

CB

Bibliotheek
Proefstation
Naaldwijk

A
3
R
85

Proefstation voor Tuinbouw onder Glas te Naaldwijk

Onderzoek naar de werking van actief chloor tegen enkele
plantpathogenen.

W. Th. Runia

Naaldwijk, november 1984

Project: D 15

Intern verslag no: 7

2202277

A
3
R
85

Proefstation voor Tuinbouw onder Glas te Naaldwijk

Onderzoek naar de werking van actief chloor tegen enkele
plantpathogenen.

W. Th. Runia

Naaldwijk, november 1984

Project: D 15

Intern verslag no: 7

2242277

Onderzoek naar de werking van actief chloor tegen enkele plantpathogenen.

Inleiding

In het kader van het onderzoek naar de ontsmettingsmogelijkheden van drainwater of retourwater van substraatsystemen, is een oriënterend onderzoek uitgevoerd naar de werking van actief chloor tegen virus en schimmel. Voor dit doel werden veel voorkomende plantpathogenen uitgekozen, namelijk het komkommerbontvirus (KV-2) en de schimmel *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (fysio 1).

Materiaal en methoden

Actief chloor werd toegediend in de vorm van chloorbleekloog (NaClO-oplossing). Het gehalte aan werkzaam chloor in deze oplossing werd jodometrisch vastgesteld en bedroeg 107 gram Cl per liter (als Cl₂). In dit experiment werden de volgende chloorconcentraties toegepast: 0, 1, 2, 3, 4 en 5 ppm chloor. Aan 10 liter gedemineraliseerd water werd 4,67 ml chloorbleekloog toegevoegd zodat een oplossing van 50 ppm chloor werd verkregen. Daarnaast werd 60 l voedingsoplossing gemaakt met een EC-waarde van 2,5 mS/cm en een pH-waarde van 7.0. Hieraan werd 60 ml ongezuiverd virussap toegevoegd en 2 liter fusarium-suspensie. De onverdunde fusariumsuspensie bevatte per ml minstens 10⁶ sporen. Direct na de samenstelling van de fusariumsuspensie (zonder chloor) werd een monster genomen en in de koelkast geplaatst; oppm no. 1. Twee uur na de toepassing van chloor werden van alle behandelingen monsters genomen waarbij onbehandeld nu werd aangemerkt als 0 ppm no 2, en de overige behandelingen waren: 1, 2, 3, 4 en 5 ppm naar de toegevoegde hoeveelheden chloor.

Alle monsters werden in de koelkast geplaatst, zonder dat er actieve kool aan was toegevoegd. In de 4 hoogste doseringen was, zoals later bleek, nog een hoeveelheid restchloor aanwezig zodat de behandelingstijd bij de fusariumsuspensie langer is geweest dan bij de virussuspensie, waar na 2 uur de hoeveelheid restchloor werd weggevangen door actieve kool. Twee uur na de toediening van chloor aan de virussuspensie werd door meting met een testkit van Aquamerck, no 11134, vastgesteld of de hoeveelheid vrij chloor uit de suspensie was verdwenen. De schaalverdeling van de testkit was: 0.1 - 0.3 - 0.6 - 1.0 en 1.5 ppm zodat de hoeveelheden chloor slechts grof geschat konden worden. Aangezien bij de 4 hoogste concentraties nog chloor werd aangetoond, werd aan alle chloorbehandelingen 1 g actieve kool/ 10 l suspensie toegevoegd, teneinde de hoeveelheid restchloor te verwijderen. Een half uur na de toevoeging van actieve kool werd nog steeds chloor in de suspensie aangetoond. Om die reden werd per behandeling 1 l virussuspensie gehandhaafd waaraan nogmaals 1 g kool /1 werd toegevoegd. Ook hierna werd na een half uur nog in de hoogste 4 concentraties chloor aangetoond zodat de suspensies een nacht bewaard zijn bij ± 15°C. De volgende dag (16 uur na de laatste kooltoevoeging) werd geen chloor meer aangetoond, waarna de virussuspensies werden afgefiltreerd. In tabel 1 is de samenstelling van de behandelingen weergegeven en in tabel 2 staan de hoeveelheden restchloor, op diverse tijdstippen, vermeld.

Tabel 1 Samenstelling van de behandelingen

Behandeling	voedingsoplossing met beide pathogenen	chlooroplossing 50 ppm
0 ppm	10.0 liter	0.0 liter
1 ppm	9.8 "	0.2 "
2 ppm	9.6 "	0.4 "
3 ppm	9.4 "	0.6 "
4 ppm	9.2 "	0.8 "
5 ppm	9.0 "	1.0 "

Tabel 2 Hoeveelheden restchlor op diverse tijdstippen in ppm.

Behandeling	2 uur na chloortoediening	½ uur na 1 ^e toevoeging actieve kool	½ uur na 2 ^e toevoeging actieve kool
0 ppm	0	0	0
1 ppm	0	0	0
2 ppm	1	0.3	0.1
3 ppm	1	1	0.1
4 ppm	3	> 1.5	0.6
5 ppm	3	> 1.5	> 1.5

De overige gegevens staan per experiment vermeld.

Experiment 1

pathogenen: komkommerbontvirus (KV-2)
datum chloortoediening : 30-11-1983
datum inoculatie : 1-12-1983

Inoculaties werden uitgevoerd op komkommerplanten (Sporu). De loofbladeren en zaadlobben van deze planten werden eerst licht beschadigd met carborundum, waarna met een watje de virussuspensie werd aangebracht. Per behandeling werden 10 planten gebruikt. Op 28 december werd dit experiment beëindigd. In tabel 3 is het resultaat weergegeven.

Tabel 3 De werking van chloor tegen het komkommerbontvirus

Behandeling	Besmettelijkheid*	Gemiddelde incubatieperiode in dagen
0 ppm	10/10	17
1 ppm	10/10	19
2 ppm	10/10	16
3 ppm	10/10	18
4 ppm	10/10	16
5 ppm	9/9	15

* = Het aantal zieke planten op het totaal aantal planten per behandeling.

Experiment 2

Pathogenen : *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (fysio 1)
 datum chloortoediening : 30-11-1983
 datum telling aantal sporen per ml Fusariumsuspensie : 2-12-'83
 datum telling Fusariumsporen op kieming: 8-12-'83
 datum biologische toets : 15-12-'83

De tellingen werden verricht met behulp van de telkamer van Fuchs en Rosenthal. Per behandeling werden 16 velden geteld met een totaal inhoud van $16 \times 1/4 \times 1/4 \times 0.2 \text{ mm} = 0.2 \text{ mm}^3$. Per cm^3 (ml) is het aantal sporen dan $5000 \times n$, waarbij n het getelde aantal sporen voorstelt. Er zijn 3 behandelingen geteld in duplo. Tabel 4 geeft de gevonden aantallen weer.

Tabel 4 Tellingen aantal Fusariumsporen per ml.

Behandeling	aantal sporen		gemiddeld aantal sporen per ml.
	telling 1	telling 2	
0 ppm no. 1	58	47	265.000
0 ppm no. 2	62	71	335.000
1 ppm	62	66	320.000

De onverdunde sporensuspensie bevat gewoonlijk minstens 1 miljoen sporen per ml. Twee liter van deze Fusariumsuspensie is toegevoegd van 60 l voedingsoplossing, zodat een verdunning van 30 x werd verkregen, hetgeen zo'n 335.000 sporen per ml zou betekenen. De gevonden aantallen bevestigen deze aanname.

Voor de tellingen op kieming van de Fusariumsporen werden op 7 december de behandelingen uit de koelkast gehaald en bij kamertemperatuur geplaatst. De volgende dag werden de tellingen verricht en werd met de testkit vastgesteld dat er geen vrij chloor meer aanwezig was in de diverse behandelingen. De tellingen werden uitgevoerd in duplo; de gevonden aantallen zijn weergegeven in tabel 5.

Tabel 5 Tellingen Fusariumsporen op kieming

Behandeling	aantal sporen			
	niet gekiemd		gekiemd	
	telling 1	telling 2	telling 1	telling 2
0 ppm no. 1	29	32	10	9
5 ppm	55	55	0	2

De kiemkracht is bij de onbehandelde Fusariumsporen duidelijk aanwezig hoewel niet alle sporen zijn gekiemd. Mogelijk is de tijdsduur dat de behandelingen bij kamertemperatuur hebben gestaan, niet lang genoeg geweest om een totale kieming van alle sporen te bewerkstelligen. Bij de behandeling met 5 ppm chloor blijkt nauwelijks sprake te zijn van kieming. Een biologische toets zal moeten uitwijzen of de sporen inderdaad hun kiemkracht hebben verloren.

Na de tellingen werden de behandelingen weer in de koelkast geplaatst en op 14 december bij 27°C waarna op 15 december de biologische toets werd uitgevoerd.

Per behandeling werden 30 kiemplantjes van het tomatenras Moneydor gebruikt. De wortelstelstels werden schoongespoeld en daarna gedompeld gedurende 10 minuten in de diverse Fusariumsuspensie. Daarna werden de kiemplantjes in een kweekbakje geplant, waarna het restant van de suspensie over de grond werd gegoten.

Op 27-1-1984 werd dit experiment beëindigd. De resultaten hiervan staan vermeld in tabel 6.

Tabel 6 De werking van chloor tegen *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Behandeling	besmettelijkheid	gemiddelde incubatietijd in dagen
0 ppm no. 1	29/30	20
0 ppm no. 2	15/30	31
1 ppm	1/30	25
2 ppm	0/30	-
3 ppm	0/30	-
4 ppm	0/30	-
5 ppm	2/30	17

Conclusie:

De werking van actief chloor tegen enkele plantpathogenen bleek selectief te zijn. De behandelingstijd bij de chloorconcentraties van 2, 3, 4 en 5 ppm is bij de Fusariumsuspensie echter langer geweest dan bij de virussuspensie waar na 2 uur de hoeveelheid restchloor werd weggevangen met actieve kool terwijl dit niet werd gedaan bij de Fusariumsuspensie. De behandelingstijd met 1 ppm chloor is wel voor beide pathogenen gelijk geweest aangezien hier na 2 uur geen sprake meer was van restchloor in de suspensies.

Sporen van *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (fysio 1) waren, na een behandeling met actief chloor met een concentratie vanaf 1 ppm en oplopend tot 5 ppm, niet of nauwelijks meer kiemkrachtig en dientengevolge evenmin nauwelijks meer in staat tomaten kiemplantjes aan te tasten.

Dit bleek uit tellingen van sporen, onder de lichtmicroscop (tabel 5) en uit een biologische toets (tabel 6).

Het bewaren van de verdunde Fusariumsuspensies in de koelkast, gedurende 14 dagen, heeft geen merkbare negatieve invloed gehad op het infectievermogen van het pathogeen, gezien het resultaat van behandeling 0 ppm no. 1 in tabel 6. Het infectievermogen van 0 ppm no. 2 ligt op een lager niveau dan 0 ppm no. 1. Het enige verschil met laatstgenoemde behandeling was een tijdsbestek van 2 uur bij kastemperatuur vóórdat behandeling 0 ppm no. 2 de koelkast in ging.

Het komkommerbontvirus (KV-2) bleek bij de gedoseerde concentraties niet gevoelig te zijn voor actief chloor. Na alle behandelingen werd nog een infectievermogen van 100% geconstateerd en was de gemiddelde incubatietijd 17 dagen met een variatie van ± 2 .

Het gebruik van actief chloor tegen planteziekten, vergt een toevoeging van actieve kool na een bepaalde werkingsduur van het chloor, om een eventuele hoeveelheid restchloor te verwijderen, vóórdat de voedingsoplossing met de planten in aanraking komt. Dit om fytotoxiciteit te voorkomen.

De selectieve werking van actief chloor ten aanzien van *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (fysio 1) en het komkommerbontvirus, die is geconstateerd in dit onderzoek, zal naar verwachting ook in breder verband gelden; een goede werking tegen schimmels in het algemeen en geen dodende werking tegen tobamo-virussen bij de toegepaste concentraties.

Het gebruik van actief chloor als ontsmettingsmiddel voor zowel retour - als drainwater van substraatsystemen lijkt om die reden niet geschikt.

Dit bleek uit tellingen van sporen, onder de lichtmicroscop (tabel 5) en uit een biologische toets (tabel 6).

Het bewaren van de verdunde Fusariumsuspensies in de koelkast, gedurende 14 dagen, heeft geen merkbare negatieve invloed gehad op het infectievermogen van het pathogeen, gezien het resultaat van behandeling 0 ppm no. 1 in tabel 6. Het infectievermogen van 0 ppm no. 2 ligt op een lager niveau dan 0 ppm no. 1. Het enige verschil met laatstgenoemde behandeling was een tijdsbestek van 2 uur bij kasttemperatuur vóórdat behandeling 0 ppm no. 2 de koelkast in ging.

Het komkommerbontvirus (KV-2) bleek bij de gedoseerde concentraties niet gevoelig te zijn voor actief chloor. Na alle behandelingen werd nog een infectievermogen van 100% geconstateerd en was de gemiddelde incubatietijd 17 dagen met een variatie van ± 2 .

Het gebruik van actief chloor tegen planteziekten, vergt een toevoeging van actieve kool na een bepaalde werkingsduur van het chloor, om een eventuele hoeveelheid restchloor te verwijderen, vóórdat de voedingsoplossing met de planten in aanraking komt. Dit om fytotoxiciteit te voorkomen.

De selectieve werking van actief chloor ten aanzien van *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (fysio 1) en het komkommerbontvirus, die is geconstateerd in dit onderzoek, zal naar verwachting ook in breder verband gelden; een goede werking tegen schimmels in het algemeen en geen dodende werking tegen tobamo-virussen bij de toegepaste concentraties.

Het gebruik van actief chloor als ontsmettingsmiddel voor zowel retour - als drainwater van substraatsystemen lijkt om die reden niet geschikt.