

KNPV werkgroep *Phytophthora* & *Pythium*

Bijeenkomst van 23 september 2004 te Merelbeke (B)

Phytophthora ramorum: waardplantgevoeligheid en beheersing

Isabelle De Dobbelaere, Kurt Heungens en Martine Maes

Centrum voor Landbouwkundig Onderzoek (CLO-DGB), Merelbeke)

In Europa is één van de belangrijkste waardplanten van het species *Phytophthora ramorum* *Rhododendron* ssp (inclusief species en hybriden). Er werden 63 cultivars en species getest en vergeleken op ziektegevoeligheid. In beperkte mate werd er ook gekeken naar de gevoeligheid van azalea. In preliminaire testen werden een aantal infectiemethoden vergeleken. De inoculatie technieken werden opgesplitst in methoden met en zonder verwonding van blad- en stengel materiaal. Bij de kunstmatige besmettingen met verwonding werd de doorgroei van het inoculum in het plantenmateriaal opgemeten, daar waar de methoden zonder verwonding een beeld gaven van de potentie van de pathogeen om het plantenweefsel binnen te dringen. Vier locale *P. ramorum* stammen werden met elkaar vergeleken in infectiegraad en vertoonden geen pathologische variatie. Uiteindelijk werden er 4 infectiemethoden en 1 *P. ramorum* stam gebruikt voor de evaluatie van resistentie tussen 63 *Rhododendron* spp. De eerste resultaten duiden op belangrijke verschillen in ziektegevoeligheid binnen zowel species als hybriden en bij bepaalde plantengenotypes bleek de ziektegevoeligheid gerelateerd te zijn met een resistentie tegenover het binnendringen van de pathogeen.

Effect van tussengewassen, Ridomil Gold en Pseudomonaden op Pythium beheersing in crocus en hyacint

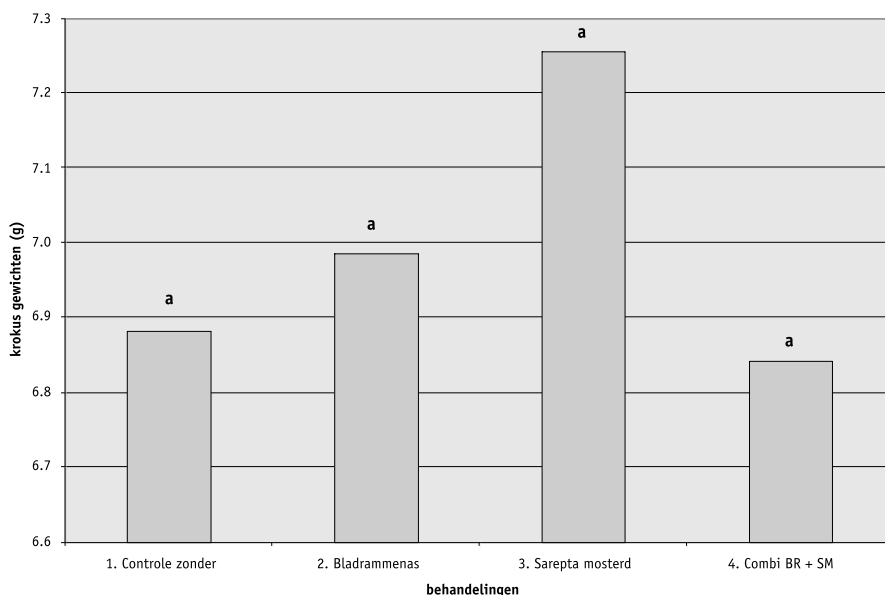
Vincent Bijman, Suzanne Breeuwsma, Marjan de Boer, Aad Koster en Jan van der Bent

PPO Bloembollen Postbus 85, 2160 AB Lisse. E-mail: vincent.bijman@WUR.nl

In het kader van het Gewasbeschermingsprogramma van het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit (LNV), onderdeel Geïntegreerde Beheerstrategieën, wordt er onderzoek verricht naar het ontwikkelen van een geïntegreerde beheersstrategie ter voorkoming van *Pythium* wortelrot in crocus en hyacint. *Pythium* is een groot probleem in beide gewassen omdat de hierdoor veroorzaakte wortelrot resulteert in opbrengstderving. In de praktijk zijn er nauwelijks maatregelen beschikbaar tegen deze ziekte. Er wordt momenteel 1 fungicide in de praktijk gebruikt maar dit middel heeft na langdurig gebruik een verminderde werking.

Door PPO Bloembollen wordt momenteel gewerkt aan het combineren van nieuwe en bestaande maatregelen zodanig dat de combinatie in een goede *Pythium* beheersing resulteert.

De maatregelen die momenteel worden onderzocht binnen de ontwikkeling van een beheersstrategie zijn de toepassing van tussengewassen (o.a. met biofumigatie capaciteiten), de toepassing van *Pythium* onderdrukkende *Pseudomonas* bacteriën en de toepassing van een fungicide. Al deze maatregelen resulteren wanneer ze sec worden toegepast al in *Pythium* bestrijding. Verwacht wordt echter dat door mogelijke synergie in de toekomst een stabiel en efficiënte beheersing van *Pythium* te bereiken is. Daarnaast kan het combineren van verschillende mechanismen tegen *Pythium* adaptatie van *Pythium* en/of de grond tegen fungiciden worden voorkomen. Op deze manier kan de toepassing van deze schaarse middelen voor de toekomst worden behouden.



Tussengewassen

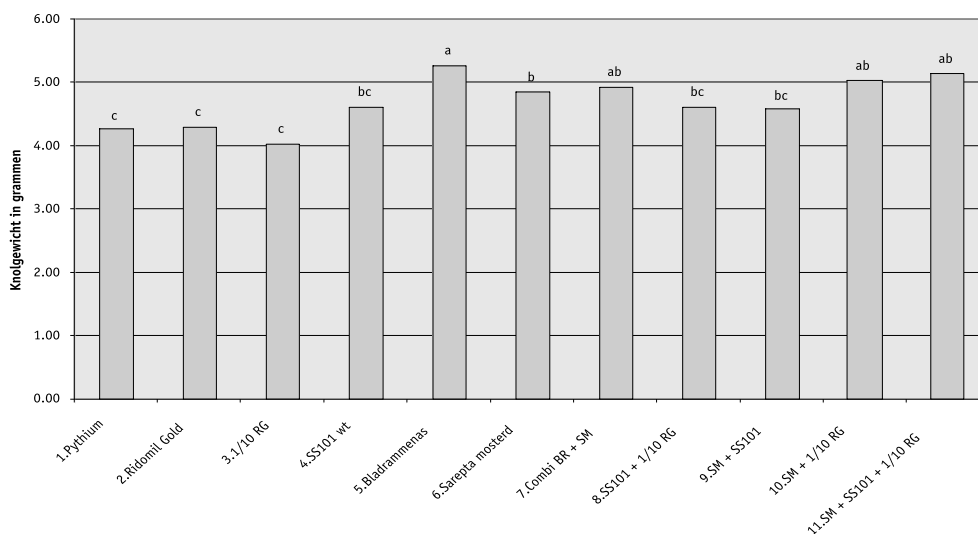
Uit vooronderzoek is gebleken dat *Brassica juncea* cv. ISCI 20 (Sarepta mosterd), geselecteerd op zijn biofumigatie vermogen geschikt is voor *Pythium* beheersing. Biofumigatie berust op het vrijkomen van glucosinolaten bij het kapot maken van plantencellen (b.v. door het klepelen en inwerken van het gewas) die door een enzymatische reactie (met enzymen uit de plantencel) worden omgezet ondergronds in gasvormige isothiocyanaten. Een tweede tussengewas is *Raphanus sativus* cv. Adagio (bladrammenas). Deze bevat geen glucosinolaten en is opgenomen als een standaardcontrole in de proef. Bladrammenas wordt door telers veel toegepast als tussengewas in verband met onkruidbeheersing, stuifbestrijding op de zandgronden in de zomer, bemesting, etc. Daarnaast is er gekozen voor een combinatie van Sarepta mosterd en Bladrammenas om na te gaan of zo het biofumigatie effect gecombineerd met b.v. het be-

mestingseffect zal resulteren in een verhoogde bopbrengst.

Pseudomonas bacteriën

Een andere maatregel waar al een aantal jaren onderzoek wordt gedaan is de toepassing van *Pythium* onderdrukkende *Pseudomonas* bacteriën die in samenwerking met Jos Raaijmakers (Laboratorium van Fytopathologie, Wageningen Universiteit) zijn ontwikkeld.

Deze bacteriën liggen al 5 jaar in biotoetsen en veldproeven in Lisse, en dit jaar wordt deze optie toegepast op grotere schaal bij enkele telers. Over het algemeen resulteert de toepassing in de veldexperimenten in een betere opbrengst, maar helaas niet altijd in alle jaren.



Fungicide

Als fungicide is gekozen voor Ridomil Gold omdat deze van de beschikbare fungiciden het meest wordt toegepast. Na langdurig gebruik kan er sprake van verminderde werking zijn.

Het concept van de gecombineerde strategie berust op een trapsgewijze aanpak ter beheersing van *Pythium*. Tevens gaat de *Pythium* (pathogeen druk) omhoog door isothiocyannaten (biofumigatie) en microbiële activiteit. Toediening van Ridomil Gold bij het planten zorgt voor tijdelijke bescherming van de wortels en /of vermindering van de infectie druk. De werking is van korte duur. Echter, de wortels zijn gedurende de duur van de teelt gevoelig voor infectie door *Pythium*. Het fungicide beschermt de wortels gedurende de tijd die de *Pseudomonas* bacteriën nodig hebben om de jonge kwetsbare wortels te koloniseren. De tot nu toe geteste pseudomonaden hebben diverse ziekte onderdrukkende mechanismen die in staat zijn om pathogene schimmels op afstand te houden of te doden, zoals de productie van antibiotica of van biosurfactants. Momenteel wordt het onderzoek gericht op een isolaat dat o.a. biosurfactants aanmaakt die zoosporen doet barsten. Wanneer de wortel preventief bezet is door de *Pseudomonas*, is deze mogelijk voor de duur van de teelt beschermd tegen *Pythium*.

Resultaten geïntegreerde beheersing

Uit de crocus proef van dit jaar (fig. 1 en fig. 2) blijkt dat bladrammenas resulteert in de hoogste ziekteonderdrukking. Dit effect is geen bemestings effect (zie figuur 1). Behandelingen als, Sarepta mosterd met bladrammenas, Sarepta mosterd + *Pseudomonas* A +1/10 Ridomil Gold en Sarepta Mosterd + 1/10 Ridomil Gold waren niet significant verschillend van bladrammenas.

Biofumigatie door toepassing van Sarepta Mosterd had weinig effect. De behandeling met *Pseudomonas* stam A resulteerde ook in een goede ziekteonderdrukking.

De lage doseringen van 1/10 Ridomil Gold was niet effectief in de veldproef terwijl deze dosering wel in ziekteonderdrukking resulteerde in biotoetsen onder geconditioneerde omstandigheden. Dus combinaties van maatregelen gaven een aanzienlijk beter resultaat dan de besmette controle en de toepassing van Ridomil Gold (volle dosering en 1/10 dosering).

In de hyacintenproef bleek de enorme variatie tussen de veldjes van één behandeling te leiden tot niet significante verschillen van alle behandelingen t.o.v. de controle. De tendens lijkt aanwezig dat de combinatie van maatregelen of alleen het toepassen van tussen-gewassen voor hyacint ook positief uitpakt voor *Pythium* beheersing.

De strategie van combinatie van maatregelen wordt momenteel ook op praktijkpercelen uitgetest. Op twee praktijkpercelen wordt de combinatie van bladrammenas en Ridomil Gold uitgetest. Bij een aantal telers wordt de *Pseudomonas* bacterie uitgetest in een enkele toepassing en gecombineerd met Ridomil Gold.

Bij één teler (uit Telen met Toekomst) wordt momenteel het effect van de combinatie van alle maatregelen op een praktijkperceel onderzocht.

Activiteit van cyclische lipopeptide surfactants tegen pathogene Oomyceten

J.M. Raaijmakers¹, H. Tran Thi Thu¹,
M. de Boer², C.F. Geerds¹, P. de Waard³,
T.A. van Beek⁴, J.T. de Souza¹ and A. Ficke¹

¹ Laboratory of Phytopathology, Wageningen University, P.O. Box 8025, 6709 PG Wageningen; ² Applied Plant Research, section Flowerbulbs, Lisse; ³ NMR Centre, Wageningen University; ⁴ Natural Products Chemistry group, Laboratory of Organic Chemistry, Wageningen University, the Netherlands.

Oomyceten vormen een diverse groep van schimmelachtige microorganismen en herbergen een reeks economisch belangrijke pathogenen van planten, insecten, vissen en dieren. Het voorkomen van agressieve en fungicide-ongevoelige stammen van Oomyceten alsmede het wereldwijde beleid om de duurzaamheid van de land- en tuinbouw te stimuleren hebben geleid tot een toenemende vraag naar nieuwe methoden om deze pathogenen te beheersen. Ten aanzien van biologische bestrijding van Oomyceten hebben recente studies in ons laboratorium geleid tot de isolatie en identificatie van verschillende isolaten van *Pseudomonas fluorescens* die oppervlakte-actieve stoffen produceren, zgn. surfactants, met een destructief effect op zoösporen van Oomyceten. Een van deze isolaten, *Pseudomonas fluorescens* R1SS101, produceert tenminste 5 extracellulaire surfactants, waarvan één geïdentificeerd is als een cyclisch lipopeptide bestaande uit negen aminozuren en een 10-C vetzuur. Dit cyclisch lipopeptide heeft niet alleen een destructief effect op zoösporen maar tevens een remmende werking op myceliumgroei van verscheidene Oomyceten en plantenpathogene schimmels, waaronder *Pythium aphanidermatum* en *Phytophthora* soorten. Toediening van *Pseudomonas fluorescens* R1SS101 aan grond of bloembollen resulteerde in een effectieve bestrijding van *Pythium* wortelrot van hyacint en krokus in zowel kleinschalige bi-