PRAKTIJKONDERZOEK
PLANT & OMGEVING

Effectiviteit van biologische middelen tegen wortelziekten bij komkommer

Dirk Jan van der Gaag, Chantal Bloemhard & Pim Paternotte

NIET VOOR PUBLICATIE

Project 431687

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector Glastuinbouw
Maart 2002

WAGENINGEN UR

2205236

© 2002 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Dit onderzoek is gefinancierd door het Productschap Tuinbouw te Zoetermeer

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector Glastuinbouw
Adres : Kruisbroekweg 5, Naaldwijk
: Postbus 8, 2670 AA Wageningen
Tel. : 0174 - 636700
Fax : 0174 - 636835
E-mail : info@ppo.dlo.nl
Internet : www.ppo.dlo.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING 7

1 Algemene inleiding 9

2 Lijst van middelen en micro-organismen getoetst tegen *Pythium aphanidermatum* in komkommer 11

3 Effect van biologische middelen en twee bacterie-isolaten tegen *Pythium* rot tijdens de opkweekfase van komkommer 13
3.1 Inleiding 13
3.2 Materiaal en methoden 13
3.2.1 Plantmateriaal en teeltomstandigheden 13
3.2.2 Toedienen biologische middelen 13
3.2.3 Besmetten met *Pythium aphanidermatum* 13
3.2.4 Waarnemingen 13
3.2.5 Proefopzet en statistische analyse 13
3.3 Resultaten 14
3.4 Conclusies 15

4 Effect van chitosan en *Bacillus subtilis* FZB24 tegen *Pythium* rot tijdens de teeltfase van komkommer 17
4.1 Doel 17
4.2 Materiaal en methoden 17
4.2.1 Teeltomstandigheden: 17
4.2.2 Toedienen middelen 17
4.2.3 Besmetten met *Pythium aphanidermatum* 17
4.2.4 Waarnemingen 17
4.2.5 Experimentele opzet en statistische analyse 17
4.3 Resultaten 18
4.4 Discussie 18

5 Effect van diverse pseudomonaden tegen *Pythium* rot tijdens de opkweekfase van komkommer 21
5.1 Inleiding en doel 21
5.2 Materiaal en methoden 21
5.2.1 Bacterie-isolaten 21
5.2.2 Opkweek komkommerplanten 21
5.2.3 Toedienen bacteriën 21
5.2.4 Productie *Pythium*-inoculum en besmetten steenwolpotten 21
5.2.5 Waarnemingen en analyse van de resultaten 21
5.3 Resultaten en discussie 21

6 Effect van chitosan en *Pseudomonas* BTP1 tegen *Pythium* rot tijdens de teeltfase van komkommer 23

6.1 Inleiding en doel 23
6.2 Materiaal en methoden 23
6.2.1 Plantmateriaal en teeltomstandigheden 23
6.2.2 Biologische middelen en behandelingen 23
6.2.3 Besmetten met *Pythium aphanidermatum* 23
6.2.4 Waarnemingen 23
6.2.5 Experimentele opzet en statistische analyse 23
6.3 Resultaten 24
6.4 Discussie 24

7 Effect van een combinatie van chitosan en Pseudomonas BTP1 tegen *Pythium* rot bij komkommerzaailingen 27
7.1 Inleiding en doel 27
7.2 Materiaal en methoden 27
7.3 Resultaten en discussie 27

8 Effect van een half steenwolblok op aantasting van komkommer door *Pythium* tijdens de teelt 29
8.1 Inleiding 29
8.2 Materiaal en methoden 29
8.2.1 Plantmateriaal en teeltomstandigheden 29
8.2.2 Productie inoculum van *Pythium aphanidermatum* 29
8.2.3 Behandelingen en proefopzet 29
8.2.4 Stekers 30
8.3 Resultaten en discussie 30

9 Effect van chitosan, *Pseudomonas* BTP1, PRO-1 en Biosept tegen *Pythium*-rot tijdens de teeltfase van komkommer 33
9.1 Inleiding en doel 33
9.2 Materiaal en methoden 33
9.2.1 Plantmateriaal en teeltomstandigheden 33
9.2.2 Biologische middelen en behandelingen 33
9.2.3 Besmetten met *Pythium aphanidermatum* 33
9.2.4 Waarnemingen 33
9.2.5 Experimentele opzet en statistische analyse 34
9.3 Resultaten 34
9.4 Discussie 34

10 Effect van de wijze van toedienen van chitosan tegen *Pythium*-rot bij komkommer 35
10.1 Inleiding en doel 35
10.2 Materiaal en methoden 35
10.2.1 Proef I 35
10.2.2 Proef II 36
10.2.3 Proef III 36
10.2.4 Proef IV 37
10.3 Resultaten 38
10.3.1 Proef I 38
10.3.2 Proef II 38
10.3.3 Proef III 39
10.3.4 proef IV 40
10.4 Discussie en conclusies 41

11 Effect van chitosan op wortelverdikking 43
11.1 Inleiding 43
11.2 Materiaal en methoden 43
11.2.1 Plantmateriaal en teeltomstandigheden 43
11.2.2 Behandelingen 43
11.2.3 WVD-*inoculum* 43
11.2.4 Waarnemingen 43
11.2.5 Proefopzet en analyse 43
11.3 Resultaten 44
11.4 Conclusie 44

12 Algemene discussie en aanbevelingen voor vervolgonderzoek 45

13 Literatuur 47

Samenvatting

Wortelverdikking en *Pythium* wortel- en stengelrot zijn ziekten die veel schade kunnen veroorzaken bij de substraatteelt van komkommer. Door de inzet van chemische bestrijdingsmiddelen en/of ontsmettingsmiddelen blijft de economische schade door deze ziekten in de huidige praktijk beperkt. De Nederlandse overheid wil echter het gebruik van chemische middelen in de land- en tuinbouw sterk beperken. Niet-chemische alternatieven zijn daarom noodzakelijk om schade door wortelpathogenen bij de teelt van komkomer te voorkomen. Naast het ontwikkelen van teeltsystemen met een hoge mate van weerbaarheid tegen wortelziekten kunnen biologische middelen de afhankelijkheid van en het gebruik van chemische middelen mogelijk verminderen. In dit onderzoek zijn diverse biologische middelen geselecteerd op basis van literatuurgegevens en getoetst op effectiviteit tegen *Pythium*-rot. Eén middel is getoetst tegen wortelverdikking. Tevens is onderzocht of het plaatsen van een halve pot tussen steenwolmat en opkweekpot aantasting van planten door *Pythium* kan verminderen en of stekers afkomstig uit potten waarin zieke planten hadden gestaan een besmettingsbron kunnen zijn.

De biologische middelen Polyversum, Supresivit, AtEze, Mycostop, *Trichoderma harzianum* T-22, *Bacillus subtilis* V, Biobooster, *Bacillus subtilis* FZB24, Chitosan, Biosept, Pro-1 en diverse Pseudomonaden werden getoetst op effectiviteit tegen *Pythium*. Alleen het middel chitosan kon in meerdere proeven schade door *Pythium aphanidermatum* reduceren, maar het effect was beduidend kleiner dan dat van het chemische middel Previcur N. Bovendien werd in sommige proeven geen effect van chitosan gevonden. Toediening van het middel in opgeloste vorm op de opkweekpot was effectiever dan toediening van het middel in vast vorm. Chitosan had geen effect tegen wortelverdikking. Alle in het onderzoek getoetste middelen, op Mycostop na, hebben in Nederland geen toelating als gewasbeschermingsmiddel tegen *Pythium* in komkommer. Chitosan is voorgedragen voor plaatsing op de RUB (Regeling Uitzondering Bestrijdingsmiddelen) als middel tegen aantasting van komkommer door *Pythium aphanidermatum*. Voor het bepalen van de optimale wijze van toediening van chitosan in de praktijk, bijvoorbeeld verwerkt in de opkweekpot, is aanvullend onderzoek nodig.

Het plaatsen van een halve steenwolpot tussen opkweekpot en steenwolmat had een ziekte-reducerend effect wanneer matten kunstmatig waren besmet met myceliumfragmenten van *Pythium*, maar niet wanneer matten werden gebruikt waarop zieke planten hadden gestaan. In de praktijk zal gebruik van een halve steenwolpot daarom vermoedelijk geen effect hebben. Stekers afkomstig uit potten waarin zieke planten hadden gestaan waren geen infectiebron in een toets met komkommerzaailingen.

Het effect van het in dit onderzoek meest effectieve biologische middel, chitosan, is onvoldoende bij een hoge ziektedruk van *Pythium*. Zonder gebruik van chemische middelen zal bij teelt op steenwol en aanwezigheid van pathogene *Pythium*-soorten veel schade kunnen ontstaan. Aanbevolen wordt om in onderzoek vooral aandacht te besteden aan verschillen in ziektewerendheid tussen verschillende substraten, zoals steenwol, perliet, puimsteen en kokos. In substraten met een hoger zuurstofgehalte (bijv. puimsteen) of een hogere microbiële activiteit (kokos) worden minder problemen met *Pythium* verwacht dan in steenwol.

1 Algemene inleiding

Voet- en wortelrot veroorzaakt door *Pythium* is naast wortelverdikking de belangrijkste wortel- en voetziekte in de substraatteelt van komkommer. De ziekte wordt voorkomen/bestreden door gebruik van chemische middelen. De inzet van chemische middelen is echter onwenselijk i.v.m. eventuele schadelijke effecten van deze middelen op mens en omgeving. Wereldwijd wordt derhalve gezocht naar alternatieve methoden, waaronder de inzet van biologische middelen, ter voorkoming of bestrijding van *Pythium* en andere ziekten. Verschillende biologische producten zijn inmiddels ontwikkeld tegen diverse wortelzieken. Deze middelen zijn gebaseerd op micro-organismen, die een antagonistische werking hebben tegen pathogenen en/of een plantversterkend effect hebben, of zijn gebaseerd op van nature voorkomende stoffen, zoals plantextracten, die een direct toxische werking hebben en/of een plantversterkend effect hebben (b.v. resistentie-inductie). Van de meeste van deze producten is niet bekend of ze komkommerplanten voldoende bescherming kunnen bieden tegen *Pythium* onder praktijkomstandigheden. Daarom is in 1999 op het toenmalige PBG (het huidige Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, sector glastuinbouw) een project gestart om te onderzoeken of er biologische middelen zijn die een goed alternatief kunnen zijn voor chemische middelen. Alle in het onderzoek getoetste middelen, op Mycostop na, hebben in Nederland geen toelating als gewasbeschermingsmiddel tegen *Pythium* in komkommer. De resultaten van het onderzoek staan beschreven in dit verslag. In het project is tevens onderzocht of het plaatsen van een halve pot tussen steenwolmat en opkweekpot aantasting van planten door *Pythium* kan verminderen en of stekers afkomstig uit potten waarin zieke planten hadden gestaan een besmettingsbron kunnen zijn.

2 Lijst van middelen en micro-organismen getoetst tegen *Pythium aphanidermatum* in komkommer

Naam middel	Actieve stof	Leverancier
Polyversum	*Pythium oligandrum*	Brinkman B.V.
Supresivit	*Trichoderma harzianum*	Brinkman B.V.
AtEze	*Pseudomonas chlororaphis*	Eco Soil Systems
Mycostop	*Streptomyces griseoviridis*	Kemira. Koppert
-	*Trichoderma harzianum* T-22	Koppert
-	*Bacillus subtilis V*	Uni Royal
-	*Pseudomonas* I	SLU (Zweedse Landbouwuniversiteit)
-	*Pseudomonas* II	SLU (Zweedse Landbouwuniversiteit)
BioBooster	Plantextract	Shieer Benelux
-	Diverse Pseudomonaden	Laboratorium voor Fytopathologie, WU
FZB24	*Bacillus subtilis* FZB24	Bayer, Taensa
-	Chitosan	Sigma
Biosept	33% grapefruitzadenextract	Cintamani Europe AS
-	*Pseudomonas* BTP1	Unité de Bioindustries, Faculté Universtaire des Sciences Agronomiques de Gembloux
PRO-1	Rhamnolipide (biosurfactant)	Plantsuppport B.V.

3 Effect van biologische middelen en twee bacterie-isolaten tegen *Pythium* rot tijdens de opkweekfase van komkommer

3.1 Inleiding

Om een groot aantal biologische middelen te kunnen toetsen op hun vermogen *Pythium* wortel- en stengelrot in komkommer te onderdrukken werden middelen getoetst in 3-4 weken durende proeven tijdens de opkweekfase van komkommer.

3.2 Materiaal en methoden

3.2.1 Plantmateriaal en teeltomstandigheden

Steenwolblokken werden gedompeld in voedingsoplossing (EC 1.7, pH 5.5) waarna gezaaid werd (komkommer cv. Odessa). De blokken werden geplaatst in een plastic bak (binnendiameter 62 x 41 cm) waarvan de bodem was afgedekt met wit waterdicht plastic. In een bak werden 18 potten gezet. Vanaf 15 dagen na zaaien kregen de planten regelmatig voedingsoplossing door deze in de bak te gieten. Temperatuurinstellingen kas: 23/25°C stoken/luchten.

3.2.2 Toedienen biologische middelen

De middelen werden gesuspendeerd of opgelost in leidingwater en 100 ml van de suspensie werd direct na het zaaien op elke pot gegoten. De gebruikte concentraties staan vermeld in Tabellen 1 t/m 3 en waren conform de aanbevelingen van de leveranciers. Chitosan werd opgelost in 0.04 N HCl en daarna werd de pH bijgesteld tot 5.6 met 2 N KOH. Het toedienen van de middelen werd herhaald 5 dagen na zaaien. Middelen die fytotoxisch (kunnen) zijn werden alleen 5 dagen na zaaien op de steenwolpot gegoten. In elke proef waren 2 controles: een onbesmette controle, een besmette controle. In de eerste 2 proeven was ook een chemische controle (Previcur N, concentratie 0.05%, a.i. propamocarbwaterstofchlride) aanwezig. In totaal werden 3 proeven uitgevoerd

3.2.3 Besmetten met *Pythium aphanidermatum*

Twee isolaten van *Pythium aphanidermatum*, 301 en V1, werden gekweekt op PDA bij 24°C gedurende 1 week. De 1-week oude cultures werden vermalen in leidingwater en verdund tot 1 plaat per 10 L water. Honderd ml van deze suspensie werd op een steenwolpot gegoten (langs de buitenrand van de pot), 10 of 11 dagen na zaaien.

3.2.4 Waarnemingen

Het aantal zieke en dode planten werd bepaald op verschillende tijdstippen na besmetten (Tabellen 1-3).

3.2.5 Proefopzet en statistische analyse

Eén experimentele eenheid bestond uit 1 bak met 24 (proef 1) of 18 (proef 2 en 3) planten in steenwolblokken. Er waren 4 herhalingen per behandeling. De proef had een volledige gerandomiseerde opzet. In totaal waren er 6 behandelingen, waaronder een niet-besmette en een besmette controle. De percentages verwelkte en dode planten werden berekend en geanalyseerd mbv variantie-analyse gevolgd door Fisher's protected LSD-test (P=0.05).

3.3 Resultaten

Bij de chemische behandeling (Previcur N) viel geen enkele plant uit. De meeste biologische middelen gaven geen reductie in *Pythium*-aantasting. Slechts enkele middelen vertraagden en/of reduceerden aantasting door *Pythium* (Tabellen1t/m 3). Van de biologische middelen had chitosan het beste effect (Tabel 3).

Tabel 1 - Proef 1: het effect van biologische middelen op aantasting van komkommer door *Pythium aphanidermatum.*

		% zieke en dode planten		
Behandeling	Concentratie[x]	8 d.n.b.[y]	11 d.n.b.	15 d.n.b.
Controle - *Pythium*		0.0	0.0	0.0
Controle + *Pythium*		5.6	13.9	44.4
Polyversum	0.5 g/L	6.9	12.0	29.2
Supresivit	0.3 g/L	22.2	42.1	75.0
AtEze	5 ml/L	20.8	26.4	66.7
Mycostop	0.025 g/L[z]	6.9	15.3	47.9
Tichoderma T-22	0.5 g/L[z]	9.8	18.1	48.6
Bacillus subtilis	0.5 ml/L	16.7	25.0	65.3
LSD (P=0.05)		13.4	18.1	28.6

[x] Aan elke opkweekpot werd 100 ml van de suspensie/oplossing toegediend direct na zaaien en 5 dagen na zaaien.
[y] d.n.b. = aantal dagen na besmetting
[z] éénmalig toegediend 5 dagen na zaaien

Tabel 2 - Proef 2: Het effect van biologische middelen op aantasting van komkommer door *Pythium aphanidermatum.*

		% zieke en dode planten		
Behandeling	Concentratie[x]	4 d.n.b.[y]	7 d.n.b.	10 d.n.b.
Controle - *Pythium*		0.0	0.0	0.0
Controle + *Pythium*		64.4	92.2	97.8
Pseudomonas I	10^8 kve/ml[w]	61.1	84.3	n.b.
Pseudomonas II	10^8 kve/ml	82.4	91.7	n.b.
Biobooster	3 ml/L	36.1*[z]	59.3*	86.1
FZB24	1 g/L	22.2*	49.1*	62.0*
LSD (P=0.05)		17.8	15.4	20.7

[w] kve = kolonie vormende eenheden
[x] Aan elke opkweekpot werd 100 ml van de suspensie/oplossing toegediend direct na zaaien en 5 dagen na zaaien.
[y] d.n.b. = aantal dagen na besmetting
[z] Een '*' geeft aan dat de waarde significant verschilt van de controle + *Pythium* (LSD, P=0.05)

Tabel 3 - Proef 3: Het effect van biologische middelen op aantasting van komkommer door *Pythium aphanidermatum*.

		% zieke en dode planten		
Behandeling	Concentratie[x]	4 d.n.b.[y]	8 d.n.b.	11 d.n.b.
Controle - *Pythium*		0.0	0.0	0.0
Controle + *Pythium*		32.0	76.4	97.2
Chitosan	3 g/L	8.3*[z]	23.6*	36.1*
FZB24	1g/L	34.7	73.6	91.7
FZB24 + Mycostop	1g/L, + 0.025 g/L	33.0	61.6*	93.0
FZB24 + Polyversum	1 g/L + 0.5 g/L	22.2	65.3	76.4*
LSD (P=0.05)		16.3	13.8	13.1

[x] Aan elke opkweekpot werd 100 ml van de suspensie/oplossing toegediend direct na zaaien en 5 dagen na zaaien.

[y] d.n.b. = aantal dagen na besmetting

[z] Een '*' geeft aan dat de waarde significant verschilt van de controle + *Pythium* (LSD, P=0.05)

3.4 Conclusies

Van de getoetste biologische middelen hadden alleen chitosan en FZB24 een significant effect tegen uitval bij komkommer door *Pythium aphanidermatum.* Het effect van FZB24 was niet herhaalbaar.

4 Effect van chitosan en *Bacillus subtilis* FZB24 tegen *Pythium* rot tijdens de teeltfase van komkommer

4.1 Doel

Het toetsen van het effect van de biologische middelen *Bacillus subtilis* FZB24 en chitosan op productie bij komkommer en aantasting door *Pythium aphanidermatum* onder teeltomstandigheden. Deze middelen hadden in een eerdere proef (zie hoofdstuk 3) uitval van jonge komkommerplanten door *P. aphanidermatum* significant verminderd.

4.2 Materiaal en methoden

4.2.1 Teeltomstandigheden:

Komkommer cv Odessa werd gezaaid op 10 september 1999 in steenwolblokken. De planten werden geplaatst op steenwolmatten op 7 oktober (plantafstand 68 cm). De temperatuurinstellingen in de kas waren: stooktemperatuur 25/23°C (16/8 uur) gedurende de eerste 3 dagen, vervolgens 2 dagen 23/20°C en daarna 21/18°C. De hogere temperaturen aan het begin van de proef waren bedoeld om gunstige condities voor *Pythium* te creëren.

4.2.2 Toedienen middelen

De middelen chitosan en *Bacillus subtilis* FZB24 werden twee keer toegediend: direct na het zaaien en vlak voor het poten (Tabel 4). Chitosan werd opgelost in 0.04 N HCl en daarna werd de pH bijgesteld tot 5.6 met 2 N KOH (zie Hoofdstuk 3). Previcur N (a.i. propamocarbwaterstofchlride) werd direct na het planten in water op elke pot gegoten (Tabel 4).

4.2.3 Besmetten met *Pythium aphanidermatum*

Eén week oude PDA-platen van de isolaten 301 en V1, opgekweekt bij 24°C. werden vermalen in leidingwater en 50 ml (concentratie: 2 platen/L) werd op elk plantgat gegoten. Vervolgens werden de planten op de plantgaten gezet.

4.2.4 Waarnemingen

Wekelijks werd het aantal dode planten, het aantal verwelkte en het aantal planten met stengelbasisnecrose bepaald. Komkommers werden 3x per week geoogst en binnen een uur na oogst onderverdeeld in 3 klassen (klasse I (export), klasse II en stek) en per klasse gewogen. De proef werd beëindigd op 10 december 1999.

4.2.5 Experimentele opzet en statistische analyse

De proef werd uitgevoerd in een kas van 280 m^2 met 8 gesloten watergeefsystemen. Per systeem waren 4 of 5 goten aangesloten. Van elk systeem lagen 4 goten geward over 4 blokken in de kas. De vijfde goot lag langs de zijgevel van de kas en diende als randrij. Per watergeefsysteem werd één behandeling toegewezen met op elke goot 10 planten. De proef had een factoriële opzet met als proeffactoren wel/niet besmetten en 4 middelen/behandelingen: onbehandeld, Previcur N (chemisch middel), chitosan en *Bacillus subtilis* FZB24. Eén goot met 10 planten werd bij de statistische analyse behandeld als één herhaling. Omdat de 4 goten binnen één watergeefsysteem met elkaar verbonden zijn, waren de herhalingen echter niet volledig onafhankelijk. Het effect van de verschillende behandelingen op uitval door *Pythium* werd geanalyseerd door variantie-analyse toe te passen op het oppervlak onder de ziekte-curve (de curve die het verloop aangaf van het percentage dode planten) en het totaal percentage uitgevallen planten aan het einde van de proef. De totale opbrengst per goot werd berekend en geanalyseerd mbv variantie-analyse. Na een significante F-toets (P=0.05) werden gemiddelden vergeleken mbv LSD (P=0.05).

Tabel 4 - Behandelingen uitgevoerd in de proef

Middelen	Na zaaien	Voor planten
Controle	100 ml water	250 ml water
Previcur N	100 ml water	250 ml (1ml/l)
Bacillus subtilis FZB24	100 ml (1g/l)	250 ml (1g/l)
Chitosan	100 ml (0.3 g/l)	250 ml (0.3 g/l)

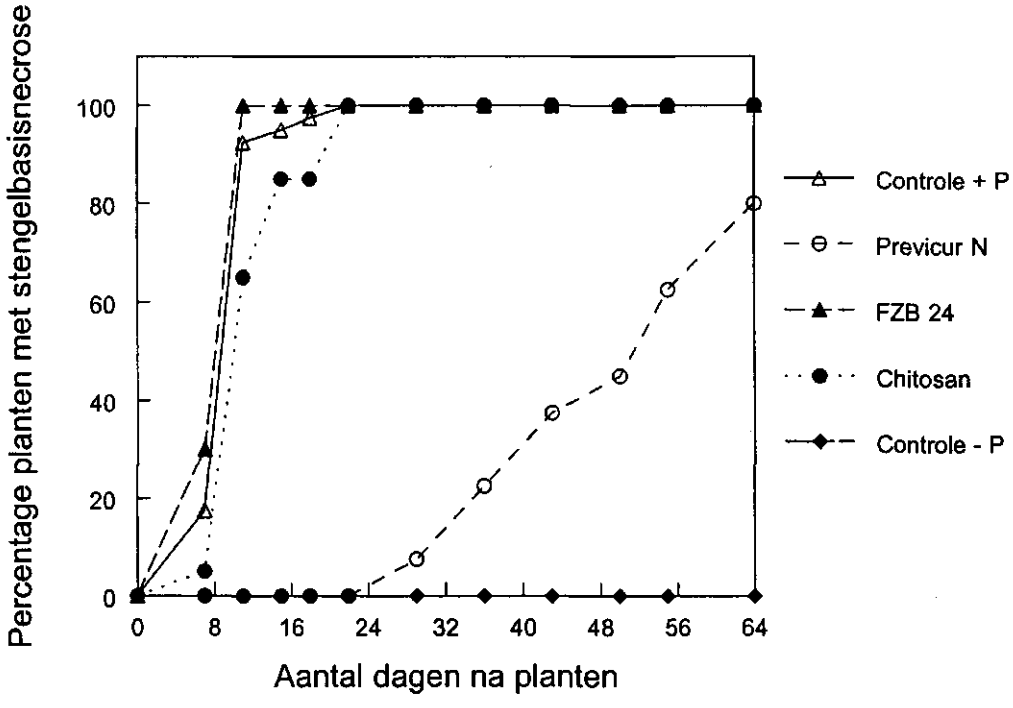
4.3 Resultaten

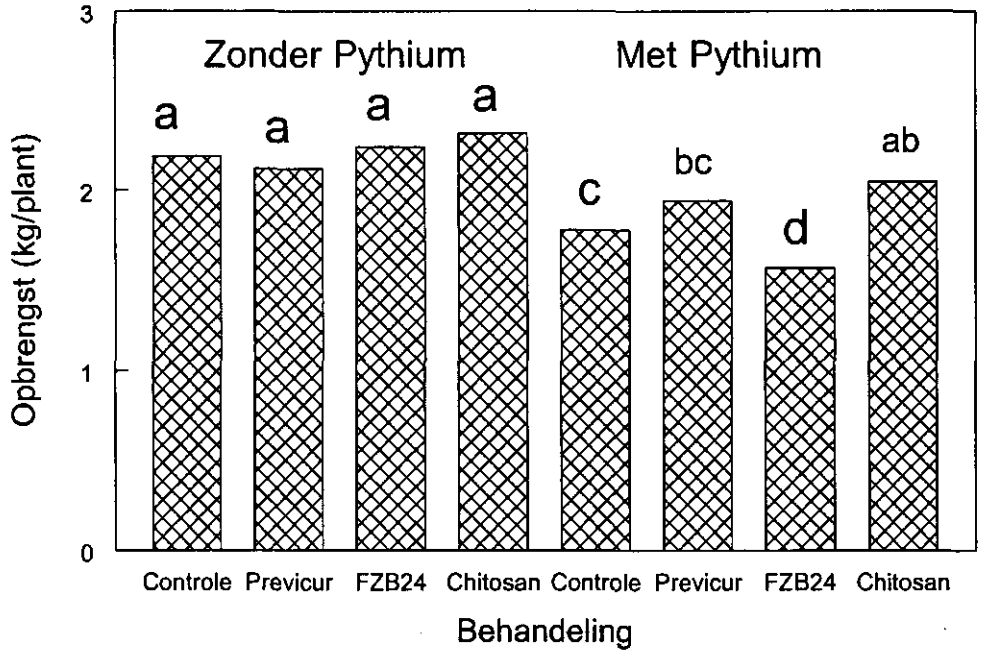
Verwelking werd niet waargenomen in de behandelingen die niet besmet waren met *Pythium*. In de met *Pythium* besmette behandelingen gingen tijdens zonnige dagen in oktober en november de bladschijven van 98 en 92% van de planten slap hangen in respectievelijk de controle en de FZB24-behandeling. Eén van de 40 met chitosan behandelde planten vertoonde verwelkingsverschijnselen in november. In de behandeling met Previcur N werden geen verwelkte planten waargenomen. Alle planten vertoonden stengelnecrose na ca 3 weken in de besmette behandelingen behalve bij de Previcur N behandeling (Fig. 1). Chitosan vertraagde het optreden van stengelnecrose significant (LSD, P=0.05). Twee, één en twee planten gingen tijdens de proef dood in respectievelijk de controle, de FZB24 en chitosan behandelingen besmet met *Pythium*.

De opbrengst van komkommers in kg was significant lager in de met *Pythium* besmette behandelingen dan in de controle zonder *Pythium* behalve voor de met chitosan behandelde planten (LSD, P=0.05) (Fig. 1). Géén van de middelen had een significant verhogend effect op de komkommerproduktie in de onbesmette behandelingen (Fig.1).

4.4 Discussie

Bacillus subtilis FZB24 had geen effect tegen *Pythium*. Chitosan reduceerde daarentegen opbrengstvermindering als gevolg van *Pythium*-aantasting significant. El-Ghaouth *et al* (1994) toonden aan dat chitosan een fungitoxisch effect heeft tegen *Pythium* en een resistentie reactie induceert bij komkommer tegen *Pythium*. In de proef beschreven in dit hoofdstuk had chitosan slechts een gering effect op het verloop van het aantal planten met stengelvoetnecrose. Mogelijk induceerde chitosan een dusdanige reactie in de plant dat het de verdere ontwikkeling van *Pythium* in geïnfecteerde planten remde waardoor de planten minder schade ondervonden. Daarnaast zou chitosan een groeibevorderend effect kunnen hebben. In de behandeling zonder *Pythium* hadden chitosan-behandelde planten de hoogste opbrengst maar de verschillen waren niet significant. Groeistimulerende effecten van chitosan zijn wel aangetoond bij *Eustoma grandiflorum* (Ohta *et al.*, 2000).





Figuur 1 - Effect Previcur N, chitosan en FZB24 op aantasting door Pythium aphanidermatum en opbrengst bij komkommer.

5 Effect van diverse pseudomonaden tegen *Pythium* rot tijdens de opkweekfase van komkommer

5.1 Inleiding en doel

Voor zover bekend hebben de, op dit moment commercieel beschikbare, biologische middelen geen of een zeer variabel effect tegen *Pythium* rot bij komkommer in steenwol. Daarom is het belangrijk om onderzoek te doen naar nieuwe, meer effectieve antagonisten. Het laboratorium voor Fytopathologie van de Wageningen Universiteit heeft een groot aantal bacteriën (pseudomonaden) geselecteerd met antagonistische eigenschappen. Eén van deze pseudomonaden bleek in onderzoek bij PPO-bollen zeer effectief te zijn tegen *Pythium* in enkele bloembolgewassen. Het doel van deze proef was het toetsen van dit isolaat naast 9 andere pseudomonaden.

5.2 Materiaal en methoden

5.2.1 Bacterie-isolaten

Bacterie-isolaten werden verkregen van Jos Raaijmakers (Laboratorium voor Fytopathologie, Wageningen Universiteit). De isolaten werden gekweekt op King's B medium gedurende 48 uur bij kamertemperatuur waarna de bacteriën van de plaat werden afgeschraapt en gesuspendeerd in leidingwater. De suspensie werd verdund tot 10^7 bacteriën per ml.

5.2.2 Opkweek komkommerplanten

Zaden van cv. Odessa werden gezaaid in steenwolpotten en geïncubeerd bij ca. 20°C. Potten werden geplaatst in plantenkwekersbakken waarvan de bodem bedekt was met plastic. In een bak werden 9 potten geplaatst. In het plastic werd een gat gemaakt waarin een rubber kurk werd geplaatst. Vanaf 15 dagen na zaaien werd regelmatig voedingsoplossing op de bodem van een bak gegoten. Door ca 15 min na watergeven de kurk uit de bak te verwijderen liep de voedingsoplossing, die niet was opgenomen door de potten, uit de bak.

5.2.3 Toedienen bacteriën

Vijf dagen na zaaien werd 100 ml van een bacteriesupensie (10^7 bacteriën per ml) op een pot gegoten. Potten van de controlebehandeling kregen elk 100 ml water.

5.2.4 Productie *Pythium*-inoculum en besmetten steenwolpotten

Pythium aphanidermatum isolaat 301 werd geënt op PDA. Eén-week oude platen werden vermalen in leidingwater. De zo verkregen suspensie werd verdund tot 1 plaat per 10 L water. Tien dagen na zaaien werd 100 ml van de verdunde *Pythium*-suspensie op de steenwolpot gegoten.

5.2.5 Waarnemingen en analyse van de resultaten

Vijf weken na zaaien werd het aantal dode planten en het aantal planten met stengelvoetnecrose (zieke planten) bepaald. Er waren 8 herhalingen per behandeling. Het percentage planten dat dood of ziek was werd berekend per herhaling. Na toetsing op homoscedaticiteit van de gegevens waarbij transformatie van de gegevens niet nodig bleek werd varantie-analyse toegepast op de percentages zieke en dode planten.

5.3 Resultaten en discussie

Het percentage zieke en dode planten was bij een aantal behandelingen aanzienlijk lager dan bij de besmette controle (Tabel 5). De variatie tussen de herhalingen was echter groot en verschillen waren niet

significant (F-toets, P=0.188). Aanbevolen wordt om de 3 beste isolaten, P6, 9 en 10 opnieuw te toetsen tegen Pythium in komkommer.

Tabel 5 - Gemiddeld percentage dode komkommerplanten en planten met stengelvoetnecrose na toediening van verschillende bacterie-isolaten en besmetting met *Pythium aphanidermatum*

Behandeling/Bacterie-isolaat	Percentage zieke en dode planten
Controle niet besmet	0.0
Controle besmet	81.5
P1	67.0
P2	68.9
P3	60.2
P4	62.5
P5	60.6
P6	52.8
P7	65.3
P8	70.8
P9	52.4
P10	50.3

6 Effect van chitosan en *Pseudomonas* BTP1 tegen *Pythium* rot tijdens de teeltfase van komkommer

6.1 Inleiding en doel

In de teeltproef uitgevoerd in het najaar van 1999 bleek één van de biologische middelen, chitosan, opbrengstderving veroorzaakt door *Pythium* duidelijk te kunnen verminderen. In deze proef werd dit middel voor een tweede keer getoetst naast een *Pseudomonas* bacterie die nog niet eerder was getoetst. Deze bacterie was afkomstig van een Belgisch instituut waar herhaald was aangetoond dat deze bacterie effectief was tegen *Pythium* rot bij komkommer.

6.2 Materiaal en methoden

6.2.1 Plantmateriaal en teeltomstandigheden

Komkommerplanten, cv Odessa, werden geplaatst op steenwolmatten op 15 februari 2000 (plantafstand 68 cm). De temperatuurinstellingen in de kas waren: stoken/luchten 23/25°C dag en nacht.

6.2.2 Biologische middelen en behandelingen

Er waren 6 behandelingen:

1. Controle niet besmet
2. Controle besmet
3. Previcur N (a.i. propamocarbwaterstofchlride)
4. Chitosan
5. *Pseudomonas* BTP1
6. *Pseudomonas* BTP1-zaadbehandeling

Chitosan (Sigma, C 3546) werd vermalen en vervolgens opgelost in 0.04 N HCl waarna de pH omhoog werd gebracht tot 5.6 mbv 2 N KOH. Vierhonderd ml van de opgeloste chitosan (0.3 g/L) werd op een steenwolblok gegoten 4 dagen voor planten en 7 dagen na planten. Previcur N (0.1%, 200 ml per pot) werd eveneens twee keer toegediend, direct na en 7 dagen na planten. De *Pseudomonas* bacterie werd gekweekt op een vast medium (CAA: Casamino Acids Agar). De bacteriën werden gesuspendeerd in 0.85% NaCl en de suspensie werd verdund tot 10^{10} en 10^{8} bacteriën per ml voor respectievelijk de zaad- en potbehandeling. Bij de zaadbehandeling werd het zaad vlak voor zaaien 5 min in de bacteriesupsenpensie geïncubeerd. Bij de potbehandeling werd 400 ml van de bacteriesuspensie op een pot gegoten 4 dagen voor zaaien.

6.2.3 Besmetten met *Pythium aphanidermatum*

Twee isolaten, 301 en V1, werden gekweekt op PDA bij 24°C gedurende 1 week. De 1-week oude cultures werden vermalen in leidingwater en verdund tot 1 plaat per L water. 50 ml van deze suspensie werd op het plantgat gegoten vlak voor het planten.

6.2.4 Waarnemingen

Wekelijks werd het aantal dode planten, het aantal verwelkte en het aantal planten met stengelvoetnecrose bepaald. Komkommers werden 3x per week geoogst en binnen een uur na oogst onderverdeeld in 3 klassen (klasse I (export), klasse II en stek) en gewogen.

6.2.5 Experimentele opzet en statistische analyse

De proef werd uitgevoerd in een kas van 280 m^2 met 8 gesloten watergeefsystemen. Per systeem waren 4 of 5 goten aangesloten. Van elk systeem lagen 4 goten geward over 4 blokken in de kas. De vijfde goot lag

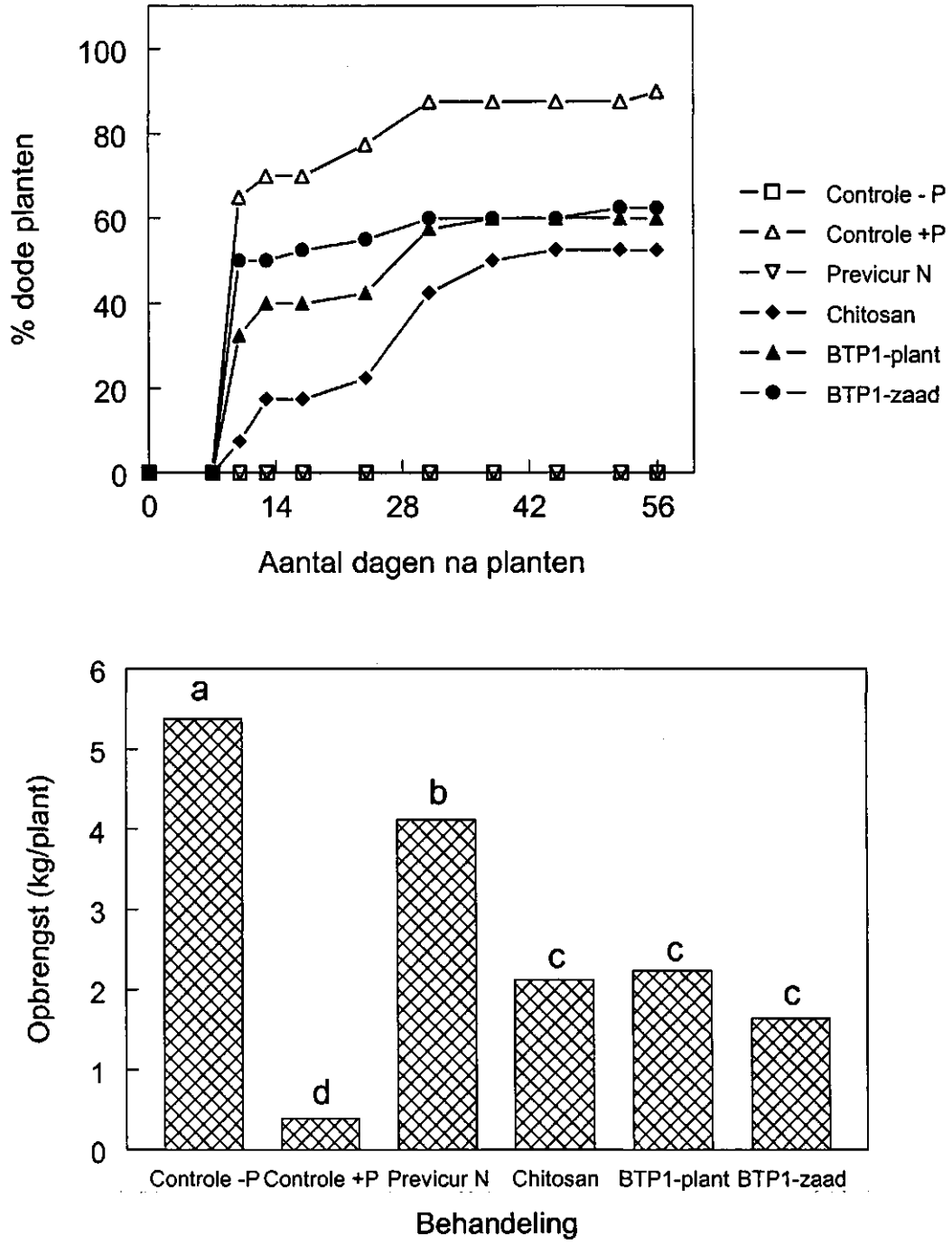
langs de zijgevel van de kas en diende als randrij. Per watergeefsysteem werd één behandeling toegewezen met op elke goot 10 planten. Een goot met 10 planten werd bij de statistische analyse behandeld als één herhaling. Het effect van de verschillende behandelingen op uitval door *Pythium* werd geanalyseerd door variantie-analyse toe te passen op het oppervlak onder de "ziekte-curve" (de curve die het verloop aangaf van het percentage dode planten) en het totaal percentage uitgevallen planten aan het einde van de proef. De totale opbrengst per goot werd berekend en geanalyseerd mbv variantie-analyse. Na een significante F-toets (P=0.05) werden gemiddelden vergeleken mbv LSD (P=0.05).

6.3 Resultaten

Er stierven minder planten die waren behandeld met *Pseudomonas* BTP1 of chitosan dan onbehandelde planten; de verschillen waren echter niet significant (P=0.08). De gemiddelde opbrengst per veldje was significant hoger in de chitosan en *Pseudomonas* BTP1 behandelingen dan in de onbehandelde planten besmet met *Pythium* (Fig. 2).

6.4 Discussie

Evenals in de proef beschreven in hoofdstuk 4 gaf chitosan een significant positief effect. *Pseudomonas* BTP1 had ook een positief effect op de opbrengst. Deze bacterie induceert resistentie bij komkommer en heeft mogelijk ook een groeibevorderend effect (Ongena *et al.*, 1999). Zowel chitosan als *Pseudomonas* BTP1 bieden perspectieven als biologische middelen tegen *Pythium* in subtraatteelt van komkommer.



Figuur 2 - Effect chitosan en *Pseudomonas* BTP1 op het aantal dode planten en opbrengst bij komkommer na besmetting met *Pythium aphanidermatum*.

7 Effect van een combinatie van chitosan en Pseudomonas BTP1 tegen *Pythium* rot bij komkommerzaailingen

7.1 Inleiding en doel

Zowel chitosan als *Pseudomonas* BTP1 kunnen schade bij komkommer veroorzaakt door *Pythium* reduceren. Mogelijk geeft een combinatie van deze middelen een beter effect dan elk van de middelen apart. In deze proef werd bij komkommerzaailingen het effect van een combinatie van chitosan en *Pseudomonas* BTP1 op aantasting door *Pythium* onderzocht.

7.2 Materiaal en methoden

Komkommerplanten (cv. Odessa) werden gezaaid in steenwolpotten in plantenkwekersbakken, 18 potten per bak. De bakken werden geplaats bij 23°C en na 7 dagen bij 21°C. Tien dagen na zaaien, de cotylen waren volledig ontvouwen, werden de biologische middelen op de potten gegoten (200 ml/pot, Tabel 6). Op de potten bij de controlebehandeling werd leidingwater gegoten. Veertien dagen na zaaien werden de potten besmet met 100 ml van een *Pythium*-suspensie. De *Pythium*-suspensie was bereid door volgroeide PDA-platen te vermalen in water (1 plaat/10 L). Twee weken na besmetten werd het percentage zieke en dode planten bepaald.

De proef had een volledig gerandomiseerde opzet met 4 herhalingen per behandeling (1 herhaling was 1 bak met 18 planten). De gegevens werden geanalyseerd m.b.v. variantie-analyse.

Tabel 6 - Behandelingen en biologische middelen getoetst tegen aantasting van komkommer door *Pythium aphanidermatum*

Behandelingen/middelen	Gebruikte concentratie
Controle niet besmet	-
Controle besmet	-
Pseudomonas BTP1	10^7/ml
Chitosan	0.1 g/L
Chitosan	0.3 g/L
Pseudomonas BTP1 + Chitosan	10^7/ml + 0.1g/L
Pseudomonas BTP1 + Chitosan	10^7/ml + 0.3g/L

7.3 Resultaten en discussie

Geen van de biologische middelen had een significant effect (Tabel 7). In vergelijking met eerdere proeven waren de planten kleiner toen ze behandeld werden met de biologische middelen en besmet werden met *Pythium aphanidermatum*. In deze proef waren 10 dagen na zaaien de cotylen volledig ontvouwen terwijl in de eerdere proeven het eerste blad al aanwezig was op dat tijdstip. Jongere planten zijn vatbaarder dan oudere planten en mogelijk werken chitosan en *Pseudomonas* BTP1 niet of onvoldoende bij zeer jonge kommerplanten.

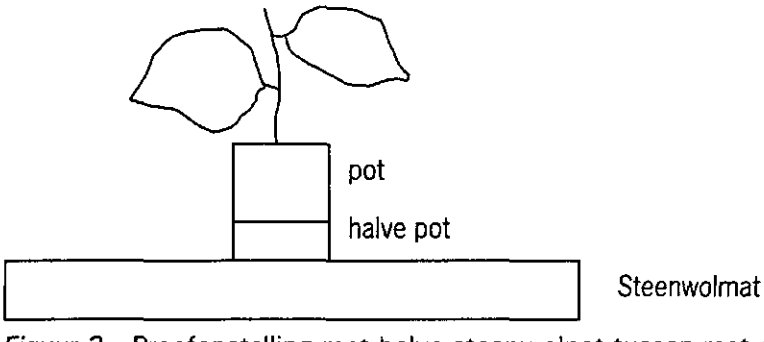
Tabel 7 - Effect van chitosan en *Pseudomonas* BTP1 tegen *Pythium* bij komkommerzaailingen

Behandeling	Percentage dode en zieke planten
Controle –Pythium	0.0
Controle + Pythium	49.3
Pseudomonas BTP1	39.5
Chitosan 0.1 g/L	44.4
Chitosan 0.3 g/L	50.0
Pseudomonas BTP1 + chitosan (0.1 g/L)	50.0
Pseudomonas BTP1 + chitosan (0.3 g/L)	43.9

8 Effect van een half steenwolblok op aantasting van komkommer door *Pythium* tijdens de teelt

8.1 Inleiding

Uit eerder onderzoek was gebleken dat het plaatsen van een half steenwolblok tussen de steenwolmat en –pot aantasting door *Pythium* kan reduceren (P. Paternotte, pers. med.) (Fig. 3). Uit proeven uitgevoerd in de praktijk was echter gebleken dat het plaatsen van een half blok tussen pot en mat niet altijd tot een reductie in aantasting leidt. Dit zou verklaard kunnen worden doordat in proeven altijd kunstmatig inoculum is gebruikt in de vorm van myceliumfragmenten die waarschijnlijk een vrij korte levensduur hebben. In de periode dat de wortels door het halve blok heen groeien zou een deel van het inoculum kunnen sterven voordat de wortels in contact komen met het inoculum. In "natuurlijk"-besmette matten zullen zeer waarschijnlijk ook rustsporen van *Pythium* aanwezig zijn die veel langer kunnen overleven dan mycelium. Een andere verklaring zou kunnen zijn dat door besmette stekers het effect van het halve blok, dat ervoor zorgt dat de wortels aan de onderkant van de pot niet direct in aanraking komen met de besmette mat, teniet werd gedaan. Het doel van deze proef was om het effect van een half blok op aantasting door *Pythium* te bepalen op kunstmatig-besmette matten en "natuurlijk"-besmette matten. Daarnaast werd onderzocht of stekers afkomstig uit potten waarin een door *Pythium* aangetaste komkommerplant had gestaan een besmettingsbron kunnen zijn.



Figuur 3 - Proefopstelling met halve steenwolpot tussen mat en opkweekpot.

8.2 Materiaal en methoden

8.2.1 Plantmateriaal en teeltomstandigheden

Komkommerplanten, cv Odessa, werden geplaatst op steenwolmatten op 18 april 2000 (plantafstand 68 cm). De temperatuurinstellingen in de kas waren: stoken/luchten 23/25°C dag en nacht. De proef werd beëindigd op 3 mei 2000.

8.2.2 Productie inoculum van *Pythium aphanidermatum*

Pythium aphanidermatum isolaat 301 werd gekweekt op PDA bij 24°C. Twee weken oude cultures (platen) werden vermalen in leidingwater en de suspensie werd gebruikt om steenwolmatten kunstmatig te besmetten. Voor het besmetten werd 100 ml van de suspensie op het plantgat gegoten vlak voordat de plant op het plantgat werd geplaatst.

8.2.3 Behandelingen en proefopzet

De opzet was een split-plot proef met als hoofdfactor de wijze van besmetten met 8 verschillende

behandelingen: 2 controles zonder *Pythium*, 3 behandelingen met nieuwe matten die kunstmatig werden besmet met verschillende inoculumdichtheden, en 3 behandelingen met oude matten waarop eerder planten hadden gestaan die door *Pythium* waren aangetast:

1. Controle, zonder *Pythium* (nieuwe mat)
2. Kunstmatig besmet: 0.002 plaat/plant
3. Kunstmatig besmet: 0.01 plaat/plant
4. Kunstmatig besmet: 0.05 plaat/plant
5. Controle, zonder *Pythium* (oude mat)
6. Natuurlijk besmet A (oude mat)
7. Natuurlijk besmet B (oude mat)
8. Natuurlijk besmet C (oude mat)

De oude matten waren afkomstig uit de teeltproef beschreven in Hoofdstuk 6. De controle-behandeling (no. 5) was de mat die in teeltproef II niet was besmet. Mat A (behandeling no. 6) was de controle + *Pythium*, mat B (no. 7) de chitosan-behandeling en mat C (no. 8) de *Pseudomonas* BTP1-behandeling uit de proef beschreven in Hoofdstuk 6. Op de oude matten waren de planten uit de eerdere proef bij de voet afgesneden en de nieuwe planten werden 5-10 cm naast het oude plantgat geplaatst. De kas had 8 gesloten systemen met 4 goten per systeem verdeeld over 4 blokken met 10 planten per goot. Elke behandeling (van de hoofdfactor) werd at random toegewezen aan een systeem. De nevenfactor was de aan-/afwezigheid van een half steenwolblok: op elke goot werden 5 planten direct op de mat gezet en bij 5 planten werd een half steenwolblok tussen mat en pot geplaatst. Vijftien dagen na planten werd het aantal planten met stengelnecrose en het aantal dode planten bepaald.

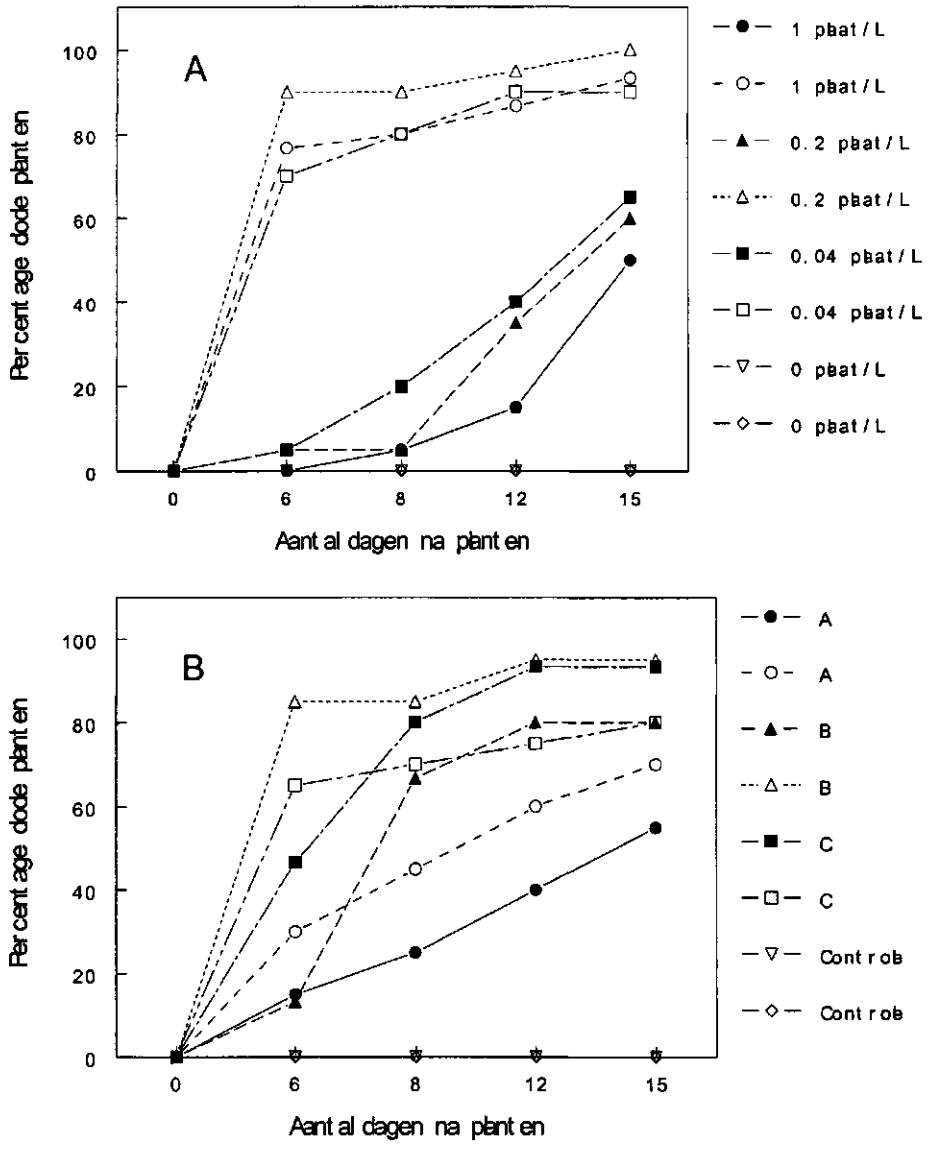
8.2.4 Stekers

Stekers verzameld van de oude matten uit de behandelingen, controle - *Pythium* en controle + *Pythium* uit de proef beschreven in Hoofdstuk 6 werden vlak naast 10-dagen oude komkommerplantjes in steenwolpotten gestoken. Twaalf dagen later werd het aantal zieke planten bepaald. In totaal waren er 4 herhalingen per behandeling met elk 10 potten met stekers.

8.3 Resultaten en discussie

Bij kunstmatige besmetting reduceerde en vertraagde een half blok tussen pot en mat *Pythium*-aantasting aanzienlijk. Bij de oude matten was er geen of slechts een kortstondig effect van een half blok op aantasting door *Pythium* (Fig. 3). Dit betekent dat in de praktijk het plaatsen van een halve pot tussen mat en opkweekpot zeer waarschijnlijk geen ziekte-reducerend effect heeft.

Er werden geen zieke planten waargenomen in de potten waarin een steker was geplaatst afkomstig uit proef beschreven in hoofdstuk 6. Stekers afkomstig uit potten waarin zieke planten hebben gestaan lijken dus geen belangrijke besmettingsbron voor *Pythium*. te zijn. Omdat niet uitgesloten kan worden dat via stekers in de praktijk *Pythium* kan worden overgedragen wordt toch aanbevolen de stekers die bij zieke planten hebben gestaan te verwijderen.



Figuur 4 - Effect half blok op plantuitval door Pythium bij kunstmatige inoculatie (A) en bij natuurlijk besmette matten (B). De dichte symbolen geven de waarden met een half blok en de open symbolen de waarden zonder half blok.

9 Effect van chitosan, *Pseudomonas* BTP1, PRO-1 en Biosept tegen *Pythium*-rot tijdens de teeltfase van komkommer

9.1 Inleiding en doel

In deze proef werd het effect van een combinatie van chitosan en *Pseudomonas* BTP1 getoetst en vergeleken met middel PRO-1 en Biosept. Zowel PRO-1 als Biosept zijn gebaseerd op natuurlijke chemische stoffen. PRO-1 is een biosurfactant en veroorzaakt lysis van zoösporen. Biosept heeft een algemeen toxisch effect tegen microörganismen.

9.2 Materiaal en methoden

9.2.1 Plantmateriaal en teeltomstandigheden

Komkommerplanten, cv Odessa, werden geplaatst op steenwolmatten op 11 september 2000 (plantafstand 68 cm). De temperatuurinstellingen in de kas waren: stoken/luchten 23/25°C dag en nacht. De proef werd beëindigd op 2 november 2000. De voedingsoplossing werd niet gerecirculeerd.

9.2.2 Biologische middelen en behandelingen

Er werden 4 biologische middelen getoetst. Er waren in totaal 8 behandelingen :

1. Controle – Pythium
2. Controle +Pythium
3. Previcur N (200 ml/pot, 0.1%)
4. Chitosan (400 ml/pot, 0.3 g/L)
5. PRO-1 (0.01%)
6. *Pseudomonas* BTP1 (400 ml /pot, 10^7/ml)
7. *Pseudomonas* BTP1(400 ml /pot, 10^7/ml) en chitosan (400 ml/pot, 0.3 g/L)
8. Biosept (200 ml/pot, 2 mg/L)

Chitosan en *Pseudomonas* BTP1 werden 4 dagen voor planten aan de steenwolpot toegediend. PRO-1 werd direct na planten op de pot gegoten (200 ml/pot, 2500x verdund) en tevens aan de voedingsoplossing toegediend (40ml/100L). PRO-1 werd vervolgens 2x per week toegediend aan de voedingsoplossing. Biosept werd direct na planten op de potten gegoten (200 ml/pot, 2mg/L). De voedingsoplossing werd niet gerecirculeerd. De eerste 3 weken na planten werd de onderbak 2x per week bijgevuld tegelijk met het toedienen van PRO-1. Daarna verbruikten de planten zoveel water dat de bak vaker dan 2x per week diende te worden bijgevuld. Temperatuurinstellingen kas: 23/25°C stoken/luchten dag en nacht.

9.2.3 Besmetten met *Pythium aphanidermatum*

Twee *Pythium* isolaten, 301 en V1, werden gekweekt op PDA bij 24°C gedurende1 week. De 1-week oude cultures werden vermalen in leidingwater en verdund tot 1 plaat per L water. 50 ml van deze suspensie werd op het plantgat gegoten vlak voor het planten.

9.2.4 Waarnemingen

Wekelijks werd het aantal dode planten, het aantal verwelkte en het aantal planten met stengelvoetnecrose bepaald. Komkommers werden 3x per week geoogst en binnen een uur na oogst onderverdeeld in 3 klassen (klasse I (export), klasse II en stek) en per klasse gewogen.

9.2.5 Experimentele opzet en statistische analyse

De proef werd uitgevoerd in een kas van 280 m^2. De proef was een volledig gewarde blokkenproef met 4 blokken en 1 herhaling per blok. Het percentage dode en zieke planten en de cumulatieve opbrengst (klasse I en II) werden berekend aan het einde van de proef en geanalyseerd m.b.v. variantie-analyse.

9.3 Resultaten

In deze proef gingen slechts enkele planten dood als gevolg van aantasting door *Pythium*. Er waren geen significante verschillen in het verloop en het totale aantal planten met stengelvoetnecrose tussen de met *Pythium*-besmette behandelingen. Er waren geen significante verschillen in opbrengst tussen de behandelingen (F-toets, P>0.05,Tabel 8).

Tabel 8 - Effect Chitosan, *Pseudomonas* BTP1, PRO-1 en Biosept op komkommer na besmetting met *Pythium aphanidermatum*

	Percentage dode en zieke planten		
Behandeling	Dood	Dood of stengelnecrose	Opbrengst per veldje (kg)
Controle - *Pythium*	0.0	0.0	36.0
Controle + *Pythium*	0.0	80.0	35.1
Previcur N	0.0	0.0	35.0
Chitosan	2.5	67.5	32.0
PRO-1	2.5	92.5	33.0
Pseudomonas BTP1	10.0	75.0	30.6
Chitosan + BTP1	7.5	82.5	31.5
Biosept	5.0	77.5	31.0

9.4 Discussie

De planten werden in deze proef wel geïnfecteerd door *Pythium* maar ondervonden hierdoor weinig schade. Géén van de biologische middelen kon het aantal planten met stengelvoetnecrose verminderen of het ziekteverloop vertragen. PRO-1 kon het aantal planten met stengelvoetnecrose niet verminderen of vertragen hoewel het middel *in vitro* zoösporen vrijwel direct uitschakelt. Dit tegenvallende effect kan mogelijk verklaard worden door: (I) een snelle afbraak van het middel in de wortelzone, (II) een niet-homogene verdeling in de steenwolmat en/of (III) infectie van wortels via directe kieming van oösporen, dus kieming zonder zoösporen. Het middel BioDux van de firma Duxon in Denemarken zou een vergelijkbaar effect hebben op zoösporen als PRO-1 maar gebaseerd op andere stoffen (vetzuren). Dit middel werd getest door Paaske & Larsen (2000) in het opkweekstadium van komkommer tegen *Pythium*. Zij vonden met dit middel geen ziekteonderdrukkend effect in steenwol.

10 Effect van de wijze van toedienen van chitosan tegen *Pythium*-rot bij komkommer

10.1 Inleiding en doel

Uit eerdere proeven is gebleken dat chitosan schade bij komkommer veroorzaakt door *Pythium aphanidermatum* kan verminderen. Voor een praktische toepassing zou chitosan mogelijk het beste in vaste vorm door de opkweekpot of het substraat kunnen worden gemengd. Een andere mogelijkheid is om het aan de voedingsoplossing toe te dienen. Tot nu toe is chitosan steeds opgelost voordat het werd toegediend. In 4 proeven werd het effect van chitosan bepaald na toediening in vaste vorm of opgeloste vorm en na toediening aan het substraat of aan de voedingsoplossing

10.2 Materiaal en methoden

10.2.1 Proef I

10.2.1.1 Proef I: plantmateriaal en teeltomstandigheden

Komkommerplanten, cv Odessa, werden geplaatst op steenwolmatten op 2 maart 2001 (plantafstand 68 cm). Planten waren in het 3e bladstadium op het moment van planten. De temperatuurinstellingen in de kas waren: stoken/luchten bij 20/21°C gedurende de eerste week en vervolgens 22/23°C. De voedingsoplossing werd gerecirculeerd. De proef werd beëindigd op 22 maart 2001.

10.2.1.2 Proef I: behandelingen

Chitosan werd op verschillend wijzen toegediend waarbij in sommige behandelingen tussen pot en mat een halve pot werd geplaatst (Tabel 8, Fig. 4). In 4 behandelingen werd chitosan niet opgelost voordat het werd toegediend. Bij deze behandelingen werd de gewenste hoeveelheid chitosan met 150 ml voedingsoplossing op de (halve) pot gegoten (Tabel 8). In één behandeling werd chitosan opgelost in 0.04 N HCl zoals beschreven in Hoofdstuk 3. De oplossing werd verdund met voedingsoplossing tot de gewenst concentratie waarna de pH voor het toedienen bij de plant werd verhoogd tot 5.5 m.b.v. NaOH.

Tabel 9 - Proef I: doseringen en wijze van toedienen van chitosan bij de verschillende behandelingen

Behandeling	*Pythium*	Halve pot	Chitosan	
			Dosering per plant	Vast/opgelost
1	nee	Nee	Geen, controle	-
2	ja	Nee	Geen, controle	-
3	ja	Ja	Geen, controle	-
4	ja	Nee	0,1 gram chitosan 4 dagen voor planten	Vast
5	ja	Ja	0,1 gram chitosan 4 dagen voor planten+ 0,1 gram chitosan op halve pot op dag van planten	Vast
6	ja	Nee	0,5 gram chitosan 4 dagen voor planten	Vast
7	ja	Ja	0,1 gram chitosan op halve pot op dag van planten	Vast
8	ja	Nee	0,1 gram opgeloste chitosan 4 dagen voor planten	Opgelost

10.2.1.3 Proef I: inoculum

Isolaat 301 van *Pythium aphanidermatum* werd in vloeibaar V8-medium gekweekt. Na twee weken incubatie bij 24°C werd de myceliummat met daarin oösporen gewassen en vervolgens vermalen en gezeefd door

kaasdoek. Het aantal oösporen in de suspensie werd bepaald m.b.v. een telkamer. Vlak voor het planten werd op elk plantgat 100 ml van de schimmelsuspensie gegoten met in totaal $8*10^5$ oösporen.

10.2.1.4 Proef I: waarnemingen

Na planten werd 2x per week het aantal zieke en dode planten bepaald. Hierbij werden verschillende categorieën onderscheiden: verwelkte planten, planten met stengelvoetnecrose, verwelkte planten met stengelvoetnecrose en dode planten. Twintig dagen na planten werden de levende planten vlak boven de pot afgesneden en werd per veldje het totaal versgewicht bepaald van de planten.

10.2.1.5 Proef I: proefopzet en statistische verwerking van de gegevens

Per behandeling waren er 4 herhalingen verdeeld over 4 blokken. Eén herhaling bestond uit een goot met 10 planten. De percentages dode planten, planten met stengelvoetnecrose, het totaal percentage dode en zieke planten en het plantgewicht bepaald aan het eind van de proef werden genalyseerd m.b.v variantie-analyse gevolgd door Fisher's protected LSD-test ($P<0.05$).

10.2.2 Proef II

10.2.2.1 Proef II: plantmateriaal en teeltomstandigheden

Komkommerplanten, cv Odessa, werden geplaatst op steenwolmatten op 29 mei 2001 (plantafstand 68 cm). Planten waren in het 3e bladstadium op het moment van planten. De temperatuurinstellingen in de kas waren: stoken/luchten bij 20/21°C. De gemiddelde gerealiseerde temperatuur tijdens de proef was 22.3°C. De voedingsoplossing werd gerecirculeerd. De proef werd beëindigd op 15 juni 2001.

10.2.2.2 Proef II: behandelingen

Er waren 8 behandelingen waaronder 2 controle-behandelingen en 6 behandelingen waarbij chitosan op verschillende wijzen werd toegediend (Tabel 9). Bij de behandelingen waarbij chitosan werd toegediend aan de onderbak, tijdens de opkweek of teelt, werd de chitosan in een zakje van kaasdoek geplaatst en het zakje werd m.b.v een touwtje in de onderbak gehangen (Tabel 9).

Tabel 10 - Proef II: doseringen en wijze van toedienen van chitosan bij de verschillende behandelingen

Behandeling	*Pythium*	Chitosan	
		Toediening per plant	Vast/opgelost
1	nee	Controle	Nvt
2	ja	Controle	Nvt
3	ja	50 gram Chitosan in druppelwater (onderbak) tijdens teelt	Vast
4	ja	0,1 gram opgeloste chitosan 4 dagen voor planten + 50 gram chitosan in druppelwater (onderbak) tijdens de teelt	Opgelost en vast
5	ja	Controle	Nvt
6	Ja	0,1 gram opgeloste chitosan 4 dagen voor planten	Opgelost
7	ja	0,1 gram chitosan 4 dagen voor planten	Vast
8	ja	50 gram chitosan in onderbak tijdens de opkweek	Vast

10.2.2.3 Proef II: Inoculum, waarnemingen, proefopzet en statistische verwerking van de gegevens

Zie proef I. Op elk plantgat werd 50 ml schimmelsuspensie gegoten met in totaal $7*10^4$ oösporen.

10.2.3 Proef III

10.2.3.1 Proef III: plantmateriaal en teeltomstandigheden

Komkommerplanten, cv Odessa, werden geplaatst op steenwolmatten op 4 juli 2001 (plantafstand 68 cm).

Planten waren in het 5e bladstadium op het moment van planten. De temperatuurinstellingen in de kas waren: stoken/luchten bij 18/19°C. De voedingsoplossing werd gerecirculeerd. De proef werd beëindigd op 16 augustus 2001.

10.2.3.2 Proef III: behandelingen en proefopzet

De proef werd uitgevoerd in een kas met 8 gesloten watergeefsystemen waarbij per systeem 4 goten waren aangesloten. De proef had een split-plot opzet waarbij de hoofdfactor bestond uit 4 behandelingen:

1. controle – *Pythium*
2. controle + *Pythium*
3. 0.1 g opgeloste chitosan per pot toedienen 4 dagen voor planten + *Pythium*
4. 0.1 g niet-opgeloste chitosan per pot toedienen 4 dagen voor planten + *Pythium*

De chitosan werd opgelost en in 200 ml water op de steenwolpot gegoten direct na plaatsing van de pot op de steenwolmat. Behandelingen 1 en 4 hadden elk één herhaling met 4 goten en behandelingen 2 en 3 hadden elk 3 herhalingen met elk 4 goten. De subfactor was inoculumdichtheid met 4 trappen: 10^2, 10^3, 10^4 en 10^5 oösporen per plantgat. Het "hoofplot" bestond dus uit 1 watergeefsysteem met 4 goten en een "split-plot" uit één goot met daarop 10 planten.

10.2.3.3 Proef III: inoculum en besmetten

Oösporen van *Pythium aphanidermatum* isolaat 301 werden geproduceerd zoals beschreven onder proef I (10. 2.1.3). Twee dagen na planten werd de steenwolmat besmet door 100 ml voedingsoplossing met $1x10^2$, $1x10^3$, $1x10^4$ of $1x10^5$ oösporen direct naast elke pot te gieten.

10.2.3.4 Waarnemingen en statistische verwerking van de gegevens

Na planten werd wekelijks het aantal zieke en dode planten bepaald. Hierbij werden verschillende categorieën onderscheiden: verwelkte planten, planten met stengelvoetnecrose, verwelkte planten met stengelvoetnecrose en dode planten. Komkommers werden geoogst en ingedeeld in klasse I (export), klasse II (binnenland) en stek en per klasse werd het totaalgewicht bepaald. De fracties dode en zieke planten en de cumulatieve opbrengst per veldje aan het eind van de proef werden geanalyseerd met behulp van variantie-analyse. Fracties werden hiervoor eerst getransformeerd d.m.v. een logit-transformatie en de opbrengsten in grammen per veldje dmv een log(e)-transformatie. Gemiddelden van de behandelingen werden vergeleken m.b.v. Fisher's protected LSD-test waarbij rekening werd gehouden met het ongelijke aantal herhalingen per behandeling.

10.2.4 Proef IV

10.2.4.1 Proef IV: plantmateriaal en teeltomstandigheden

Komkommerplanten, cv Odessa, werden geplaatst op steenwolmatten op 18 september 2001 (plantafstand 68 cm). Planten waren in het 3e bladstadium op het moment van planten. De temperatuurinstellingen in de kas waren: stoken/luchten bij 20/21°C. De voedingsoplossing werd niet gerecirculeerd. De proef werd beëindigd op 11 oktober 2001.

10.2.4.2 Proef IV: behandelingen

Er waren 7 behandelingen waarvan 3 behandelingen met chitosan en één behandeling met het biologische middel Polyversum (Tabel 10). De middelen werden in 200 ml voedingsoplossing op de pot gegoten

Tabel 11 - Proef IV: overzicht van de verschillende behandelingen

Behandeling	*Pythium*	Toediening per plant	Tijdstip toediening Aantal dagen - = voor planten + = na planten
1	nee	Controle	
2	ja	Controle	
3	ja	200 ml 0,1% Previcur N	0 en +15
4	ja	0,1 gram opgeloste chitosan	-4
5	ja	0,1 gram opgeloste chitosan	-8
6	ja	0,1 gram opgeloste chitosan	-4 en -8
7	ja	200 ml 0,05% Polyversum	-4, 0 en +15

10.2.4.3 Proef IV: inoculum

De matten werden vlak voor het planten besmet door 50 ml voedingsoplossing met $1x10^4$ oösporen op elk plantgat te gieten.

10.2.4.4 Proef IV: proefopzet, waarnemingen en statistische verwerking van de gegevens

De proef was een volle gerandomiseerde blokkenproef met 4 blokken en één herhaling per blok. Een herhaling bestond uit één goot met 10 planten. Drieëntwintig dagen na planten werd het aantal dode planten, het aantal planten met stengelvoetnecrose en het gewicht van de (nog) levende planten bepaald per veldje. De gegevens werden geanalyseerde m.b.v. variantie-analyse gevolgd door Fisher's protected LSD-test ($P<0.05$). Bij de analyse van het aantal zieke en/of dode planten werd de gegevens van de niet-besmette controle behandeling niet meegenomen omdat er geen ziekte optrad in deze behandeling en de variantie tussen de herhalingen dus 0 was.

10.3 Resultaten

10.3.1 Proef I

Minder planten gingen dood bij de behandelingen met chitosan en een hoger plantgewicht per veldje werd verkregen t.o.v. de niet-besmette controle behandeling (Tabel 11). Het beste effect werd verkregen bij de behandeling waarbij de chitosan was opgelost voordat het was toegediend.

10.3.2 Proef II

De laagste percentages dode planten en de hoogste plantgewichten per veldje werden verkregen bij de behandelingen waarbij chitosan in opgeloste vorm was toegediend (Tabel 12)

Proef I: effect chitosan op aantasting van komkommer door *Pythium aphanidermatum*.

Behandeling			Dode planten (%)	Dode en zieke planten (%)	Plantgewicht per veldje (g)
Dosering chitosan	Halve pot	*Pythium*			
Geen, controle	Nee	Nee	0.0	0.0	735.7 d
Geen, controle	Nee	Ja	30.0 b[a]	97.5	368.1 a
Geen, controle	Ja	Ja	15.0 ab	92.5	446.5 b
0.1 g 4 dagen voor planten	Nee	Ja	10.0 a	92.5	507.1 bc
0.1 g 4 dagen voor planten + 0.1 g op halve pot op plantdag	Ja	Ja	5.0 a	87.5	541.4 c
0.5 g 4 dagen voor planten	Nee	Ja	12.5 a	85.0	536.9 c
0.1 g op halve pot op plantdag	Ja	Ja	15.0 ab	80.0	499.3 bc
0.1 g (opgelost) 4 dagen voor planten	Nee	Ja	2.5 a	87.5	556.9 c

[a] Waarden gevolgd door dezelfde letter zijn niet significant verschillend volgens Fisher's protected LSD-test.

Tabel 12 - Proef II: effect chitosan op aantasting van komkommer door *Pythium aphanidermatum*.

Behandeling			Dode planten (%)	Dode en zieke planten (%)	Plantgewicht per veldje (g)
Toediening Chitosan	Vast/ opgelost	*Pythium*			
Controle	-	nee	0.0	0.0	943.0 e
Controle	-	ja	75.0 bc[a]	100.0	71.2 ab
Controle	-	ja	50.0 ab	100.0	150.8 bc
50 g in druppelwater tijdens teelt	vast	ja	55.0 b	100.0	128.8 b
0.1 g 4 dagen voor planten + 50 g in druppelwater tijdens teelt	opgelost vast	ja	35.0 ab	100.0	242.7 d
0.1 g 4 dagen voor planten	opgelost	ja	32.5 a	100.0	218.0 c
0.1 g 4 dagen voor planten	vast	ja	70.0 b	100.0	91.2 ab
50 g in eb/vloedbak tijdens opkweek	vast	ja	95.0 c	100.0	17.4 a

[a] Waarden gevolgd door dezelfde letter zijn niet significant verschillend volgens Fisher's protected LSD-test.

10.3.3 Proef III

In de niet-besmette controle-behandeling werden geen planten aangetast door *Pythium* en de gemiddelde komkommeropbrengst per veldje was 39,8 kg. In de besmette controle werden 20 tot 100% van de planten zichtbaar aangetast door *Pythium*. Er was geen significant effect van chitosan op de percentages zieke en dode planten noch op de opbrengst per veldje vergeleken met de besmette controle. Het besmettingsniveau had wel een duidelijk effect. Bij een hoger besmettingsniveau werden meer planten ziek en gingen meer planten dood en was de opbrengst lager dan bij een lager besmettingsniveau (Tabellen 13,14).

Tabel 13 - Proef III: percentages dode en zieke komkommerplanten besmet met verschillende aantallen oösporen van *Pythium aphanidermatum*. Twee dagen na planten was de steenwolmat direct naast elke plant besmet met 10^2, 10^3, 10^4 of 10^5 oösporen.

Behandeling	% dode planten				% zieke planten				% dode en zieke planten			
	10^2	10^3	10^4	10^5	10^2	10^3	10^4	10^5	10^2	10^3	10^4	10^5
Controle	10,0	6,7	60,0	73,3	10,0	20,0	16,7	26,7	20,0	26,7	76,7	100,0
Chitosan opgelost	6,7	23,3	76,7	93,3	13,3	33,3	20,0	6,7	20,0	56,7	96,7	100,0
Chitosan vast	20,0	20,0	80,0	90,0	10,0	20,0	20,0	10,0	30,0	40,0	100,0	100,0

Tabel 14 - Proef III: gemiddelde komkommerproductie per veldje bij verschillende besmettingsniveau's met *Pythium aphanidermatum* (10^2-10^5 oösporen per plant). Per veldje waren 10 planten gepoot.

Behandeling	Productie per veldje (kg)			
	10^2	10^3	10^4	10^5
Controle	39,6	38,6	23,7	10,1
Chitosan opgelost	28,9	28,5	15,1	3,8
Chitosan vast	24,1	24,7	8,4	3,7

10.3.4 proef IV

Geen van de behandelingen met chitosan of met het middel Polyversum had een effect tegen *Pythium*. Planten behandeld met het chemische middel Previcur N gingen niet dood, maar de meest planten waren wel zichtbaar aangetast door *Pythium* (Tabel 16).

Tabel 15 - Proef IV: Effect chitosan, Previcur N en Polyversum op aantasting van komkommer door *Pythium aphanidermatum*

Behandeling		Dode	Dode en zieke	Plantgewicht per
Toediening middel	*Pythium*	planten (%)	planten (%)	veld (g)
Controle	Nee	0,0	0,0	9585,0
Controle	Ja	72,5	100,0	952,0
200 ml 0,1% Previcur N	Ja	0,0	82,5	4867,0
0,1 gram opgeloste chitosan	Ja	85,0	100,0	327,0
0,1 gram opgeloste chitosan	Ja	85,0	100,0	379,0
0,1 gram opgeloste chitosan	Ja	72,5	100,0	729,0
200 ml 0,05% Polyversum	Ja	85,0	100,0	346,0
LSD (P=0.05)		19,4	4,9	66,1

10.4 Discussie en conclusies

Significant positieve effecten met chitosan werden alleen verkregen wanneer het middel in opgeloste vorm werd toegediend. Wanneer het middel in vaste vorm werd toegediend loste vermoedelijk te weinig chitosan in de opkweekpot op om een effect te hebben. Mogelijk dat het middel, wanneer het vanaf het moment van zaaien in de opkweekpot in vaste vorm aanwezig is, wel effectief is. Chitosan zal vermoedelijk langzaam oplossen in de opkweekpot en gedurende de gehele opkweekfase komt zo mogelijk voldoende opgeloste chitosan beschikbaar om effect te hebben. Chitosan is lastig oplosbaar en voor een toepassing in de praktijk zou verwerking van chitosan in de opkweekpot het meest praktisch zijn.

In 2 proeven, proeven III en IV, werd geen effect van chitosan gevonden. In proef III werd chitosan pas toegevoegd toen de plant al op de mat stond en 2 dagen later werden de matten besmet met *Pythium*. In eerder proeven was chitosan ten minste 4 dagen voor besmetting toegediend. Het belangrijkste werkingsmechamisme van chitosan is resistentie-inductie (El Ghaouth *et al.*, 1994), en mogelijk moet chitosan meer dan 2 dagen voordat de plant wordt blootgesteld aan het pathogeen zijn toegediend om een goed effect te krijgen. Het slechte resultaat kan mogelijk ook veroorzaakt zijn door verdunning van het aan de pot toegediende chitosan met de voedingsoplossing vrij snel na toedienen. In eerdere proeven was na toediening van chitosan de pot van onderaf bevloeid terwijl in proef III de plant van bovenaf (via een steker) voedingsoplossing kreeg. Hierdoor kan chitosan zijn uitgespoeld waardoor de concentratie in de pot sterk verminderde kort nadat het was toegediend. In proef IV was chitosan wel 4 dagen (of nog eerder) voor planten toegediend aan de potten maar in deze proef werd niet gerecirculeerd in het teeltsysteem. Uitspoeling van de chitosan tijdens de teelt was mogelijk de reden dat geen effect werd gevonden. Daarnaast was in proef IV de ziektedruk erg hoog en heeft chitosan bij een dergelijke hoge ziektedruk vermoedelijk geen effect. In proef IV was het chemische middel Previcur N (proef IV) ook beduidend minder effectief dan in eerdere proeven. De reden hiervoor was zeer waarschijnlijk uitspoeling van het middel doordat er niet werd gerecirculeerd.

11 Effect van chitosan op wortelverdikking

11.1 Inleiding

Chitosan beschermt komkommer gedeeltelijk tegen aantasting door *P. aphanidermatum*. In deze oriënterende proef is het effect van chitosan tegen een andere belangrijke wortelziekte bij komkommer, wortelverdikking, getoetst.

11.2 Materiaal en methoden

11.2.1 Plantmateriaal en teeltomstandigheden

Komkommers, cv Odessa, werden gezaaid in steenwolpotten op 10 juli 2001. De potten werden geplaatst in plantenkwekersbakken waarvan de bodem was afgedekt met waterdicht plastic. In elke bak werden 5 potten geplaatst. Temperatuurinstellingen van de kas waren: 22/24°C stoken/luchten

11.2.2 Behandelingen

Er waren 3 behandelingen: 2 controles en een behandeling met chitosan (Tabel 11.1). Chitosan werd opgelost in 0,04 N HCl en na verdunning in voedingsoplossing tot 0.5g/L werd de pH voor het toedienen verhoogd tot 5,5. Op elke pot werd 13 dagen na zaaien 200 ml van de chitosanoplossing gegoten.

Tabel 11.1 Behandelingen proef met en zonder wortelverdikking (WVD)

	Behandeling	Dosering
1	Controle - WVD	-
2	Controle + WVD	-
3	Chitosan + WVD	0,1 gram/pot

11.2.3 WVD-inoculum

Het WVD-agens is niet kweekbaar en werd in stand gehouden op levende komkommerplanten in hydrocultuur. In de proef werden planten besmet door een komkommerzaailing met WVD in de bak met de planten te plaatsen in een laagje voedingsoplossing.

11.2.4 Waarnemingen

Veertien dagen na besmetten werden de wortels beoordeeld op de mate van WVD. Er werd een waardering van 0 tot 3 gegeven.
0 = geen wortelverdikking
1 = licht aantasting (enkele wortels met aantasting)
2 = matige aantasting
3 = zware aantasting ((bijna) alle wortels aangetast)
De komkommerplanten werden vervolgens vlak boven de pot afgesneden en gewogen.

11.2.5 Proefopzet en analyse

De proef had een volledig gerandomiseerd opzet met 3 herhalingen (3 bakken met 5 planten elk). De gegevens werden genalyseerd m.b.v, variantie-analyse gevolgd door Fisher's protected LSD-test ($P<0.05$).

11.3 Resultaten

Alle planten besmet met het WVD-agens kregen WVD. Deze planten hadden een lager gewicht dan de planten die niet waren besmet. Er waren geen significante verschillen in plantgewicht of mate van WVD tussen de besmette behandelingen met en zonder chitosan (Tabel 11.2; Fig. 11.1)

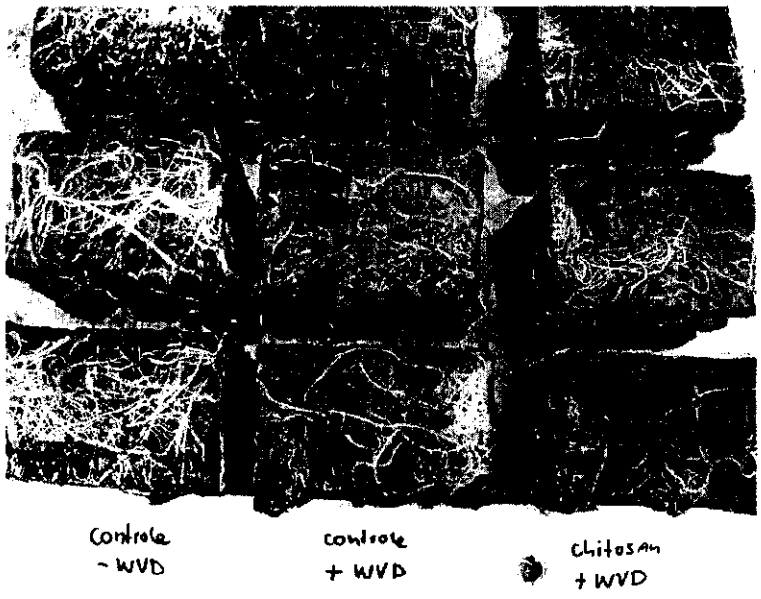
Tabel 11.2 Gemiddeld gewicht per plant en de beoordeling van de wortels.

	Behandeling	Plantgewicht (g)	Mate van WVD
1	Controle - WVD	284,7b[a]	0,31a
2	Controle + WVD	228,3a	2,0b
3	Chitosan + WVD	207,9a	2,0b

[a] Waarden gevolgd door dezelfde letter zijn niet significant verschillend volgens Fisher's protected LSD (P<0.05).

11.4 Conclusie

Chitosan heeft geen effect tegen wortelverdikking.



Figuur 5 - Wortelontwikkeling bij komkommerplanten wel/niet besmet met het wortelverdikkingsagens

12 Algemene discussie en aanbevelingen voor vervolgonderzoek

Alle getoetste biologische middelen, behalve chitosan, hadden geen (herhaalbaar) effect tegen *Pythium* in komkommer. Deze tegenvallende resultaten met biologische middelen komen overeen met onderzoek uitgevoerd door andere onderzoekers (Postma & Kerssies, 2000; Paaske & Larsen,2000). Chitosan had een duidelijk effect in meerdere proeven, maar het effect was wel klein t.o.v. het chemische middel Previcur N. In sommige proeven was helemaal geen effect wat mogelijk verklaard kan worden door de wijze en het tijdstip waarop de stof was toegediend. De stof chitosan, die via een eenvoudige bewerking wordt gemaakt uit chitine afkomstig van schaaldieren, is volgens de literatuur niet toxisch (Sandford, 1988) en is voorgedragen voor plaatsing op de RUB als middel tegen *Pythium* in komkommer (Regeling Uitzondering Bestrijdingsmiddelen).

Bij enkele gewassen is aangetoond dat chitosan een opbrengstverhogend effect kan hebben (Ohta *et al.*, 2000; Sandford, 1988). Of chitosan de opbrengst van komkommer onder Nederlandse omstandigheden kan verhogen is niet bekend. Wel bekend is dat chitosan ook effecten heeft tegen ander pathogenen , bv. *Fusarium*-verwelkingsziekte in tomaat (Lafontaine & Benhamou, 1996). Voor toepassing in de praktijk zou het meest praktisch zijn om chitosan in opkweekpotten te verwerken. In de proeven was chitosan niet of minder effectief wanneer het in vaste vorm werd toegediend dan wanneer het eerst werd opgelost. Mogelijk dat wanneer chitosan vanaf het begin (vanaf zaaien) in vaste vorm in de opkweekpot aanwezig is, tijdens de opkweek voldoende chitosan oplost om effect te hebben. Dit zou experimenteel kunnen worden onderzocht door bij de fabricage van potten chitosan in de pot te verwerken en het effect van een dergelijke pot op *Pythium*-aantasting tijdens de teeltfase te toetsen. Dit zou kunnen worden uitgezocht door dergelijke (experimentele) potten te fabriceren en het effect van dergelijke potten op *Pythium*-rot te vergelijken met een behandeling waarbij chitosan enkele dagen voor planten in opgeloste vorm wordt toegediend.

Zonder gebruik van chemische middelen zal *Pythium*, zeker bij warm weer, een probleem blijven bij de teelt van komkommer op steenwol. Op dit moment wordt in een ander project (intern projectnummer: 433066) onderzocht of er verschillen bestaan in ziektewerendheid tussen bestaande substraten. Resultaten uit een eerste proef geven aan dat in puimsteen en kokos minder snel problemen zullen optreden met *Pythium* dan dan in steenwol. De redenen hiervoor zijn vermoedelijk dat bij een normale waterfgift puimsteen veel meer lucht bevat dan steenwol en dat in het organische substraat kokos de microbiële activiteit veel hoger is dan in steenwol waardoor *Pythium* minder kans krijgt. Substraatkeuze lijkt dus veel meer mogelijkheden te bieden problemen met *Pythium* te voorkomen dan de inzet van biologische middelen. Verschillen in ziektewerendheid tussen de diverse substraten en de karakteristieken waardoor de mate van ziektewerendheid van een substraat wordt bepaald dienen dan ook verder te worden onderzocht.

13 Literatuur

El Ghaouth, A., J. Arul, J. Grenier, N. benhamou, A. Asselin & R. Bélanger, 1994. Effect of chitosan on cucumber plants; suppression of *Pythium aphanidermatum* and induction of defense reactions. Phytopathology 84: 313-320.

Lafontaine, P.J., & N. Benhamou, 1996. Chitosan treatment: an emerging strategy for enhancing resistance of greenhouse tomato plants to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. Biocontrol Science and Technology 6: 111-124.

Ohta, K., H. Atarashi, Y. Shimatani, S. Matsumoto, T. Asao & T. Hosoki, 2000. Effects of chitosan with or without nitrogen treatments on seedling growth in *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. Cv. Kairyou Wakamurasaki. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 69: 63-65.

Ongena, M., F. Daayf, P. Jacques, P. Thonart, N. Benhamou, T.C. Paulitz, P. Cornélis, N. Koedam & R.R. Bélanger, 1999. Protection of cucumber against *Pythium* root rot by fluorescent pseudomonads: predominant role of induced resistance over siderophores and antibiosis. Plant Pathology 48: 66-76.

Postma, J & A.Kerssies, 2000. Biologische buffering van substraatsystemen ten aanzien van wortelpathogenen. Rapport Instituut van Plantenziekttenkundig Onderzoek.

Paaske, K. & J. Larsen, 2000. Forebyggelse af Pythium. Gartner tidende 36/2000: 12-13.

Sandford, P.A., 1988. Chitosan: commercial uses and potential applications. In: Chitin and chitosan, sources, chemistry, biochemistry, physical properties and application. Skjak-Braek, G., Anthonsen, T., & Sandford, P. (eds), Proceedings from the 4th International Conference on chitin and chitosan, Trondheim, Norway, August 22-24.