



Biologische bestrijding van bodemschimmels in veensubstraten

Dirk Jan van der Gaag & Karin Vellekoop

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector Glastuinbouw
Augustus 2004

© 2004 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veeelvoudigd, 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 B.V. 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

Projectnummer: 41111015

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Sector Glastuinbouw

Adres : Kruisbroekweg 5, Wageningen
: Postbus 8, 2670 AA Wageningen
Tel. : 0174 - 636885
Fax : 0174 - 636835
E-mail : dirkjan.vandergaag@wur.nl
Internet : www.ppo.dlo.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	5
SUMMARY	5
1 ALGEMENE INLEIDING.....	7
2 TOETSONTWIKKELING PETUNIA – <i>PYTHIUM</i> EN VIOOL - <i>PYTHIUM</i>	9
2.1 Inleiding	9
2.2 Materiaal en methoden.....	9
2.2.1 <i>Pythium</i> isolaat en inoculumproductie	9
2.2.2 Besmetten, zaaien en waarnemen	9
2.3 Resultaten.....	9
2.4 Discussie	10
3 ZIEKTEWERENDHEID VAN BEËNTE ZAAIGROND TEGEN <i>RHIZOCTONIA</i> EN <i>CHALARA</i>	11
3.1 Inleiding	11
3.2 Materiaal en methoden.....	11
3.2.1 Zaaigrond en biologische bestrijders	11
3.2.2 <i>Rhizoctonia</i> toets	11
3.2.3 <i>Chalara</i> toets.....	11
3.2.4 Analyse van de gegevens	11
3.3 Resultaten.....	12
3.3.1 Populatiedichtheid van de biologische bestrijders	12
3.3.2 <i>Rhizoctonia</i>	12
3.3.3 <i>Chalara</i>	12
3.4 Discussie	13
4 ZIEKTEWERENDHEID VAN BEËNTE ZAAIGROND TEGEN <i>RHIZOCTONIA</i> EN <i>PYTHIUM</i>	15
4.1 Inleiding	15
4.2 Materiaal en methoden.....	15
4.2.1 Zaaigrond en productie van antagonist.....	15
4.2.2 <i>Rhizoctonia</i> toets	15
4.2.3 <i>Pythium</i> toets	15
4.2.4 Analyse van de gegevens	15
4.3 Resultaten.....	15
4.3.1 Populatiedichtheid van de biologische bestrijders	15
4.3.2 <i>Pythium</i>	15
4.3.3 <i>Rhizoctonia</i>	15
4.4 Discussie	16
5 DE EFFECTIVITEIT VAN <i>TRICHODERMA</i> STAM Y BIJ EEN STANDAARD TOEPASSING EN NA BEËNTEN VAN GEPASTEURISEERDE GROND	17
5.1 Inleiding	17
5.2 Materiaal en methoden.....	17
5.2.1 Zaaigrond en <i>Trichoderma</i> stam y.....	17

5.2.2	Rhizoctonia toets	17
5.2.3	Pythium toets	17
5.2.4	Analyse van de gegevens	17
5.3	Resultaten.....	17
5.3.1	Populatie-dichtheid van Trichoderma	17
5.3.2	Pythium.....	18
5.3.3	Rhizoctonia	18
5.4	Discussie	18
6	ALGEMENE DISCUSSIE	19
7	LITERATUUR.....	21
	BIJLAGE 1 SAMENSTELLING VAN DE ZAAIGROND.....	23

Samenvatting

Doordat steeds minder chemische middelen beschikbaar zijn voor het bestrijden van ziekten en plagen in de land- en tuinbouw is er een sterke behoefte aan alternatieve gewasbeschermingsmiddelen of – methoden. Biologische middelen gebaseerd op micro-organismen (microbiële middelen) kunnen een alternatief bieden maar de effectiviteit van deze middelen is over het algemeen minder goed dan die van chemische middelen. Zo valt de werkzaamheid van biologische middelen tegen bodemziekten over het algemeen tegen. In dit onderzoek is daarom getoetst of een nieuwe methode de effectiviteit van microbiële middelen tegen wortelziekten in potgrond kan verhogen.

Zaaigrond werd beënt met een stam van *Gliocladium* sp. of *Trichoderma* sp. volgens een nieuwe door PPO ontwikkelde methode. Beide stammen worden in sommige landen op de markt gebracht als biologische bestrijders. De ziekteverendheid van beënte zaaigrond werd bepaald bij de volgende toetssystemen: *Chalara* in viool, *Rhizoctonia* in radijs en *Pythium* in komkommer. Er werd geen effect gevonden tegen *Chalara*, een klein effect tegen *Rhizoctonia* en een goed effect tegen *Pythium*. Het mengen van de *Trichoderma* stam volgens het advies van de leverancier had geen effect tegen *Pythium*. De nieuwe methode biedt perspectieven voor teelten in potgrond waarin *Pythium* een belangrijk wortelpathogeen is en waarin geen bestrijdingsmiddelen hoeven te worden gebruikt die *Trichoderma* of *Gliocladium* spp. remmen of doden. Omdat het chemische alternatief, het mengen van grond met het chemische middel Aliette, veel goedkoper is en omdat toepassing van dit middel geen hoge milieubelasting geeft, lijkt er vooralsnog geen grote markt voor de biologische methode.

Summary

Because less and less chemical pesticides are becoming available to control pests and diseases in agriculture due to regulations, alternative methods are needed. Biological pesticides based on micro-organisms may be an alternative but the efficacy of these pesticides is generally less good than that of chemical ones. For example, the efficacy of the biological pesticides against root diseases of pot plants is often disappointing. Therefore, a new method was tested to increase the efficacy of microbial agents in potting soil.

Potting soil was inoculated with a strain of a *Gliocladium* sp. or *Trichoderma* sp. according to a new method developed by Applied Plant Research. Both strains are being marketed as biological pesticides in some countries. The disease suppressiveness of inoculated soil was tested against *Chalara* in pansy, *Rhizoctonia* in cauliflower and *Pythium* in cucumber. No effect was found against *Chalara*. A small effect was found against *Rhizoctonia* and good effects against *Pythium*. No effect was observed when the *Trichoderma* strain had been mixed through the soil according to the advice of the supplier. The new method offers good perspectives for those container-grown crops in which *Pythium* is a major soilborne disease and in which no chemicals are being used that may harm the biological agents. Application of the chemical alternative Aliette is, however, much cheaper and has no high environmental impact. Therefore, the new biological method does not appear to have a big market for the time being.

1 Algemene inleiding

Uit literatuuronderzoek en onderzoek op PPO glastuinbouw blijkt dat de effectiviteit tegen bodemziekten van op microorganismen gebaseerde biologische middelen over het algemeen tegenvalt (Dik *et al*, 2001). Mogelijk kan de effectiviteit van deze middelen worden verbeterd door de methode waarmee de middelen aan de grond worden toegediend aan te passen. In dit onderzoek is gekeken of het mogelijk is om de ziekteverendheid van veensubstraten te verhogen middels een nieuwe door PPO ontwikkelde methode waarbij potgrond met biologische bestrijders wordt beënt. Getoetst is of met deze methode de ziekteverendheid van potgrond kan worden verhoogd tegen bodemziekten veroorzaakt door *Chalara elegans*, *Rhizoctonia solani* en *Pythium ultimum*.

In het onderzoek zijn twee biologische bestrijders gebruikt: een *Gliocladium* en een *Trichoderma* stam. Er is gekozen voor deze biologische bestrijders omdat verwacht wordt dat deze bestrijders binnen enkele jaren een toelating zullen hebben in Nederland. Omdat het hierbij gaat om middelen die (nog) geen toelating hebben in Nederland mogen de namen van de middelen niet worden genoemd in dit verslag.

2 Toetsontwikkeling petunia – *Pythium* en viool - *Pythium*

2.1 Inleiding

Kiemplanten kunnen door verschillende bodemschimmels worden aangetast waarvan *Pythium* spp. de meest voorkomende zijn. Voor het bepalen van de effectiviteit van biologische bestrijders tegen deze en andere ziekten zijn toetsystemen nodig. Voor Chalara – petunia/viool is een dergelijke toets al ontwikkeld in een eerder project maar voor *Pythium* nog niet (Van der Gaag *et al.*, 2003). Het doel van de in dit hoofdstuk beschreven proeven was het ontwikkelen van een *Pythium*-toets om de effectiviteit van biologische bestrijders te bepalen bij de opkweek van perkgoed.

2.2 Materiaal en methoden

2.2.1 *Pythium* isolaat en inoculumproductie

Een isolaat van *Pythium ultimum* (N2001/6) werd gebruikt. *Pythium ultimum* kan een groot aantal soorten kiemplanten aantasten. Inoculum werd geproduceerd door het isolaat op een aarde-meel culture te laten groeien gedurende 2 weken bij 24°C (*Pythium*-inoculum).

2.2.2 Besmetten, zaaien en waarnemen

Pythium-inoculum werd gemengd met zaaigrond (Bijlage I) in de volumeverhoudingen 0, 0,1, 1 en 5%. Per inoculumdichtheid werd één tray gezaaid met 25 petuniazaden (F1 Picotee Rose, E55.560PI). De zaaidatum was 4 september 2003. Na 5 weken werd het aantal zaailingen geteld en het gewicht van de plantjes bepaald. De wortels van 3 zaailingen per tray werden beoordeeld op aantasting door *Pythium* m.b.v. een microscoop (100 x vergroting). Hiervoor werden de kleinste plantjes uit de trays gehaald.

In een andere proef werd het *Pythium* isolaat getoetst op viool. Inoculum (0, 0,1 en 1 %) werd door de zaaigrond gemengd en per inoculumniveau werden 2 breektrays gezaaid, elk met 42 zaden. Negenentwintig dagen na zaaien werden de aantallen gezonde en omgevallen zaailingen bepaald.

2.3 Resultaten

In de proef met petunia werd 1 plantje waargenomen met een bruine lesie aan de voet. Op de lesie werden onder de microscoop bij 100x vergroting zoösporangia waargenomen. Uit de lesie werd *Pythium* geïsoleerd. Aan het eind van de proef werden bij het hoogste besmettingsniveau minder en kleinere plantjes waargenomen dan in de controle (Tabel 2.1). In de proef met viool was het gemiddelde aantal gezonde zaailingen in de trays met 0, 0,1 en 1% besmetting respectievelijk 41, 36 en 33.

Tabel 2.1. Effect van *Pythium ultimum* op het aantal en het gewicht van petuniazailingen 5 weken na zaaien

Besmettingsniveau (%)	Aantal zaailingen	Gemiddeld gewicht per zaailing (mg)
0.0	20	0.045
0.1	16	0.041
1.0	20	0.039
5.0	12	0.023

2.4 Discussie

Uitval door *Pythium ultimum* was gering zowel bij petunia als viool ondanks de hoge besmettingsniveaus. Petunia en viool zijn blijkbaar weinig vatbaar voor het gebruikte *Pythium*-isolaat. De toets is dan ook ongeschikt om biologische bestrijders tegen *Pythium* te toetsen. Er zal gezocht moeten worden naar *Pythium*-isolaten die meer pathogeen zijn op petunia of viool. Eventueel zou ook naar andere waardplanten kunnen worden gekeken als toetsplant voor *Pythium ultimum*.

3 Ziektewerendheid van beënte zaaigrond tegen *Rhizoctonia* en *Chalara*

3.1 Inleiding

In het in dit hoofdstuk beschreven onderzoek werd de ziektewerendheid van zaaigrond bepaald waaraan een stam van de schimmel *Gliocladium* sp. of *Trichoderma* sp. was toegevoegd. De ziektewerendheid van de beënte zaaigrond werd getoetst tegen *Rhizoctonia solani* in bloemkool en *Chalara elegans* in viool.

3.2 Materiaal en methoden

3.2.1 Zaaigrond en biologische bestrijders

Een zaaigrond werd verkregen van Tref EGO Substrates B.V. (Bijlage I). De zaaigrond werd beënt met een stam van *Trichoderma* sp. of *Gliocladium* sp. volgens een door PPO-glas ontwikkelde methode. Inoculum van deze schimmels werd gekweekt op PDA onder blauw licht. Er waren in totaal 3 behandelingen:

1. Zaaigrond niet beënt
2. Zaaigrond beënt met *Trichoderma* stam x
3. Zaaigrond beënt met *Gliocladium* stam y

Per behandeling waren 3 zakken met grond (herhalingen). Het aantal kolonievormende eenheden per ml zaaigrond werd bepaald bij aanvang van de biotoetsen.

3.2.2 *Rhizoctonia* toets

De ziektewerendheid van de beënte zaaigrond werd getoetst tegen *Rhizoctonia solani* in een toets met bloemkoolzaailingen. Hiervoor werden potjes (diameter 9 cm, inhoud 0.2 L) gevuld met de zaaigrond. In elk potje werden 9 bloemkoolzaden gezaaid (cv. Fremont, Royal Sluis). Zeven dagen na zaaien werd het aantal zaailingen bepaald en werd aan de voet van 1 zaailing aan de rand van de pot een agar-ponsje met *Rhizoctonia solani* isolaat 21R21 gelegd net onder het grondoppervlak. De potjes stonden in nasi-bakjes en kregen water in de bakjes. Acht en 11 dagen na besmetten werd het aantal niet-omgevallen zaailingen in de potjes genoteerd. Per herhaling waren er 4 potjes. De potjes werden geplaatst in een kas bij ca. 20°C.

3.2.3 *Chalara* toets

De ziektewerendheid van de beënte zaaigrond werd getoetst tegen *Chalara elegans* in een toets met viool. Hiervoor werd zaaigrond besmet met inoculum van *Chalara elegans* isolaat 3. Inoculum werd geproduceerd in aarde-meelcultures en 10 ml aarde-meelculture werd gemengd met 1 L zaaigrond. Zaaitrays (breektrays met elk 42 zaaigaten) werden gevuld met zaaigrond en viool (cv. Viola Omega F1 Purple & Yellow, Florensis) werd gezaaid. De trays werden geplaatst in een kas bij ca. 20°C. Zeven weken na zaaien werd het aantal zaailingen per tray bepaald en werd het versgewicht van de plantjes in de binnenste 20 zaaigaten bepaald. Hiertoe werden de plantjes direct onder de zaadlobben afgeknipt. Tevens werd van 10 plantjes per tray bepaald of ze waren aangetast door *Chalara* door schoon gespoelde worteltjes te bekijken op aantasting. Bij twijfel werden de wortels bekeken met behulp van een microscoop (100 x vergroting) en beoordeeld op de aanwezigheid van chlamydosporen van de schimmel.

3.2.4 Analyse van de gegevens

De gegevens werden genalyseerd met behulp van variantie-analyse en Fisher's Protected LSD ($P < 0.05$).

3.3 Resultaten

3.3.1 Populatie-dichtheid van de biologische bestrijders

Na 2 weken incubatie bevatte beënte grond per ml $4.0 (\pm 1.4) \times 10^6$ kve van *Gliocladium* of $1.3 (\pm 0.6) \times 10^7$ kolonievormende eenheden van *Trichoderma*. Tussen haakjes staat de standaardafwijking.

3.3.2 *Rhizoctonia*

Uitval van bloemkoolzaailingen was lager in potgrond beënt met *Gliocladium* stam x of *Trichoderma* stam y maar de verschillen waren niet significant (Tabel 3.1; F-toets, $P > 0.05$). De biologische bestrijders hadden geen effect op de lengte noch op het versgewicht van de plantjes 19 dagen na zaaien (Tabel 3.2).

Tabel 3.1. Effect van de biologische bestrijders *Gliocladium* stam x en *Trichoderma* stam y op uitval van bloemkoolzaailingen door *Rhizoctonia solani*. Potgrond was beënt met de biologische bestrijders volgens een nieuwe methode.

Behandeling	Uitval van zaailingen (%)	
	Dag 8	Dag 11
Controle	36.3 a	70.2 a
<i>Gliocladium</i> stam x	17.7 a	48.1 a
<i>Trichoderma</i> stam y	15.2 a	40.3 a

Tabel 3.2. Effect van de biologische bestrijders *Gliocladium* stam x en *Trichoderma* stam y op lengte en gewicht van bloemkoolzaailingen 19 dagen na zaaien.

Behandeling	Lengte (cm)	Gewicht (mg)
Controle	5.0	111.9
<i>Gliocladium</i> stam x	5.2	108.7
<i>Trichoderma</i> stam y	5.3	118.2

3.3.3 *Chalara*

De wortels van 50 tot 100% van de plantjes in de trays waren zichtbaar aangetast door *Chalara elegans*. Besmetting met *C. elegans* had een significant effect op het aantal zaailingen (F-toets, $P < 0.05$). Niet-besmette trays bevatten 7 weken na zaaien gemiddeld 40.2 zaailingen en besmette trays 38.0. Het gewicht van de plantjes in besmette trays was duidelijk lager dan in niet-besmette trays (F-toets, $P < 0.05$). De biologische bestrijders *Trichoderma* stam y en *Gliocladium* stam x hadden geen effect op het gewicht van de zaailingen noch in besmette noch in niet-besmette trays. In de niet-besmette trays was het gewicht van plantjes gezaaid in grond die van te voren was gepasteuriseerd significant hoger dan het gewicht van plantjes in niet gepasteuriseerde grond (Tabel 3.3).

Tabel 3.3. Effect van de biologische bestrijders *Gliocladium stam x* en *Trichoderma stam y* op aantasting en versgewicht van viool in trays die wel of niet besmet waren met *Chalara elegans*

Behandeling	Plantgewicht (mg)	
	Niet besmet	Besmet
Controle	79.5 a	57.5 a
<i>Gliocladium stam x</i>	82.5 ab	47.1 a
<i>Trichoderma stam y</i>	82.0 a	45.8 a

3.4 Discussie

Beide biologische bestrijders hadden geen effect tegen *Chalara elegans* in viool ondanks dat ze in hoge dichtheden aanwezig waren in de zaaigrond. Op basis van literatuurgegevens kunnen betere resultaten worden verwacht tegen *Rhizoctonia* of *Pythium*. In deze proef werd geen duidelijk (statistisch significant) effect gevonden tegen *Rhizoctonia* maar in eerder onderzoek werd wel een aantoonbaar effect gevonden. Het belangrijkste bodempathogeen van de perkplanten viool en petunia is echter *Chalara elegans*. Deze ziekteverwekker lijkt vooralsnog niet of in onvoldoende mate biologisch te kunnen worden bestreden. Combinatie van de hier onderzochte biologische bestrijders met chemische middelen zoals Carbendazim of Topsin M is geen optie omdat de bestrijders gevoelig zijn voor deze middelen. Dus voor de opweek van viool en petunia ter bestrijding van wortelziekten blijken bovengenoemde biologische bestrijders vooralsnog weinig perspectief te bieden.

4 Ziektewerendheid van beënte zaaigrond tegen *Rhizoctonia* en *Pythium*

4.1 Inleiding

In dit hoofdstuk worden proeven beschreven waarbij de ziektewerend van zaaigrond beënt met *Gliocladium* stam x of *Trichoderma* stam y werd getoetst tegen *Pythium ultimum* en *Rhizoctonia solani* AG2-1.

4.2 Materiaal en methoden

4.2.1 Zaaigrond en productie van antagonisten

Zaaigrond werd beënt met *Gliocladium* stam x of *Trichoderma* stam y. De samenstelling van de zaaigrond staat beschreven in Bijlage I.

4.2.2 *Rhizoctonia* toets

Dezelfde *Rhizoctonia*-toets werd gebruikt als beschreven in hoofdstuk 3. Tevens werd een tweede *Rhizoctonia*-toets gebruikt waarbij *Rhizoctonia*-inoculum werd geproduceerd in een mengsel van de zaaigrond en haverwortel. Het inoculum werd gemengd met zaaigrond (0.2 g inoculum per potje met een inhoud van 0.2 L). Het aantal gezonde zaailingen werd bepaald 7, 10 en 14 dagen na zaaien.

4.2.3 *Pythium* toets

Pythium-inoculum (*Pythium ultimum* isolaat N2001/5) werd geproduceerd in een mengsel van de zaaigrond en haverwortel. Het inoculum werd gemengd met zaaigrond (1.0 g inoculum per potje met een inhoud van 0.4 L). Per herhaling werden 2 potjes gezaaid met elk 7 komkommerzaden. De potjes werden geplaatst in een kas bij ca. 20°C en het aantal gezonde zaailingen werd bepaald 7, 10 en 14 dagen na zaaien.

4.2.4 Analyse van de gegevens

De gegevens werden genalyseerd met behulp van variantie-analyse en Fisher's Protected LSD ($P < 0.05$).

4.3 Resultaten

4.3.1 Populatiedichtheid van de biologische bestrijders

Na 2 weken incubatie bevatte beënte grond per ml $7.7 (\pm 1.4) \times 10^6$ kolonievormende eenheden van *Gliocladium* of $3.0 (\pm 0.6) \times 10^7$ kolonievormende eenheden van *Trichoderma*. Tussen haakjes staat de standaardafwijking.

4.3.2 *Pythium*

In grond beënt met een biologische bestrijder werd uitval van komkommer door *Pythium* duidelijk geremd in vergelijking met niet-beënte grond (Fisher's Protected LSD, $P < 0.05$; Tabel 4.1).

4.3.3 *Rhizoctonia*

In grond beënt met een biologische bestrijder werd uitval door *Rhizoctonia* duidelijk geremd in de proef waarbij inoculum van het pathogeen vlak voor zaaien door de grond was gemengd (Fisher's Protected LSD, $P < 0.05$; Tabel 4.1). Er was geen effect van het beënten van grond wanneer een ponsje met het pathogeen bij de voet van 1 zaailing was aangebracht 1 week na zaaien (Tabel 4.2).

Tabel 4.1. De effectiviteit *Gliocladium* stam x en *Trichoderma* stam y tegen *Pythium ultimum* in komkommer en *Rhizoctonia solani* AG2-1 in bloemkool. (gv = geen voeding; v = voeding). Inoculum van beide pathogenen werd vlak voor zaaien door de potgrond gemengd.

Behandeling grond	Aantal gezonde zaailingen							
	<i>Pythium</i> – komkommer				<i>Rhizoctonia</i> – bloemkool			
	Dag 7 ^x	Dag 10	Dag 14	Dag 21	Dag 7	Dag 10	Dag 14	Dag 21
controle	4.0 a	2.3 a	0.7 a	0.2 a	2.8 a	0.8 a	0.0 a	0.0 a
<i>Gliocladium</i>	5.5 a	5.2 ab	4.7 bc	4.3 bc	4.3 a	3.1 bc	1.7 bc	0.9 c
<i>Trichoderma</i>	7.0 a	7.0 b	7.0 c	6.5 c	5.4 a	4.2 c	2.3 c	0.5 bc

^x Waarden in elke kolom gevolgd door dezelfde letter zijn niet significant verschillend volgens Fisher's Protected LSD ($P > 0.05$)

Tabel 4.2. Het percentage omgevallen bloemkoolzaailingen in potgrondmengsels met verschillende voorbehandelingen. Eén week na zaaien werd 1 plantje aan de rand van een pot geïnoculeerd met *Rhizoctonia solani* AG2-1. Twintig dagen na zaaien werd het percentage omgevallen zaailingen bepaald.

Behandeling grond	Percentage omgevallen zaailingen ^x
controle	41.5 ab
<i>Gliocladium</i> stam x	52.2 ab
<i>Trichoderma</i> stam y	61.1 b

^x Waarden gevolgd door dezelfde letter zijn niet significant verschillend volgens Fisher's Protected LSD ($P > 0.05$)

4.4 Discussie

Het beënten van grond met *Gliocladium* stam x of *Trichoderma* stam y verhoogde de ziekteverendheid van de grond tegen *Pythium ultimum* en *Rhizoctonia solani* AG2-1. Er werd echter geen effect tegen *Rhizoctonia* gevonden wanneer een ponsje met de schimmel werd aangebracht bij de voet van 1 plantje. Bij deze wijze van besmetten hoeft de schimmel alleen over het oppervlakte van de grond te groeien naar de niet geïnoculeerde plantjes. Het oppervlakte van de grond is mogelijk niet sterk gekoloniseerd door de biologische bestrijder of andere antagonistische micro-organismen omdat het oppervlak tijdens de teelt sterk wisselt in vochtgehalte en vermoedelijk ook in temperatuur. In de proef beschreven in hoofdstuk 3 waarbij *Rhizoctonia* bij de voet van een plantje was aangebracht werd ook geen duidelijk effect van de biologische bestrijders gevonden. In eerder onderzoek (niet beschreven in dit verslag) waarbij *Rhizoctonia* vooraf door de grond werd gemengd werd wel een duidelijk effect gevonden tegen *Rhizoctonia*. Het succes tegen *Rhizoctonia* met de hier beschreven beëntingsmethode hangt dus af van de wijze waarop het inoculum wordt aangebracht. Voor de praktijk betekent dat, dat het beënten van grond met de biologische bestrijders effect kan hebben wanneer de grond tijdens bijvoorbeeld het zaaien of oppotten besmet raakt met het pathogeen maar niet wanneer na zaaien of oppotten het oppervlak van de grond besmet raakt.

Beënte grond was duidelijk ziekteverend tegen *Pythium ultimum* in komkommer. De methode biedt dus perspectief voor teelten waar *Pythium* sp. een belangrijk wortelpathogeen is, bijvoorbeeld bij de teelt van lelies. Indien echter het oppervlak van de grond besmet raakt met *Pythium* sp. zou de methode niet of minder goed kunnen werken gezien de bovenbeschreven ervaringen met *Rhizoctonia*. Een gedegen kennis van de epidemiologie van het pathogeen en mogelijke besmettingsbronnen is daarom noodzakelijk om in te kunnen schatten of beënten van de grond effect kan hebben.

5 De effectiviteit van *Trichoderma* stam y bij een standaard toepassing en na beënten van gepasteuriseerde grond

5.1 Inleiding

In dit hoofdstuk wordt een proef beschreven waarbij de effectiviteit van *Trichoderma* stam y werd getoetst tegen *Pythium ultimum* en *Rhizoctonia solani*. Afwijkend van de proeven beschreven in eerdere hoofdstukken werd een geformuleerd product van de *Trichoderma*-stam gebruikt. Het doel van het onderzoek was om de effectiviteit van het product te bepalen na toediening aan grond volgens de door de leverancier aanbevolen wijze en na toediening aan grond volgens de PPO-methode die ook is toegepast in het onderzoek beschreven in hoofdstukken 3 en 4.

5.2 Materiaal en methoden

5.2.1 Zaaigrond en *Trichoderma* stam y

Zaaigrond werd beënt met een geformuleerd product van *Trichoderma* stam y. Het product bevatte volgens de beschrijving 1.5×10^8 *Trichoderma* sporen per g. Zaaigrond werd beënt volgens de PPO-methode en volgens de methode aanbevolen door de leverancier (de standaard-methode). Bij de PPO-methode werd 0.75 g of 0.2 g van het product door 1 L grond gemengd. Bij de methode aanbevolen door de leverancier werd 0.75 g door 1 L grond gemengd.

5.2.2 *Rhizoctonia* toets

De *Rhizoctonia*-toets beschreven in hoofdstuk 4, waarbij *Rhizoctonia*-inoculum werd geproduceerd in een mengsel van de zaaigrond en haverwortel, werd gebruikt. Het inoculum werd gemengd met zaaigrond (0.2 g inoculum per potje met een inhoud van 0.2 L). Het aantal gezonde zaailingen werd bepaald 7, 10 en 14 dagen na zaaien.

5.2.3 *Pythium* toets

Pythium-inoculum (*Pythium ultimum* isolaat N2001/5) werd geproduceerd in een mengsel van de zaaigrond en haverwortel. Het inoculum werd gemengd met zaaigrond (1.0 g inoculum per potje met een inhoud van 0.4 L). Het aantal gezonde zaailingen werd bepaald 7, 10 en 14 dagen na zaaien.

5.2.4 Analyse van de gegevens

De gegevens werden genalyseerd met behulp van variantie-analyse en Fisher's Protected LSD ($P < 0.05$).

5.3 Resultaten

5.3.1 Populatiedichtheid van *Trichoderma*

In de behandelingen waarbij de grond niet beënt was met *Trichoderma* werden geen schimmels geïsoleerd waarvan de kolonies morfologisch identiek waren aan die van de gebruikte *Trichoderma*-stam. Grond die per L beënt was met 0.75 g van het *Trichoderma*-product volgens de standaard-methode bevatte $1.1 (\pm 0.9) \times 10^5$ kolonievormende eenheden (kve) van *Trichoderma*. Grond die per L beënt was met 0.75 g of 0.20 g volgens de PPO-methode bevatte respectievelijk $7.0 (\pm 0.6) \times 10^5$ en $6.3 (\pm 1.6) \times 10^5$ kve van *Trichoderma*.

5.3.2 Pythium

In grond die beënt was met het *Trichoderma* product volgens de PPO-methode werd uitval van komkommer door *Pythium ultimum* duidelijk geremd in vergelijking met de controle (Fisher's Protected LSD, $P < 0.05$; Tabel 5.1). Het mengen van het *Trichoderma* product door de grond zoals aanbevolen door de leverancier had geen effect (Tabel 5.1).

5.3.3 Rhizoctonia

Er waren geen significante verschillen in het aantal gezonde zaailingen tussen de behandelingen (F-toets, $P > 0.05$; Tabel 5.1).

Tabel 5.1. De effectiviteit van *Trichoderma* stam y tegen *Pythium ultimum* in komkommer en *Rhizoctonia solani* AG2-1 in bloemkool. (T0.75 = grond beënt met 0.75 g van het *Trichoderma*-product per L; T0.20 = grond beënt met 0.20 g per L). *Trichoderma* werd door de grond gemengd volgens het standaard advies van de leverancier (standaard) of volgens een nieuwe methode (PPO).

Behandeling grond	Aantal gezonde zaailingen							
	<i>Pythium</i> – komkommer				<i>Rhizoctonia</i> – bloemkool			
	Dag 7 ^x	Dag 10	Dag 14	Dag 21	Dag 7	Dag 10	Dag 14	Dag 21
controle	3.3 abc	2.3 ab	1.5 a	1.3 ab	3.3	1.0	0.5	0.1
T0.75 (standaard)	1.3 a	0.2 a	0.2 a	0.2 a	1.8	0.5	0.3	0.1
T0.75 (PPO)	6.0 d	5.0 bc	4.7 bc	3.8 bc	4.6	3.1	2.3	1.2
T0.20 (PPO)	5.2 bcd	3.2 abc	2.5 ab	2.3 ab	3.3	1.5	0.5	0.1

^x Waarden in elke kolom gevolgd door dezelfde letter zijn niet significant verschillend volgens Fisher's Protected LSD ($P > 0.05$)

5.4 Discussie

Mengen van *Trichoderma* stam x door de potgrond volgens het standaard advies had geen enkel effect tegen uitval van komkommer door *P. ultimum*. *Trichoderma* stam x had wel een effect wanneer het via de PPO-methode door de grond was gemengd. Waarschijnlijk kwam dit door de veel hogere dichtheid aan sporen van de *Trichoderma*-stam in de grond. Een standaardtoepassing van het *Trichoderma* product had geen aantoonbaar effect. Mogelijk dat een hogere dosering met de standaard-methode een beter effect zal geven, maar hierdoor zal de toepassing voor de praktijk te duur worden.

6 Algemene discussie

Potgrond beënt met *Gliocladium* stam x of *Trichoderma* stam y was ziekteverder tegen *Pythium ultimum* en *Rhizoctonia solani* dan niet-beënte grond. Het effect tegen *R. solani* was echter zwak en in sommige proeven werd geen duidelijk ziekteverder effect gevonden. In proeven waarin potten waren besmet door een agarponsje met *R. solani* bij de voet van één van de zaailingen aan te brengen werd helemaal geen duidelijk ziekteverder effect gevonden. Wanneer inoculum van *R. solani* door de grond werd gemengd werd in 2 van de 3 proeven een duidelijk ziekteverder effect gevonden (één van de 3 proeven werd uitgevoerd binnen een ander project en is niet in dit verslag beschreven). Wanneer *R. solani* aangebracht wordt bij de voet van een plant hoeft de schimmel alleen over het grondoppervlak (en niet door de grond) naar de andere plantjes te groeien. Indien het grondoppervlak door bijvoorbeeld uitdroging een lage dichtheid van de antagonist bevat zal het pathogeen weinig tegenwerking ondervinden. De wijze waarop grond of het teeltsysteem besmet raakt beïnvloedt dus de effectiviteit van de biologische bestrijder. Tegen *Chalara* in viool werd helemaal geen effect gevonden van de biologische bestrijders. In eerder onderzoek uitgevoerd in een ander project werd ook geen effect gevonden tegen *Phytophthora cinnamomi*, *P. nicotianae* en *Cylindrocladium spathiphylli*. Deze resultaten geven aan het werkingsspectrum van de biologische bestrijders beperkt is. *Trichoderma* and *Gliocladium* spp. zijn gevoelig voor de meeste fungiciden waardoor inzet van deze bestrijders geen zin zal hebben indien andere schimmelziekten dan waar tegen de bestrijders worden ingezet chemisch worden bestreden. Concluderend kan men zeggen dat het beënten van potgrond met één van de biologische bestrijders vooralsnog alleen zin heeft wanneer *Pythium* het belangrijkste wortelpathogeen is en wanneer er geen chemische middelen worden gebruikt die nadelig zijn voor de biologische bestrijder.

Het beënten van potgrond volgens de nieuwe methode is zinvol in die teelten waar *Pythium* een belangrijk probleem is. *Pythium* veroorzaakt weinig schade bij de teelt van potplanten, maar kan wel veel schade veroorzaken in de bollenbroei. In de bollenbroei wordt in Nederland per jaar ca. 200.000 kubieke meter veen afgezet. Aan ca. 80% van al dit veen wordt een fungicide, meestal Aliette, toegediend (pers. med. Hans Verhagen). Aliette kost slechts € 0.50 per kubieke meter en het beënten van het veen met een biologische bestrijder zal veel meer kosten. Vooralsnog lijkt er dus geen markt voor de “biologische” methode omdat het chemische alternatief veel goedkoper is en makkelijker is toe te passen. Bovendien geeft toepassing van het middel Aliette geen hoge milieubelasting volgens de milieumeetlat (<http://library.wur.nl/milieumeetlat/glas.html>).

7 Literatuur

Dik, A.J., Amsing, J.J., Bloemhard, C.M.G., Boertjes, B.C. & van der Gaag, D.J. 2001. Inventarisatie van natuurlijke gewasbeschermingsmiddelen voor de glastuinbouw. Rapport Project GENOEG.

Van der Gaag, D.J., Vellekoop, K. & Hamelink, R. 2003. *Chalara elegans* in viool en petunia: effect van carbendazim en pH. PPO-Rapport.

Bijlage 1 Samenstelling zaaigrond

70% Baltisch witveen (H3-4)

30% Iers witveen (H3-4)

15% waszand

1 kg Dega Based Fertilizer per 1000 L

6.0 kg dolokal per 1000 L

0.25 kg WMC granulaat per 1000 L