

# Verenigingsnieuws

## **Samenvattingen van de 74e bijeenkomst van de werkgroep Bodempathogenen en bodemmicrobiologie KNPV, bijeenkomst op 30 maart 2006 in Lelystad**

## **Immigreren In Internet – Het werven en opleiden van plantenziektkunde-studenten in Nederland**

Jan-Kees Goud

Stichting Willie Commelin Scholten voor de Fytopathologie (WCS), Sorbonnelaan 16, 3584 CA Utrecht en de Koninklijke Nederlandse Plantenziektkundige Vereniging (KNPV), Postbus 31, 6700AA Wageningen, e-mail Jan-Kees.Goud@wur.nl

Als gevolg van teruglopende studentenaantallen is het plantenziektkundig onderwijs aan Nederlandse universiteiten en HBO-instellingen de laatste tien jaar sterk ingekrompen. Grofweg kan gesteld worden dat meer dan zestig procent van het onderwijsaanbod op dit gebied is verdwenen. Op korte termijn dreigt deze onderwijskennis verloren te gaan en op de lange termijn leidt dit tot een tekort aan goed opgeleide plantenziektkundigen.

In een project dat gesponsord wordt door WCS en KNPV samen, wordt geprobeerd om deze ontwikkeling te stuiten. Omdat voor jongeren het internet de belangrijkste informatiebron is, wordt er een aantrekkelijk uitziende website ontwikkeld die tot doel heeft interesse op te wekken bij VWO-scholieren voor het vakgebied gewasbescherming ([www.plantenziektkunde.nl](http://www.plantenziektkunde.nl)). Op deze website komt veel goede informatie over plantenziekten, nieuws, de invloed van plantenziekten op de maatschappij, een plantenziekten top 10, links en informatie voor studiekeuzers. Onderwerpen voor profielwerkstukken kunnen gebruikt worden in het middelbaar onderwijs biologie. Deze website dient als basis voor het schrijven van korte (elektronische) publicaties. Een soortgelijke website (in het Engels) komt ook beschikbaar

voor studenten die zich oriënteren voor het doen van een afstudeervak of stage. Hier ligt de nadruk op samenvattingen van het wetenschappelijk gewasbeschermingsonderzoek in Nederland en de mogelijkheden om daaraan zelf mee te werken. Ook is er aandacht voor epidemiologische computersimulaties. Een extra aandachtspunt binnen het project is het vastleggen en beschikbaar maken van gewasbeschermingscursussen. Vooral cursussen die niet meer gegeven worden en waarvoor de beschikbare kennis en materialen nog aanwezig zijn, kunnen op die manier (inter-) nationaal beschikbaar gemaakt worden voor studenten, om te specialiseren of kennis bij te spijkeren en voor docenten om te gebruiken in bestaand onderwijs.

Onderzoekers en docenten kunnen aan het project bijdragen door het aanleveren van foto's, het samenvatten van eigen onderzoek in een mini-publicatie gericht op jongeren en/of studenten en het toevoegen van lesstof.

## **Schimmel-bacterie interacties: bacteriegemeenschappen geassocieerd met witrotschimmels**

L.B. Folman, P. Klein Gunnewiek, en  
W. de Boer

NIOO-CTE, Boterhoeksestraat 48, 6666ZG Heteren,  
The Netherlands

De afbraak van recalcitrant organisch materiaal zoals cellulose en lignine wordt gedomineerd door schimmels, die er -extracellulair- wateroplosbare koolhydraten en phenolische componenten uit vrijmaken. Mogelijkerwijs profiteren bacteriën die deze componenten als koolstofbron kunnen gebruiken van de activiteit van de schimmels. De bacteriën zouden op hun beurt de schimmels van beperkende nutriënten of groeifactoren kunnen voorzien, waardoor een mutualistische relatie ontstaat. In het hier gepresenteerde werk zijn effecten van de witrotschimmels *Hypholoma fasciculare* en *Resinicium bicolor* op bacteriën in bosgrond en hout onderzocht. Er is gekeken naar het effect van myceliumkoorden op bodembacteriën bij kolonisatie van (niet gesteriliseerde) bosgrond in pe-

trischalen gedurende twee weken, en het effect op bacteriën in hout na twintig tot dertig weken kolonisatie van (initieel steriele) houtblokjes door de schimmels. Ter controle werden op niet met schimmels geïnoculeerde bosgrond en houtblokjes bemonsterd. De volgende bepalingen werden gedaan: tellingen van de cultiveerbare bacteriën, PCR-DGGE analyse van partieel 16S rDNA, vergelijking van de soortensamenstelling van de cultiveerbare bacteriegemeenschappen. Voor deze laatste analyse zijn onder andere voor gekoloniseerd hout steekproefsgewijs dertig kolonies van drie replica's per behandelingsreingestreeken en gesequenced (partieel 16S rDNA).

Myceliumkoorden hadden een licht stimulerend effect op aantallen bacteriën in de onderliggende grond, mogelijk als gevolg van een verhoogde beschikbaarheid aan voedingsstoffen door exudatie of lek uit de koorden. DGGE analyse duidde op verrijking in onder andere alphaproteobacteriën gerelateerd aan *Beijerinckiaceae*, zoals bleek na sequenzen van DGGE-banden.

In beukenhoutblokjes, gekoloniseerd door de witrotschimmels, waren bacterieaantallen gemiddeld een factor 100 tot 1000 maal lager dan in controleblokjes, waarin vier  $10^7$  kolonievormende eenheden (kve) per g DW gedetecteerd werden. In sommige houtblokjes waren geen bacteriën detecteerbaar (detectiegrens  $10^2$  kve/g DW). Steekproefsgewijs gekozen kolonies uit controleblokjes waren *Burkholderiaceae* (69%) of *Xanthomonadaceae* (31%). De weinige bacteriën die in aanwezigheid van *R. bicolor* voorkwamen waren voornamelijk *Burkholderiaceae*. In hout gekoloniseerd door *H. fascicularis* maakten *Burkholderiaceae* en *Xanthomonadaceae* respectievelijk 36 en 23% van de gemeenschap uit, en werden verder *Acidobacteriaceae* en verschillende alphaproteobacteriën (onder andere gerelateerd aan *Beijerinckiaceae*) gedetecteerd. Ook DGGE analyses aan houtblokjes lieten effecten zien van de schimmels op de samenstelling van de bacteriële gemeenschappen.

De selectiedruk die de witrotschimmels op bacteriën uitoefenen zou een (neven)effect kunnen zijn van hun ligninolytische activiteit, waarbij verzuring van het milieu optreedt en onder andere radicalen en mogelijk toxische degradatieproducten gevormd worden. De voorkomende bacteriesoorten waren veelal acidofiel. De *Beijerinckiaceae* waren gerelateerd aan acidofiele, methylofiele, stikstof fixerende soorten, zoals

*Methylocapsa*. De normaliter moeilijk cultiveerbare *Acidobacteriën* werden geïsoleerd op voedingsarm, zuur medium. Verder onderzoek zal moeten uitwijzen of er een specifieke relatie tussen witrotschimmels en deze bacteriën bestaat, waarbij bijv. stikstofvoorziening of productie van groeifactoren door de bacteriën een rol speelt.

## Ontwikkeling en implementatie van een moleculaire detectietechniek voor stengelaaltjes (*Ditylenchus dipsaci*) en witrot (*Sclerotium cepivorum*) in grondmonsters

Renske Landeweert<sup>1</sup>, Hans Helder<sup>2</sup>,  
Sven Van den Elsen<sup>2</sup>, Roel Staps<sup>1</sup>,  
Nathalie Zwaardemaker<sup>1</sup>, Johan Vos<sup>1</sup> en  
Harm Keidel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Blgg Oosterbeek, Postbus 115, 6860 AC Oosterbeek

<sup>2</sup>Laboratorium voor Nematologie, Wageningen Universiteit, Postbus 8123, 6700 ES Wageningen

Duizenden grondmonsters afkomstig uit de Nederlandse akkerbouw worden jaarlijks door servicelaboratoria onderzocht op aanwezigheid van de nematode *Ditylenchus dipsaci* (het stengelaaltje, een quarantaine organisme) en de schimmel *Sclerotium cepivorum* (witrot). Het stengelaaltje is een plantparasitaire nematode die rot veroorzaakt in verschillende ui- en bologewassen, terwijl witrot een sclerotievormende schimmel is die rot veroorzaakt in ui-achtige gewassen.

In samenwerking met het Laboratorium voor Nematologie (WUR) heeft Blgg een moleculaire techniek ontwikkeld, gevalideerd en routinematig geïmplementeerd, waarmee zij *D. dipsaci* en *S. cepivorum* detecteert in grondmonsters afkomstig uit de uienteelt. Tijdens het ontwikkelen van beide testen is de specificiteit van de ontwikkelde primers uitgebreid getest tegen een brede achtergrond van nauw- en niet-verwante nematoden en bodemschimmels. Ter validatie van beide moleculaire testen werden 2500 (voor *D. dipsaci*) en 500 (voor *S. cepivorum*) grondmonsters parallel microscopisch en moleculair geanalyseerd. De grondmonsters werden tussen januari en maart (2005) verzameld. De voortrajecten van monstername en -behandeling bleven, ten opzichte van de klassieke detectie, onveranderd. Detectieondergrenzen van zowel de klassieke als moleculaire testen zijn één *D. dips-*

*aci* individu en één witrot sclerotium, tegen een achtergrond van bodemorganismen. Beide moleculaire testen zijn kwalitatief.

Voor *D. dipsaci* leverde klassieke- en moleculaire analyse van 2500 monsters in resp. 0,08% en 0,76% een positieve uitkomst op. Voor *S. cepivorum* leverde klassieke- en moleculaire analyse van vijfhonderd monsters in resp. 4,0% en 7,4% een positieve uitkomst op.

De moleculaire test toont in beide gevallen vaker een besmetting aan dan de klassieke, microscopische detectie. Voor *D. dipsaci* wordt dit waarschijnlijk veroorzaakt door het feit dat *D. dipsaci* in het vroege voorjaar voorkomt als adult met minder opvallende morfologische kenmerken, wat microscopische herkenning bemoeilijkt. Bij moleculaire detectie spelen morfologische kenmerken geen rol en is de aantoonbaarheid van *D. dipsaci* niet seizoensafhankelijk. De geringe grootte van witrot sclerotia maakt *S. cepivorum* per definitie lastig microscopisch detecteerbaar in grondmonsters. Het verleden laat dan ook zien dat op uienpercelen die na klassieke analyse 'witrotvrij' waren verklaard in de praktijk soms toch besmettingen voorkwamen. Voor moleculaire detectie van witrot is het zorgvuldig openbreken van de harde sclerotia cruciaal. Wanneer het witrot-DNA eenmaal is vrijgemaakt, blijkt de moleculaire techniek zeer gevoelig en voldoet een hoger aantal witrotbesmettingen in grondmonsters aan de verwachting.

De moleculaire testen vervangen bij Blgg reeds de traditionele microscopische detectie van *D. dipsaci* en *S. cepivorum*. In de (nabije) toekomst verwacht Blgg een groot deel van haar nematodenonderzoek moleculair uit te voeren. Behalve het feit dat moleculaire detectie niet morfologieafhankelijk is, maken de moleculaire testen het ook mogelijk om in één analyse een compleet nematodenmonster (> 50.000 nematoden) te onderzoeken. Dit in tegenstelling tot de huidige microscopische praktijk, waarin vaak slechts een klein deel van een nematodenmonster daadwerkelijk bekeken en geïdentificeerd wordt. De inzet van moleculaire technieken zorgt er zo waarschijnlijk voor dat er vaker plantparasitaire nematoden zullen worden aangetroffen in grondmonsters. De implementatie van moleculaire detectiemethodieken is daarom onlosmakelijk verbonden aan een hernieuwde discussie rond beleid en regelgeving, in het bijzonder rond de detectie van quarantaine organismen.

## Biologische producten verbeteren bolopbrengst lelie

Gera van Os en Jan van der Bent

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving - Bloembollen,  
Postbus 85, 2160 AB Lisse  
Email: geravanos@wur.nl

Opbrengstderving door *Rhizoctonia solani* anastomose groep 2-2IIIB is een groot probleem in de lelieschubbenteelt op humeuze dekzandgronden. De schimmel tast de ondergrondse stengel aan, waardoor bij warm weer het gewas bovengronds verwelkt en afsterft. Daarnaast worden ook de bollen aangetast en kan de besmetting meegaan met de bollen in de vorm van mycelium en sclerotia. Het middel Amistar is momenteel het enige effectieve, toegelaten middel voor de bestrijding van de ziekte in lelie. Bij frequente toepassing bestaat echter de kans op resistentieontwikkeling bij de schimmel. Daarom wordt er door PPO Bloembollen onderzoek gedaan naar alternatieve bestrijdingsmethoden (gefinancierd door het Productschap Tuinbouw en de het ministerie van LNV). In een veldproef met lelie zijn twee antagonisten getest tegen *Rhizoctonia*: *Verticillium biguttatum* en *Gliocladium catenulatum*. De schimmel *V. biguttatum* (geleverd door Plant Research International) parasiteert op *Rhizoctonia* en is eerder al zeer effectief gebleken. Verder is gekeken naar het effect van mycorrhiza-schimmels en van zaadmeel van *Brassica carinata*. Mycorrhizaschimmels leven in symbiose met de plantwortels en zorgen voor een verbeterde opname van voedingsstoffen vanuit de bodem. Het zaadmeel dient als voedingsbron voor het bodemleven, waarbij meststoffen vrijkomen voor het gewas. Het meel is rijk aan o.a. stikstof en bevat ook glucosinolaten. In de grond kunnen deze verbindingen worden omgezet in isothiocyanaaten, die in werking vergelijkbaar zijn met het grondontsmettingsmiddel metamnatrium. Dit wordt ook wel biofumigatie genoemd. Het zaadmeelproduct is op de markt als organische meststof.

In onbesmette grond resulteerde de toediening van mycorrhiza's en zaadmeel in een aanzienlijke toename van het N- en P-opname en circa zestig procent meer bolopbrengst dan de onbehandelde controle. Zelfs in besmette grond met *Rhizoctonia* gaf de mycorrhiza-behandeling circa dertig procent meer opbrengst dan de onbehandelde, onbesmette controle. In onbehandelde, besmette grond was er

sprake van vijftig procent opbrengstreductie als gevolg van Rhizoctonia-aantasting. De behandelingen met zaadmeel, *Verticillium* en *Gladiolium* resulteerden in besmette grond in een bolopbrengst die gelijk was aan de chemische behandeling met Amistar en aan de onbesmette controle. *Verticillium biguttatum* en Amistar verminderden daarnaast ook nog de mate van bolaantasting. De overige behandelingen hadden geen effect op de bolaantasting.

De toediening van zaadmeel heeft geleid tot een bemestings- en/of plantversterkend effect. Er zijn echter geen aanwijzingen dat er ook een biofumigatie-effect is opgetreden. In een geïntegreerd teeltsysteem zouden mycorrhiza-schimmels en zaadmeel een nevenwerking kunnen hebben op de weerbaarheid van een leliegewas tegen Rhizoctonia. Beide producten zijn commercieel verkrijgbaar, zij het niet als gewasbeschermingsmiddelen. De perspectieven voor toelating van de antagonisten zijn op dit moment onduidelijk.