

Samenvatting van de KNPV-werkgroep Bodempathogenen en Bodemmicrobiologie

Bijeenkomst 17 november 2011, Koppert Biologicals, Berkel en Rodenrijs

Antimicrobiële activiteit van *Collimonas*-bacteriën

Kathrin Fritsche,
Marties van den Berg &
Wietse de Boer

Afdeling Microbiële Ecologie,
Nederlands Instituut voor
Ecologie (NIOO-KNAW),
Wageningen

Collimonas spp. zijn bodembacteriën die behoren tot de familie Oxalobacteraceae, subklasse Betaproteobacteria (de Boer *et al.*, 2004). Tot nu toe zijn er drie soorten beschreven: *C. fungivorans*, *C. pratensis* en *C. arenae* (Höppener-Ogawa *et al.*, 2008). Een samenvatting van in de literatuur beschreven eigenschappen van *Collimonas* spp. is gepubliceerd door Leveau *et al.* (2010). *Collimonas*-bacteriën zijn in staat voeding te onttrekken aan levende schimmeldraden. Ze kunnen chitine afbreken en zijn betrokken bij het proces van 'mineral weathering'. Verder is er biologische activiteit aangetoond tegen *Fusarium* voet- en wortelrot bij tomaat. Er zijn verschillende *Collimonas*-isolaten beschreven die de groei van schimmels *in vitro* remmen. Daarom is *Collimonas* een interessant bacterieel genus om naar genen en verbindingen te zoeken die betrokken zijn bij de remming van schimmels. Door ons geïsoleerde *Collimonas*-stammen, behorend bij de drie beschreven soorten en afkomstig uit verschillende typen grond, werden geconfronteerd met verschillende schimmels en

oömyceten op agar-platen. Onder de geremde testorganismen waren voedselbedervende schimmels (zoals *Aspergillus* spp.) en ziekteverwekkers van voedingsgewassen (zoals *Verticillium dahliae* en *Phytophthora* spp.). De remming bleek afhankelijk van de samenstelling van de gebruikte media. Het spectrum van schimmels/oömyceten dat werd geremd was voor verschillende *Collimonas*-stammen anders. Dat wijst erop dat er verschillende antimicrobiële metabolieten door verschillende *Collimonas*-stammen geproduceerd worden. Een groep van *Collimonas fungivorans*-stammen, waaronder stam Ter331, veroorzaakte een sterke groeiremming van *Aspergillus niger*. De genomsequentie van Ter331 is bekend. Door selectie van mutanten van *C. fungivorans* Ter331 die *A. niger* niet meer konden remmen was het mogelijk om met behulp van de genomsequentie een cluster van genen te identificeren dat bij de productie van de schimmelremmende activiteit betrokken is. Bovendien kon de voor de remming verantwoordelijke stof uit culturen van *C. fungivorans* geëxtraheerd en met behulp van HPLC/PDA aangetoond worden. De voorlopige analyses om de structuur op te helderen wijzen op een niet eerder beschreven polyacetyleenverbinding.

Referenties

de Boer W, Leveau JHJ, Kowalchuk GA, Klein-Gunnewiek PJA, Abeln ECA, Figge MJ, Sjollema K, Janse JD & van Veen JA (2004) *Collimonas fungivorans* gen. nov., sp. nov., a chitinolytic soil bacterium with the ability to grow on living fungal hyphae. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 54:857-864

Höppener-Ogawa S, de Boer W, Leveau JHJ, van Veen JA, de Brandt

E, Vanlaere E, Sutton H, Dare DJ & Vandamme P (2008) *Collimonas arenae* sp. nov. and *Collimonas pratensis* sp. nov., isolated from (semi-) natural grassland soils. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 58: 414-419

Leveau JHJ, Uroz S & de Boer W (2010) The bacterial genus *Collimonas*: mycophagy, weathering and other adaptive solutions to life in oligotrophic soil environments. Environmental Microbiology 12: 281-292

Joeke Postma & Jürgen Köhl

Plant Research International, Wageningen UR

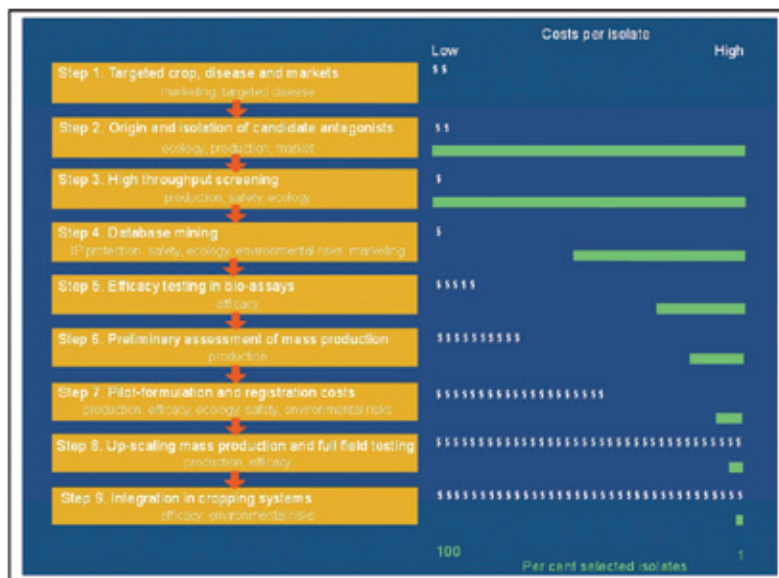
Stapsgewijze selectie voor de ontwikkeling van biologische bestrijders van plantenpathogenen

Onderzoek in de afgelopen decennia naar biologische bestrijders heeft veel informatie opgeleverd over de mogelijkheden om ziektes via natuurlijke mechanismen te beheersen. Er zijn vele nieuwe organismen beschreven die ziektes door middel van verschillende mechanismen kunnen tegengaan. Voor het selecteren van commercieel in te zetten biologische bestrijders zijn echter veel meer eigenschappen van belang dan alleen hun antagonistische vermogen. Andere belangrijke aspecten zijn bijvoorbeeld: omvang van de potentiële markt, voordeel boven bestaande producten, toxicologische risico's, mogelijkheid om de kweek op te schalen, productiekosten,

bewaarbaarheid, overleving en activiteit in het gewas, mogelijkheid om het product te beschermen, enz. Om de selectie te stroomlijnen en daarbij zoveel mogelijk met bovenstaande eisen rekening te houden, is een stappenplan gemaakt. Hierbij wordt gestart met de analyses van de potentiële markt. Vervolgens worden selectiestappen uitgevoerd met steeds geringere aantallen geselecteerde isolaten, waarbij de prijs per analyse per isolaat toeneemt. Uiteindelijk worden één of twee geformuleerde producten in het veld getest. Voor een dergelijke selectie zijn vele disciplines en expertises nodig, daarom is samenwerking tussen industriële partners en onderzoeksinstellingen een belangrijke voorwaarde voor succes.

Referentie

Köhl J, Postma J, Nicot P, Ruocco M. & Blum B (2011) Stepwise screening of microorganisms for commercial use in biological control of plant pathogenic fungi and bacteria. Biological Control 57:1-12.



Stapsgewijze screening van micro-organismen voor commercieel gebruik als biologische bestrijder van plantenpathogenen. Elke stap heeft zijn eigen selectiecriteria. Daarnaast zijn de geschatte kosten per isolaat (\$) en het percentage van de geteste isolaten gegeven (groene balk). (Köhl et al., 2011).



Figuur 1. Afrikaantjesperceel in Wapse (Drenthe)

Afrikaantjes voor biologische bestrijding en bio-energie

Weijnand Saathof

HLB Wijster

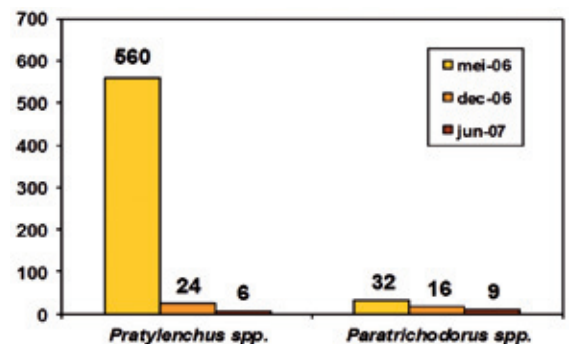
De Provincie Drenthe heeft de laatste jaren veel aandacht besteed aan het terugdringen van de milieubelasting in de bollenteelt. HLB heeft voor de Provincie onderzoek gedaan naar het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen en bollentelers geadviseerd over het middelengebruik. In drie jaar tijd werd een sterke daling in de milieubelasting gerealiseerd (>75%). Vooral door de keuze van middelen met minder milieubelasting en het wegvallen van middelen werd de doelstelling ruimschoots gehaald. Er bleef voor de Provincie nog wel iets over waar ze meer grip op zou willen hebben: de chemische grondontsmetting. In de statistieken lijkt het gebruik van de grondontsmetting alleen maar toe te nemen. Daar zijn verklaringen voor: toename van aaltjesproblemen, strengere wetgeving rond AM en de bestrijding van knolcyperus. Volgens onderzoek van HLB blijkt het gebruik van de grondontsmetting in Drenthe lager te liggen dan uit de statistieken valt af te lezen, maar de Provincie wil het gebruik toch nog verder terugdringen. Zij kwam daarvoor met een stimuleringsbeleid, waarbij telers gedurende twee jaar werden gesubsidieerd als ze Afrikaantjes gingen telen in plaats van de grond te ontsmetten. In die periode (2006-2007) stond er ongeveer honderd hectare Afrikaantjes in Drenthe.

Op 25 verschillende monsterlocaties werden voor en na de teelt aaltjesmonsters genomen om het effect van dit gewas in de praktijk aan te tonen. De

aaltjesresultaten op de Afrikaantjespercelen waren zeer positief (Figuur 2) en lieten de telers zien dat het echt werkt.

Toen de subsidiekraan van de Provincie dicht ging stopten de meeste bollentelers toch weer met de teelt van Afrikaantjes, vanwege de hoge teeltkosten en extra landhuur. HLB heeft daarom samen met Proeftuin Noordbroek het idee gelanceerd om het gewas te gelde te maken door het in de herfst af te maaien en er biogas van te winnen. Dit zou telers over de streep kunnen trekken om het gewas toch in te zetten. Het onderzoek naar deze vorm van energiewinning is in 2011 gestart en de eerste resultaten zijn positief.

Op een proefperceel in Drenthe werd meer dan 8 ton drogestof per hectare geoogst. Het ingezaaide *Tagetes*-ras was Nemamix, het



Figuur 2. Gemiddeld aantal *Pratylenchus spp.* en *Trichodoride*-aaltjes per 100 ml grond, voor (mei 2006) en na (december 2006 en juni 2007) de Afrikaantjesteelt.

type dat snel groeit en veel massa vormt. De resultaten van de gasproeven toonden aan dat de gasopbrengst van dit perceel op ongeveer 2700 m³ per hectare kan worden geschat. Gelet op de stijgende energieprijzen kan dit een belangrijke

compensatie betekenen voor deze biologische bestrijdingsmethode. De komende jaren zal uit onderzoek moeten blijken of de Afrikaantjesteelt nog meer drogestof op kan leveren en of de praktijk het nu wel ziet zitten met dit gewas.



Figuur 3. Eerste machinale oogst van Afrikaantjes op een perceel in Drenthe (november 2011).

De principes achter Kopperts NatuGro-systeem

Nico Stutterheim

Koppert Biologicals

In het algemeen wordt – terecht – gesteld dat biologische bodem- of substraatactiviteit voornamelijk bepaald wordt door de chemische en fysische grootheden die op een bodem inwerken. Binnen de omstandigheden waarin commerciële gewasgroei mogelijk is, is echter het effect van bodembioïologie op de chemische en fysische karakteristieken van het groeimedium ook in hoge mate relevant. Immers, fotosynthese, nitrificatie, denitrificatie, aerobe en anaerobe respiratie – welke processen allen in de bodem plaatsvinden – zijn microbiële processen waarbij gassen en/of vaste chemische moleculen omgezet worden tot andere chemische elementen met duidelijk andere eigenschappen dan het uitgangsmateriaal. Fysisch hebben de afscheidingsproducten van microben een grote invloed op zaken als aggregatie en structuuroopbouw met directe gevolgen voor drainage, beluchting en watervasthoudend vermogen. NatuGro is een concept waarin gepostuleerd wordt dat enerzijds 1. het microleven rond de wortels en in groeimedium een belangrijke indicator is voor de mate van stress die op het groeisysteem uitgeoefend wordt, aldus erkennend dat omgevingsfactoren wel degelijk de activiteit van de microbiologie bepalen. Anderzijds stelt de NatuGro-aanpak dat door optimalisatie van

KOPPERT
BIOLOGICAL SYSTEMS

de biologische activiteit in een groeimedium 2. het gebruik van nutriënten en water voor gewasproductie efficiënter wordt; 3. de ziektedruk – bovengronds en ondergronds – lager wordt en: 4. de groeiprestaties van het gewas toenemen. Het NatuGro concept bestaat uit een serie microbiële analyses (ProLytics, DNA-scan van pathogenen, Trianum count) en bodem- / substraatanalyses, het toepassen van sturende producten (microbials, bio-stimulators, meststoffen) en indien noodzakelijk het toedienen van biologische of natuurlijke correctieve middelen. Bij het interpreteren van de microbiologische metingen wordt o.a. uitgegaan van een systeembenadering van het bodemvoedselweb waarbij grote microbiële groepen gecorreleerd worden met hun dominerende functie (bijvoorbeeld actieve bacteriën met mineralisatie, actieve schimmels met ziekteverendheid, etc.). Via de ProLytics-analyse worden de diverse groepen via directe telling gekwantificeerd. Deze benadering levert weliswaar een grove houtskoolschets op van de oneindig complexe werkelijkheid van de bodembioïologie, maar het concept levert in de praktijk goede resultaten op waarbij een behoorlijke progressie wordt bereikt in het behalen van de bovenvermelde claims.