

## Ontrafelen van het mechanisme achter biologische grondontsmetting

Willemien Runia<sup>1</sup>,  
Tim Thoden<sup>1</sup>,  
Leendert Molendijk<sup>1</sup>,  
Wim van den Berg<sup>1</sup>,  
Aad Termorshuizen<sup>2</sup>,  
Marta Streminska<sup>3</sup>,  
André van der Wurff<sup>3</sup>,  
Herman Feil<sup>4</sup> &  
Henk Meints<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Wageningen UR,  
Praktijkonderzoek Plant en  
Omgeving, Postbus 430,  
8200 AK Lelystad

<sup>2</sup> SoilCares Research  
(voorheen BLGG Research),  
Binnenhaven 5,  
6709 PD Wageningen

<sup>3</sup> Wageningen UR  
Greenhouse Horticulture,  
Postbus 20,  
6708 PW Wageningen

<sup>4</sup> Thatchtec BV, Agro  
Business Park 10,  
6708 PW Wageningen

**Door nauwe vruchtwisseling en gebrek aan voldoende resistente rassen zijn problemen met bodemgebonden plant-pathogene schimmels en aaltjes nog altijd volop aanwezig. Chemische grondontsmetting is op lichte gronden redelijk effectief tegen bodemgebonden plant-parasitaire aaltjes, maar weinig of niet tegen de meeste plant-pathogene 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 plantpathogenen. 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 huidige advies tegen wortelknobbelaaltjes om 14 weken bij 20°C te inunderen. In de akkerbouw is gebleken dat deze methode cystenaaltjes goed kan doden. Inundatie werkt selectief tegen bepaalde aaltjes en schimmels, kan alleen worden toegepast op 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. Vooralsnog 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 aardappelcystenaaltjes 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, 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 organische stof dat in de grond wordt gebracht. Hiertoe heeft het bedrijf diverse mengsels ontwikkeld onder de naam 'Herbie'. Daarnaast zijn onder andere 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 wortellesie-aaltje *Pratylenchus penetrans*, eiproppen van het wortelknobbelaaltje *Meloidogyne hapla*, cysten van het aardappelcystenaaltje *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.

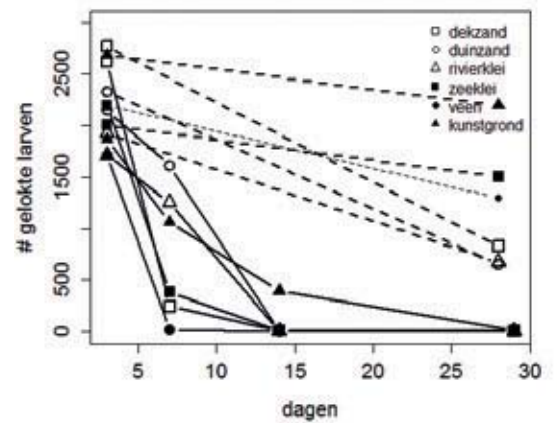
In een gezamenlijk project van PPO-AGV, WUR-glas, SoilCares Research (voorheen BLGG Research) en Thatchtec B.V., gefinancierd door de provincie Gelderland met het Europese Fonds voor Regionale Ontwikkeling (EFRO), is het Bodemresetten verder onderzocht. Doel was het dodingsmechanisme te ontrafelen, waardoor 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 aardappelcystenaaltje (*G. pallida*) bij 20°C.



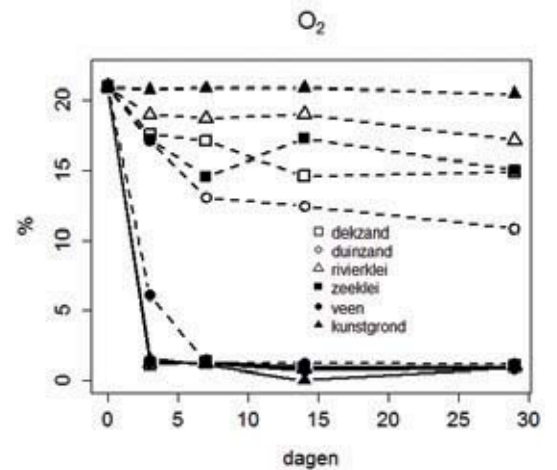
Figuur 1. Vele handen maken licht werk bij de inzet van het experiment.

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-NH<sub>4</sub> en P-totaal en het aantal flagellaten en amoeben in de grond voorafgaand aan de 'Herbie'-toepassing. Deze waren hoger bij de gronden met snelle doding. Kortom: in 'rijkere' gronden trad makkelijker/snelere doding op dan in 'armere' gronden.

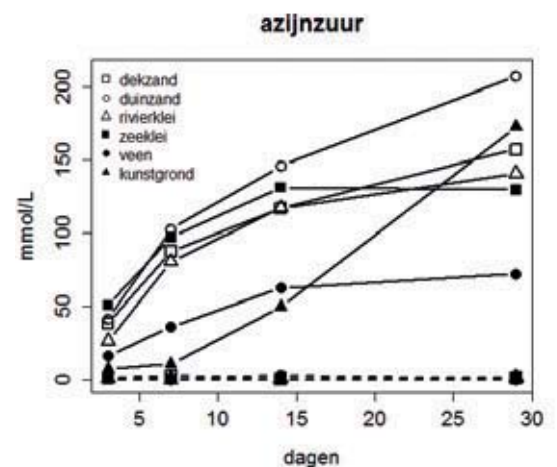
De zuurstofconcentraties in de afgesloten controle-emmers (d.w.z. zonder 'Herbie') namen volgens verwachting af in de tijd door microbiële activiteit (Figuur 3). De mate waarin de O<sub>2</sub>-concentraties afnamen was gerelateerd aan het organische-stofgehalte. Zo is in de kunstgrond, die geen organische stof bevat, geen afname van O<sub>2</sub> gemeten, maar in de veengrond met 11% organische stof was de O<sub>2</sub>-concentratie 1,1% na 28 dagen. Na 'Herbie'-toepassing daalde de O<sub>2</sub>-concentratie in alle gronden zeer snel tot <1,3% vanaf dag 3. Conform verwachting gedroegen de CO<sub>2</sub>-concentraties zich omgekeerd aan de O<sub>2</sub>-concentraties. Lachgas (N<sub>2</sub>O), ammoniak (NH<sub>3</sub>), zwavelwaterstof (H<sub>2</sub>S) en methaan (CH<sub>4</sub>) 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 4). Na 28 dagen was de concentratie azijnzuur in de grond het hoogste (>60 mmol/L; Figuur 4), 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 boter-



Figuur 2. 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 3. 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".



Figuur 4. 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".

zuur. 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  $O_2$ -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  $O_2$ -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.
- 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  $O_2$ -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.



5<sup>th</sup> conference  
of the International Working Group  
on Legume and Vegetable Viruses

30 August - 3 September 2015, Haarlem, The Netherlands