

Ontrafelen van het mechanisme achter biologische grondontsmetting

Samenvatting van een presentatie gehouden op de bijeenkomst van de KNPV-werkgroep Bodempathogenen en bodemmicrobiologie op 27 maart 2014 te Lelystad

Door nauwe vruchtwisseling en gebrek aan voldoende resistente rassen zijn problemen met bodemgebonden plantenpathogene schimmels en aaltjes nog altijd volop aanwezig. Chemische grondontsmetting is op lichte gronden redelijk effectief tegen bodemgebonden plantparasitaire aaltjes, maar weinig of niet tegen de meeste plantenpathogene bodemschimmels. Bovendien nemen restricties in het gebruik van chemische grondontsmetting steeds meer toe. Er is daarom een duidelijke wens om te komen tot andere manieren van aanpak van bodemgebonden plantenpathogenen. De niet-chemische mogelijkheden die de praktijk op dit moment tot zijn beschikking heeft zijn inundatie en biologische grondontsmetting.

Inundatie

Het onder water zetten van percelen is een beproefde methode in de bloembollenteelt om bodemziekten (zowel veroorzaakt door diverse aaltjes als door schimmels) te bestrijden. De effectiviteit hangt af van de temperatuur in combinatie met de blootstellingstijd. Daarom wordt geadviseerd inundatie in de zomer toe te passen. In de bollenteelt is het meest huidige advies tegen wortelknobbelaaltjes om 14 weken bij 20°C te inunderen. In de akkerbouw is gebleken dat deze methode cysteaaltjes goed kan doden. Inundatie werkt selectief tegen bepaalde aaltjes en schimmels, kan alleen worden toegepast op percelen volledig vlakliggende percelen met een hoge grondwaterstand, en is bovendien kostbaar in de uitvoering.

Traditionele biologische grondontsmetting met vers organisch materiaal

Bij traditionele biologische grondontsmetting, ontwikkeld door Wim Blok (Wageningen Universiteit) en Jan Lamers (PPO-AGV), wordt in de zomer of nazomer 40 ton vers gras per ha door de bouwvoor gemengd, waarna de grond wordt dichtgerold en geïrrigeerd. Na afdekking met gasdicht folie wordt het gras in de grond afgebroken onder zuurstofarme (<1%) omstandigheden. Verondersteld wordt dat tijdens dit proces toxische gassen en vetzuren ontstaan die er voor zorgen dat schadelijke bodemorganismen worden gedood. Vooralnog is de toepassing op dekzandgrond het meest betrouwbaar gebleken. In het onderzoek kon op mariene zavel alleen na het inwerken van een dubbele praktijkdosis gras en een blootstellingstermijn van 12 weken een goed resultaat tegen aardappelcysteaaltjes worden bereikt. In de praktijk is dit voor grondontsmetting geen reële optie. *Verticillium dahliae*, veroorzaker van verwelkingsziekte, werd in de praktijk op mariene zavelgrond eveneens onvoldoende gedood. Voordeel is dat de methode relatief eenvoudig uit te voeren is en zeker op dekzandgronden, waar inundatie niet haalbaar is vanwege de grote waterdoorlaatbaarheid in combinatie met de in het algemeen lage grondwaterstand. Voorwaarde voor een goed resultaat is dat de gemiddelde etmaaltemperatuur minimaal 16°C is, wat betekent dat de grondontsmetting moet worden uitgevoerd in de (na)zomer.

Bodemresetten

Onder de naam *Bodemresetten* heeft Thatchtec B.V. te Wageningen de bovenbeschreven methode van biologische grondontsmetting verbeterd, met name wat betreft de optimalisatie van het type van organische stof dat in de grond wordt gebracht. Hiertoe heeft het bedrijf diverse mengsels ontwikkeld onder de naam 'Herbie'. Daarnaast zijn o.a. het type folie, de toepassing ervan en de wijze van inbrengen van organische stof geoptimaliseerd. Sinds 2009 heeft PPO-AGV in diverse experimenten de effectiviteit van Bodemresetten bevestigd tegen juvenielen van het wortelknobbelaaltje *Pratylenchus penetrans*, eiproppen van het wortelknobbelaaltje *Meloidogyne hapla*, cysten van het aardappelcysteaaltje *Globodera pallida* en microsclerotiën van *Verticillium dahliae*. Alle toetsorganismen konden worden gedood in zowel dekzand als mariene zavel. De juvenielen van *P. penetrans* werden al gedood door de zuurstofarme omstandigheden terwijl de microsclerotiën van *V. dahliae* het moeilijkst te elimineren waren. De gasproductie bleek afhankelijk van het type en de dosering van het organische product, blootstellingstijd, grondsoort en temperatuur. Ook de eenmalig gemeten vetzuurproductie bleek afhankelijk van het toegepaste product.

In een gezamenlijk project van PPO-AGV, WUR-glas, SoilCares Research (oude naam BLGG Research) en Thatchtec B.V., gefinancierd door de provincie Gelderland met Europese Fonds voor Regionale Ontwikkeling (EFRO), is het Bodemresetten verder onderzocht. Doel was het dodingsmechanisme verder te ontrafelen, waardoor een verdere optimalisatie van Bodemresetten zou kunnen plaatsvinden. In een incubatie-experiment in emmers van 11 L zijn vijf Nederlandse grondsoorten en een kunstgrond onderzocht op het dodingseffect van 'Herbie 22' in een dosering van 4 g ruw eiwit/L grond tegen het aardappelcysteaaltje (*G. pallida*) bij 20°C.

Hoewel in alle grondsoorten bijna volledige doding optrad waren er interessante verschillen tussen de gronden: na 7 dagen hadden dekzand, mariene zavel en veengrond een significant ($P < 0.05$) grotere doding (83-99%) dan duinzand, rivierklei en kunstgrond (25-43%). Na 14 dagen was de doding minimaal 99,5% in alle grondsoorten, behalve in de kunstgrond waar pas na 28 dagen dit niveau bereikt was (Figuur 1). De methode is dus zeer robuust te noemen omdat bij een breed spectrum van grondsoorten praktisch volledige doding van *G. pallida* optrad. De variatie in dodingssnelheid tussen

grondsoorten roept de vraag op welke verschillen er bestaan tussen de beide groepen gronden. Deze twee groepen gronden bleken te verschillen in hoeveelheden organische stof, N-totaal, N-NH₄ en P-totaal en het aantal flagellaten en amoeben in de grond voorafgaand aan de 'Herbie'-toepassing waren hoger bij de gronden met snelle doding. Kortom: in 'rijkere' gronden trad makkelijker/snelere doding op dan in 'armere' gronden.

De zuurstofconcentraties in de afgesloten controle emmers (d.w.z. zonder 'Herbie') namen volgens verwachting af in de tijd door microbiële activiteit (Figuur 2). De mate waarin de O₂-concentraties afnamen was gerelateerd aan het organische-stofgehalte. Zo is in de kunstgrond, die geen organische stof bevat, geen afname van O₂ gemeten, maar in de veengrond met 11% organische stof was de O₂-concentratie 1,1% na 28 dagen. Na 'Herbie'-toepassing daalde de O₂-concentratie in alle gronden zeer snel tot <1,3% vanaf dag 3. Conform verwachting gedroegen de CO₂-concentraties zich omgekeerd aan de O₂-concentraties. Lachgas (N₂O), ammoniak (NH₃), zwavelwaterstof (H₂S) en methaan (CH₄) werden alleen gemeten in de behandeling met 'Herbie', maar de variaties waren groot en tijd- en grondsoortafhankelijk; een relatie met doding van *G. pallida* kon niet worden gelegd. Vetzuren werden niet of nauwelijks gemeten in de onbehandelde, afgesloten gronden. In de met 'Herbie' behandelde gronden nam de concentratie vetzuren toe in de tijd (Figuur 3). Na 28 dagen was de concentratie azijnzuur in de grond het hoogste (>60 mmol/L; Figuur 3), gevolgd door propionzuur (10-35 mmol/L) en boterzuur (20-50 mmol/L). De geproduceerde vetzuren bleken goed te correleren met de doding van *G. pallida*: 99,5% doding bij een vetzuurproductie van >100 mmol/L azijnzuur, >10 mmol/L propionzuur en >30 mmol/L boterzuur. Deze correlaties waren goed als de totale hoeveelheden vetzuur gebruikt werden, hoewel bekend is dat vetzuren alleen toxisch zijn in hun ongedissocieerde vorm. Deze ongedissocieerde vorm komt alleen voor bij lagere pH-waarden (beneden ongeveer pH 5,5), en dit stemt niet overeen met de pH-waarden die we gemeten hebben in de bulkgrond: deze varieerden tussen 4.9 en 7.6, en waren na behandeling gedaald met ongeveer 0,5-eenheid. Wellicht varieert de pH in de bodem op microniveau, waarbij de correlatie tussen effectiviteit van vetzuren en pH wel bestaat maar niet tot uiting komt in de bulk-pH.

Tussen 14 en 28 dagen bleek het aantal vrijlevende niet-parasitaire nematoden afgenomen met meer dan 50% in de met 'Herbie' behandelde gronden, terwijl de aantallen in de niet met 'Herbie' behandelde gronden gelijk bleven. Ten opzichte van het totaal aantal bacteriën steeg het aandeel *Firmicutes* in diverse met 'Herbie' behandelde gronden gedurende de eerste 14 dagen.

Uit de resultaten concluderen we dat doding van *G. pallida* met meer dan 99,5% goed kan worden voorspeld aan de hand van een O₂-concentratie <1,1% en het totaal aantal nematoden (incl. niet-plantenparasitaire) <150 per 100 gram grond. Deze zouden dus mogelijk als indicator kunnen dienen voor het succes van Bodemresetten. Het tijdstip van bemonstering is dan wel van belang, want aanvullende waarnemingen gaven aan dat het totaal aantal aaltjes snel weer toeneemt als de O₂-concentratie weer toeneemt.

Samenvattend:

- Het mechanisme van Bodemresetten duidt op toxische werking van vetzuren die tijdens de vergisting van 'Herbie' ontstaan. De waarnemingen zijn evenwel niet in overeenstemming met de gemeten waarden van de bulk-pH van de grond. Bij hogere pH waarden zouden de vetzuren niet effectief werken terwijl de bestrijdingsresultaten wel goed zijn.
- Het lijkt erop dat de gemeten gassen geen verklaring geven voor de doding van *G. pallida*.
- Het proces van Bodemresetten kan worden gemonitord door het volgen van de O₂-concentratie en het totale aantal nematoden.
- 'Rijke' gronden (hoge gehalten aan organische stof en totaal-N) hebben een grotere kans op succes en snelle afdoding dan 'arme' gronden. 'Arme' gronden hebben dus wellicht meer 'Herbie' nodig, en/of een langere incubatietijd, dan 'rijke' gronden.

Willemien T. Runia, Tim C. Thoden, Leendert P.G. Molendijk, Wim v.d. Berg, Wageningen UR, Applied Plant Research, P.O. Box 430, 8200 AK Lelystad

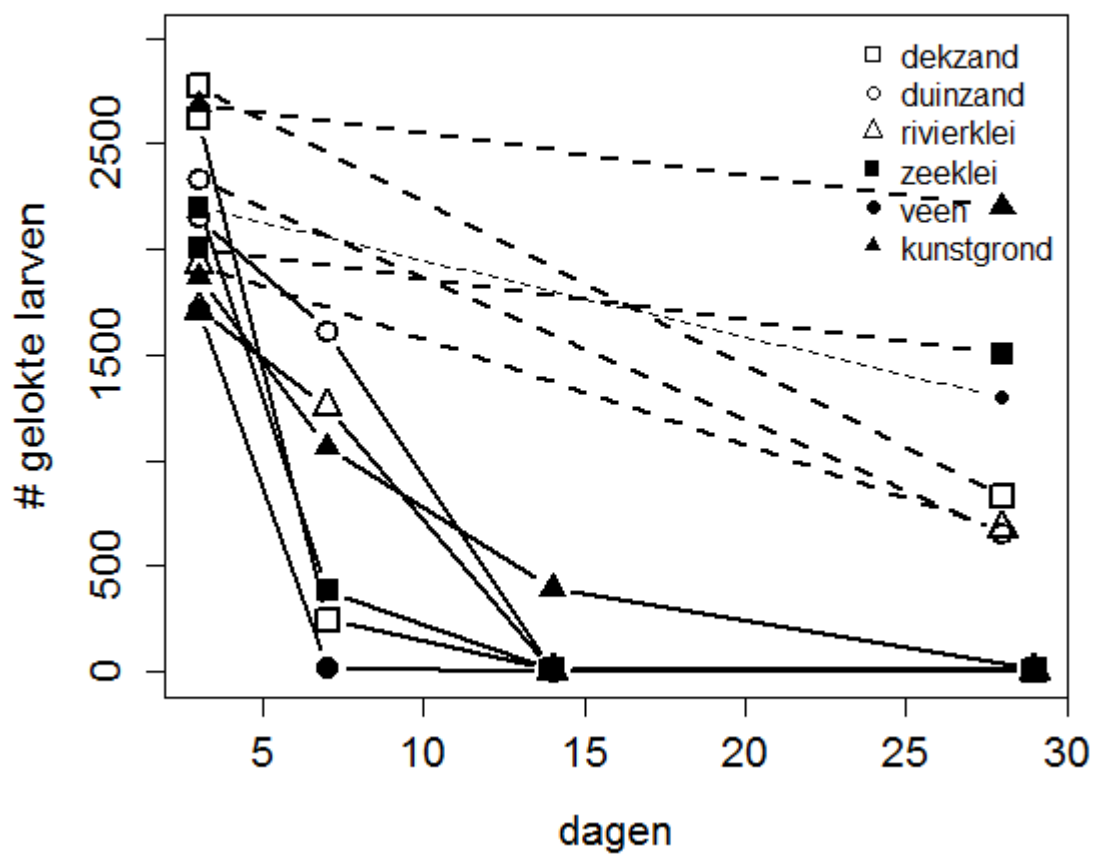
Aad J. Termorshuizen, SoilCares Research (voorheen BLGG Research), Binnenhaven 5, 6709 PD, Wageningen

Marta A. Streminska, Andre W.G. van der Wurff, Wageningen UR Greenhouse Horticulture, P.O. Box 20, 6708 PW Wageningen

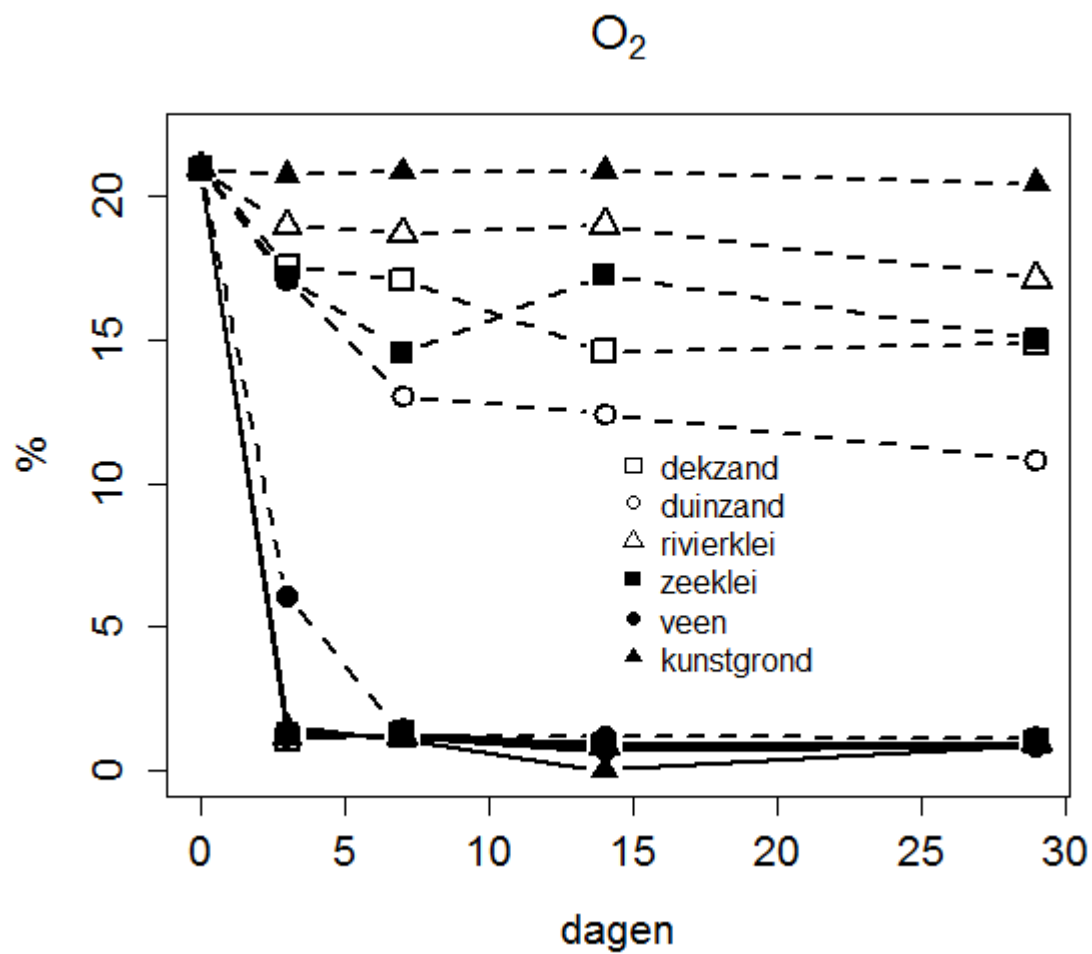
Herman Feil, Henk Meints, Thatchtec BV, Agro Business Park 10, 6708 PW Wageningen,



[ongenummerd figuur] Vele handen maken licht werk bij de inzet van het experiment.

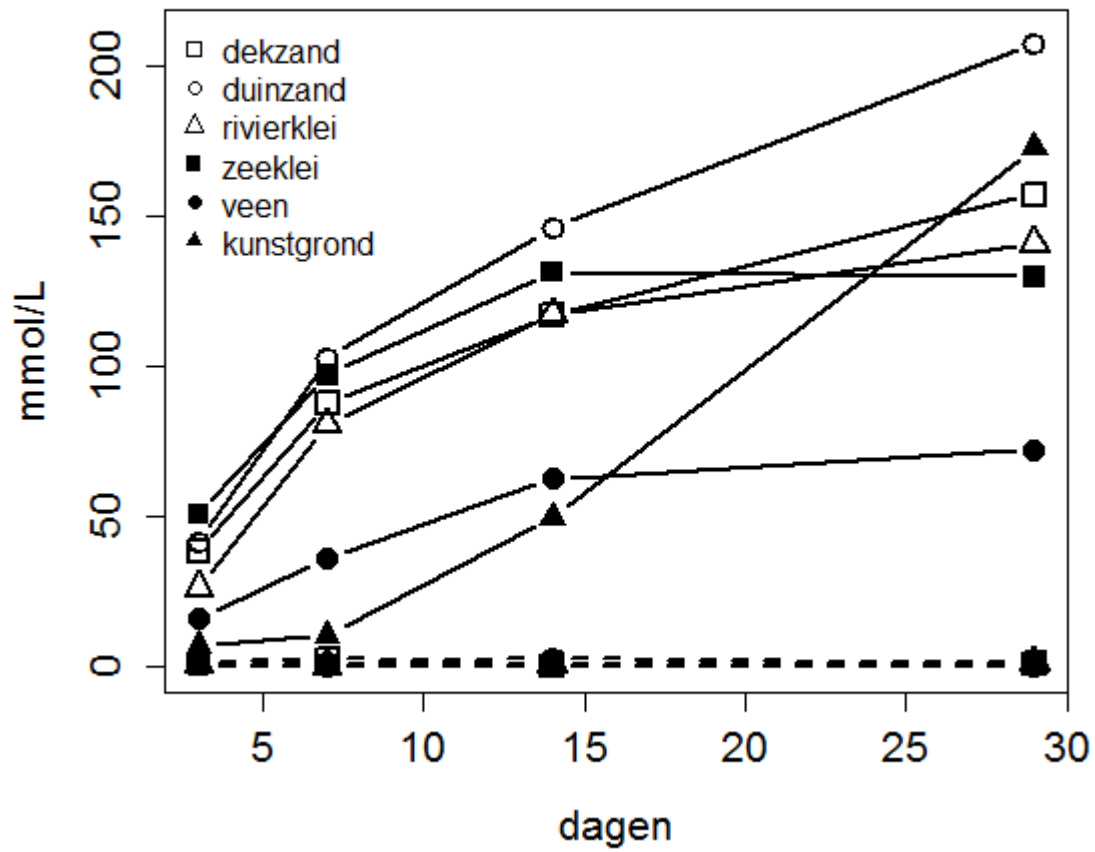


Figuur 1. Het aantal gelokte juvenielen van *Globodera pallida* als functie van tijd in 6 gronden geïncubeerd bij 20°C in gesloten 11-L emmers gevuld met 8 L grond met (ononderbroken lijnen) of zonder (onderbroken lijnen) toevoegingen van "Herbie".



Figuur 2. Concentratie van zuurstof als functie van tijd in emmers gevuld met 8 L grond en geïncubeerd bij 20°C in gesloten 11-L emmers aangevuld met (ononderbroken lijnen) of zonder (onderbroken lijnen) toevoegingen van "Herbie".

azijnzuur



Figuur 3. Concentratie van azijnzuur in grondextracten als functie van tijd van 6 gronden geïncubeerd bij 20°C in gesloten 11-L emmers gevuld met 8 L grond met (ononderbroken lijnen) of zonder (onderbroken lijnen) toevoegingen van "Herbie".