrot d.m.v. uienolie is allereerst nodig dat er een goed oplosmiddel wordt gevonden. Met water blijkt uienolie zich niet te vermengen zodat constant geschud moet worden. Dit is in het veld niet uitvoerbaar. Een andere formulering moet gezocht worden. Het is van belang dat er veldproeven worden gedaan om de optimale concentratie uienolie te bepalen en het effect van herhaalde toediening van deze uienolie. Misschien is het mogelijk dat dit op het veld van boer Geluk kan, waar een hoge besmettingsgraad is (+ 0,45 sclerotieën per gram grond). Comwayschalen-proeven hebben geen zin omdat het on-

mogelijk is om alle abiotische en biotische factoren die in het veld een rol spelen, na te bootsen. De "grondbuizen"-proefopzet is dan beter en geschikt om herhaalde toediening van uienolie kwalitatief te toetsen.

Ook zou uit veldgegevens de invloed van sclerotiën-concentratie op het aantal aangetaste uienplanten moeten worden nagegaan. Tegelijk moeten gegevens van klimatologische omstandigheden, grondstructuur en micro-organismen samenstelling worden vermeld.

Onderzoek naar de invloed van de diepte in de grond van sclerotiën op het aantal aangetaste uienplanten, moet nog een keer herhaald worden. Dit kan op dezelfde manier worden opgezet als hier beschreven is. Alleen dient opgelet te worden dat de capillaire werking in de grond op het moment van zaaien niet verbroken is, door b.v. de kuilen tijdig te graven. Als er niet regelmatig gezaaid is heeft het wegen van de uienbol op het eind van de proef, geen nut.

Naast deze veldproeven is het belangrijk dat er laboratorium onderzoek wordt gedaan naar de preciese werking van uien-olie en -sap en micro-organismen op de sclerotiëнкиeming (zie fig.1). Micro-organismen kunnen volgens de "nutrient deprivation" theorie de kieming van sclerotiën remmen door het onttrekken van voedingsstoffen. Onderzoek naar de invloed van voedingsstoffen op de kieming van sclerotiën is in dit verband van belang. Deze stoffen moeten aan de agar worden toegevoegd; hierop kunnen zowel "natuurlijke"-sclerotiën als "cultuur"-sclerotiën ^{worden} gelegd onder volkomen steriele omstandigheden.

Om te onderzoeken of uienolie (sap) nu direct op de sclerotiëнкиeming inwerkt of indirect, via opheffen van de remmende invloed van micro-organismen (mycostase), is het belangrijk dat de proeven in comway-schalen met agarponsjes herhaald worden. Dit moet dan zowel met "natuurlijke"-sclerotiën als met "cultuur"-sclerotiën; zowel met uienolie als met uien-sap; zowel met alléén uienolie (-sap) (conc. 5%, 1% +00,1%) als met "niet-steriele grond" toediening aan uienolie (-sap) (dan ook een hoge conc. nemen b.v. 20% uienolie).

Hiervoor moet dan wel eerst een goed sclerotiën-ontsmettingsmiddel worden gevonden. De hier gebruikte ontsmettingsmethode was te weinig effectief (zie hiervoor ook Utkude, Rahe 1979 en Papavizas 1972). Bovendien moet er iets op worden gevonden dat er geen mycelium-draden uit de grond in de binnenste ring van de comwayschaal, naar de agarponsjes kan groeien.

Een andere mogelijke proefopstelling zou "leaching-systeem" zijn waarbij een natuurlijk "nutrient sink" wordt nagebootst. Cultuursclerotiën gaan onder invloed hiervan kiemen (Hsu, Lockwood 1973, Lockwood 1979, Ko, Lockwood 1967). Invloed van uienolie in zo'n systeem zou kunnen worden nagegaan. Daar de laatste twee proeven, invloed van uienolie, uien-sap en voedingsstoffen op sclerotiëнкиeming, erg lijken op een onderzoek van Coley-Smith e.a. (1967) is het raadzaam om dit artikel eerst kritisch te bestuderen!

6. Literatuur

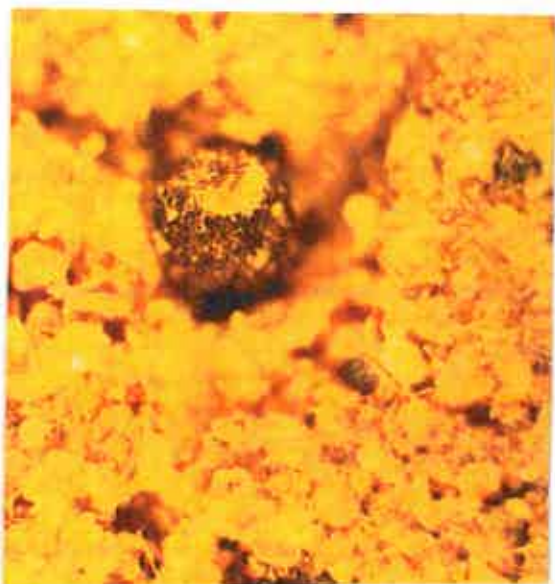
- ABD-EL-MOITY T.H. 1980, Biological control of White rot disease of onion and screening onion varieties on resistance to S. cepivorum, the causal organism of white rot disease. Manuscript
- ABD-EL-MOITY T.H., SHATLA M.N. 1979, Biological control of white rot of onion (S. cepivorum Berk.) by Trichoderma harzianum Rifaiaggr. Abstr. 3rd int. congres Pl.Path. (W. Laux, Ed.) P.Parey, Berlin and Hamburg.
- ADAMS P.B., PAPAVIDAS G.C. 1971, Effect of inoculum density of S. cepivorum and some environmental factors on disease severity. Phytopathologie vol 61:1253-1256.
- AHMED A.H.M., TRIBE H.T. 1977, Biological control of white rot of onion (S. cepivorum) by Coniothyrium minitans. Plant Pathology 26:75-78.
- ANONYMUS 1978 Gids voor ziekte en onkruidbestrijding. Ministerie van Landbouw en Visserij- Plantenziektkundige Dienst, Wageningen.
- BACKMAN P.A., RODRIGUES-KABANA R. 1975, A system for the growth and delivery of biological control agents to the soil. Phytopathology 65: 819-821.
- COLEY-SMITH J.R. 1959, Studies of the biology of S. cepivorum Berk. III Host range: persistence and viability of sclerotia. Ann.appl. Biol. 47 (3) 511-518.
- COLEY-SMITH J.R. 1960, Studies of the biology of S. cepivorum Berk. IV Germination of sclerotia. Ann.Appl.Biol. 48 (1),8-18.
- COLEY-SMITH J.R. 1976, Some interactions in soil between plants, sclerotium-forming fungi and other micro-organisms. In Biochemical aspects of plant-parasitic relationship, (Friend I., Thoelfall D.R. eds.) Academic Press, New York and London.
- COLEY-SMITH J.R. 1979, Survival of plant-pathogenic fungi in soil in the absence of hostplant. In: Soil-borne plant pathogens (Schippers B. Gams W. eds.) Academic press, London, New York, San Francisco.
- COLEY-SMITH J.R., DICKINSON D.J. 1971, Effects of sclerotia of S. cepivorum on soil bacteria. The nature of substances exuded by sclerotia. Soil Biol.Biochem. 3:27-32.
- COLEY-SMITH J.R., DICKINSON D.J., KING J.E., HOLT R.W. 1968, The effect of species of Allium on soil bacteria in relation to germination of sclerotia of S. cepivorum Berk. Ann. Appl. Biol. 62:103-111.
- COLEY-SMITH J.R., GHAFFAR A., JAVED Z.U.R. 1974, The effect of dry conditions on subsequent leakage and rotting of fungal sclerotia. Soil Biol.Biochem. 6:307-312.
- COLEY-SMITH J.R., HICKMAN C.J. 1957, Stimulation of sclerotium germination in S. cepivorum Berk. Nature 180:445 only.
- COLEY-SMITH J.R., HOLT R.W. 1966, The effect of species of Allium on germination in soil of sclerotia of S. cepivorum Berk. Ann.appl. Biol. 58:273-278.
- COLEY-SMITH J.R., KING J.E. 1969, The production by species of Allium of alkyl sulphides and their effect on germination of sclerotia of S. cepivorum Berk. Ann.Appl.Biol. 64:289-301.
- COLEY-SMITH J.R., KING J.E., DICKINSON D.J., HOLT R.W. 1967, Germination of sclerotia of S. cepivorum Berk. under aseptic conditions. Ann.Appl.Biol. 60:109-115.
- DICKINSON D.J., COLEY-SMITH J.R. 1970, Stimulation of soil bacteria by sclerotia of S. cepivorum Berk. in relation to fungistasis.

- Soil Biol.Biochem. 2:157-162.
- ENTWISTLE A.R., MUNASINGHE H.L. 1978, Epidemiology and control of white rot disease of onions. In: Plant Disease Epidemiology (Scott P.R. and Bainbridge A. eds.) Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- GARRETT S.D. 1958, Inoculum potential as a factor limiting lethal action by Trichoderma viride on Armillaria mellea Quel. Trans.Brit.mycol. Soc.41(2):157-164.
- GHAFFER A. 1969a, Biological control of white rot of onion: I Interactions of soil microorganismes with S.cepivorum Berk. Mycopath. et Mycol.appl. 38:101-111.
- GHAFFAR A. 1969b, Biological control of white rot of onion: II Effectiveness of Penicilium nigricans (Bain) Thom. Mycopath.et Mycol. appl. 38:113-127.
- HSU S.C., LOCKWOOD J.L. 1973, Soil fungistasis: Behavior of nutrient-independent spores and sclerotia in a model system. Phytopathologie 63:334-337.
- JEVES T.M., COLEY-SMITH J.R. 1980, Germination of sclerotia of Stromatinia gladioli. Trans. Br.mycol.Soc.74(1):13-18.
- KING J.E., COLEY-SMITH J.R. 1968, Effects of volatile products of Allium species and their extracts on germination of sclerotia of S.cepivorum Berk. Ann.Appl. Biol. 61:407-414.
- KING J.E., COLEY-SMITH J.R. 1969a, Suppression of sclerotial germination in S.cepivorum Berk. by water expressed from soils. Soil Biol. Biochem. 1:83-87.
- KING J.E., COLEY-SMITH J.R. 1969b, Production of volatile alkyl sulphides by micro-biol. degradation of synthetic alliin and alliin-like compounds, in relation to germination of sclerotia of S.cepivorum. Ann.Appl.Biol. 64:303-314.
- KO W.H., LOCKWOOD J.L. 1967, Soilfungistasis: Relation to fungal spore nutrition. Phytopathology 57:894-901.
- KOOMEN J.P.(ed.) 1977, Teelt van zaaiuien, teelthandleiding. PAGV Lelystad, Alkmaar. 52 blz.
- LOCKWOOD J.L. 1979, Soilmycostasis: concluding synthesis. In: Soil-borne plant pathogens (Schippers B., Gams W. eds.) Academic press, London, New York, San Francisco.
- MATHUR S.B., SARBHOY A.K. 1979, Biological control of Sclerotium root rot of sugarbeet. Review of Plantpath. 59 (5) no 2390, Indian Phytopath. 31:365-367.
- MERRIMAN P.R., ISAACS S. 1978, Evaluation of onions as a trap crop for S.cepivorum. Soil Biol.Biochem. 10:339-340. (short communication)
- MERRIMAN P.R., ISAACS S. 1979, The evaluation of onion oil as a treatment for control of S.cepivorum in onions. Soil Biol.Biochem. ? .
- MERRIMAN P.R., ISAACS S., MACGREGOR R.R., TOWERS G.B. 1980, Control of white rot (S.cepivorum) in onions with synthetic onion oil. Ann.appl.Biol. 96:163-168.
- MERRIMAN P.R., SAMSON I.M., SCHIPPERS B. 1981 (in press), Factors affecting artificial onion oil as a treatment for white rot (S.cepivorum) in dry bulb onions. Neth. J.Pl.Path.87:... .
- MERRIMAN P.R., SUTHERLAND J.L. 1978, Studies on control of S.cepivorum in onions. Austr. Plant Path. 7(3):29-30.
- PAPAVIZAS G.C. 1972, Isolation and enumeration of propagules of S.cepivorum from soil. Phytopathology 62:545-549.
- PAPAVIZAS G.C. 1977, Survival of sclerotia of Macrophomina phaseoli and S.cepivorum after drying and wetting treatments. Soil Biol.Biochem. 9:343-348.
- SAMSON I.M. 1980, Het effect van synthetische uienolie op de kieming van sclerotien in grond van S.cepivorum berk. Verslag doctoraal onderwerp, Baarn.

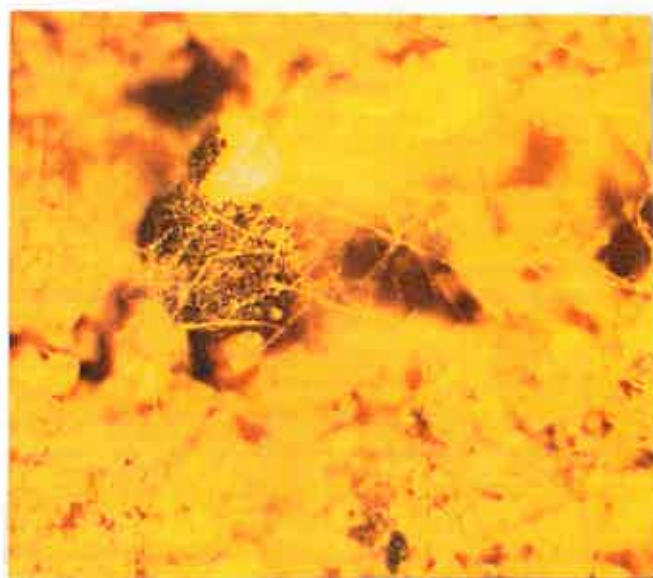
- SCHEFFER R. 1979, Overleving en bestrijding van sclerotiën van pathogene sclerotium- en sclerotinia-species in grond. Scriptie WCS, Baarn.
- SCOTT M.R. 1956a, Studies of the biology of S.cepivorum: I Growth of the mycelium in soil. Ann.appl.Biol. 44:576-583.
- SCOTT M.R. 1956b, Studies of the biology of S.cepivorum: II The spread of white rot from plant to plant. Ann.appl. Biol. 44:584-589.
- SEINHORST J.W. 1964, Methods for the extraction of Heterodera cysts from not previously dried soil samples. Nematologica 10:87-94
- SEINHORST J.W. 1974, Separation of Heterodera cysts from dry organic debris using ethanol. Nematologica 20:367-368 (short communication)
- SMITH A.M. 1972, Biological control of fungal sclerotia in soil. Soil Biol.Biochem. 4:131-134.
- TARABEIH A.M., ABOU-EL-FADL 1979, Effect of Sclerotinia sclerotiorum on the volatile oil content of some medicinal plants. Acta Phytop. Acad.Scient.Hunga. 14:31-35.
- TURNER G.J., TRIBE H.T. 1976, On Coniothyrium minitans and its parasitism of Sclerotinia species. Trans Br. mycol.Soc. 66:97-105.
- UTKHEDE R.S., RAHE J.E. 1978, Screening commercial onion cultivars for resistance to white rot. Phytopathology 68:1080-1083.
- UTKHEDE R.S., RAHE J.E. 1979, Wet-sieving floatation for isolation of sclerotia of S.cepivorum from muck soil. Phytopathology 69:295-297
- UTKHEDE R.S., RAHE J.E. 1980a, Stability of cultivar resistance to onion white rot. Can.Journal of Plant Path. 2:19-22.
- UTKHEDE R.S., RAHE J.E. 1980b, Biological control of onion white rot. Soil Biol.Biochem. 12:101-104.
- UTKHEDE R.S., RAHE J.E., ORMROD D.J. 1978, Occurrence of S.cepivorum sclerotia in commercial onion farm soils in relation to disease development. Plant Dis.Rep. 62:no 12.
- WALKER J.C., 1969 Plant Pathology. McGraw-Hill Book Company, USA. 819 blz.
- WELTS H.D., BELL D.K., JAWORSKI C.A. 1972, Efficacy of Trichoderma harzianum as a biocontrol for Sclerotium rolfsii. Phytopathology 62:442-447.
- WIJVEKATE M.L. 1972, Verklarende statistiek. Aula pocket no 39 Utrecht Antwerpen.

7. Bijlagen

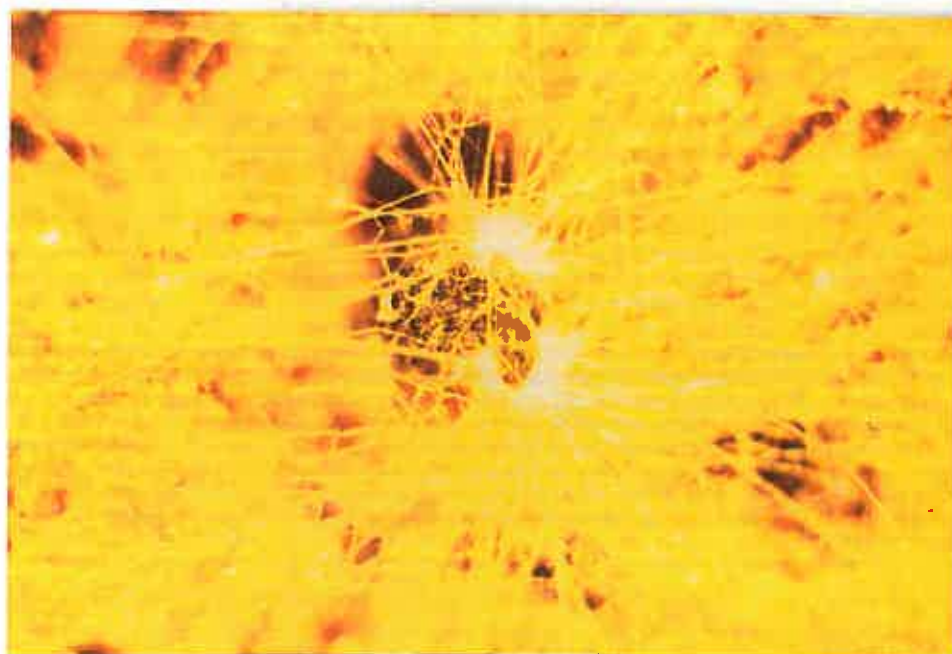
BIJLAGE 1. Foto's van kiemende sclerotiën op grond en een foto van door witrot aangetaste wienbollen.



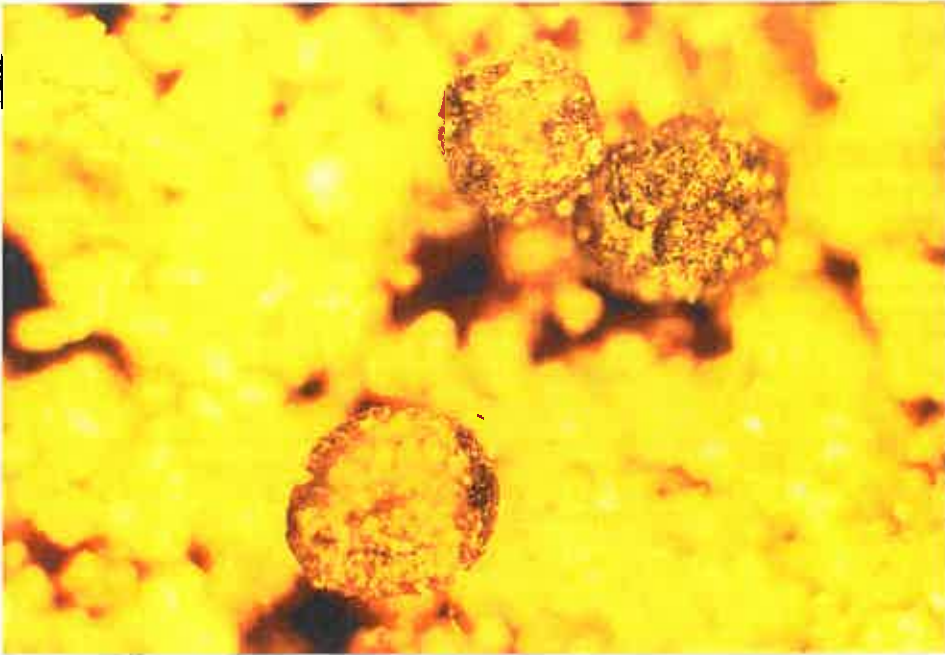
Een net gekiemd sclerotium



-myceliumdraden gaan uitgroeien

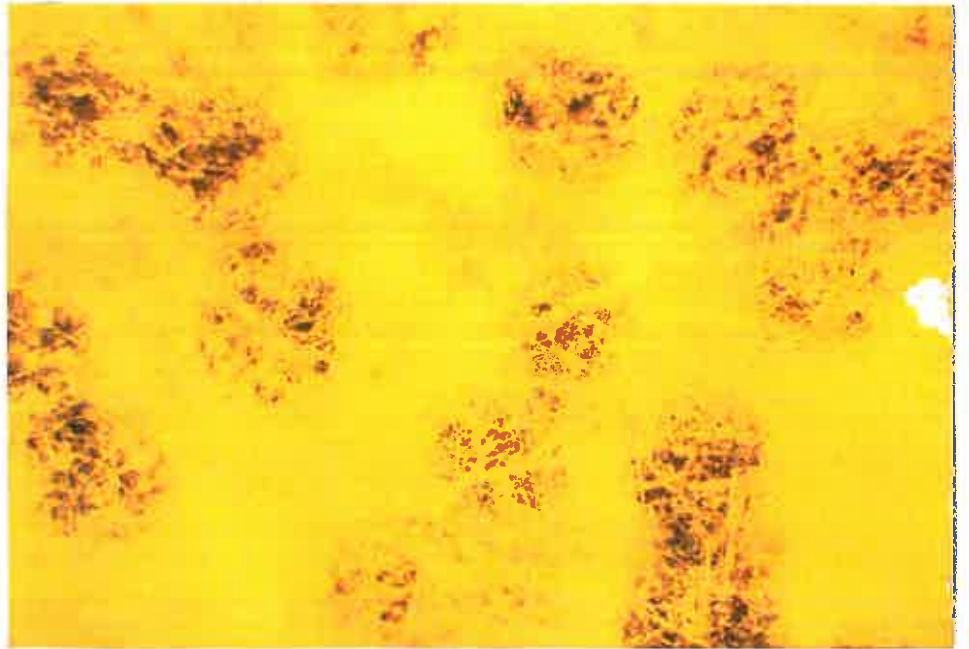


sclerotium die aan twee kanten is opengebarsten



ongekiemde sclerotiën

sclerotiën overgroeid
met mycelium (op agar)



door witrot aangetaste
uienbollen

BIJLAGE 2. Invloed van uienolie D746 op de kieming van "geluk" en "steenbergen" sclerotiën.

soort sclerotiën	met of zonder uienolie	schaal no.	aantal gekiemde sclerotiën						
			aantal dagen						
			5	7	9	12	14	19	24
geluk	zonder	1	0	1	1	1	1	1	1
"	"	2	0	0	0	0	0	0	0
"	"	3	1	2	2	4	5	5	5
"	"	4	0	1	2	2	3	3	3
"	"	5	0	0	2	3	3	3	3
"	"	totaal	1	4	7	10	12	12	12
geluk	met	1	1	1	1	1	1	1	1
"	"	2	0	0	0	1	1	2	2
"	"	3	0	2	2	2	4	4	4
"	"	4	1	1	4	5	5	5	5
"	"	5	1	1	1	1	1	1	1
"	"	totaal	3	5	8	10	12	13	13
steenbergen	zonder	1	0	0	1	1	1	1	1
"	"	2	4	6	7	7	7	7	7
"	"	3	1	2	2	2	2	2	2
"	"	4	0	0	2	2	3	3	3
"	"	5	1	4	6	6	6	6	6
"	"	totaal	6	12	18	18	19	19	19
steenbergen	met	1	1	2	2	3	3	3	3
"	"	2	1	1	3	3	4	4	4
"	"	3	0	1	3	3	3	3	3
"	"	4	1	2	3	4	4	4	4
"	"	5	1	1	2	2	3	3	3
"	"	totaal	4	7	13	15	17	17	17

BIJLAGE 3. Invloed van éénjaar oude uienolie op de "geluk" sclerotiënkieming

schaal no.	met of zonder uienolie	aantal gekiemde "geluk"sclerotiën						
		aantal dagen						
		5	7	10	14	17	19	25
1	met	0	0	1	1	1	1	1
2	"	0	1	3	3	3	3	3
3	"	0	2	2	2	2	2	2
4	"	0	0	0	0	1	1	1
5	"	2	2	4	5	5	5	5
totaal	"	2	5	10	11	12	12	12
1	zonder	1	2	3	5	5	5	6
2	"	2	3	5	5	6	6	6
3	"	0	0	1	2	2	2	2
4	"	2	3	4	4	4	5	5
5	"	0	0	0	0	1	1	1
totaal	"	5	8	13	16	18	19	20

BIJLAGE 4. Invloed van uienwater en verschillende concentraties uienolie op de sclerotiënkieming in comwayschalen.

behandeling	schaal no.	aantal gekiemde "Geluk"-sclerotiën											
		aantal dagen											
		6	10	12	14	17	19	21	24	26	28	34	44
uienolie 5%	1	2	2	2	2	3	6	7	8	11	11	13	13
	2	2	3	3	5	6	7	7	7	7	7	7	7
	3	0	0	0	0	2	2	5	7	8	8	9	9
	4	0	0	0	0	3	4	6	14	14	14	16	16
	5	3	3	3	4	10	11	11	12	12	13	13	14
	totaal		8	8	8	11	24	30	36	48	52	53	58
uienolie 1%	1	0	0	0	0	0	0	-	4	4	5	5	5
	2	2	2	3	3	3	3	-	5	6	6	6	6
	3	0	0	0	0	0	0	-	1	1	1	1	1
	4	5	5	5	5	6	7	-	7	7	-	8	8
	5	2	2	2	2	2	2	-	4	4	4	4	4
	totaal		9	9	10	10	11	12	-	21	22	23	24
uienolie 0,1%	1	0	0	1	2	4	4	5	5	5	5	5	5
	2	0	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	3	1	1	1	2	2	2	3	3	3	3	3	3
	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	5	1	1	2	3	4	5	5	5	5	5	5	5
	totaal		4	5	8	11	14	15	17	17	17	17	17
uienwater	1	0	2	2	2	2	2	-	2	2	2	2	2
	2	0	0	0	0	0	0	-	3	3	3	3	3
	3	3	3	4	4	4	4	-	4	4	4	4	4
	4	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	1	1
	5	1	1	1	1	1	3	-	6	6	9	10	10
	totaal		4	6	7	7	7	9	-	15	15	18	19
blanco	1	6	8	8	8	8	8	8	8	8	8	9	9
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3
	3	0	0	0	0	1	2	3	3	3	3	3	3
	4	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	5	1	1	2	3	3	6	6	7	7	8	8	8
	totaal		14	17	18	19	20	24	25	26	26	28	29

BIJLAGE 5. Invloed van diallyldisulfide en verschillende con. uienolie op de sclerotiënkieming.

behandeling	aantal harde sclerotiën per buis					
uienolie 5%	13	14	10	4	8	
uienolie 1%	11	8	5	10	9	
uienolie 0,1%	9	3	9	8	11	
diallyldisulfide	8	10	4	13	14	
water (blanco)	12	11	14	13	8	11

BIJLAGE 6. Invloed van verschillende concentraties uienolie op het aantal aangetaste uienplanten in het veld.

aantal sclerotiën/kilogram grond	blanco	0,1%	1%	2%
3	0			
4				3
5	0 en 4	6		
6		6		
7			3	2
10		0		
11		2		
14	0,3			0,3
15			1	
19			1	
20	0,8			
21			1	
23	1			
32	1			
39				1
53	2			

BIJLAGE 7. De invloed van herhaalde toediening van uienolie op de sclerotiënkieming.

BIJLAGE 7a: in "grondbuizen".

behandeling	tijdstip van meting in weken	aantal harde sclerotiën per zakje					
geen	16	2	5	6	5	6	6
1x uienolie injectie	2½	6	12	8	9	13	-
„ „	5	6	4	9	4	12	5
„ „	8	8	6	8	5	6	11
„ „	12	6	3	4	7	9	5
„ „	16	3	6	10	7	4	8
1 ^e injectie + 2 ^e na 2½ weken	16	5	8	3	4	8	2
„ „ 5 „	16	9	9	7	6	3	5
„ „ 8 „	16	6	6	3	5	9	7
„ „ 16 „	16	7	10	2	4	5	9

BIJLAGE 6. Invloed van verschillende concentraties uienolie op het aantal aangetaste uienplanten in het veld.

aantal sclerotien/kilo grond	blanco	0,1%	1%	2%
3	0			
4				3
5	0 en 4	6		
6		6		
7			3	2
10		0		
11		2		
14	0,3			0,3
15			1	
19			1	
20	0,8			
21			1	
23	1			
32	1			
39				1
53	2			

BIJLAGE 7. De invloed van herhaalde toediening van uienolie op de sclerotienkieming.

BIJLAGE 7a: in "grondbuizen"

behandeling	tijdstip van meting in weken	aantal harde sclerotien per zakje					
geen	16	2	5	6	5	6	6
1x uienolie injectie	2½	6	12	8	9	13	-
„ „	5	6	4	9	4	12	5
„ „	8	8	6	8	5	6	11
„ „	12	6	3	4	7	9	5
„ „	16	3	6	10	7	4	8
1 ^e injectie + 2 ^e na 2½ weken	16	5	8	3	4	8	2
„ „ 5 „	16	9	9	7	6	3	5
„ „ 8 „	16	6	6	3	5	9	7
„ „ 16 „	16	7	10	2	4	5	9

BIJLAGE 7b: in het veld

behandeling	veld a				veld b				veld c				veld d			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
1 uienolie 0,1%	8	7	7	7	7	17	9	5	9	7	29	11	15	12	18	19
1 uienolie 1%	9	2	5	6	9	8	2	4	20	8	10	7	25	9	23	6
2 uienolie 0,1%	3	11	8	2	8	4	2	4	19	13	9	12	2	7	2	0
2 uienolie 1%	6	11	9	5	24	12	7	8	10	16	9	4	7	10	5	3
uienolie spuiten	5	2	7	4	13	7	5	5	7	9	7	7	15	20	12	8
onbehandeld	3	3	2	1	15	11	11	7	16	10	7	10	6	1	3	3

a= 15 april, b= 17 juni, c= 13 augustus, d= 6 oktober

BIJLAGE 8. Invloed van verschillende sclerotiënconcentraties op de gemiddelde lengte en gemiddelde aantal bladeren van uienplanten.

aantal sclerotiën per kilo grond	gem. lengte v. uienplanten in cm.						gem. aantal bladeren per plant					
	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d	e	f
0	18,4	25,7	27,4	27,1	28,3	28,1	3,1	4,1	4,0	4,3	4,0	4,2
1	16,2	21,8	23,1	23,2	25,4	25,1	2,9	3,8	3,6	3,6	3,7	4,1
2	17,0	24,9	27,1	27,6	29,3	28,8	2,9	3,9	3,4	3,6	3,7	3,9
4	17,2	24,0	26,8	27,7	27,6	28,1	2,7	3,7	3,6	3,8	4,0	4,5
8	13,2	19,7	20,0	21,7	23,7	25,2	2,5	3,4	3,5	3,5	3,7	4,7
16	14,7	21,2	22,2	21,7	24,7	24,7	2,4	3,8	3,4	3,5	3,7	4,0
32	14,8	21,1	23,4	23,3	26,4	27,1	2,7	3,6	3,6	3,9	4,1	4,8
64	14,9	20,2	22,0	22,9	25,2	26,2	2,6	3,6	3,7	3,8	3,8	4,3
90	17,6	23,0	24,6	23,7	24,1	25,1	2,9	3,6	3,7	3,8	3,8	4,3
128	15,1	22,4	25,6	23,5	29,3	30,2	2,3	3,6	3,8	3,7	4,5	4,8

a= 27 juni, b= 9 juli, c= 17 juli, d= 24 juli e= 4 augustus, f =14 augustus.

BIJLAGE 9. Invloed van verschillende dieptes van inoculum per veldje op de uienplanten.

proef- veld	diepte inoculum (cm)	lengte rij (cm)	d.d. 24-6		d.d. 7-10			tot.ge- wicht (g)
			aantal uienpl.	lengte, kiempl.)	aantal uienpl.	aantal zieke pl. matig ernstig) ³		
1	geen	12	12	k	3	-	-	60
		38	16	g	16	-	-	760
		50	35	g	32	-	-	850
		17	17	g	17	-	-	465
		33	11	g	10	-	-	385
2	geen	30	24	g	20	-	-	620
		8	1	g	1	-	-	120
		50	15	z	14	-	-	370
		10	5	k	5	-	-	40
		20	4	g	4	-	-	195
		2	2	g	2	-	-	320
		15	6	k	6	-	-	170
5	1	g	1	-	-	240		
3	20-22	17	12	k	12	-	-	270
		10	8	g/k	7	-	-	170
		50	26	z	26	-	-	160
		35	22	z	16	-	-	80
		15	5	k	3	-	-	185
4	20-22	8	1	z	1	-	-	5
		2	1	g	1	-	-	110
		40	15	k	14	-	-	150
		30	9	k	7	-	-	180
		20	8	k	7	-	-	420
		10	5	g	5	-	-	50
		40	8	z	12	-	-	530
5	15-17	50	25	g	22	1	-	595
		15	1	z	1	-	-	120
		35	22	g	19	-	-	630
		15	4	k	5	-	-	175
		25	14	z	2	-	-	30
		10	3	g	2	-	-	110
6	15-17	10	2	z	0	-	-	-
		10	11	z	9	-	-	290
		30	9	g	9	-	-	415
		27	5	z	2	-	-	30
		23	12	g	10	-	-	750
		20	4	z	4	-	-	20
		8	2	k	2	-	-	70
		32	1	z	1	-	-	10
7	10-12	30	23	g	23	3	7	650
		20	6	k	6	-	-	80
		13	11	g	6	2	-	195
		37	12	z	13	1	-	235
		10	4	g	4	2	-	350
		25	7	z	3	1	-	85
		15	13	g	12	4	-	360

(zie volgende blz.)

(vervolg BIJLAGE 9)

proef- veld	diepte inoculum (cm)	lengte rij (cm)	d.d. 24-6		d.d. 7-10			tot.ge- wicht (g)
			aantal uienpl.	lengte, kiempl.	aantal uienpl.	aantal zieke pl. matig ¹⁾	ernstig	
8	10-12	12	4	g	3	1	1	105
		18	9	z	4	-	2	170
		20	1	g	1	-	-	?
		50	23	g	21	2	-	830
		15	8	g	8	1	-	290
		22	4	k	4	-	-	75
9	5-7	50	23	g	23	1	-	910
		50	43	g	40	1	-	900
		8	6	g	6	1	-	310
		12	3	z	3	-	-	10
		30	17	g	17	1	-	350
10	5-7	50	31	g	26	2	-	890
		50	30	g	27	1	-	700
		30	8	z	9	-	-	170
11	0-2	50	43	g	20	8	7	460
		45	37	g	33	5	6	960
		50	34	g	29	4	11	735
12	0-2	50	12	g	12	-	2	930
		20	4	z	2	-	-	?
		30	22	g	19	2	4	565
		50	23	g	11	-	5	730

ad ¹⁾ lengte van de uienplant d.d. 24-6-80: g = groot (\pm) >15 cm
k = klein (\pm) 7 < x < 15 cm
z = net gekiemd (\pm) < 7 cm

ad ²⁾ mate van aantasting:
matig ziek zijn planten waarvan de bol nog gaaf is, begroeid met mycelium, met geen of weinig sclerotiën.
ernstig ziek zijn planten waarvan de bol meestal is uitgedroogd en/of uitgehold en vol zit met sclerotiën.

ad ³⁾ dit is het totaal gewicht van de uienbollen die op dat stuk grond groeiden.