



# Wortelverdikking bij komkommer

pH, potsoort en waardplanten

Dirk Jan van der Gaag, Pim Paternotte, Roel Hamelink & Chantal Bloemhard

project 435034

# Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	7
1 ALGEMENE INLEIDING.....	9
2 EFFECT VAN PH OP DE INFECTIOSITEIT VAN DE VOEDINGSOPLOSSING .....	11
2.1 Inleiding .....	11
2.2 Doel.....	11
2.3 Materiaal en methoden.....	11
2.3.1 WVD-inoculum .....	11
2.3.2 Voedingsoplossing, pH en besmetten.....	11
2.3.3 Biotests en bemonstering .....	12
2.3.4 Statistische verwerking van de gegevens .....	12
2.4 Resultaten.....	12
2.5 Discussie .....	14
3 IS HET WVD-AGENS VOLLEDIG UITGESCHAKELD WANNEER IN DE BIOTOETS GEEN WVD WORDT WAARGENOMEN? .....	15
3.1 Inleiding .....	15
3.2 Doel.....	15
3.3 Materiaal en methoden.....	15
3.3.1 Voedingsoplossing, pH en besmetten.....	15
3.3.2 Biotests.....	15
3.4 Resultaten.....	15
3.5 Discussie .....	17
4 EFFECT VAN DE PH VAN DE VOEDINGSOPLOSSING OP HET OPTREDEN VAN WVD ONDER SEMI- PRAKTIJK OMSTANDIGHEDEN .....	19
4.1 Inleiding .....	19
4.2 Doel.....	19
4.3 Materiaal en methoden.....	19
4.3.1 Kas .....	19
4.3.2 Voedingsoplossing, pH en besmetten.....	19
4.3.3 Bemonstering en biotests .....	20
4.4 Resultaten .....	20
4.4.1 Proef I.....	20
4.4.2 Proef II .....	20
4.5 Discussie .....	21
5 EFFECT SUBSTRAAT (STEENWOL EN PERLIET) EN PH OP WVD.....	23
5.1 Inleiding .....	23
5.2 Doel.....	23
5.3 Materiaal en methoden.....	23
5.3.1 Behandelingen .....	23
5.3.2 Besmetten .....	23
5.3.3 Waarnemingen .....	23
5.3.4 Statistische verwerking van de gegevens .....	24
5.4 Resultaten.....	24
5.4.1 pH-metingen.....	24
5.4.2 WVD.....	24

5.5	Discussie .....	24
6	WAARDPLANTEN VAN HET WVD-AGENS (I) EN HET EFFECT VAN POTSORT (STEENWOL EN PERLIET) OP WVD .....	27
6.1	Inleiding .....	27
6.2	Doel.....	27
6.3	Materiaal en methoden.....	27
6.3.1	Proefopzet.....	27
6.3.2	Voedingsoplossing en besmetten.....	27
6.3.3	Plantmateriaal .....	27
6.3.4	Potsort .....	28
6.3.5	Bemonstering en waarnemingen.....	28
6.3.6	Statistische verwerking van de gegevens .....	28
6.4	Resultaten.....	28
6.5	Discussie .....	28
7	WAARDPLANTEN VAN HET WVD-AGENS (II) .....	31
7.1	Inleiding .....	31
7.2	Doel.....	31
7.3	Materiaal en methoden.....	31
7.3.1	Plantmateriaal .....	31
7.3.2	Proefopzet.....	31
7.3.3	Biotoets en waarnemingen .....	31
7.3.4	Statistische verwerking van de gegevens .....	32
7.4	Resultaten.....	32
7.5	Discussie .....	32
8	EFFECT WATERGEHALTE STEENWOLPOT OP WORTELVERDIKKING .....	35
8.1	Inleiding .....	35
8.2	Doel.....	35
8.3	Materiaal en methoden.....	35
8.3.1	Voedingsoplossing .....	35
8.3.2	Plantmateriaal .....	35
8.3.3	Behandelingen .....	35
8.3.4	Waarnemingen .....	35
8.3.5	Statistische verwerking van de gegevens .....	36
8.4	Resultaten.....	36
8.5	Discussie .....	36
9	EFFECT POTSORT, GLASWOL, KOKOS EN STEENWOL, OP WVD .....	37
9.1	Inleiding .....	37
9.2	Doel.....	37
9.3	Materiaal en methoden.....	37
9.3.1	Substraat.....	37
9.3.2	Opkweek .....	37
9.3.3	Behandelingen .....	37
9.3.4	Besmetten .....	37
9.3.5	Voedingsoplossing en irrigatie .....	37
9.3.6	Waarnemingen .....	37
9.3.7	Statistische verwerking van de gegevens .....	38
9.4	Resultaten.....	38
9.5	Discussie .....	38
10	EFFECT PH OP WVD BIJ KOMKOMMER IN HYDROCULTUUR.....	39
10.1	Inleiding .....	39

10.2 Doel.....	39
10.3 Materiaal en methoden.....	39
10.3.1 Opkweekcondities .....	39
10.3.2 Behandelingen .....	39
10.3.3 Besmetten .....	39
10.3.4 Waarnemingen .....	39
10.4 Resultaten.....	39
10.5 Conclusies .....	39
11 HOE LANG KAN HET WVD-AGENS OVERLEVEN ONDER DROGE OMSTANDIGHEDEN?.....	41
11.1 Inleiding .....	41
11.2 Doel.....	41
11.3 Materiaal en methoden.....	41
11.3.1 Besmette voedingsoplossing.....	41
11.3.2 Zieke worteltjes.....	41
11.3.3 Waarnemingen .....	42
11.4 Resultaten.....	42
11.4.1 Besmette voedingsoplossing.....	42
11.4.2 Zieke worteltjes.....	42
11.5 Discussie .....	42
12 EFFECT VAN PH OP WORTELGROEI EN PRODUCTIE VAN KOMKOMMERPLANTEN MET WORTELVERDIKKING .....	43
12.1 inleiding .....	43
12.2 Doel.....	43
12.3 Materiaal en methoden.....	43
12.3.1 Opkweek en besmetting met WVD .....	43
12.3.2 Teelt en pH.....	43
12.3.3 Waarnemingen .....	44
12.3.4 Statistische verwerking van de gegevens .....	44
12.4 Resultaten.....	44
12.4.1 pH in de matten.....	44
12.4.2 Wortelverdikking en productie .....	44
12.5 Discussie .....	48
13 CONCLUSIES .....	49
14 AANBEVELINGEN VOOR VERVOLGONDERZOEK .....	51
15 LITERATUUR.....	53
BIJLAGE 1 .....	55
BIJLAGE 2.....	57

# Samenvatting

Wortelverdikking (WVD) bij komkommer wordt vermoedelijk veroorzaakt door een niet-kweekbare bacterie. In de eerste helft van 2000 is door het bedrijf Groen Agro Control een op PCR gebaseerd detectiemethode ontwikkeld waarmee deze bacterie op wortels en in besmette voedingsoplossing kan worden aangetoond. Over het gedrag van de veroorzaker van WVD (het WVD-agens) was nog weinig bekend. In dit onderzoek zijn verschillende aspecten van het gedrag van het WVD-agens onderzocht en is bekeken of de kans op WVD en schade door WVD kan worden verminderd door teeltaanpassingen. Hierbij is onderzocht: het effect van pH op WVD en de overlevingsduur van het agens in de voedingsoplossing, alsmede het effect van potsoort en watergehalte van de opkweekpot op WVD. Tevens is onderzocht of planten die niet tot de komkommerachtigen (*Cucurbitaceae*) behoren aangetast kunnen worden door het WVD-agens, of het WVD-agens droge condities kan overleven en of door verlaging van de pH in het teeltsubstraat schade door WVD kan worden verminderd.

## *Effect pH*

In hydrocultuur is het effect van pH (4.0 – 6.0) op WVD onderzocht. Bij een pH van 5.0 of lager werd geen WVD gevonden maar wel bij een pH van 5.5 of hoger. Het effect van de pH (pH 4.0 - 6.5) op de overleving van het WVD-agens in voedingsoplossing, die niet in contact stond met een levende plant, werd bepaald. Omdat de hoeveelheid levend agens niet direct meetbaar is werd een biotoets met komkommerzaailingen gebruikt om te bepalen of nog infectieus agens in de voedingsoplossing aanwezig was. De infectieuze periode van besmette voedingsoplossing bepaald m.b.v. de biotoets was korter bij een lage dan bij een hoge pH. De lengte van de infectieuze periode varieerde sterk tussen proeven en varieerde bij een pH 4 van minder dan een uur tot, in één geval, meer dan 3 dagen. Bij een pH boven de 5 was de infectieuze periode in de meeste proeven langer dan 3 dagen.

## *Effect pH en potsoort*

Om te bepalen of een combinatie van potsoort en een lage pH van de voedingsoplossing wortelverdikking kan voorkomen is de vorming van dikke wortels in verschillende opkweekpotten met elkaar vergeleken waarbij de pH van de gebruikte voedingsoplossing 4.0 of 5.5 was. De pH in perliet, glaswol, kokos- en steenwolpotten was gebufferd tussen 5.5 en 6.5 waardoor verlaging van de pH van de voedingsoplossing van 5.5 naar 4.0 niet of nauwelijks leidde tot verlaging van de pH in de potten. Er werden geen grote verschillen gevonden in de mate waarin WVD optrad in de verschillende potsoorten.

## *Waardplanten*

Om te bepalen of het WVD-agens behalve komkommer ook andere gewassen kan aantasten werden zaailingen van diverse plantensoorten in besmette voedingsoplossing gehangen. WVD en groeireductie werd gevonden bij komkommer, tomaat, paprika, lupine en diverse *Cucurbita* lijnen die als onderstam voor komkommer worden gebruikt. Bij Anthuriumplanten werden geen WVD-symptomen waargenomen. Twee weken na besmetten kon infectieus WVD-agens in voedingsoplossing waarin Anthuriumplanten hadden gestaan worden aangetoond. In de controle met besmette voedingsoplossing zonder plant kon het WVD-agens 2 weken na besmetten niet worden aangetoond. Blijkbaar kon Anthurium het WVD-agens in stand houden zonder zichtbaar symptomen te ontwikkelen.

## *Watergehalte opkweekpot*

Het effect van watergehalte van een steenwolpot op WVD is onderzocht. In steenwolpotten die continu verzadigd waren met water ontwikkelde WVD zich in veel zwaardere mate dan wanneer steenwolblokken niet continu verzadigd waren. Er was geen significant verschil in de mate van WVD tussen planten opgekweekt in potten die 2x per week verzadigd werden en potten die vrij droog werden gehouden.

## *Effect droge condities*

Onderzocht is of materiaal dat besmet is met het WVD-agens ontsmet kan worden door het te drogen. In plastic bakjes die waren besmet met het WVD-agens d.m.v. besmette voedingsoplossing of zieke

wortelstukjes kon na een droogperiode van 24 uur geen infectieus WVD-agens worden aangetoond.

#### *Effect pH teeltsubstraat*

Indien tijdens de teelt blijkt dat planten WVD hebben, zijn er op dit moment geen methoden om WVD te bestrijden. In twee proeven is daarom bekeken of door een verlaging van de pH in het substraat planten met WVD beter gaan groeien. Planten die tijdens de opkweek besmet waren met het WVD-agens en duidelijk WVD-symptomen vertoonden werden geteeld op glaswolmatten waarbij twee verschillende pH-niveau's in de matten werden gerealiseerd: 4.0-5.0 en 5.5-6.5. Planten geteeld bij pH 4.0-5.0 hadden significant meer gezonde wortels dan planten geteeld bij pH 5.5-6.5 6-7 weken na planten. Er was geen significant verschil in opbrengst tussen de behandelingen.

#### *Belangrijkste conclusies*

De veroorzaker van WVD (het WVD-agens) kan niet lang overleven in afwezigheid van een levende plant en de overlevingsduur van het WVD-agens is korter bij een lage dan een hoge pH. Het agens overleeft geen droge condities. Verlaging van de pH van de voedingsoplossing tijdens de opkweek vermindert de kans op WVD. Voorkomen moet worden dat bij de opkweek de steenwolpotten langere tijd verzadigd zijn met voedingsoplossing. Bij besmetting van het bedrijf zal een gewasloze periode van ca. 2 weken zeer waarschijnlijk voldoende zijn om van de besmetting af te komen. Omdat het WVD-agens op veel plantensoorten kan overleven moeten alle planten, inclusief onkruiden worden verwijderd. De minimale pH voor WVD ligt tussen de 5.0 en 5.5. Wanneer komkommerplanten WVD hebben, kan door verlaging van de pH in het teeltsubstraat de vorming van gezonde wortels positief worden beïnvloed. Het effect van deze pH-verlaging op de productie van komkommers met WVD is nog onduidelijk. Aanvullend onderzoek, waarbij het effect van een lage pH gedurende een gehele teeltperiode van komkommer wordt onderzocht is derhalve gewenst.

# 1 Algemene Inleiding

Wortelverdikking (WVD) bij komkommer werd voor het eerst in 1993 in Nederland waargenomen. Reeds in 1994 werd door het toenmalige Proefstation voor Tuinbouw onder Glas (het huidige Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, sector Glastuinbouw) aangetoond dat de vermoedelijk veroorzaker van deze symptomen een bacterie is (Paternotte, 1994). Het duurde echter tot 1998 voordat er meer bewijzen waren dat één of meerdere bacteriën de wortelverdikking veroorzaakte: verhitten van besmette voedingsoplossing tot 60°C schakelde de veroorzaker uit, diverse antibiotica konden wortelverdikking voorkomen, besmette voedingsoplossing kon worden ontsmet door het te filteren door een bacteriefilter (poregrootte 0.2 µm) en besmette voedingsoplossing kon 10.000x verdund worden zonder het vermogen WVD te veroorzaken te verliezen. Niemand was echter in staat een bacterie te isoleren uit besmette voedingsoplossing of verdikte wortels die WVD kon veroorzaken. Resultaten van moleculair onderzoek uitgevoerd door het Delftse bedrijf Groen Agro Control (GAC) in de tweede helft van 1999 en in 2000 hebben aangetoond dat de veroorzaker waarschijnlijk een niet-kweekbare bacterie is. GAC heeft in 2000 een PCR-methode ontwikkeld waarmee deze bacterie in/op wortels en in de voedingsoplossing aan kan worden getoond. Hoewel tot nu toe niemand er in is geslaagd de bacterie te isoleren en heeft kunnen bewijzen dat deze bacterie inderdaad WVD veroorzaakt, wordt in het onderzoek beschreven in dit verslag verondersteld dat de hierboven genoemde moleculaire methode de veroorzaker van WVD (het WVD-agens) aantoont.

Over het gedrag van de bacterie en het effect van omgevingsfactoren op het optreden van WVD is nog zeer weinig bekend. Zo is het niet bekend hoe lang een voedingsoplossing infectieus blijft na besmetting en hoe lang het WVD-agens in de voedingsoplossing kan overleven. Onderzoekresultaten van GAC geven aan dat er waarschijnlijk minder WVD optreedt bij een lagere pH. Verlaging van de pH van de voedingsoplossing heeft echter een gering effect op de pH in steenwolblokken (Hoogerbrugge, E. & W. Verkerke, 1998) en pH-verlaging van de voedingsoplossing lijkt op basis van deze resultaten dus geen goede strategie om WVD te voorkomen tijdens de opkweek van komkommer. Tijdens de teelt zijn er evt wel mogelijkheden om de pH in de wortelzone (tijdelijk) te verlagen waardoor het optreden van WVD (deels) kan worden voorkomen. De mate waarin de pH wordt verlaagd door verlaging van de pH van de voedingsoplossing zal waarschijnlijk substraat-afhankelijk zijn.

Een lagere pH van de voedingsoplossing zou de overlevingsduur van het WVD-agens kunnen verkorten en op deze wijze kunnen leiden tot minder WVD tijdens de opkweek van komkommer. Zo is bekend dat de plantpathogene bacterie *Clavibacter michiganensis* minder dan een dag overleeft bij een pH van 4.0 of 4.5 (Huang & Tu, 1999). De hypothese, dat door verlaging van de pH de infectiositeit van de voedingsoplossing afneemt, kan experimenteel worden getoetst.

Het is bekend dat het WVD-agens ook enkele andere vruchtgroentegewassen kan aantasten, zoals bijvoorbeeld paprika en tomaat (Verkerke & Kersten, 1997; Verkerke & Pittens – Van der Heijden, 1999). De schade die bij deze gewassen optreedt lijkt minder dan bij komkommer maar het geeft wel aan dat plantensoorten anders dan komkommer als infectiebron kunnen optreden. Het is daarom van belang om te weten welke gewassen door het WVD-agens kunnen worden aangetast.

De hoofddoelen van dit onderzoek waren:

- (1) bepalen hoe lang een voedingsoplossing infectieus blijft na besmetting met het WVD-agens en het effect van pH hierop.
- (2) bepalen of door combinatie van een verlaging van de pH van de voedingsoplossing en substraatkeuze wortelverdikking kan worden voorkomen
- (3) bepalen van de waardplantreeks van het WVD-agens

## 2 Effect van pH op de infectiositeit van de voedingsoplossing

### 2.1 Inleiding

Wortelverdikking (WVD) wordt vermoedelijk door een bacterie veroorzaakt (zie Hoofdstuk 1). Over het gedrag van deze bacterie en het effect van omgevingsfactoren op het optreden van WVD is nog weinig bekend. Uit proeven uitgevoerd door GAC zijn er aanwijzingen dat bij een lagere pH minder WVD optreedt. Dit pH-effect kan verklaard worden door het feit dat bacteriën over het algemeen minder goed groeien in een zuur milieu dan in een neutraal of basisch milieu. Overleving van bacteriën wordt in een zuur milieu ook negatief beïnvloed. De plantpathogene bacterie *Clavibacter michiganensis* bijvoorbeeld overleeft een pH van 4.0 of 4.5 niet (Huang & Tu, 1999). Door verlaging van de pH van de voedingsoplossing zou de overlevingsduur van de bacterie die WVD veroorzaakt mogelijk verkort kunnen worden en daardoor ook het risico op het optreden van WVD. Indien het WVD-agens een dergelijke lage pH niet overleeft zou voedingsoplossing met een pH 4.0- 4.5 niet te hoeven worden geloosd.

### 2.2 Doel

Het doel van deze proef was het effect van de pH van de voedingsoplossing op het verloop van de infectiositeit van de voedingsoplossing te bepalen.

### 2.3 Materiaal en methoden

#### 2.3.1 WVD-inoculum

Het WVD-agens werd in stand gehouden in hydrocultuur in nasibakjes met elk 2 komkommerplanten. Elke 2-4 weken werden nieuwe 1-week oude zaailingen besmet door een stukje zieke wortel te plaatsen bij de zaailingen in 0.5 L verse voedingsoplossing (EC 1.0, pH 6.5). Voor het produceren van WVD-inoculum in proef IA (zie hieronder) werden 12 nasibakjes met elk 0.5 L verse voedingsoplossing besmet met 10 ml besmette voedingsoplossing. De bakjes werden regelmatig bijgevuld met verse voedingsoplossing indien nodig. Na 2 weken, toen de plantjes sterke WVD-symptomen vertoonden werd de inhoud van de 12 bakjes bij elkaar gegoten en vervolgens door kaasdoek gezeefd om evt wortelresten te verwijderen. Deze gezeefde voedingsoplossing werd gebruikt als "inoculum".

#### 2.3.2 Voedingsoplossing, pH en besmetten

Een voedingsoplossing werd gemaakt met leidingwater (bijlage 1). De EC werd bijgesteld tot 2.3. Ammonium werd niet toegevoegd om een stabielere pH te krijgen. Sporenelementen werden toegevoegd volgens de standaard aanbevelingen voor de opkweek van komkommer (Sonneveld en Straver, 1994) (samenstelling voedingsoplossing in bijlage 1).

Twee proeven (proeven IA en IB) werden uitgevoerd waarbij in proef IA in een 5L-tank 4.5 L voedingsoplossing werd gegoten en vervolgens 0.5 L besmette voedingsoplossing waarna de pH in de tanks werd bijgesteld tot 4.0, 5.0, 6.0 of 6.5 mbv 1N HCl. In de tweede proef (proef IB) werd 5 L verse voedingsoplossing in elke tank gegoten, vervolgens werd de pH bijgesteld zoals hierboven beschreven. Na bijstelling van de pH werd elke tank besmet met 5 stukjes zieke wortel van elk 3 cm. Wortelstukjes waren afkomstig uit de zijwortels van een zieke plant. De wortelstukjes waren wit-glazig en 1-2 mm in diameter. Als controle werd niet-besmette voedingsoplossing met pH 6.5 in 5L-tanks bewaard. Per pH waren er 3 herhalingen (tanks). De tanks werden opgeslagen in het donker bij 23°C. De pH in de vaatjes werd 1-2 maal



per week bepaald en indien nodig (pH afwijking 0.2 of meer van initiële waarde) bijgesteld m.b.v. 1 N NaOH of HCl.

### 2.3.3 Biotoeets en bemonstering

De overleving van het WVD-agens in de besmette voedingsoplossingen werd bepaald m.b.v. een biotoets. Hiertoe werd uit een tank 250 ml van de voedingsoplossing in een nasibakje gegoten en hieraan 250 ml leidingwater toegevoegd. Vervolgens werd de pH bijgesteld tot 6.5 mbv 1 M NaOH en werden in elk bakje 2 1-week oude komkommerzaailingen in de voedingsoplossing gehangen. De biotoets werd ingezet op dag 0 (ca. 1 uur na bijstellen van de pH's in de tanks) en vervolgens na 1, 3, 8 en 14 dagen bij proef 1A. Bij proef 1B werd tevens op dag 2 bemonsterd. De nasibakjes werden regelmatig bijgevuld met voedingsoplossing (pH 6.5, EC 1). Twee weken na inzet werd de mate van wortelaantasting en het versgewicht van de plantjes bepaald. Voor het bepalen van het versgewicht werden de plantjes direct onder de cotylen afgesneden en werd het bovenste deel gewogen.

Bij proef 1B werd op dag 3 en 14 uit elke tank van de behandelingen pH 4.0 en 6.5 en de controle een monster van 100 ml na bijstelling van de pH tot 6.5 naar GAC gestuurd. Bij GAC werd een deel van elk monster getoetst op het voorkomen van het WVD-agens m.b.v. nested PCR en werd een ander deel gebruikt voor het inzetten van een biotoets met komkommerplanten waarin na 6 dagen de wortels werden getoetst op het voorkomen van het WVD-agens m.b.v. PCR.

### 2.3.4 Statistische verwerking van de gegevens

De gegevens m.b.t. de relatie tussen pH en de duur van de infectieuze periode van de voedingsoplossing werden geanalyseerd m.b.v. Spearman's rang-correlatietoets. De gepaarde gegevens waren de pH van de voedingsoplossing en de eerste bemonsteringsdag waarop geen infectieus WVD-agens kon worden aangetoond in de biotoets. De gegevens van de plantgewichten werden geanalyseerd m.b.v. variantie-analyse en na een significante F-toets werden de gemiddelde waarden vergeleken m.b.v. LSD ( $P < 0.05$ ).

## 2.4 Resultaten

Planten waarvan de wortels sterk waren aangetast waren veel kleiner dan de niet-aangetaste planten. De infectiositeit van de voedingsoplossing nam af in de tijd en deze afname ging sneller bij een lagere pH dan bij een hogere pH (Tabellen 2.1 en 2.3) ( $P < 0.05$ , Spearman's rang-correlatietoets). Het pH-effect was al aantoonbaar 1 uur na besmetten: planten besmet met voedingsoplossing met pH 4 waren minder sterk aangetast en hun versgewicht was significant hoger dan van planten besmet met voedingsoplossing met pH's 6 en 6.5 (Tabellen 2.2 en 2.4). Acht dagen na besmetting was geen van de voedingsoplossingen meer infectieus.

Resultaten van de biotoets uitgevoerd door GAC waren gelijk aan de resultaten van de biotoets uitgevoerd in Naaldwijk. Via nested-PCR kon in alle monsters van voedingsoplossing die 3 en 14 dagen eerder waren besmet het WVD-agens worden aangetoond. Bij een negatieve uitslag van de biotoets kon het WVD-agens niet op de wortels worden aangetoond (Tabel 2.5).

Tabel 2.1. Proef 1A. Aantal herhalingen in de biotoets met komkommerplanten met wortelverdikking. De biotoets werd ingezet op verschillende dagen na besmetting van de voedingsoplossing. Er waren 3 herhalingen per pH.

pH voedingsoplossing	Aantal dagen na besmetting				
	0	1	3	8	14
4	3	0	0	0	0
5	3	3	0	0	0
6	3	3	1	0	0
6.5	3	3	3	0	0

Tabel 2.2. Proef 1A. Gemiddeld versgewicht van komkommerplanten in de biotoets ingezet op verschillende dagen na besmetting van de voedingsoplossing.

pH Voedingsoplossing	Aantal dagen na besmetting				
	0	1	3	8	14
4	7.2 a	11.8 a	9.8 ab	14.3	10.1
5	4.2ab	11.7 a	11.1 a	15.6	10.8
6	2.1 b	4.1 b	11.9 a	16.9	11.9
6.5	2.0 b	3.0 b	7.0 b	17.1	9.6
Controle	9.6 a	9.8 a	n.b.	19.0	8.7

n.b. = niet bepaald.

Waarden gevolgd door verschillende letters in elke kolom zijn significant verschillend volgens LSD ( $P < 0.05$ )

Tabel 2.3. Proef 1B. Aantal herhalingen in de biotoets met komkommerplanten met wortelverdikking. De biotoets werd ingezet op verschillende dagen na besmetting van de voedingsoplossing. Er waren 3 herhalingen per pH.

pH voedingsoplossing	Aantal dagen na besmetting					
	0	1	2	3	8	14
4	3	2	0	0	0	0
5	3	3	2	1	0	0
6	3	3	2	2	0	0
6.5	3	3	3	2	0	0

Tabel 2.4. Proef 1B. Gemiddeld versgewicht van komkommerplanten in de biotoets ingezet op verschillende dagen na besmetting van de voedingsoplossing.

pH Voedingsoplossing	Aantal dagen na besmetting					
	0	1	2	3	8	14
4	2.7 b	6.0ab	10.2	10.8	7.9	9.3
5	1.2 c	3.2bc	8.1	9.1	8.1	10.6
6	1.4 c	2.4 c	4.5	4.4	9.1	11.7
6.5	1.6 c	1.7 c	3.7	4.8	11.5	9.8
Controle	8.9 a	11.3 a	10.2	10.2	9.5	10.2

n.b. = niet bepaald.

Waarden gevolgd door verschillende letters in elke kolom zijn significant verschillend volgens LSD ( $P < 0.05$ )

Tabel 2.5. Proef 1B. Resultaten PCR-toetsen en biotoets uitgevoerd door Groen Agro Control op watermonsters genomen 3 dagen na besmetten

PH Voedingsoplossing	Herhaling	Nested PCR	PCR op wortelmonster	Biotoets
4	1	+	-	-
	2	+	-	-
	3	+	-	-
6.5	1	+	-	-
	2	+	+	+
	3	+	+	+
Controle	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-

+: bandje zichtbaar op gel/wortelverdikking in biotoets

- : geen bandje zichtbaar op gel/geen wortelverdikking in biotoets

## 2.5 Discussie

De infectiositeit van besmette voedingsoplossing nam af bij bewaring, in afwezigheid van een levende plant, en dit proces ging sneller bij een lagere pH. Na 8 dagen was de besmette voedingsoplossing niet meer infectieus ongeacht de pH van de voedingsoplossing (pH 4.0-6.5).

Het is onduidelijk of het agens volledig uitgeschakeld is of dat het in een niet-infectieuze staat overleeft in de voedingsoplossing wanneer geen WVD wordt gevonden in de biotoets. Het agens kon namelijk nog wel met de PCR-test in de voedingsoplossing worden aangetoond. Deze test kan echter geen onderscheid maken tussen levend en dood agens. Het lijkt dus meest waarschijnlijk dat het positieve signaal in de PCR-test kwam door amplificatie van DNA van dode bacteriën. In vervolgprouwen zal via de inzet van herhaalde biotoetsen meer zekerheid moeten worden verkregen dat het WVD-agens inderdaad wordt uitgeschakeld bij bewaring.

## 3 Is het WVD-agens volledig uitgeschakeld wanneer in de biotoets geen WVD wordt waargenomen?

### 3.1 Inleiding

In besmette voedingsoplossing die na bewaring niet meer infectieus bleek in de biotoets kon via nested-PCR wel het WVD-agens worden aangetoond (Hoofdstuk 2). Vermoedelijk wordt dit positieve signaal veroorzaakt door de aanwezigheid van bacterie-DNA in dode cellen. Echter er kan niet met zekerheid worden gezegd dat na bewaring het WVD-agens volledig is uitgeschakeld. Door biotoetsen herhaald uit te voeren kan hierover meer zekerheid worden gekregen.

### 3.2 Doel

Bepalen of na doorenten van een biotoets waarin geen WVD optreedt in een vervolgoets wel WVD optreedt.

### 3.3 Materiaal en methoden

#### 3.3.1 Voedingsoplossing, pH en besmetten

De samenstelling van de gebruikte voedingsoplossing is weergegeven in bijlage 2. De pH van de voedingsoplossing werd aangepast tot 5.5 of 4.0 met 1 N HCL/NaOH. Er waren 3 behandelingen:

1. Controle onbesmet pH 5.5
2. Besmet pH 5.5
3. Besmet pH 4.0

Besmetten vond plaats door 5 stukjes zieke wortel van elk 3 cm toe te voegen aan een tank met 5 L voedingsoplossing zoals beschreven in experiment 1B. Er waren 5 herhalingen per behandeling. Drie dagen na besmetten werd de pH in elke tank bepaald en wanneer de pH meer dan 0.15 eenheden afweek van de initiële pH werd de pH bijgesteld. Na 6 dagen werd de pH opnieuw bepaald.

#### 3.3.2 Biotoets

De infectiositeit van de besmette voedingsoplossingen werd bepaald door inzet van de biotoets kort na besmetten (dag 0) en op dag 3 en 6. Hiertoe werd 50 ml voedingsoplossing toegevoegd aan 650 ml verse voedingsoplossing (zonder  $\text{NH}_4$ , EC 1, pH 7) in een nasibakje. In elk bakje werden twee komkommerzaailingen gehangen. Na 14 dagen werd 50 ml overgeënt bij 650 ml verse voedingsoplossing (EC 1, pH 7) en werden hierin 2 plantje gehangen (vervolg-biotoets). Veertien dagen na inzet van de vervolgbiotoets werd bij 1 proef nogmaals overgeënt (vervolg-vervolg-biotoets). Elke biotoets werd 14 dagen na inzet gescoord op aan/afwezigheid van WVD. Er werden 2 proeven (proef I en proef II) uitgevoerd met elk 5 herhalingen.

### 3.4 Resultaten

De pH in de tanks week na 3 en 6 dagen maximaal 0.3 eenheden af van de oorspronkelijk ingestelde pH. In één geval was de pH in 3 dagen opgelopen tot 4.6 (initiële pH was 4.0).

Proef I. Kort na besmetten kon in alle tanks het WVD-agens worden aangetoond mbv de biotoets. Na 3 dagen was bij pH 4.0 1 tank infectieus en bij 5.5 alle 5 de tanks. Na 6 dagen kon het WVD-agens alleen nog

worden aangetoond in 2 tanks met pH 5.5. Na overenten van de voedingsoplossing uit een bakje met plantjes zonder WVD-symptomen kon in vervolgbio-toetsen geen WVD worden waargenomen (Tabel 3.1).

Tabel 3.1. Proef I, resultaten bio-toets na besmetting van voedingsoplossing met pH 4.0 of 5.5

PH	Besmet	Aantal dagen na besmetten						
		0		3			6	
		I	I	II <sup>a</sup>	III <sup>a</sup>	I	II	III
5.5	Nee	-	-	-	-	-	-	-
5.5	Nee	-	-	-	-	-	-	-
5.5	Nee	-	-	-	-	-	-	-
5.5	Nee	-	-	-	-	-	-	-
5.5	Nee	-	-	-	-	-	-	-
4.0	Ja	+	+	+	n.b. <sup>b</sup>	-	-	-
4.0	Ja	+	-	-	-	-	-	-
4.0	Ja	+	-	-	-	-	-	-
4.0	Ja	+	-	-	-	-	-	-
4.0	Ja	+	-	-	-	-	-	-
5.5	Ja	+	+	+	n.b.	+	+	n.b.
5.5	Ja	+	+	+	n.b.	+	+	n.b.
5.5	Ja	+	+	+	n.b.	-	-	-
5.5	Ja	+	+	+	n.b.	-	-	-
5.5	Ja	+	+	+	n.b.	-	-	-

<sup>a</sup> II: na overenten (vervolgtoets), III: na overenten vervolgtoets.

<sup>b</sup> n.b. = niet bepaald

Proef II. Kort na besmetten kon het WVD-agens in alle tanks worden aangetoond mbv de bio-toets. Na 3 dagen was bij pH 4.0 geen van de voedingsoplossingen infectieus. Bij pH 5.5 was na 3 dagen de voedingsoplossing uit 2 van de 5 tanks infectieus. Na 6 dagen kon het WVD-agens in geen van de tanks worden aangetoond mbv de bio-toets. Na overenten van voedingsoplossing uit een bakje met plantjes zonder WVD-symptomen kon in vervolgbio-toetsen geen WVD worden waargenomen (Tabel 3.2).

Tabel 3.2. Proef II, resultaten biotoets na besmetting van voedingsoplossing met pH 4.0 of 5.5

PH	Besmet	Aantal dagen na besmetten				
		0	3		6	
		I	I	II <sup>a</sup>	I	II
5.5	Nee	-	-	-	-	-
5.5	Nee	-	-	-	-	-
5.5	Nee	-	-	-	-	-
5.5	Nee	-	-	-	-	-
5.5	Nee	-	-	-	-	-
4.0	Ja	+	-	-	-	-
4.0	Ja	+	-	-	-	-
4.0	Ja	+	-	-	-	-
4.0	Ja	+	-	-	-	-
4.0	Ja	+	-	-	-	-
5.5	Ja	+	-	-	-	-
5.5	Ja	+	-	-	-	-
5.5	Ja	+	-	-	-	-
5.5	Ja	+	+	n.b.	-	-
5.5	Ja	+	+	n.b.	-	-

<sup>a</sup>II: na overenten (vervolgtoets).

<sup>b</sup>n.b. = niet bepaald

### 3.5 Discussie

Ook in deze proef bleek weer dat de duur dat een voedingsoplossing infectieus is sterk wordt bekort door verlaging van de pH. Bij biotoetsen waarin geen WVD optrad, trad ook na overenten (vervolg-toetsen) geen WVD op wat het steeds waarschijnlijker maakt dat de gehele populatie WVD-agens enkele dagen na bewaring van de voedingsoplossing bij pH 4.0 is uitgeschakeld. Het lozen van besmette voedingsoplossing lijkt dus niet meer nodig omdat het WVD-agens bij bewaring vanzelf dood gaat. Hoe lang het duurt wanneer een voedingsoplossing niet meer infectieus is, is niet nauwkeurig te voorspellen. Behalve van de pH zal het sterk afhangen van de mate en wijze van besmetting. Verwacht wordt dat de voedingsoplossing langer infectieus blijft bij besmetting met stukjes zieke wortel dan met besmette voedingsoplossing omdat het agens waarschijnlijk langer zal overleven in/op de stukjes wortel dan wanneer het vrij voorkomt in de voedingsoplossing. In licht besmette voedingsoplossing kon soms na 1 uur bewaring bij een pH 4.0 het agens niet meer worden aangetoond. Bij de hier beschreven proef II waarbij besmet werd met stukjes wortel kon echter na 3 dagen in één van de 5 tanks met pH 4.0 nog infectieus agens worden aangetoond. In de praktijk zal waarschijnlijk het besmettingsniveau lager liggen dan die in proef II en dus zal de duur dat de voedingsoplossing nog infectieus is (wanneer hij niet in contact komt met wortels van een levende plant) minder zijn dan 3 dagen bij een voedingsoplossing's pH van 4.0.

## 4 Effect van de pH van de voedingsoplossing op het optreden van WVD onder semi-praktijk omstandigheden

### 4.1 Inleiding

Resultaten van proeven beschreven in hoofdstukken 2 en 3 geven aan dat de overlevingsduur van het WVD-agens sterk afneemt bij verlaging van de pH van de voedingsoplossing. Alvorens opkweekbedrijven het advies te geven om de pH van de voedingsoplossing te verlagen en zo de kans op WVD sterk te verkleinen zullen proeven onder (semi)-commerciële omstandigheden moeten worden uitgevoerd om het gevonden pH-effect te bevestigen en de relevantie voor de praktijk te kunnen inschatten. Hierbij is het vooral van belang om te weten hoe lang de voedingsoplossing nog infectieus blijft bij een bepaalde pH. In de praktijk wordt een pH 5.5 aangehouden voor de voedingsoplossing. Verlaging van de pH tot 4.0 is mogelijk zonder dat er schade aan de planten optreedt (Hoogerbrugge & Verkerke, 1998). Een verlaging van de pH zou zelfs een positief effect kunnen hebben op de groei van de planten door een betere opname van sommige voedingselementen bij een lagere pH.

### 4.2 Doel

Bepalen van het effect van pH (4.0 en 5.5) op de infectiositeit van met het WVD-agens besmette voedingsoplossing onder semi-praktijkomstandigheden.

### 4.3 Materiaal en methoden

#### 4.3.1 Kas

De proef werd uitgevoerd in kas 304-2 op het Praktijkonderzoek Plant & Omgeving in Naaldwijk. Temperatuurinstellingen: verwarmen bij 19°C en luchten bij 20°C. In de kas stonden 8 eb-vloed tafels (4.8 x 1.1 m) met elk een eigen voedingsoplossingtank met een inhoud van 250 L.

#### 4.3.2 Voedingsoplossing, pH en besmetten

De samenstelling van de voedingsoplossing is weergegeven in bijlage 2. De pH van de voedingsoplossing werd bijgesteld tot 4.0 of 5.5 m.b.v. HCl. De pH in elke tank werd 3 keer per week bepaald en indien de pH 0.2 of meer afweek van de ingestelde pH bijgesteld mbv HCl of NaOH. Op elke tafel stonden 60 steenwolblokken (5 rijen van elk 12 planten) met komkommer cultivar Odessa. Zeven dagen na zaaien werd de eerste vloedbeurt gegeven en vervolgens om de dag. Vanaf 16 dagen na zaaien werd elke dag een vloedbeurt gegeven. Tijdens een vloedbeurt stonden de potten ca. 15 min in een 2-cm-laag voedingsoplossing. Op 3 verschillende tijdstippen voor de eerste vloedbeurt werden de tanks besmet: 5 en 2 dagen en 1 uur. Tanks werden besmet met 0.5 L besmette voedingsoplossing en 5 zieke wortelstukjes van elk 3 cm lang. De wortelstukjes waren glazig en 1-2 mm dik. Er waren dus 8 behandelingen:

1. controle onbesmet pH 4.0
2. controle onbesmet pH 5.5
3. besmet 5 dagen voor eerste vloedbeurt (dvev), pH 4.0
4. besmet 5 dvev, pH 5.5
5. besmet 2 dvev, pH 4.0
6. besmet 2 dvev, pH 5.5

7. besmet 1 uur voor eerste vloedbeurt (uvev), pH 4.0
8. besmet 1 uvev, pH 5.5

De proef werd twee keer uitgevoerd waarbij in de tweede proef behandelingen 3 en 4 waren vervangen door de behandelingen:

3. besmet 1 uvev waarbij 10 verse steenwolpotten gedompeld werden in de voedingsoplossing 1 uur na besmetten van de voedingsoplossing. In elk van deze potten werd een komkommerpit gezaaid, pH 4.0 (1 uur + dompelen)
4. als 3, pH 5.5

### 4.3.3 Bemonstering en biotoets

Eén uur na besmetten werden de besmette bakken en de niet-besmette controle-bakken bemonsterd. Hiertoe werd een monster van 750 ml uit een bak genomen en verdeeld over 3 nasibakjes. De bakjes werden elk bijgevuld met 450 ml leidingwater waarna de pH werd bijgesteld tot 6.5 met 1 M NaOH en 2 plantjes in elke bak werden gehangen. Vlak voor de eerste vloedbeurt en aan het eind van de proef, 19 dagen na de eerste vloedbeurt, werden alle bakken bemonsterd. Aan het eind van de proef werd tevens van 8 planten een wortelmonster genomen van de onderkant van de pot (3-5 cm wortel per pot) en werd een biotoets ingezet met voedingsoplossing zonder  $\text{NH}_4$  (EC 1).

Van elke tafel werden 12 planten (de binnenste 3 planten uit rijen 5 t/m 8, waarbij rij 1 de rij het dichtst bij de watertoevoer was) direct afgesneden boven de pot en het versgewicht bepaald. De 10 planten uit rijen 1 en 3 werden beoordeeld op het voorkomen van WVD.

## 4.4 Resultaten

### 4.4.1 Proef I

WVD werd waargenomen in alle biotoetsen met besmette voedingsoplossing pH 5.5 en bemonsterd voor de eerste vloedbeurt. In één biotoets met voedingsoplossing pH 4 en besmet 1 uur voor monsternamen werd WVD waargenomen. In alle andere biotoetsen met voedingsoplossing pH 4.0 werd geen WVD gevonden. Aan het eind van de proef, 19 dagen na de eerste vloedbeurt, werd alleen met voedingsoplossing uit de tank van behandeling 8 (pH 5.5, besmet 1 uvev) WVD in de biotoets waargenomen (Tabel 4.1).

Op géén van de tafels werden planten met WVD waargenomen. Het gemiddelde versgewicht per plant verschilde weinig tussen de behandelingen.

In de biotoets uitgevoerd met wortelstukjes afkomstig van potten op de tafels werd alleen in behandeling 8 (besmet 1 uvev, pH 5.5) WVD waargenomen.

### 4.4.2 Proef II

WVD werd gevonden in alle biotoetsen met voedingsoplossing dat 1 uur eerder was besmet (Tabel 4.2). Bij pH 4.0 werd niet in alle bakjes WVD waargenomen (Tabel 4.2). Op het tijdstip van de eerste vloedbeurt kon het WVD-agens niet worden aangetoond in de tank met voedingsoplossing met pH 4.0 die 2 dagen eerder was besmet maar wel in de andere tanks mbv de biotoets. Aan het eind van de proef kon het WVD-agens in géén van de tanks worden aangetoond mbv de biotoets. Op de wortels van planten opgekweekt op tafels met voedingsoplossing besmet 1 uvev, pH 5.5 en van planten op tafels met potten gedompeld in besmette voedingsoplossing kon het WVD-agens worden aangetoond.

Planten met WVD werden alleen op tafels gevonden met planten die waren gezaaid op de dag van de eerste vloedbeurt waarbij de potten in de besmette voedingsoplossing waren gedompeld (Tabel 4.2).



Tabel 4.1. Resultaten proef I: aanwezigheid WVD-symptomen en het WVD-agens bepaald mbv de biotoets.

pH	Tijdsduur tussen besmetting en 1 <sup>e</sup> vloedbeurt	Tijdstip inzet biotoets				WVD <sup>b</sup>	Gemiddeld Versgewicht per plant (g)
		1 uur na besmetten	Bij 1 <sup>e</sup> vloedbeurt	19 dagen na 1 <sup>e</sup> vloedbeurt			
				Voedingsopl	Wortel		
4	5 dagen	+ (3) <sup>a</sup>	-	-	-	0	75.3
4	2 dagen	-	-	-	-	0	76.0
4	1 uur	-	-	-	-	0	67.6
4	Controle	-	-	-	-	0	73.7
5.5	5 dagen	+ (3)	+ (3)	-	-	0	87.3
5.5	2 dagen	+ (3)	+ (3)	-	-	0	75.7
5.5	1 uur	+ (3)	-	+ (2)	+ (3)	0	80.1
5.5	Controle	-	-	-	-	0	70.8

a) +/-: wel/geen WVD in biotoets; tussen haakjes het aantal van in de totaal 3 bakjes met WVD.

b) aantal planten met WVD; in totaal werden 10 planten beoordeeld

Tabel 4.2. Resultaten proef II: aanwezigheid WVD-symptomen en het WVD-agens bepaald mbv de biotoets.

pH	Tijdsduur tussen besmetting en 1 <sup>e</sup> vloedbeurt	Tijdstip inzet biotoets				WVD <sup>b</sup>	Gemiddeld Versgewicht per plant (g)
		1 uur na besmetten	Bij 1 <sup>e</sup> vloedbeurt	19 dagen na 1 <sup>e</sup> vloedbeurt			
				Voedingsopl	Wortel		
4	2 dagen	+ (3) <sup>a</sup>	-	-	-	0	30.7
4	1 uur	+ (2)	-	-	-	0	27.1
4	1 uur+dompelen	+ (1)	-	-	+;+ <sup>c</sup>	0;5 <sup>d</sup>	26.5
4	Controle	-	-	-	-	0	28.4
5.5	2 dagen	+ (3)	+ (3)	-	-	0	28.6
5.5	1 uur	+ (3)	-	-	+	0	30.7
5.5	1 uur+dompelen	+ (3)	-	-	+;+	1;6	21.5
5.5	Controle	-	-	-	-	0	26.1

a) +/-: wel/geen WVD in biotoets; tussen haakjes het aantal van in de totaal 3 bakjes met WVD.

b) aantal planten met WVD; in totaal werden 10 planten beoordeeld

c) wortels afkomstig van planten gezaaid 1 week voor de eerste vloedbeurt; wortels afkomstig van planten gezaaid vlak voor de eerste vloedbeurt

d) aantal planten met WVD gezaaid 1 week voor de eerste vloedbeurt; aantal planten met WVD gezaaid vlak voor eerste vloedbeurt

## 4.5 Discussie

De resultaten van de biotoets lieten een duidelijk pH-effect op de infectiositeit van besmette voedingsoplossing zien. Reeds 1 uur na besmetten werd minder vaak WVD gevonden met voedingsoplossing met pH 4.0 dan met pH 5.5. Dit resultaat komt overeen met resultaten uit proeven beschreven in hoofdstukken 2 en 3.

In de proeven werden opvallend weinig planten in steenwolblokken met WVD waargenomen hoewel in meerdere behandelingen de voedingsoplossing infectieus was vlak voor de eerste vloedbeurt zoals bleek uit de biotoets. Ten tijde van de eerste vloedbeurt waren de blokken behoorlijk nat en hebben daardoor waarschijnlijk weinig besmet water opgenomen waardoor de concentratie van het WVD-agens in de blokken

vrij laag bleef en dit zou het uitblijven van aantasting kunnen verklaren. Alleen in proef II werden planten met WVD waargenomen en wel in de 2 behandelingen waarbij 10 droge potten waren gedompeld in besmette voedingsoplossing. De concentratie van het agens was in deze potten daardoor hoger. Via de biotoets kon het WVD-agens wel worden aangetoond op/in wortels bij de behandelingen met “gedompelde potten” en bij de behandeling “1 uvev pH 5.5”. Dus afwezigheid van zichtbare WVD-symptomen wil nog niet zeggen dat het WVD-agens niet aanwezig kan zijn. Het WVD-agens zou mogelijk in de teeltfase kunnen toeslaan en alsnog schade kunnen veroorzaken.

Uit de 2 hier beschreven proeven blijkt weer dat door verlaging van de pH van de voedingsoplossing het risico op het optreden van WVD maar ook het risico op de aanwezigheid van infectieus WVD-agens op de wortels kan worden verminderd.

## 5 Effect substraat (steenwol en perliet) en pH op WVD

### 5.1 Inleiding

De infectiositeit van met het WVD-agens besmette voedingsoplossing neemt sterk af bij een lage pH (hoofdstukken 2 t/m 4). In steenwolpotten is de pH echter niet veel lager wanneer men voedingsoplossing met pH 4.0 gebruikt in vergelijking met pH 5.5 (Hoogerbrugge & Verkerke, 1998) en zal WVD kunnen optreden zolang er nog infectieus WVD-agens aanwezig is in de voedingsoplossing. In andere substraten dan steenwol zoals perliet valt de pH mogelijk beter te sturen en valt WVD daarom ook beter te voorkomen door verlaging van de pH van de voedingsoplossing.

### 5.2 Doel

Bepalen van het effect van pH en substraat, steenwol en perliet, op WVD.

### 5.3 Materiaal en methoden

#### 5.3.1 Behandelingen

De pH hieronder aangegeven is de pH van de voedingsoplossing waarmee de potten werden bevloeid.

1. controle pH 4.0 steenwolpot
2. controle pH 5.5 steenwolpot
3. besmet pH 4.0 steenwolpot
4. besmet pH 5.5 steenwolpot
5. controle pH 4.0 perliet
6. controle pH 5.5 perliet
7. besmet pH 4.0 perliet
8. besmet pH 5.5 perliet

Eén herhaling was een pot in een nasibakje. Er waren 10 herhalingen per behandeling.

Steenwolpotten (Grodan) met afmetingen 10 x 10 x 6.5 cm werden gebruikt. Losse perliet werd geplaatst in 12-cm plastic potten met op de bodem kaasdoek.

Voor het zaaien (cv. Odessa) werden de steenwolpotten gedompeld in voedingsoplossing (EC 2.3) met pH 4.0 of 5.5 (pH werd bijgesteld mbv HCl of NaOH). Perliet werd verzadigd door voedingsoplossing op de potten te gieten totdat voedingsoplossing onderuit de pot liep. Temperatuur was ingesteld op 23/23°C en er was 15 uur assimilatiebelichting per dag.

#### 5.3.2 Besmetten

Eén week na zaaien werden de potten besmet door 250 ml besmette voedingsoplossing op de pot te gieten. Vervolgens kregen de potten ca. 2x per week niet-besmette voedingsoplossing

#### 5.3.3 Waarnemingen

Eén en 9 dagen na besmetten werd de pH bepaald in de potten van de controlebehandelingen (behandelingen 1, 2, 5 en 6). Hiertoe werd de pH bepaald in de voedingsoplossing die onderuit de potten liep. Vier weken na zaaien werden de planten beoordeeld op het voorkomen van WVD. Planten werden positief beoordeeld als er een duidelijke *verbruining en/of verdikking van wortels* was te zien.

### 5.3.4 Statistische verwerking van de gegevens

De pH-gegevens werden geanalyseerd m.b.v. variantie-analyse en na een significante F-toets werden de gemiddelde waarden met elkaar vergeleken m.b.v. LSD ( $P < 0.05$ ). Verschillen in aantallen planten met WVD werden geanalyseerd m.b.v. de  $\chi^2$ -toets ( $P < 0.05$ ).

## 5.4 Resultaten

### 5.4.1 pH-metingen

De pH in het perliet was hoger dan in de steenwolpotten (Tabel 5.1).

Tabel 5.1. pH gemeten in de voedingsoplossing die uit het substraat lekte (pH substraat) op 8 en 16 dagen na zaaien van komkommers.

Substraat	pH voedingsoplossing	pH substraat	
		8 dagen na zaaien	16 dagen na zaaien
Steenwoblok	4.0	6.2a <sup>a</sup>	6.3a
Steenwoblok	5.5	6.5b	6.5ab
Perliet	4.0	6.4ab	6.7b
Perliet	5.5	6.7c	7.0c

<sup>a</sup>Waarden gevolgd door verschillende letters zijn significant verschillend volgens LSD ( $P < 0.05$ )

### 5.4.2 WVD

Geen van de controleplanten had wortelverdikking. Planten opgekweekt in perliet hadden significant vaker zichtbare WVD-symptomen dan planten in steenwoblokken ( $\chi^2$ -toets,  $P < 0.05$ ). Significanter minder planten hadden WVD die voedingsoplossing met pH 4.0 hadden gekregen dan planten die voedingsoplossing met pH 5.5 hadden gekregen ( $\chi^2$ -toets,  $P < 0.05$ ) (Tabel 5.2)

Tabel 5.2. Aantal planten met zichtbare WVD-symptomen opgekweekt in steenwoblokken of perliet en geïrrigeerd met voedingsoplossing met pH 4.0 of 5.5.

Substraat	pH voedingsoplossing	Aantal planten met WVD <sup>a</sup>
Steenwoblok	4.0	1
Steenwoblok	5.5	9
Perliet	4.0	7
Perliet	5.5	10

a) per behandeling waren er 10 planten.

## 5.5 Discussie

In tegenstelling tot wat verwacht werd was de pH in perliet iets hoger dan in steenwol. Het pH-verschil tussen potten geïrrigeerd met voedingsoplossingen pH 4.0 of 5.5 was relatief gering. In perliet werden meer planten waargenomen met WVD dan in steenwol. Dit verschil hoeft echter niet te betekenen dat in perliet meer WVD optreedt. Planten opgegroeid in perliet konden nl veel makkelijker worden beoordeeld omdat de wortels van de planten vrij makkelijk uit het substraat kunnen worden verwijderd dit i.t.t. wortels in steenwol. In steenwol is het vrijwel onmogelijk om alle wortels uit de pot te verwijderen en te beoordelen. Dus in perliet is de kans dat bij bemonstering WVD niet wordt waargenomen terwijl er wel (een geringe) aantasting is veel kleiner dan in steenwol. Verder werden er geen metingen verricht om de waterpotentiaal te bepalen in de potten. De waterpotentiaal die vermoedelijk verschillend was in perliet en steenwol zou een

effect kunnen hebben op WVD. Opmerkelijk was dat, hoewel kort na besmetting de voedingsoplossing op de pot werd gegoten en het WVD-agens dus slechts enkele minuten aan een lage pH (4.0) werd blootgesteld, er een pH effect was. In eerdere proeven (hoofdstukken 2 en 3) werd al een pH-effect gevonden na 1 uur. Blijkbaar is een korte blootstelling van het WVD-agens aan een lage pH al voldoende om een behoorlijk deel van de populatie aan WVD-agens uit te schakelen.

## 6 Waardplanten van het WVD-agens (I) en het effect van potsoort (steenwol en perliet) op WVD

### 6.1 Inleiding

Naast komkommer is WVD ook waargenomen op enkele andere vruchtgroentegewassen zoals bv de niet tot de komkommerachtigen behorende tomaat en paprika. Mogelijk dat het agens de wortels van een brede reeks plantensoorten kan infecteren. In de glastuinbouw lijkt alleen komkommer sterke schade te ondervinden door WVD. Het is echter van belang om te weten welke planten geïnfecteerd/aangetast kunnen worden door het WVD-agens om te bepalen welke planten een potentiële infectiebron zijn.

Op dit moment wordt door het bedrijfsleven een perlietpot ontwikkeld. Belangrijk is om te weten of er een verschil bestaat in de mate waarin WVD optreedt in steenwol- en perlietpotten.

### 6.2 Doel

- Bepalen of het WVD-agens zich kan handhaven op de wortels van en schade kan veroorzaken bij de volgende gewassen: komkommer, tomaat, paprika, aubergine, roos, gerbera en anthurium.
- Bepalen of in perlietpotten minder WVD optreedt dan in steenwolpotten.

### 6.3 Materiaal en methoden

#### 6.3.1 Proefopzet

De proef werd uitgevoerd in een kas op het Praktijkonderzoek Plant & Omgeving in Naaldwijk. Er waren 6 gesloten eb-vloed systemen waarbij aan elk systeem 4 tafels van elk 1.6 x 1.1 m groot waren aangesloten. De proef had een split-plot design waarbij wel/niet besmetten de hoofdfactor was met 3 herhalingen per behandeling. Dus 3 systemen werden besmet met het WVD-agens en 3 niet. De nevenfactor was potsoort (steenwol of perliet), waarbij op 2 tafels per systeem planten in steenwolpotten stonden en op de andere 2 tafels in perlietpotten. Op elke tafel stonden 7 plantensoorten met elk 6 planten.

#### 6.3.2 Voedingsoplossing en besmetten

Voedingsoplossing aanbevolen voor de opkweek van groentegewassen werd gebruikt (Sonneveld & Straver, 1994). Vijfhonderd liter verse voedingsoplossing werd besmet met 5 L besmette voedingsoplossing. Steenwolpotten werden gedompeld in de voedingsoplossing en perlietpotten werden in een 3 cm laag voedingsoplossing gezet totdat ze verzadigd waren. Na bevochtigen van de potten werd bij de besmette behandeling aan elke bak met 500 L voedingsoplossing 25 g zieke wortels toegevoegd.

#### 6.3.3 Plantmateriaal

Plantsoorten en cultivars

1. Komkommer, cv Odessa
2. Tomaat, cv Aromata
3. Paprika, experimentele lijn afkomstig van een veredelingsbedrijf
4. Aubergine, experimentele lijn afkomstig van een veredelingsbedrijf
5. Roos, cv Lolly pop
6. Gerbera, cv Salsa
7. Anthurium, cv Akropolis

Bij de vruchtgroentegewassen werden 1-week oude zaailingen verspeend in de steenwol- en perlietpotten.

Bij roos, Gerbera en Anthurium werd jong plantgoed verkregen bij een commercieel bedrijf. De temperatuurinstellingen waren 21/23°C stoken/luchten.

#### 6.3.4 Potsoort

De steenwolpotten kwamen van de firma Grodan (afmetingen: 10 x 10 x 6.5 cm, drooggewicht 45 g, natgewicht 575 g) De perlietpotten kwamen van de firma U.E.P. (Beekstraat 33a, 9970 Kaprijke, België) (afmetingen: 10 x 10 x 6.5 cm, drooggewicht 50 g, natgewicht 400 g).

#### 6.3.5 Bemonstering en waarnemingen

Drie weken na besmetten werd van elke tafel 1 pot per plantensoort verwijderd. De steenwolpotten werden elk afzonderlijk in een nasibakje geplaatst in een andere kas. Deze verwijderde planten kregen vervolgens regelmatig niet-besmette voedingsoplossing op de pot. Na twee weken werden uit elke pot 5 worteltjes van elk 3 cm gesneden. Indien wortels met WVD-symptomen in de pot werden gevonden werden deze wortels gebruikt. Wortelstukjes afkomstig uit de 2 potten (met dezelfde plantensoort) afkomstig van tafels aangesloten op hetzelfde systeem werden gelegd in een nasibakje en een biotoets (biotoets I) werd gestart om de aanwezigheid van infectieus WVD-agens op/in de wortelstukjes te bepalen. Deze procedure werd herhaald (behalve met komkommer) 5 weken na besmetten (biotoets II).

Vier weken na start (besmetting) van de proef werden alle komkommerplanten beoordeeld op het voorkomen van WVD en gewogen (bovengronds versgewicht). Vijf weken na besmetten werden de andere planten beoordeeld en gewogen.

#### 6.3.6 Statistische verwerking van de gegevens

De proef had een split-plot opzet met wel/niet besmet als hoofdfactor en potsoort als nevenfactor. De gegevens werden per gewas afzonderlijk geanalyseerd dmv variantie-analyse.

## 6.4 Resultaten

WVD werd bij alle gewassen behalve roos en Anthurium gevonden. Het percentage planten met WVD en de mate van aantasting was laag (Tabel 6.1). Bij paprika waren met het WVD-agens besmette planten significant lichter dan de niet-besmette planten. Bij de andere gewassen waren er geen significante verschillen ( $F$ -toets,  $P > 0.05$ ).

Er was geen verschil in de mate waarin WVD optrad tussen perliet- en steenwolpotten.

Het WVD-agens was aanwezig in/op de wortels van alle gewassen zoals bepaald mbv de biotoets (Tabel 6.1). In 2 gevallen, bij aubergine en roos, werd ook in de niet-besmette controle infectieus agens aangetoond (Tabel 6.1).

## 6.5 Discussie

Behalve bij paprika werd er geen schade waargenomen wat betreft versgewicht van de planten. Wel was het WVD-agens op de wortels van alle gewassen aanwezig. Omdat echter in 2 controle-behandelingen het WVD-agens ook werd aangetoond en het aantal herhalingen (3) beperkt was kan contaminatie niet uitgesloten worden. Verder onderzoek naar het polyfage karakter van het WVD-agens is daarom nodig.

In deze proef was de schade door WVD gering. De schade die het agens veroorzaakt zal waarschijnlijk per plantensoort verschillen en sterk beïnvloed worden door externe omstandigheden. In de praktijk wordt (tot nu toe) de meeste schade bij komkommer waargenomen. Externe omstandigheden hebben waarschijnlijk ook een groot effect op de mate waarin schade ontstaat. In deze proef maar ook in een eerdere proef met steenwolpotten was de schade gering terwijl bij proeven in hycrocultuur WVD tot aanzienlijk kleinere planten leidt. De reden hiervoor is niet bekend. Mogelijk speelt de beschikbaarheid van water en/of zuurstofgehalte

in het substraat/water een rol en zullen natte condities tot meer WVD leiden.

Tabel 6.1. Aanwezigheid van WVD-symptomen en -agens op/in wortels van 7 verschillende gewassen opgekweekt in steenwol- en perlietpotten.

Gewas	Besmet	Substraat	% WVD	Aanwezigheid WVD-agens <sup>a</sup>	
				Biotoets I	Biotoets II
Komkommer	Nee	Perliet	0.0		
	Ja	Perliet	11.1		
	Nee	Steenwol	0.0	0	n.b.
	Ja	Steenwol	5.6	2	n.b.
Tomaat	Nee	Perliet	0.0		
	Ja	Perliet	11.1		
	Nee	Steenwol	0.0	0	0
	Ja	Steenwol	16.7	2	2
Paprika	Nee	Perliet	0.0		
	Ja	Perliet	5.6		
	Nee	Steenwol	0.0	0	0
	Ja	Steenwol	16.7	2	2
Aubergine	Nee	Perliet	0.0		
	Ja	Perliet	11.1		
	Nee	Steenwol	0.0	1	0
	Ja	Steenwol	33.3	3	2
Anthurium	Nee	Perliet	0.0		
	Ja	Perliet	0.0		
	Nee	Steenwol	0.0	0	0
	Ja	Steenwol	0.0	0	3
Gerbera	Nee	Perliet	0.0		
	Ja	Perliet	16.7		
	Nee	Steenwol	0.0	0	0
	Ja	Steenwol	0.0	1	2
Roos	Nee	Perliet	0.0		
	Ja	Perliet	0.0		
	Nee	Steenwol	0.0	1	0
	Ja	Steenwol	0.0	0	2

<sup>a</sup> Aantal herhalingen met WVD. Per gewas waren in totaal 3 herhalingen.



## 7 Waardplanten van het WVD-agens (II)

### 7.1 Inleiding

Resultaten beschreven in hoofdstuk 6 geven aan dat het WVD-agens op wortels van meerdere plantsoorten kan overleven. Om de polyfage eigenschap van deze bacterie te bevestigen en om te bepalen of het agens ook op/in wortels van *Cucurbita* lijnen kan overleven werd de volgende proef uitgevoerd waarbij 9 verschillende soorten/lijnen werden gebruikt. De *Cucurbita* lijnen kunnen worden gebruikt als onderstam voor komkommer, zijn resistent tegen *Pythium* en bleken in een pilot proef ook minder vatbaar voor WVD dan komkommer (P. Paternotte, pers. med.)

### 7.2 Doel

Bevestigen van de polyfage natuur van het WVD-agens  
Bepalen of *Cucurbita*, die gebruikt worden als onderstam voor komkommer, minder vatbaar zijn voor WVD dan komkommer.

### 7.3 Materiaal en methoden

#### 7.3.1 Plantmateriaal

In totaal werden 9 plantensoorten/lijnen gebruikt:

1. Komkommer, cv Odessa
2. Tomaat, cv Aromata
3. Paprika, cv Spirit
4. Anthurium, cv Akropolis
5. *Lupinus augustifolius*
6. *Cucurbita ficifolia*
7. *Cucurbita maxima* x *C. mosschata* RS 841
8. *C. maxima* x *C. mosschata* RZ 64.05
9. *C. maxima* RZ 64.01

Planten werden 1-2 weken voor aanvang van de proef gezaaid met uitzondering van Anthurium. Anthuriumplanten werden verkregen van een commercieel bedrijf. Deze planten hadden bij aanvang van de proef 6-7 bladeren en stonden in potten met steenwolblokken. De vlokken werden verwijderd bij aanvang van de proef.

#### 7.3.2 Proefopzet

Plantjes werden in nasibakjes in voedingsoplossing (pH 6.5, EC 2.3, zonder ammonium) gehangen. Twee plantjes per bakje behalve van Anthurium (1 plant/bakje). De proef had een factoriële opzet met plantsoort en wel/niet besmet als experimentele factoren. In totaal waren er 20 behandelingscombinaties met 9 plantsoorten en één controle zonder plant. Bakjes werden besmet door bij 650 ml verse voedingsoplossing 50 ml besmette voedingsoplossing te gieten. Bij de niet-besmette controles werd 50 ml niet-besmette voedingsoplossing gegoten.

#### 7.3.3 Bitoets en waarnemingen

Na 14 dagen werden alle planten beoordeeld op het voorkomen van WVD en werd tevens het versgewicht bepaald van de bovengrondse delen. Na 8 en 14 dagen werd in 2 bakjes uit elke behandeling de pH

gemeten en werd uit elk bakje 50 ml overgeënt bij 650 ml verse voedingsoplossing (EC 1, zonder ammonium) waarin 2 komkommerplantjes werden gehangen (de bio-toets). Twee weken na inzet van de bio-toets werden de komkommerplantjes beoordeeld op WVD.

#### 7.3.4 Statistische verwerking van de gegevens

Plantgewichten werden per plantensoort of lijn afzonderlijk geanalyseerd m.b.v. een t-test ( $P < 0.05$ ). De gegevens van komkommer, tomaat, paprika en lupine werden eerst getransformeerd (worteltransformatie) alvorens de t-test werd uitgevoerd.

## 7.4 Resultaten

Wortels van alle getoetste soorten/lijnen, behalve Anthurium, waren zichtbaar aangetast na besmetting in beide proeven. De aantasting was in proef I sterker dan in proef II en groeireductie door WVD was bij de meeste plantensoorten in proef I ook hoger dan in proef II (Tabel 7.1). Planten van de lijn *C. maxima* x *C. mosschata* RS841 hadden in beide proeven duidelijk WVD, maar het gewicht van planten met WVD verschilde niet significant van planten zonder WVD (Tabel 7.1). Komkommer, tomaat en paprika werden relatief het meest in de groei geremd door WVD (Tabel 7.1) In voedingsoplossing waarin een plant had gestaan kon 14 dagen na besmetting (ook bij Anthurium) het WVD-agens worden aangetoond mbv de bio-toets, maar niet in voedingsoplossing waarin géén plant had gestaan.

## 7.5 Discussie

Ook uit deze proeven bleek het polyfage karakter van het WVD-agens. Nieuw is dat het agens ook wortels van lupine kan aantasten en bevestigd is dat Anthurium als symptoomloze drager van het WVD-agens kan fungeren (zie ook hoofdstuk 6). Tot nu toe blijken alle getoetste plantensoorten aangetast te kunnen worden of symptoomloos drager te kunnen zijn van het WVD-agens. Mogelijk dat het WVD-agens op/in wortels van (bijna) alle plantensoorten kan overleven. De resultaten van het onderzoek geven aan dat het WVD-agens in principe met (bijna) elk plantmateriaal kan worden geïntroduceerd maar dat de overlevingsduur gering is in afwezigheid van een levende plant.

*Cucurbita ficifolia* en *Cucurbita maxima* x *C. mosschata* RS 841, die als onderstam kunnen worden gebruikt bij de teelt van komkommer, bleken in eerder onderzoek resistent te zijn tegen WVD in steenwol (P. Paternotte, pers. med). In de hier beschreven proeven met een hoge ziektedruk en voor WVD zeer gunstige omstandigheden (nl hydrocultuur, zie ook hoofdstuk 8) werden alle *Cucurbita* lijnen wel aangetast door het WVD-agens. Echter groeireductie door WVD was bij deze lijnen aanzienlijk lager dan bij komkommer en deze mate van partiële resistentie/tolerantie voor WVD kan onder voor WVD minder gunstige omstandigheden mogelijk voldoende zijn om schade door WVD te reduceren of zelfs helemaal te voorkomen.

Tabel 7.1. Versgewicht, WVD-symptomen en aanwezigheid van het WVD-agens in de voedingsoplossing van planten wel/niet besmet met het WVD-agens

Soort/lijn	Besmet	Versgewicht (g)	
		Proef 1	Proef 2
Komkommer	Nee	7.6a <sup>a</sup>	7.3a
	Ja	1.2b	3.7b
Tomaat	Nee	3.5a	1.5a
	Ja	0.3b	0.8b
Paprika	Nee	1.6a	1.3a
	Ja	0.2b	0.6b
Anthurium	Nee	13.7a	15.8a
	Ja	13.8a	14.1a
Lupine	Nee	0.7a	1.7a
	Ja	0.4b	1.2b
C. ficifolia	Nee	17.9a	15.3a
	Ja	14.2a	10.1b
RS841	Nee	17.2a	12.0a
	Ja	14.2a	12.9a
RZ 64.05	Nee	17.2a	9.9a
	Ja	12.6b	10.8a
RZ 64.01	Nee	8.6a	5.2a
	Ja	5.8b	4.4a

<sup>a</sup> Waarden gevolgd door verschillende letters in dezelfde kolom en behorend bij dezelfde soort/lijn zijn significant verschillend volgens de t-test ( $P < 0.05$ ). De gegevens van komkommer, tomaat, paprika en lupine waren eerst getransformeerd (worteltransformatie) alvorens de t-test was uitgevoerd.

## 8 Effect watergehalte steenwolpot op wortelverdikking

### 8.1 Inleiding

In hydrocultuur vindt na besmetting altijd in sterke mate WVD plaats bij komkommer terwijl in steenwolblokken de aantasting veel minder is en soms helemaal wegblijft. De pH kan dit verschil niet verklaren omdat zowel in de pot als in de gebruikte voedingsoplossing de pH 6-7 is. Mogelijk speelt de beschikbaarheid van water een belangrijke rol bij het ontstaan van WVD.

### 8.2 Doel

De hypothese toetsen dat bij een hoger watergehalte in de steenwolpot meer WVD optreedt.

### 8.3 Materiaal en methoden

#### 8.3.1 Voedingsoplossing

Zonder ammonium, pH 6.5 en EC 2.3 (bijlage 1)

#### 8.3.2 Plantmateriaal

Komkommer cv. Odessa werd gezaaid in vermiculiet en na 7 dagen werden de plantjes geplaatst in steenwolblokken of nasibakjes (hydrocultuur).

#### 8.3.3 Behandelingen

De proef had een factoriële opzet met in totaal 8 behandelingscombinaties. De proeffactoren waren besmet/niet besmet en vocht- of teeltregime. Er waren 4 verschillende vocht- of teeltregimes:

1. Hydrocultuur: planten werden in bakjes in voedingsoplossing gehangen gevuld met 700 ml voedingsoplossing. Voedingsoplossing werd regelmatig aangevuld
2. Steenwolpot stond gedurende de gehele proef in een laag voedingsoplossing 1-2 cm onder de bovenrand van de pot
3. Steenwolpot werd 2x per week verzadigd met voedingsoplossing (ca. 500 ml/pot)
4. Steenwolpot kreeg 275 ml voedingsoplossing op dag 0 en werd gewogen. De hoeveelheid voedingsoplossing werd 2x per week bijgevuld door bijgieten op de pot tot het begingewicht (dag 0) was bereikt.

Er werd besmet door 200 ml besmette voedingsoplossing (50 ml besmet uit bakje met zieke planten + 150 ml verse niet-besmette voedingsoplossing) op de pot of in het nasibakje (hydrocultuur) te gieten. Vervolgens werd de pot/bakje aangevuld met niet-besmette voedingsoplossing om tot de hierboven vermelde hoeveelheden voedingsoplossing te komen. Er waren 3 herhalingen per behandeling. Bij behandelingen 1 en 4 bestond één herhaling uit één nasibakje met 1 plantje. Bij de ander behandelingen bestond één herhaling uit één steenwolpot met 1 plantje. Elke steenwolblok was geplaatst in een apart bakje.

#### 8.3.4 Waarnemingen

Twintig dagen na inzet werd het bovengronds versgewicht van de planten bepaald. Hiertoe werden de planten direct onder de cotylen afgesneden.

Tevens werden de wortels beoordeeld op mate van WVD mbv de volgende schaal:

0: geen WVD

1: Wortels slechts op enkele plaatsen aangetast

- 2: Behoorlijke aantasting, maar ook wortels zonder symptomen aanwezig
- 3: Wortels over gehele of bijna gehele lengte aangetast

### 8.3.5 Statistische verwerking van de gegevens

De plantgewichten werden getransformeerd (worteltransformatie) voordat een twee-factor variantie-analyse werd toegepast. De proeffactoren waren besmet/niet-besmet en vocht- of teeltregime. Na een significante toets op wel/niet-besmet werden de gemiddelde plantgewichten van de niet- en de wel besmette behandelingen voor elk vocht- of teeltregime met elk vergeleken.

## 8.4 Resultaten

Aantasting door WVD was het hoogst in de 2 behandelingen waarbij de wortels in een laagje water stonden hetzij direct of in een steenwolpot (Tabel 8.1). Het verschil in mate van aantasting en percentage %groeireductie door WVD tussen de "natte" en "droge" behandeling was klein. Planten opgekweekt onder het "droge regime" waren duidelijk lichter dan planten opgekweekt onder het "natte regime" (Tabel 8.1).

Tabel 8.1. Mate van aantasting en versgewicht van komkommerplanten opgekweekt bij verschillende vochtregimes en besmet met het WVD-agens

Behandeling	Mate van WVD		Versgewicht (g)		
	Niet besmet	Besmet	Niet besmet	Besmet	% reductie
Hydrocultuur	0	3.0	12.6	1.5	88.1*
Steenwol in water	0	3.0	13.4	1.5	88.6*
Steenwol "nat"	0	2.3	19.1	10.3	46.0*
Steenwol "droog"	0	1.7	12.7	7.9	38.2*

\* Significant verschil tussen versgewicht in de niet-besmette en de besmette behandeling (LSD,  $P < 0.05$ )

## 8.5 Discussie

De hypothese dat onder natte condities meer WVD optreedt dan onder drogere condities werd bevestigd. De resultaten verklaren waarom in steenwol over het algemeen WVD in veel minder ernstige mate optreedt dan in hydrocultuur. Het is niet bekend of een sterkere aantasting komt door de hogere waterpotentiaal of door het lagere zuurstofgehalte waaraan de wortels worden blootgesteld in hydrocultuur in vergelijking met teelt in steenwol. De mogelijkheden voor de praktijk om in steenwol door droog telen WVD te verminderen lijken beperkt omdat er geen duidelijk verschil was in de mate van WVD en percentage groeireductie tussen de "natte" en "droge" behandeling gering was. Bovendien ondervonden de planten in de "droge" behandeling duidelijk schade ondervonden door watergebrek. Voorkomen zal in ieder geval moeten worden dat steenwolpotten langere tijd in een laagje water staan omdat dat WVD zal bevorderen.

## 9 Effect potsoort, glaswol, kokos en steenwol, op WVD

### 9.1 Inleiding

In perliet en steenwolpotten is de pH ca. 6 bij gebruik van een voedingsoplossing met pH 4 (Hoofdstuk 5). Mogelijk dat in de substraten glaswol en kokos de pH minder gebufferd wordt en daardoor een lagere pH te realiseren valt met als gevolg minder WVD.

### 9.2 Doel

Bepalen of in glaswol of kokospotten minder WVD optreedt dan in steenwolpotten bij gebruik van een voedingsoplossing met pH 4.

### 9.3 Materiaal en methoden

#### 9.3.1 Substraat

Steenwolpotten (Grodan)

Kokospotten (Fibre-Neth, Potgrondverwerking Van der Knaap)

Glaswolmatten (Cultilène)

De glaswolmatten werden in blokken gesneden van 10 x 10 x 5 cm en van boven werden een gat gemaakt van 2 cm diep en 2,5 cm in diameter (zaaigat).

#### 9.3.2 Opkweek

De steenwol- en zelfgemaakte glaswolpotten werden gedompeld in voedingsoplossing (met ammonium). De kokospotten werden verzadigd door voedingsoplossing op de pot te gieten tot het aan de onderkant uit de pot liep. Odessa werd gezaaid in de potten en het zaaigat werd gedicht met vermiculiet. De potten werden geplaatst bij 23/25°C stoken/luchten.

#### 9.3.3 Behandelingen

Er waren 3 proeffactoren, potsoort (steenwol, glaswol en kokos), pH van de voedingsoplossing (4.0 en 5.5) en wel/niet besmet, resulterende in 12 behandelingscombinaties. Per behandeling waren er 5 herhalingen. Een herhaling bestond uit één opkweekpot geplaatst in een plastic bakje.

#### 9.3.4 Besmetten

Eén week na zaaien werden de potten besmet. Hiertoe werd op elke pot 200 ml besmette voedingsoplossing (= 180 ml verse + 20 ml besmette voedingsoplossing) gegoten. De niet-besmette behandelingen kregen 200 ml verse voedingsoplossing.

#### 9.3.5 Voedingsoplossing en irrigatie

Vanaf 9 dagen na zaaien werden de potten 3x per week verzadigd door voedingsoplossing op de pot te gieten totdat voedingsoplossing uit de pot liep.

#### 9.3.6 Waarnemingen

De pH in de potten werd bepaald een half uur na verzadigen van de potten (vlak voor het zaaien), 2 en 14 dagen na het zaaien en aan het einde van de proef. Hiertoe werd bij 3 potten van de niet-besmette controlebehandelingen voorzichtig wat voedingsoplossing op de pot gegoten en de pH werd bepaald in de voedingsoplossing die onderuit de pot liep. Zeventien dagen na besmetten werden de wortels beoordeeld

op het voorkomen van WVD volgens een schaal van 0-3 (zie Hoofdstuk 8) en werd het bovengrondsgewicht van de planten bepaald door de planten direct onder de cotylen af te snijden.

### 9.3.7 Statistische verwerking van de gegevens

De plantgewichten en pH-waarden werden geanalyseerd m.b.v. een drie-factor-variantie-analyse. De proeffactoren waren: pH-voedingsoplossing, potsoort en wel/niet-besmet en de gemiddelde waarden werden, na een significante F-toets, met elkaar vergeleken m.b.v. de LSD-test ( $P < 0.05$ ).

## 9.4 Resultaten

De pH was het hoogst in de glaswolkpotten. De pH in de potten bevoeid met voedingsoplossing met pH 4.0 of 5.5 verschilde relatief weinig en 17 dagen na zaaien was er geen significant verschil meer aanwezig (Tabel 9.1).

Tabel 9.1. De pH in glaswol-, kokos- en steenwolkpotten bevoeid met voedingsoplossing met pH 4.0 of 5.5 verschillende dagen na zaaien van kornkommerplanten.

Potsoort	pH-voedingsoplossing	Aantal dagen na zaaien		
		0	2	17
Glaswol	4.0	6.0c <sup>a</sup>	6.4e	6.8b
	5.5	6.3d	6.2d	7.1b
Kokos	4.0	5.6b	5.7b	6.1a
	5.5	5.9c	5.9c	6.1a
Steenwol	4.0	5.2a	5.3a	6.3a
	5.5	5.8c	5.8c	6.4a

<sup>a</sup> Waarden in elke kolom gevolgd door verschillende letters zijn significant verschillend volgens Fisher's Protected LSD ( $P < 0.05$ ).

De mate van WVD was laag. Bij 4 van de 5 kokospotten bevoeid met een voedingsoplossing met pH 5.5 werden enkele wortels met symptomen waargenomen. In de glaswol- en steenwolkpotten werd geen WVD waargenomen.

Planten opgekweekt in de glaswolkpotten (gemiddeld gewicht 16.9 g) waren duidelijker kleiner dan planten opgekweekt in steenwolkpotten (gemiddeld gewicht 20.5 g). Het gewicht van planten opgekweekt in kokospotten (gemiddeld 18.1 g) verschilde niet significant van die van planten opgekweekt in steenwolkpotten noch van die opgekweekt in glaswolkpotten. Er waren geen significante effecten van pH of WVD-besmetting op plantgewicht (F-toetsen,  $P > 0.05$ ).

## 9.5 Discussie

In tegenstelling tot wat verwacht was, was de pH in de glaswolkpotten sterk gebufferd. Het is niet bekend waardoor de glaswol wordt gebufferd. In de proef trad slechts in geringe mate WVD op waardoor er geen conclusies kunnen worden getrokken over het effect van substraat en pH op WVD. Opvallend was wel dat alleen in kokospotten WVD optrad. Het is dus niet zo, zoals ooit eerder beweerd, dat WVD niet in kokos optreedt (Disco, 1999). Hoewel de verschillen niet significant zijn (0 of 4 van de 5 potten met WVD) trad in de proef alleen WVD op bij gebruik van een voedingsoplossing met pH 5.5 en niet met pH 4.0. De pH in kokospotten geïrrigeerd met voedingsoplossing met pH 4.0 of 5.5 verschilde weinig. In een eerdere proef (hoofdstuk 5) was echter al gebleken dat slechts een korte blootstelling (<10 min.) van het WVD-agens aan een lage pH (4.0) de infectiositeit van het agens nadelig beïnvloedde. Dit pH-effect kan het hier waargenomen verschil in het aantal planten met WVD ook verklaren.

## 10 Effect pH op WVD bij komkommer in hydrocultuur

### 10.1 Inleiding

Bij een lage pH neemt de infectiositeit van de voedingsoplossing sneller af dan bij een hoge pH (Hoofdstukken 2 en 3). Het is echter niet bekend bij welke pH in de wortelzone geen WVD meer optreedt en dus welke pH in het substraat gewenst is om WVD te voorkomen.

### 10.2 Doel

Bepalen bij welke pH geen WVD meer optreedt. In de proeven werd een pH-reeks van 4.0 tot 6.0 gebruikt.

### 10.3 Materiaal en methoden

#### 10.3.1 Opkweekcondities

Eén week oude komkommerzaailingen (cv. Odessa) werden in 20-L emmers gehangen gevuld met voedingsoplossing (zonder ammonium, EC 2.3). Twee plantjes per emmer. Temperatuur 23/25°C stoken/luchten.

#### 10.3.2 Behandelingen

Er waren 5-pH trappen: 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 en 6.0 met 2 herhalingen per pH-trap. Eén herhaling bestond uit 1 emmer met 2 plantjes. De pH van de voedingsoplossing (zonder ammonium, EC 2.3) werd 3 x per week bepaald en bijgesteld mbv 1N NaOH of HCl indien de pH meer dan 0.1 afweek van de ingestelde pH.

#### 10.3.3 Besmetten

Elke emmer werd besmet met 6 zieke wortelstukjes van elk 3 cm met duidelijke WVD-symptomen.

#### 10.3.4 Waarnemingen

Twee weken na inzet werd de aan/afwezigheid van WVD-symptomen bepaald.

### 10.4 Resultaten

De pH in de emmers was redelijk constant en afwijkingen van de ingestelde pH's waren over het algemeen minder dan 0.2 pH-eenheden (Fig. 10.1). In beide proeven vertoonden de plantjes in de emmers met voedingsoplossing met pH 5.5 of 6.0 WVD. De mate van WVD was sterker bij pH 6.0 dan bij 5.5. Bij pH 5.0 of lager werd geen WVD gevonden.

### 10.5 Conclusies

De minimale pH waarbij nog WVD optreedt ligt tussen de 5.0 en 5.5.



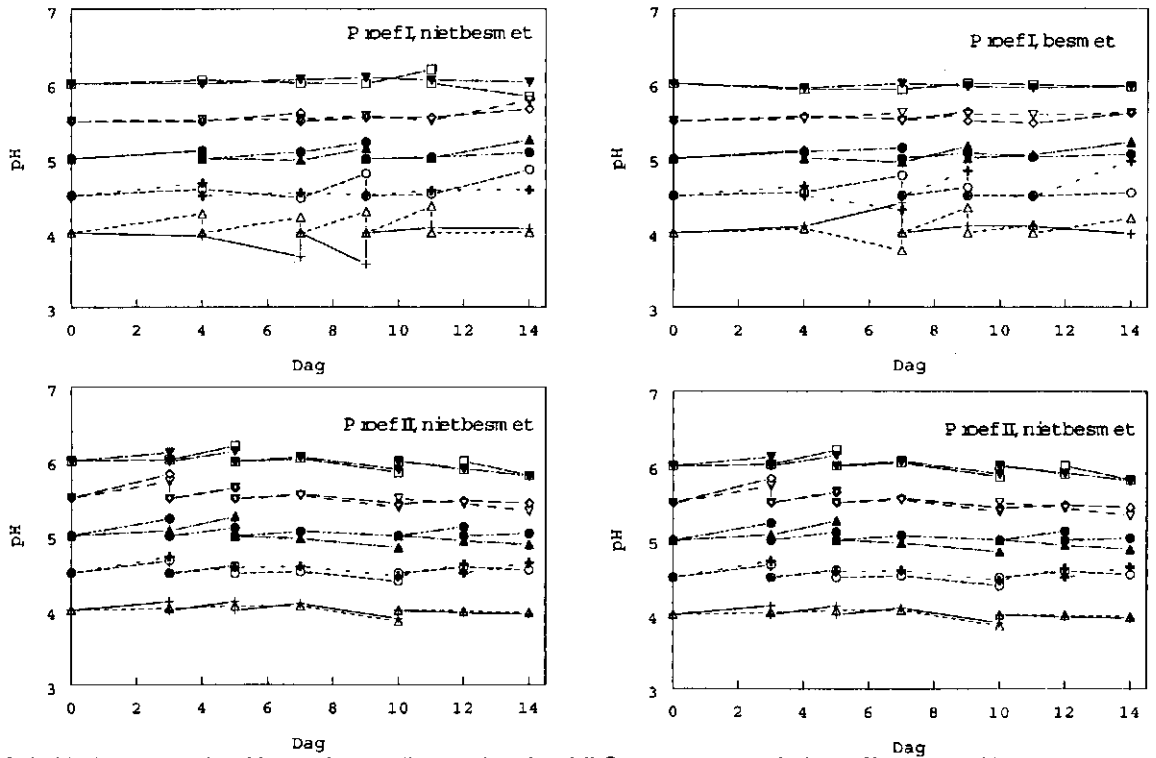


Fig. 10.1. Verloop van de pH van de voedingsoplossing bij 2 proeven waarin het effect van pH op wortelverdikking werd bepaald. De pH van de verschillende behandelingen was op dag 0 ingesteld op 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, en 6.0. Er waren 2 herhalingen per pH en 2-3 keer per week werd de pH in elke herhaling gemeten en bijgesteld indien de pH meer dan 0.1 eenheid afweek van de ingestelde pH.

# 11 Hoe lang kan het WVD-agens overleven onder droge omstandigheden?

## 11.1 Inleiding

Het WVD-agens heeft slechts een beperkte overlevingsduur in de voedingsoplossing in afwezigheid van een levende plant en vermoedelijk vormt het agens geen structuren die langere tijd ongunstige periodes kunnen overleven. Verwacht wordt dat het agens onder droge omstandigheden niet kan overleven. Indien het WVD-agens inderdaad snel wordt uitgeschakeld door materiaal te drogen kan het gebruik van ontsmettingsmiddelen drastisch worden verminderd.

## 11.2 Doel

Bepalen of na drogen van besmet materiaal het WVD-agens is uitgeschakeld.

## 11.3 Materiaal en methoden

Twee verschillende "droog-proeven" werden uitgevoerd: met besmette voedingsoplossing en met zieke worteltjes

### 11.3.1 Besmette voedingsoplossing

Een biotoets met twee 1-week oude komkommerplantjes per nasibakje zoals beschreven in hoofdstuk 2 (voedingsoplossing zonder ammonium, EC 2.3, pH 6.5, bijlage 1) werd ingezet bij/na de volgende behandelingen

1. Controle: verse voedingsoplossing
2. Besmette voedingsoplossing (= verse voedingsoplossing besmetten met voedingsoplossing uit nasibakje waarin 2 ca. 3 weken oude zieke planten stonden; bij 686 ml verse voedingsoplossing werd 14 ml besmette voedingsoplossing gegoten)
3. Besmette voedingsoplossing uit bakje gegoten en vervolgens gevuld met verse voedingsoplossing
4. Besmette voedingsoplossing werd uit het bakje gegoten en geplaatst op een labtafel om te drogen. Direct nadat er geen zichtbare druppels in het bakje meer aanwezig waren, werd het bakje gevuld met verse voedingsoplossing.
5. Als 4, maar nu werd het bakje 24 uur gedroogd.
6. Controle: verse voedingsoplossing, biotoets tegelijk ingezet met behandeling 5

### 11.3.2 Zieke worteltjes

Een biotoets werd ingezet na de volgende behandelingen:

1. controle, verse voedingsoplossing in nasibakje
2. verse voedingsoplossing met 3 stukjes zieke wortel van elk 3 cm lang (zijwortel, ca 2 mm dik)
3. als 2 maar nu werden de stukjes wortel eerst 24 uur gedroogd en vervolgens werd verse voedingsoplossing op de wortelstukjes gegoten.
4. controle (zie behandeling 1), inzet biotoets tegelijk met behandeling 3
5. als 3, na 48 uur drogen
6. controle, inzet biotoets tegelijk met behandeling 5
7. als 3, na 72 uur drogen
8. controle, inzet biotoets tegelijk met behandeling 7
9. als 3, na 96 uur drogen
10. controle, inzet biotoets tegelijk met behandeling 9

Om te drogen werden de bakjes geplaatst in het lab bij een temperatuur van ca. 22°C.

### 11.3.3 Waarnemingen

Per behandeling waren 6 herhalingen (6 nasibakjes). Veertien dagen na inzet werden de plantjes beoordeeld op WVD.

## 11.4 Resultaten

### 11.4.1 Besmette voedingsoplossing

Direct nadat de druppels visueel waren opgedroogd, ca 2 uur na het leeggieten van de bakjes, bleek het WVD-agens deels te zijn uitgeschakeld: in 3 van de 6 herhalingen werd geen WVD meer waargenomen. (Na 24 uur drogen kon in geen van de 6 herhalingen nog infectieus WVD-agens worden aangetoond).

### 11.4.2 Zieke worteltjes

Na een droogtijd van 24 uur of langer kon geen infectieus agens worden aangetoond.

## 11.5 Discussie

Het WVD-agens werd uitgeschakeld onder droge omstandigheden. Materiaal dat bijvoorbeeld in contact is geweest met zieke planten of besmette voedingsoplossing hoeft dus niet persé te worden ontsmet met ontsmettingsmiddelen maar kan ook ergens te drogen worden gezet waardoor het WVD-agens vanzelf wordt uitgeschakeld.

# 12 Effect van pH op wortelgroei en productie van komkommerplanten met wortelverdikking

## 12.1 Inleiding

Uit proeven uitgevoerd door Groen Agro Control waren er aanwijzingen dat bij een lagere pH minder WVD optreedt. Dit pH-effect is bevestigd in de proeven beschreven in hoofdstuk 10. In deze proeven werd gevonden dat de minimale pH waarbij nog WVD optreedt ligt tussen 5.0 en 5.5. Tijdens de opkweekfase van komkommer in steenwol komt de pH echter niet beneden de 5.5 in de pot bij gebruik van een voedingsoplossing met pH 4.0 (Hoogerbrugge & Verkerke, 1998). Tijdens de teelt is het wel mogelijk de pH in het substraat te verlagen via een verlaging van de pH van de voedingsoplossing en mogelijk kan door verlaging van de pH in het substraat tijdens de teeltfase de groei van met WVD aangetaste planten worden gestimuleerd en zo schade door WVD worden vermindert.

## 12.2 Doel

In deze proef is bepaald of tijdens de teelt de pH in het substraat effect heeft op de wortelgroei en productie van komkommerplanten die tijdens de opkweek aangetast zijn met wortelverdikking. Er zijn 2 proeven uitgevoerd waarbij proef I werd uitgevoerd binnen het door het Productschap Tuinbouw gefinancierde project 43.3066 "Effect substraat en pH op wortelziekten" en proef II binnen project 43.5034 "Wortelverdikking bij komkommer".

## 12.3 Materiaal en methoden

### 12.3.1 Opkweek en besmetting met WVD

Planten (cv. Odessa) werden gezaaid in steenwolpotten. De komkommerzaailingen werden 2, 6 en 9 dagen na zaaien besmet met het WVD-agens. Hiertoe werd 100 ml besmet leidingwater (13 ml besmette voedingsoplossing was verdund met 87 ml leidingwater) op de pot gegoten. Bij de niet-besmette controle planten werd 100 ml leidingwater op de pot gegoten. Besmette en niet-besmette potten stonden op afzonderlijke eb-vloed tafels. De opkweekperiode was 20 dagen. Temperatuurinstelling kas: 20/21°C stoken/luchten.

### 12.3.2 Teelt en pH

Planten werden geteeld op glaswolmatten. Tijdens de teelt werden 2 pH-niveaus in de matten gerealiseerd door automatische handhaving van de pH van de recirculerende voedingsoplossing op 4.0-4.5 of 6.0-6.5. Per pH-niveau was er een met WVD besmette en een niet besmette behandeling. De niet besmette behandeling werd in enkelvoud uitgevoerd. De besmette behandeling werd in tweevoud uitgevoerd. Een herhaling bestond uit een gesloten systeem waarop 4 goten waren aangesloten. Per goot lagen 3 glaswolmatten met op elke mat 3 planten. Om de pH in de mat reeds bij aanvang van de teelt goed te kunnen reguleren werden de matten voor aanvang van de teelt eerst gespoeld met voedingsoplossing zonder te recirculeren. De matten werden gespoeld met voedingsoplossing met pH 4.0-4.5 of pH 6.0-6.5 in proef I, overeenkomstig de pH in de behandelingen, en met pH 5.5 in proef II. Proef I werd uitgevoerd in de periode van 23 mei (plantdatum) tot 6 juli (laatste oogstdatum en eindscore) en Proef II werd uitgevoerd in de periode van 20 augustus tot 8 oktober. De temperatuurinstellingen in de kas waren 20°C stoken en 21°C luchten. De gerealiseerde gemiddelde temperaturen waren 22,1°C in proef I en 21,4°C in proef II.

De voedingsoplossing die wordt geadviseerd voor de teelt van komkommer (de Kreij et al., 1999) is

gebruikt, waarbij enkele aanpassingen zijn gedaan: bij het volzetten van de matten is bij het hoge pH-niveau geen ammonium gebruikt maar bij het lage pH-niveau is 1,0 mmol/l  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  gebruikt. Voor het startschema is bij het lage pH-niveau 0,6 mmol/l extra  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  gegeven. Voor verlaging van de pH van de voedingsoplossing werd 1 M  $\text{HNO}_3$  gebruikt en voor verhoging van de pH 1 M KOH. Vanwege deze extra doseringen zijn de concentraties  $\text{NO}_3^-$  en K indien nodig in de voedingsoplossing aangepast gebaseerd op de wekelijkse chemische analyses van de voedingsoplossing. Om de ingestelde pH ook in de mat te verkrijgen is er veel water gegeven. Bij aanvang van de eerste proef werd er elk uur 10 minuten water gegeven. Na 11 dagen is de frequentie verhoogd naar elk half uur 10 minuten water geven. Bij de tweede proef is vanaf het begin elk half uur 10 min. water gegeven.

### 12.3.3 Waarnemingen

Vlak voor het plaatsen van de planten op de matten werd van 20 random geselecteerde besmette planten en 10 niet-besmette planten het versgewicht bepaald na afsnijden van de plant direct boven de pot. Drie maal per week werd de pH in de glaswolmatten bepaald door m.b.v. een spuit een watermonster uit de mat te trekken. Het monster werd enkele centimeters onder de middelste pot van de middelste mat genomen. Op een goot lagen 3 matten. De productie werd bepaald, totdat alle stamvruchten eraf geoogst waren. Aan het eind van de teelt is een beoordeling van de hoeveelheid gezonde wortels aan de onderkant van de mat gemaakt volgens een schaal van 0 tot 5 (0 = geen gezonde wortels aanwezig; 5 = mat volledig bedekt met gezonde wortels). Elke week werd de chemische samenstelling van het drainwater bepaald.

### 12.3.4 Statistische verwerking van de gegevens

De gegevens van beide proeven werden gecombineerd bij de statistische analyse. De cumulatieve productie in kg komkommers in klassen I en II werd genalyseerd m.b.v. variantie-analyse. De gegevens van de niet-kunstmatig besmette behandelingen werden niet verwerkt in de analyse omdat tijdens beide proeven besmetting met het WVD-agens was opgetreden.

## 12.4 Resultaten

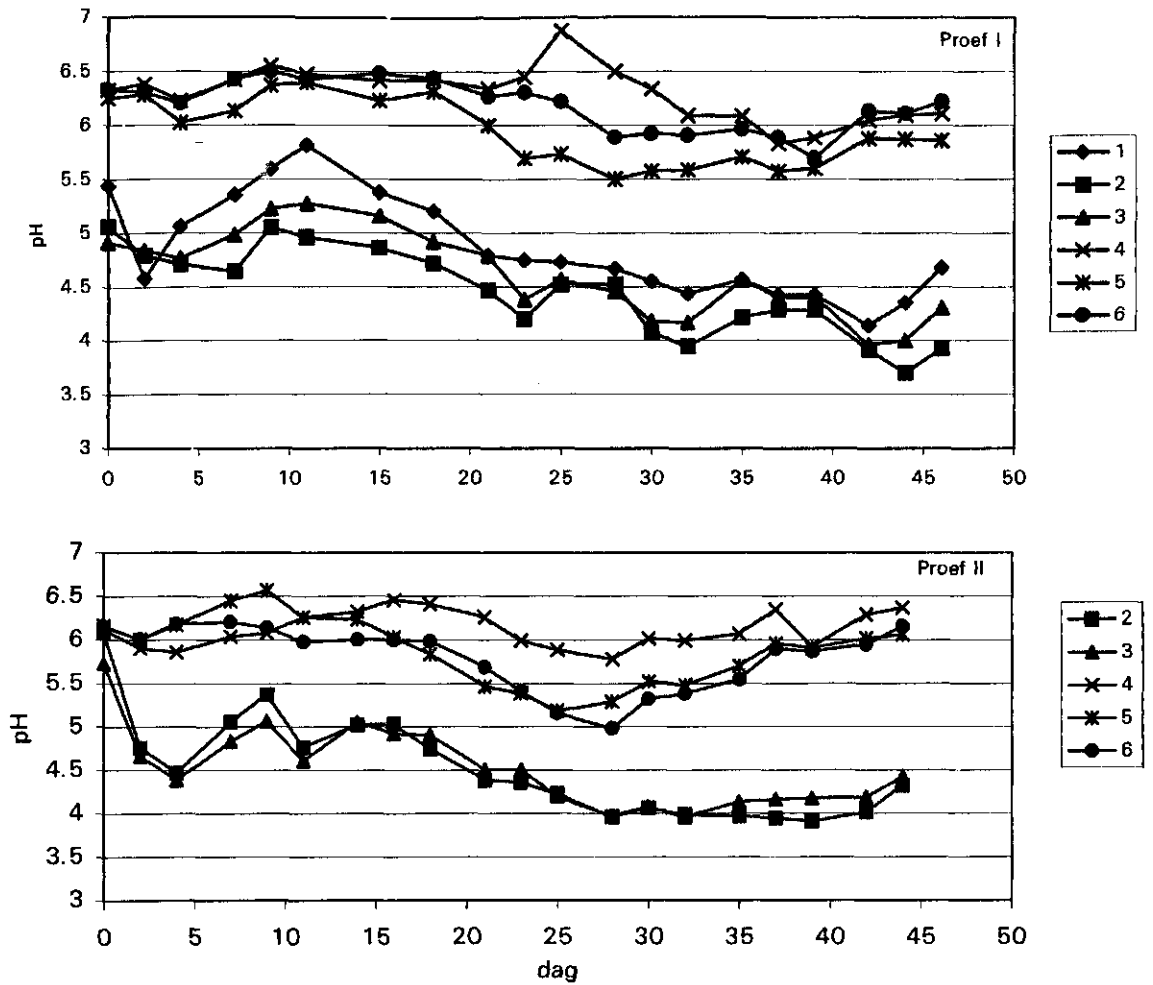
### 12.4.1 pH in de matten

Proef I. De pH in de glaswolmatten varieerde bij het hoge pH-niveau tussen de 5.5 en 6.5 en viel slechts één keer buiten deze range ( $> 6.5$ ). Bij het lage pH-niveau varieerde de pH globaal tussen de 4.0 en 5.0 maar kwam met name in de tweede week boven de 5.0. Nadat was overgegaan op 2 watergeefbeurten per uur (na 11 dagen) zakte de pH in de matten tot beneden de 5.0 (Fig. 12.1).

Proef II. De pH lag bij de meeste metingen tussen de 5.5 en 6.5 bij het hoge pH-niveau en tussen de 4.0 en 5.0 bij het lage pH-niveau. (Fig. 12.1)

### 12.4.2 Wortelverdikking en productie

Planten besmet met het WVD-agens tijdens de opkweek vertoonden duidelijke WVD-symptomen en waren kleiner dan de niet-besmette planten. Het gemiddeld versgewicht van 10 random bemonsterde niet-besmette planten was 38 g en van 20 besmette planten 22 g in proef I. In proef II waren de niet-besmette planten gemiddeld 86 en de besmette 52 g. In de eerste weken van de teeltperiode in proef II vielen bij de niet-besmette controle met pH 4.0-4.5 meerdere planten uit met *Pythium*-rot symptomen. Deze behandeling is daarom in de verdere analyse niet verwerkt. Aan het einde van de teeltperiode vertoonden de planten in alle behandelingen, ook de niet-besmette controles, WVD. Verdikte wortels werden in beide proeven met name aan de onder- en aan de zijkant van de steenwolpot waargenomen (Fig. 12.2). Bij de lage pH werden significant meer gezonde wortels aan de onderkant van de mat waargenomen dan bij de hoge pH (Tabel 12.1, Figuur 12.3). De cumulatieve productie verschilde niet significant tussen de pH-behandelingen (Figuur 12.4)



1 = pH 4,0-4,5 zonder WVD      4 = pH 6,0-6,5 met WVD  
 2 = pH 4,0-4,5 met WVD        5 = pH 6,0-6,5 zonder WVD  
 3 = pH 4,0-4,5 met WVD        6 = pH 6,0-6,5 met WVD

Fig 12.1 Verloop van de pH in de glaswolmatten in 6 gesloten systemen waarbij de pH van de recirculerende voedingsoplossing op 2 niveau's was ingesteld: 4.0 ~ 4.5 en 6.0-6.5.



Fig. 12.2: Wortelverdikking bij komkommer aan de zijkant van een steenwolpot

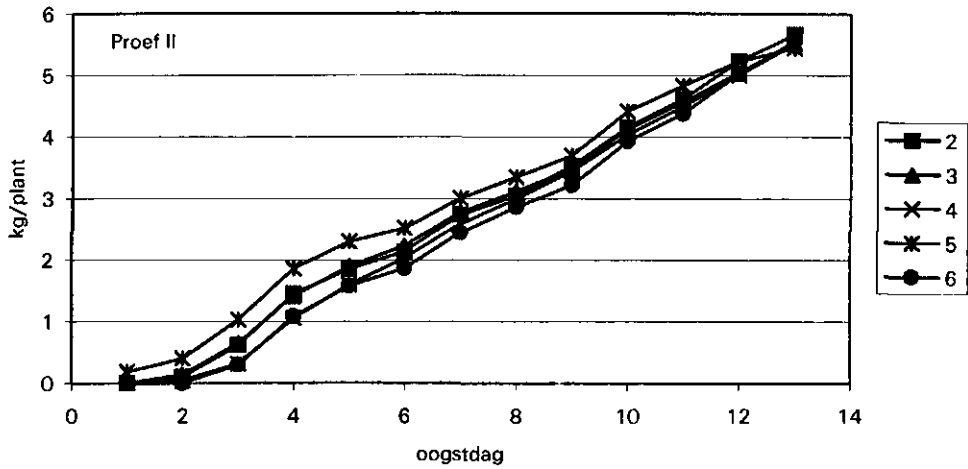
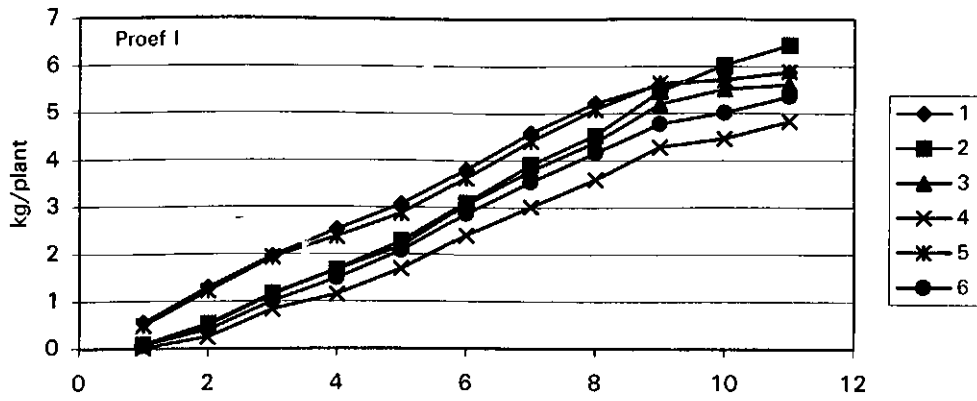


Fig. 12.3: Van links naar rechts beoordeling wortels van 1 tot 5 bij proef 1.

Tabel 12.1. De mate waarin komkommerplanten met WVD gezonde wortels hadden gevormd aan de onderkant van glaswolmatten geïrrigeerd met voedingsoplossing met pH 4.0-4.5 of pH 6.0-6.5. Planten waren tijdens de opweefphase wel/niet opzettelijk besmet met het WVD-agens. De mate van wortelgroei werd gescoord volgens een schaal van 0 tot 5 (0=geen gezonde wortels aanwezig, 5=mat volledig bedekt met gezonde wortels).

pH voedingsoplossing	Besmet	WVD aan einde teeltperiode	Mate wortelgroei		
			Proef I	Proef II	Gemiddeld
4.0-4.5	Nee	Ja	3.5	n.b.	
	Ja	Ja	4.0	2.8	3.4 a <sup>a</sup>
6.0-6.5	Nee	Ja	1.0	1.1	
	Ja	Ja	1.1	1.8	1.5 b

<sup>a</sup> Waarden in deze kolom gevolgd door verschillende letters zijn significant verschillend volgens de F-toets ( $P < 0.05$ )



- |                           |                           |
|---------------------------|---------------------------|
| 1 = pH 4,0-4,5 zonder WVD | 4 = pH 6,0-6,5 met WVD    |
| 2 = pH 4,0-4,5 met WVD    | 5 = pH 6,0-6,5 zonder WVD |
| 3 = pH 4,0-4,5 met WVD    | 6 = pH 6,0-6,5 met WVD    |

Figuur 12.4 - Cumulatief verloop produktie (kg) per plant van de met WVD besmette planten en de controle planten bij hoge en lage pH in het substraat.



## 12.5 Discussie

De planten die tijdens de opkweek niet opzettelijk besmet waren met het WVD-agens en geen WVD-symptomen vertoonden op de plantdatum werden tijdens de teelt toch aangetast door het WVD-agens. Eén druppel besmet water is voldoende om een heel systeem te besmetten en vermoedelijk zijn tijdens de teelt de oorspronkelijk niet-besmette systemen alsnog besmet geraakt. Hierdoor was het niet mogelijk te bepalen of WVD opbrengstvermindering had veroorzaakt. De productie van de planten die al vanaf de plantdatum waren aangetast begon later dan bij de niet-besmette planten maar de cumulatieve productie aan het eind van de proef verschilde niet tussen de behandelingen. De pH in het substraat had een duidelijk effect op de wortelgroei maar de aanwezigheid van meer gezonde wortels ging niet samen met een hogere productie. In beide proeven was de teeltperiode kort en mogelijk komen verschillen in productie pas later tot uiting wanneer de zijranken gaan produceren. Om te kunnen bepalen of pH-verlaging in het substraat naast een beter wortelstelsel ook kan leiden tot een hogere productie bij planten aangetast door het WVD-agens zijn proeven nodig met een teeltduur die gebruikelijk is voor de praktijk. Door de hoge watergeeffrequentie, nodig om het juiste pH-niveau's in de mat te kunnen handhaven, was het vochtgehalte in de glaswolmat tijdens de proef erg hoog. Een hoog vochtgehalte en daarmee samengaan laag zuurstofgehalte kan directe nadelige gevolgen hebben voor de groei en de productie van de planten en daarnaast aantasting door eventueel aanwezige *Pythium* soorten stimuleren. In vervolgprouven is het daarom aan te bevelen om i.p.v. glaswol puimsteen of perliet te nemen omdat in deze substraten weinig risico bestaat op een te hoog vochtgehalte bij hoge watergeeffrequenties.

# 13 Conclusies

- De duur van de infectieuze periode van voedingsoplossing besmet met het WVD-agens neemt sterk af met afnemende pH.
- Verlaging van de pH van de voedingsoplossing vermindert de kans op het optreden op WVD tijdens de opkweek van vruchtgroentegewassen
- Verlaging van de pH van de voedingsoplossing van 5.5 naar 4.0 heeft geen negatief effect op de groei van komkommerplanten tijdens de opkweek.
- Er is weinig verschil in pH in steenwolpotten en in losse perliet gedurende de eerste 16 dagen na zaai van komkommer bij gebruik van een voedingsoplossing met pH 4.0 of 5.5.
- Er is weinig/geen verschil in de mate van WVD in steenwolpotten of perliet gedurende de eerste 4 weken bij opkweek van komkommerplanten.
- Het WVD-agens kon in herhaalde proeven de volgende gewassen aantasten: komkommer, paprika, tomaat, lupine, *Cucurbita ficifolia*, *Cucurbita maxima* en *Cucurbita maxima* x *C. moschata*. Anthurium werd niet aangetast maar kon het agens wel in stand houden.
- Vermoedelijk kan ook Gerbera worden aangetast en kan roos als symptoomloze drager van het WVD-agens optreden (proef één keer uitgevoerd).
- Alle in het onderzoek getoetste gewassen bleken (al dan niet symptoomloos) het WVD-agens in stand te kunnen houden wat suggereert dat het WVD-agens zich in stand kan houden (en vermenigvuldigen) op/in levende wortels van veel en misschien wel alle plantensoorten.
- Continue verzadiging van een steenwolpot met water creëert een gunstig milieu voor WVD
- De pH beneden welke geen WVD meer optreedt ligt tussen 5.0 en 5.5
- Door materiaal besmet met het WVD-agens te drogen wordt het WVD-agens uitgeschakeld. In plastic bakjes besmet met besmette voedingsoplossing kon na 24 uur droogtijd geen infectieus agens meer worden aangetoond. Zieke wortelstukjes die te drogen waren gelegd verloren eveneens binnen een periode van 24 uur hun infectiositeit.
- Bij een lage pH in glaswolmatten (pH 4.0-5.0) vormen komkommerplanten met WVD meer gezond uitzijende wortels dan bij een hoge pH (5.5-6.5).

## 14 Aanbevelingen voor vervolgonderzoek

Omdat wortelverdikking niet of moeilijk valt te bestrijden en omdat het gebruik van ontsmettingsmiddelen onwenselijk is vanuit milieuoogpunt zal onderzoek zich vooral moeten richten op het verhogen van de weerbaarheid van het teeltsysteem tegen wortelverdikking. Het onderzoek beschreven in dit verslag toont aan dat door verlaging van de pH in teeltsystemen WVD kan worden voorkomen en waarschijnlijk ook schade door WVD kan worden beperkt. Aanvullend onderzoek op dit gebied zou moeten leiden tot teeltsystemen waarin WVD geen of weinig problemen kan veroorzaken. Aanbevolen wordt daarom:

- Het ontwikkelen van een teeltsubstraat/opkweekpot met een pH rond de 5. In een dergelijk substraat zijn weinig/geen problemen met WVD te verwachten
- Het uitvoeren van teeltproeven in perliet of puimsteen om het effect van pH te bepalen op de productie van komkommerplanten met WVD gedurende een gehele teeltperiode

Daarnaast is meer basale kennis gewenst over het gedrag van de veroorzaker van WVD:

- WVD is nog nooit beschreven bij grondteelten. Blijkbaar is deze ziekte specifiek voor substraatteelten en hydrocultuur. Onderzoek naar het effect van biologische en fysisch/chemische bodemfactoren (anders dan pH) is gewenst om inzicht te krijgen onder welke condities WVD kan optreden en onder welke niet. Op basis van deze kennis kunnen nieuwe substraten worden ontwikkeld waarin WVD niet of slechts in geringe mate kan optreden.
- Het is tot nu toe niet gelukt de veroorzaker van WVD op een kunstmatige voedingsbodem te kweken. Een niet-kweekbare bacterie als ziekteverwekker is nieuw en meer fundamenteel onderzoek op bijvoorbeeld universiteiten naar het voorkomen en het gedrag van deze bacterie is aan te bevelen.

## 15 Literatuur

- Disco, A., 1999. Substraat. Groenten en Fruit, Glasgroenten 3 september: 13 – 22.
- Hoogerbrugge, E. & W. Verkerke, 1998. Wortelverdikking komkommer, onderzoek 1<sup>e</sup> helft 1997. Proefstation voor Bloemisterij & Glasgroenten rapport 133.
- Huang, R., & J.C. Tu, 1999. Effect of the NFT nutrient solution pH on root transmission of tomato bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*). *Acta Horticulturae* 481: 569 – 575.
- Kreijde C., W. Voogt, A.L. van den Bos, R. Baas 1999. Bemestingsadviesbasis substraten. Proefstation voor Bloemisterij & Glasgroenten brochure ISSN 1387 - 2427.
- Paternotte, P., 1994. Stomen voorkomt wortelverdikking. *Groenten & Fruit/Glasgroenten* 22: 25.
- Pittens – Van der Heijden, R.-J., P. Paternotte & D. Klinkspoor, 1999. Wortelverdikking komkommer, onderzoek 1<sup>e</sup> helft 1999. Proefstation voor Bloemisterij & Glasgroenten rapport 230.
- Sonneveld, C, & N. Straver, 1994. Voedingsoplossingen voor groenten en bloemen geteeld in water of substraten. Proefstation voor Bloemisterij & Glasgroenten rapport 8.
- Verkerke, W. & M. Kersten, 1997. Anatomie van wortelverdikking bij komkommer. Proefstation voor Bloemisterij & Glasgroenten rapport 110.
- Verkerke, W. & R.-J. Pittens – Van der Heijden, 1999. Symptomen van wortelverdikking komkommer en paprika. Proefstation voor Bloemisterij & Glasgroenten rapport 110.

# Bijlage 1

Samenstelling van de voedingsoplossing zonder ammonium gebruikt in diverse proeven. Voor de biotoets werd deze voedingsoplossing verdund met leidingwater (1:1) en de pH bijgesteld tot 6.5

EC mS/cm	2.3
NH <sub>4</sub> mmol/L	0
K	7.9
Ca	4.7
Mg	2.9
NO <sub>3</sub>	16.9
SO <sub>4</sub>	2.4
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.35
Fe μmol/L	25
Mn	10
Zn	5
B	35
Cu	1
Mo	0.5

## Bijlage 2

Samenstelling van de voedingsoplossing met ammonium gebruikt in diverse proeven.

EC mS/cm	2.4
NH <sub>4</sub> mmol/L	1.0
K	7.9
Ca	4.7
Mg	2.9
NO <sub>3</sub>	17.6
SO <sub>4</sub>	2.5
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.4
Fe μmol/L	25
Mn	10
Zn	5
B	35
Cu	1
Mo	0.5