

Werkgroep Bodempathogenen en bodemmicrobiologie

De 79e bijeenkomst van de KNPV-werkgroep Bodempathogenen en bodemmicrobiologie op 23 oktober 2008 was gewijd aan het thema 'Biotests voor de bepaling van ziekteonderdrukking in grond'. Na negen geanimeerde voordrachten volgde een plenaire discussie. Hieronder volgen de samenvattingen.

Biotests die ziekteonderdrukking kwantificeren: algemene inleiding

Aad Termorshuizen

Blgg, Nieuwe Kanaal 7F, 6709 PA Wageningen; e-mail: aad.termorshuizen@blgg.nl

Biotests zijn er in soorten en maten. Een voorbeeld van een biotest is de vergelijking van ontwikkeling van een ziekte op verschillende gronden waaraan een pathogeen is toegevoegd. In deze inleidende lezing worden de karakteristieken van biotests omschreven aan de hand van problemen die hiermee geassocieerd kunnen zijn.

Bij een biotest die ziekteonderdrukking kwantificeert, moet ziekte gemeten worden; zo'n biotest moet dus worden uitgevoerd met een waardplant. Biotests zonder een waardplant richten zich veelal op effecten van bepaalde behandelingen op bepaalde ontwikkelingsstadia van het pathogeen. Biotests dienen een relatie te hebben met de werkelijkheid; met andere

woorden, uitkomsten van biotests zouden voor de praktijk een bepaalde voorspellende kracht moeten hebben. Of dit ook zo is wordt maar zelden getoetst. Een aantal factoren beïnvloedt het resultaat van biotests in hoge mate:

Relatieve term

Ziekte- of pathogeenonderdrukking wordt bij veruit de meeste biotests niet in absolute, maar in relatieve termen uitgedrukt ten opzichte van een controle waarin ziekte en/of pathogeen goed tot expressie komt. Interpretatie van zulke relatieve termen naar de praktijk is moeilijk. Een te hoge ziektedruk in de controle kan leiden tot 'vals-negatieven' (d.w.z. dat de conclusie ten onrechte is dat er geen ziekteonderdrukking optreedt) bij de behandelingen waarbij ziekteonderdrukking verwacht wordt. Immers, ontwikkeling van bodemgebonden ziekten is altijd afhankelijk van de ziektedruk (inoculumdichtheid). Anders gezegd, ook op een ziekte-onderdrukkende grond kan een ziekte tot expressie komen. De voor het pathogeen minder gunstige omstandigheden, zoals een ziekte-onderdrukkende grond, kunnen gecompenseerd worden door een hoge inoculumdichtheid. Een vuistregel is het aanhouden van een inoculumdichtheid waarbij in de controle ca. 70% ziekte optreedt. Hoewel dit ten opzichte van de praktijk nog altijd een bijzonder hoge inoculumdichtheid is, laat een geringere ziektedruk te weinig ruimte om het 'signaal' van ziekteonderdrukking op te vangen te midden van de ruis van de variatie tussen herhalingen, die gewoonlijk groot is.

Beslissingen

Om een biotest uit te voeren is een reeks aan belangrijke beslissingen nodig:

- **grond: keuze, wijze van bemonsteren, bemesting en bevochtiging**
 - Als natuurlijke gronden getest worden is de kans groot dat deze al bepaalde pathogenen bevatten. Dit speelt met name een rol als verschillende gronden met elkaar vergeleken worden: deze gronden zullen immers verschillende aantallen en soorten pathogenen bevatten. Bij vergelijking van verschillende gronden kan de bemestingsstatus ook een effect hebben op ziekteonderdrukking.
 - Bemonstering impliceert veelal een ernstige verstoring van de structuur van de grond.
- **waardplant: soort en cultivar**
 - In veel biotests wordt een waardplant gekozen die uiterst vatbaar is en duidelijke symptomen te zien geeft. Het is maar de vraag in hoeverre de resultaten met zo'n waardplant geëxtrapoleerd kunnen worden naar andere soorten waardplanten.

WERKGROEPEN

Hetzelfde geldt voor de keuze van cultivar. Veelal worden extreem vatbare cultivars gekozen, die in de praktijk allang niet meer gebruikt worden.

- **pathogeen: isolaat, wijze van inoculumproductie, inoculumdichtheid, wijze van toedienen van inoculum**
 - Veel onderzoekers voeren hun biotoetsen altijd met hetzelfde isolaat uit. Dat is natuurlijk goed om de resultaten van diverse experimenten aan elkaar te kunnen koppelen, maar of de resultaten ook geldige uitspraken geeft over het pathogeen in kwestie valt nog maar te bezien. Eigenlijk zouden dan meerdere isolaten van het pathogeen onderzocht moeten worden.
 - De inoculumproductie kan de processen van ziekte- of pathogeenonderdrukking beïnvloeden als aan het inoculum voedingsstoffen zijn toegevoegd. Naast effecten van deze voedingsstoffen op het bodemleven kan op kunstmatig medium geproduceerd inoculum andere ecologische eigenschappen hebben (bv. persistentie van sclerotia) dan inoculum dat uit het veld verzameld is.
 - Het inoculum van bodempathogenen wordt meestal gemengd met de grond, met grote gevolgen voor de structuur van de grond, terwijl de structuur van de grond in allerlei studies juist als een voor bodem-‘gezondheid’ essentiële factor gezien wordt. Bovendien verhoogt mengen op korte termijn de mineralisatie van stikstof drastisch, wat effecten op de plant-pathogeenrelatie kan hebben.
- **milieucondities: klimaat (licht, temperatuur, luchtvochtigheid), potgrootte, potkleur (effect op bodemtemperatuur)**
- **aantal herhalingen, experimenteel design en statistische analyse**
 - Als de onderzoeksvraag is of een grond ziekte-onderdrukkende eigenschappen heeft, dan volstaat één grondmonster per veld eigenlijk niet. Een optie is om voor iedere herhaling een apart grondmonster uit het te onderzoeken perceel te steken.

Biotoetsen als een van de mogelijkheden om bodemgezondheid te meten en te begrijpen

Gerard Korthals en Johnny Visser

PPO AGV

In het onderzoek komt steeds meer aandacht voor aspecten die te maken hebben met algehele bodemgezondheid. Er zijn verschillende grote projecten, zoals de Bodemgezondheidsproef te Vredepeel, waarbij geprobeerd wordt om de Bodemgezondheid te verbeteren. Dit gebeurt bijvoorbeeld door het aanbrengen van compost, het telen van verschillende groenbemesters, of biologische grondontsmetting. Voor zowel de praktijk (agrariërs) als de onderzoekers is het van belang dat de (kosten)effectiviteit van dergelijke maatregelen goed wordt onderzocht. Omdat dit type onderzoek nog relatief nieuw is worden er op dit moment veel meetmethoden in dergelijke veldexperimenten ingezet om op hun waarde te beoordelen, cq. verder te ontwikkelen. Een van de technieken die op dit moment uitgetest worden zijn biotoetsen.

Binnen WUR zijn inmiddels verschillende biotoetsen ontwikkeld. In ons veldonderzoek zijn verschillende biotoetsen gebruikt om in het veld extra waarnemingen te kunnen doen aan de

effectiviteit van verschillende maatregelen. Hier valt bijvoorbeeld te denken aan het ingraven van gaaszakjes gevuld met cysten van het aardappelcystenaaltje of met bijvoorbeeld wortelonkruiden. Het voordeel van deze aanpak is dat je op een proefveld, waar bijvoorbeeld geen (of onvoldoende) aardappelcystenaaltjes of wortelonkruiden aanwezig zijn, toch extra waarnemingen kunt doen.

Een andere, meer bekendere, vorm van biotoetsen is grond van de onderzoekslocatie in het laboratorium of de kas te onderzoeken. De grond wordt meestal gemengd, waarna er toetsgewassen (bijvoorbeeld bieten, sla, lelies etc.) op geteeld worden. De proefopzet kan uitgebreid worden met verschillende behandelingen, zoals het wel of niet toevoegen van bodempathogenen, zoals *Rhizoctonia* sp. of wortelknobbelaaltjes, of grondbehandelingen (stomen, bestralen, verhitten, etc.). Afhankelijk van de exacte proefopzet, wordt de groei of aantasting van de plantjes gebruikt als maat voor bodemgezondheid of aspecten die te maken hebben met bodemweerbaarheid. Het grootste voordeel van deze biotoetsen is dat het onder geconditioneerde omstandigheden kan plaatsvinden, en mogelijk eerder resultaten oplevert dan in het veld. Als laatste mogelijkheid kun je biotoetsen uitvoeren onder semi-veldomstandigheden. Binnen dit project is dat o.a. uitgevoerd voor lelie. Van alle plotjes uit de grote veldproef is onge-

veer 75 liter grond verzameld en in grote plastic cementkuipen gebracht. Deze kuipen zijn naast de veldproef ingegraven en hier zijn in 2007 lelies op geteeld. Het grote voordeel van deze techniek is dat deze biotoets onder min of meer dezelfde veldomstandigheden plaats kan vinden, en mogelijk beter valt te extrapoleren naar de werkelijke proefveldomstandigheden. Om dit te onderzoeken zijn in 2008 ook lelies volvelds geteeld en onderzocht. Op dit moment worden de lelies geoogst en moeten de belangrijkste beoordelingen nog plaatsvinden, zodat er volgend jaar meer duidelijkheid komt over de waarde van biotoetsen met betrekking tot het meten en begrijpen van bodemgezondheid.

Het belang en de praktische toepasbaarheid van antagonistische in de zaadindustrie

Eelco Gilijamse

Rijk Zwaan

Een commercieel zaad- en veredelingsbedrijf als Rijk Zwaan heeft als hoofddoel het ontwikkelen van nieuwe groenterassen. De wensen van plantenkwekers, tuinders en consumenten staan daarbij voorop. Door de sterke reductie van pesticiden wordt er steeds meer nadruk gelegd op het ontwikkelen van resistente rassen en de productie van schoon zaad. Het gebruik van antagonistische wordt interessant voor de zaadindustrie wanneer zaadbehandelingen met biologische middelen technisch mogelijk zijn, de overleving op zaad lang is, het een commerciële waarde heeft en wettelijke registratie geregeld is. Rijk Zwaan heeft deelgenomen aan diverse projecten in samenwerking met o.a. WUR en Koppert B.V. Micro-organismen zoals *Pseudomonas fluorescens*, *Lysobacter enzymogenes* en *Trichoderma harzianum* zijn getoetst op hun antagonistische effecten in standaard resistentietoetsen op vatbare controlerassen. Onder dergelijke toetsomstandigheden is het effect van antagonistische zeer beperkt. Zelfs bij lage inoculumconcentraties blijkt biologische bestrijding met antagonistische gering. Daarom zal bij toekomstige proeven een meer geïntegreerde aanpak worden gevolgd door het gebruik van rassen met een intermediaire resistentie en lagere inoculumdoseringen. Echter, het toetsen en ontwikkelen van antagonistische is voorlopig van beperkt belang voor de zaadindustrie en daarom zijn we afhankelijk van het onderzoek dat plaatsvindt op universiteiten en onderzoeksinstituten.

Extrapolatie van resultaten uit biotoetsen

Gera van Os en Jan van der Bent

PPO-Bollen, Bomen & Fruit; e-mail: gera.vanos@wur.nl

Biotoetsen zijn er in vele soorten en maten. In het plantenziektkundig onderzoek worden biotoetsen o.a. gebruikt om het ziekte-onderdrukkend vermogen van de grond te meten. Het is wenselijk dat een biotoets snel is, met een goed onderscheidend vermogen en herhaalbare resultaten. Om hieraan tegemoet te komen worden biotoetsen veelal uitgevoerd onder geconditioneerde omstandigheden die sterk afwijken van de praktijk. De vraag is of de resultaten uit deze biotoetsen representatief zijn voor wat er onder praktijkomstandigheden plaatsvindt.

Bij PPO bloembollen zijn biotoetsen gebruikt om ziektevering vast te stellen in grond met drie organische-stofniveaus. Deze zijn aangelegd in een veldexperiment, uitgevoerd in het project TopSoil+ waarin onder andere gekeken wordt naar de effecten van organische stof op de bodemkwaliteit van duinzandgrond. In 2005 zijn proefvelden aangelegd met drie organische-stofniveaus: 0,7% (oorspronkelijk gehalte), 1,4% en 4,0%. Jaarlijks worden grondmonsters uit deze drie organische-stofniveaus getoetst op ziektevering tegen vier relevante ziekteverwekkers in aparte biotoetsen: *Meloidogyne hapla* in sla, *Pratylenchus penetrans* in narcis, *Pythium intermedium* in hyacint en *Rhizoctonia solani* in tulp. Elk grondmonster wordt verdeeld over de vier biotoetsen. De validatie van de resultaten met de praktijksituatiesituatie verschilt per biotoets.

De biotoets met *Meloidogyne hapla* in sla wordt uitgevoerd in potjes (1 l) in de kas (20°C). Het inoculum is een aaltjessuspensie, die wordt aangegoten op de grond. Het aantal wortelknobbels per plant wordt beschouwd als maat voor de ziektevering: hoe minder wortelknobbels des te beter de ziektevering. Vanwege de geconditioneerde omstandigheden, het toetsgewas (sla) en het kunstmatige inoculum, ligt het niet zondermeer voor de hand dat deze resultaten geëxtrapoleerd kunnen worden naar een veldsituatie met sierteeltgewassen. Na het eerste proefjaar is echter (per ongeluk) een partij *Aconitum* met een lichte *M. hapla*-besmetting geplant in de proefvelden van TopSoil+. Aan het einde van het teeltseizoen bleken de gerooide planten in verschillende mate aangetast en de waarnemingen kwamen uitstekend overeen met de resultaten van de biotoets. De biotoets is daarmee tot op zekere hoogte gevalideerd.

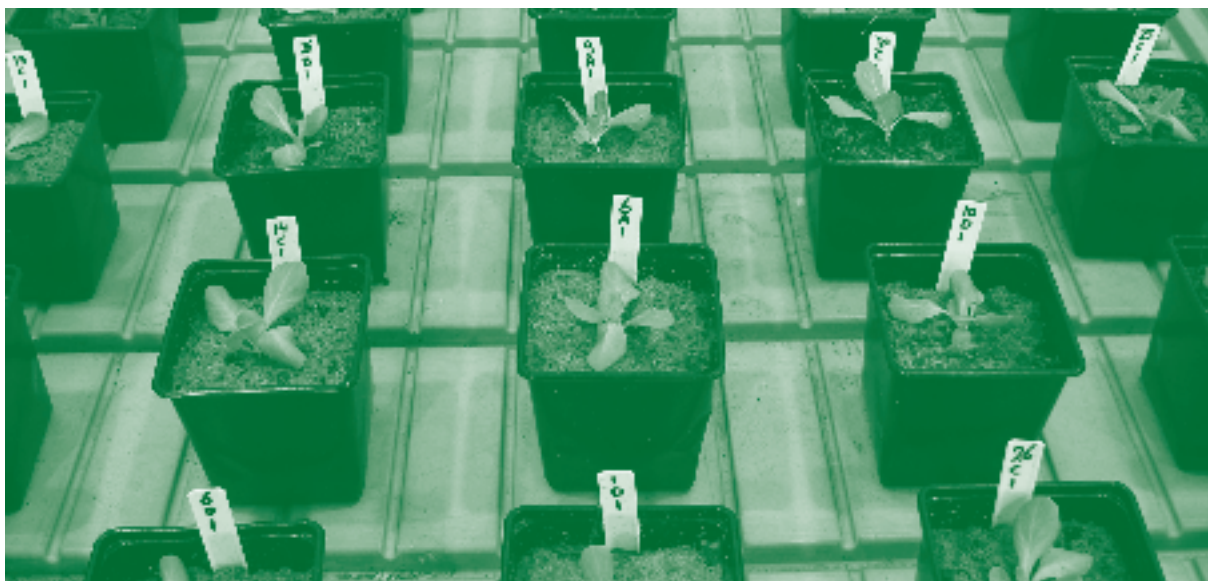
WERKGROEPEN



*Biofotoets met *Pratylenchus penetrans* in narcis*

De biofotoets met *Pratylenchus penetrans* in narcis wordt uitgevoerd in smalle buizen (doorsnede 10 cm, diepte 60 cm) gevuld met grond, die in de buurt van het proefveld worden ingegraven. Het inoculum is een aaltjessuspensie, die wordt aangegoten op de grond. Vóór het einde van het teeltseizoen worden de narcissen geroid en de wortels schoongespoeld om de mate van wortelrot te beoordelen: hoe meer wortelrot, hoe minder ziektevering. Het vertalen van de resultaten van de biofotoets naar effecten onder praktijkomstandigheden is hier in principe relatief betrouwbaar omdat het toetsgewas relevant is voor de sierteelt

en de biofotoets wordt uitgevoerd onder veldomstandigheden. Een complicerende factor is echter dat de grond van nature besmet is met *Pythium* en *Fusarium*, die beide ook wortelrotsymptomen veroorzaken. Dit verstoort de beoordeling van de aantasting door *Pratylenchus*. Om dit te ondervangen is van elk grondmonster zowel een behandeling met als zonder extra inoculum ingezet. Het verschil in wortelrot tussen de behandeling kan worden beschouwd als een maat voor de ziektevering tegen *Pratylenchus*: hoe kleiner het verschil des te beter de ziektevering. De interpretatie is echter niet altijd eenduidig.



*Biofotoets *Meloidogyne hapla* in sla*

De biotoets met *Rhizoctonia solani* in tulp wordt ook uitgevoerd onder veldomstandigheden in ingegraven vijvermandjes (12 l). Het inoculum is een aantal met *Rhizoctonia* gekoloniseerde haverkorrels in het midden van het mandje. Van daaruit groeit de schimmel door de grond naar de tulpenbollen toe. De meest nauwkeurige meting voor de mate van aantasting is de bolopbrengst. Hoe hoger de opbrengst des te beter de ziektevering. Gewas en omstandigheden zijn conform de praktijk. Echter, de bolopbrengst wordt behalve door de aantasting ook beïnvloedt door het organische-stofgehalte in de grond (betere structuur, beschikbaarheid van voedingsstoffen en water). Ook bij deze biotoets zijn daarom besmette en onbesmette behandelingen ingezet, waarbij het verschil tussen beide een maat is voor de ziektevering.



Biotoets met *Rhizoctonia solani* in tulp

De biotoets met *Pythium intermedium* in hyacint wordt uitgevoerd in potten onder geconditioneerde omstandigheden bij 9°C. Het inoculum is een aarde-meelcultuur, die vlak voor het planten door de grond wordt gemengd. De mate van wortelrot is een maat voor de ziektevering. Ook bij deze toets zijn zowel besmette als onbesmette behandelingen ingezet en is gekeken naar de toename van de wortelrot als gevolg van de kunstmatige besmetting. Het gewas hyacint is relevant voor de praktijk, maar alle overige aspecten van deze biotoets staan relatief ver van de praktijk. In het verleden is echter gebleken dat de resultaten van deze biotoets goed correleren met die uit vollegrondsveldproeven met verschillende bolgewassen. Bovendien werden de resultaten bevestigd door waarnemingen uit de praktijk. Hiermee is de *Pythium*-biotoets van de bovengenoemde biotoetsen de best gevalideerde.

Uit de resultaten van twee jaar onderzoek blijkt dat een hoog organische-stofgehalte in de grond een positief effect heeft op de ziektevering tegen *M. hapla*, *P. penetrans* en *P. intermedium*. Er is tot nu toe geen effect geconstateerd op de ziektevering tegen *R. solani*.

In biotoetsen wordt vaak maar een beperkt aantal pathogenen getoetst. Echter, verschillende pathogenen zijn gevoelig voor verschillende mechanismen van ziektevering (concurrentie, antibiose, parasitisme, predatie, geïnduceerde resistentie, etc.). Het effect van teeltmaatregelen op de ziektevering kan voor verschillende pathogenen anders uitpakken. Dit betekent dat de resultaten met betrekking tot het ene pathogeen niet zonder meer geëxtrapoleerd kunnen worden naar andere pathogenen; dit moet voor elk afzonderlijk pathogeen apart worden vastgesteld. Dat blijkt ook uit de hierboven beschreven resultaten.

Het onderzoek naar de effecten van organisch stof op de ziektevering in duinzandgrond wordt voortgezet, waarbij ook metingen worden verricht aan andere bodemparameters op fysisch, chemisch en biologisch vlak.

Bodemweerbaarheidstoets voor *Rhizoctonia solani*

Mirjam Schilder en Joeke Postma

Plant Research International

Reeds vele jaren wordt de bodemweerbaarheidstoets die door Pedro Oyarzun werd ontwikkeld (1994, proefschrift) met succes toegepast om de ziektevering van verschillende bodems tegen *Rhizoctonia solani* met elkaar te vergelijken. Deze toets wordt onder gestandaardiseerde condities uitgevoerd in een klimaatcel. Alle gronden worden bij een gelijke vochtspanning (pF 1,7 = -50 mbar) getoetst. Hiervoor wordt een langwerpige tank (24x5x30 cm) gebruikt met onderin een verzadigd oase blok, dat de daarop aangebrachte grond van vocht voorziet. Elke tank heeft een tensiometer die is aangesloten op een computersysteem. Bij te lage vochtspanning wordt er automatisch water gegeven.

De biotoets kan op twee manieren uitgevoerd worden.

- (1) Verspreidingssnelheid van de *Rhizoctonia*-aantasting in het gewas meten (Figuur 1). Hierbij wordt *Rhizoctonia* aan de voorkant van de tank aangebracht bij een week oude zaailingen.
- (2) Kiemingspercentage van zaden bepalen in

Plant-bodemwisselwerking: benaderingen, berekeningen en ecologische betekenis

Pella Brinkman

NIOO-CTE, Heteren

Plant-bodemwisselwerking is de wederkerige invloed van planten en hun bodemgemeenschap. In natuurlijke systemen draagt de wisselwerking tussen planten en bodemorganismen bij aan primaire en secundaire successie, plantendiversiteit, invasiviteit van exotische plantensoorten en natuurherstel. Biotests worden gebruikt om de relatie tussen plantensoorten en hun bodemgemeenschap te bepalen.

Deze biotests bestaan uit een conditionerings- en een toetsfase, die beide op verschillende manieren kunnen worden benaderd. In de eerste fase kan de grond direct uit het veld worden verzameld, of onder gecontroleerde omstandigheden door bepaalde plantensoorten worden geconditioneerd. In de toetsfase wordt de groei van planten in grond met en zonder bodemorganismen, of in grond die is geconditioneerd door verschillende plantensoorten, vergeleken. Deze verschillende experimentele benaderingen kunnen tot verschillende conclusies over het effect van de wisselwerking leiden. Het berekenen van een wisselwerkingwaarde maakt het mogelijk om wisselwerking tussen plantensoorten en grond van verschillende herkomst te vergelijken.

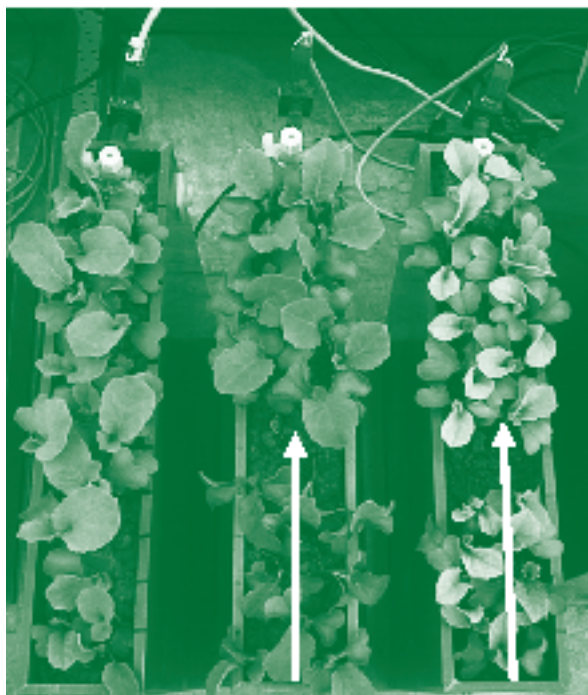
Wisselwerkingwaardes worden op verschillende manieren berekend, waardoor een verschillend bereik van mogelijke waardes ontstaat. Berekeningen waarbij een behandelingsgemiddelde in de noemer worden gebruikt, moeten worden vermeden. Deze veranderen de variantie kunstmatig vergeleken met het gebruik van gepaarde waarnemingen, wat de statistische analyse beïnvloedt. Wisselwerkingwaardes die zijn verkregen met verschillende experimentele methodes en berekeningen kunnen niet zonder meer worden vergeleken.

Belangrijke factoren bij de ontwikkeling van een betrouwbare, representatieve biotests

Marlies Dissevelt

Koppert Biological Systems, Veilingweg 17, 2651 BE Berkel en Rodenrijs

Biotests zijn onmisbaar bij het testen van de effectiviteit van nuttige micro-organismen. Het is daarbij belangrijk dat de biotests betrouwbaar

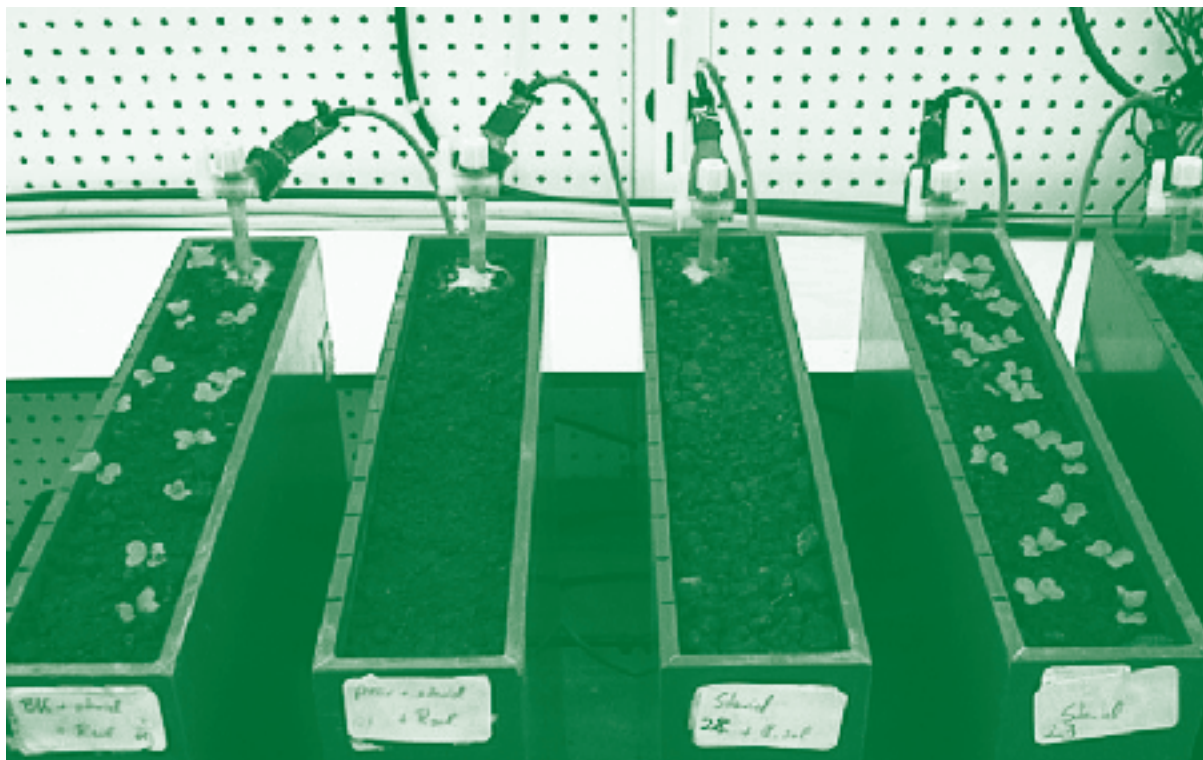


Figuur 1. Ziekteverspreiding van Rhizoctonia aantasting in koolzaailingen. Van links naar rechts: ziekteverende grond, gevoelige grond, gesteriliseerde grond. De witte pijl geeft aan hoever de ziekte zich verspreid heeft.

grond waar twee weken eerder *Rhizoctonia* lokaal was aangebracht (Figuur 2). Bij het gebruik van een mengsel van 90% steriele grond en 10% toetsgrond, wordt informatie verkregen over het vermogen van de ziekteverende factor om de steriele grond vanuit de toetsgrond te koloniseren.

De gewassen die afgelopen jaren zijn gebruikt in deze biotests zijn bloemkool, suikerbiet, iris, gele mosterd, aardappel en *Arabidopsis*. Uiteraard hoort bij elk gewas een specifieke *Rhizoctonia*-anastomosegroep.

Significante en herhaalbare verschillen in bodemweerbaarheid zijn met beide biotests verkregen. Zo bleek grond van een perceel met vele opeenvolgende bloemkoolteelten (Zwaagdijk) ziekteverend te zijn ten aanzien van *Rhizoctonia* in bloemkool en in suikerbiet. Een vergelijkbare grond maar zonder bloemkoolhistorie (grond uit en naburige perenboomgaard) was zeer gevoelig voor de aantasting door *Rhizoctonia*. Beide biotests gaven vergelijkbare resultaten (Figuur 1, 2 en 3). Een ander voorbeeld is de bodemweerbaarheid die optrad op percelen met gras/klaver van verschillende biologische bedrijven (Postma *et al.*, 2008. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 2394-2406).



Figuur 2. Kieming van bloemkoolzaden in Rhizoctonia-geïnfecteerde grond. Van links naar rechts: ziekteverende grond, gevoelige grond, gesteriliseerde grond, en gesteriliseerde grond zonder Rhizoctonia.



Figuur 3. Bloemkoolplanten in ziekteverende grond (links) en gevoelige grond (rechts) waaraan evenveel Rhizoctonia is toegevoegd.

zijn en consistente resultaten te zien geven, die goed vertaald kunnen worden naar de praktijk. Koppert heeft een biotoets ontwikkeld, waarmee de (snelheid van) wortelkolonisatie door microbiologische antagonisten vastgesteld kan worden. Deze biotoets, die onder semi-praktijkomstandigheden wordt uitgevoerd, heeft een opzet die vergelijkbaar is met de praktijk. In deze biotoets kunnen substraten als steenwol, potgrond, perliet en puimsteen gebruikt worden, met tomaat als toetsgewas. Twee weken na toepassing van verschillende formuleringen of producten kan de mate van wortelkolonisatie worden bepaald. Met deze biotoets kunnen consistente resultaten met betrekking tot (snelheid van) wortelkolonisatie door verschillende formuleringen en producten behaald worden. Extrapolatie van deze resultaten naar de praktijk lijkt betrouwbaar omdat hetzelfde substraat, klimaat and watergift gehanteerd wordt als in de praktijk.

Een laboratoriumtoets voor het testen van het effect van microbiologische producten op de ontwikkeling van ziekten is nog in ontwikkeling. Er zijn verschillende aandachtspunten, die een belangrijke rol spelen bij de ontwikkeling van een betrouwbare, representatieve labtoets. Zo moet er standaardisering zijn met betrekking tot de productie en het gebruik van het inoculum (zowel van het pathogeen als van de antagonist), waarbij de inhoud van het inoculum (sporen, mycelium of gehele kweek), de kwaliteit van het inoculum (het aantal sporen of kolonievormende eenheden per ml en het kiemingspercentage), de inoculumdichtheid (niet te hoog, vergelijkbaar met de praktijk) en het tijdstip van inoculatie kritische factoren zijn. De combinatie van gewas (cultivar), ziekte en substraat moet representatief zijn voor de praktijk, evenals de klimaatsomstandigheden en de bemesting (qua schema en samenstelling) van de planten. Op deze manier kan een betrouwbare, representatieve biotoets ontwikkeld worden, die de werking van het geteste product onder praktijkomstandigheden kan voorspellen.

Kunnen biotoetsen zonder planten gebruikt worden om ziekteonderdrukking te voorspellen?

Wietse de Boer

NI00-CTE, Heteren

Al meer dan een halve eeuw wordt er onderzoek gedaan aan fungistasis: de remming van kieming en/of groei van schimmels door

bodems. Elke bodem heeft een zekere mate van fungistasis maar er zijn grote verschillen tussen bodems. Ook wat betreft de respons-kant, de reactie van schimmels, is het verschijnsel algemeen. Maar de gevoeligheid van schimmels voor fungistasis is heel verschillend. In het algemeen kan gezegd worden dat plant-pathogene bodemschimmels er gevoeliger voor zijn dan saprofytische bodemschimmels. Fungistasis is niet *per se* negatief voor pathogene schimmels, het beschermt de schimmel tegen kieming onder ongunstige omstandigheden, bijvoorbeeld bij afwezigheid van een geschikte waardplant. Maar langdurige fungistasis resulteert in permanent verlies van kiemkracht en dus, in afname van de hoeveelheid ziekteverwekkende schimmels in de bodem.

Er zijn twee verklaringen voor fungistasis: (1) door een sterke competitieve druk van bodemmicro-organismen zijn er geen voldoende nutriënten voor de schimmel om te kiemen of te groeien; (2) schimmelremmende componenten die door andere bodemmicro-organismen worden gevormd, onderdrukken de kieming en/of groei van de schimmel. De waarheid ligt waarschijnlijk ergens in het midden, namelijk dat er een sterke competitie is voor makkelijk afbreekbare koolstofverbindingen en dat er bij die competitie secundaire metabolieten (antibiotica) worden ingezet om concurrenten te bestrijden.

Dezelfde twee verklaringen zijn gegeven voor algemene ziekteverring in bodems. Net als fungistasis komt algemene ziekteverring in vrijwel elke bodem voor, maar zijn de verschillen tussen bodems groot. Algemene ziekteverring is de belangrijke eerste buffer om bodemgebonden ziekteverwekkers in toom te houden. Daarom is het belangrijk een inschatting van algemene ziekteverring te kunnen geven. Dit wordt gedaan middels arbeidsintensieve plantenbiotoetsen, waarvan de resultaten vaak niet consistent zijn.

De mate van fungistasis van een bodem is wel consistent en er zijn eenvoudige methoden om deze te meten: het vaststellen van het percentage kiemende sporen op een filter dat in contact staat met een bodem of de uitgroei van schimmelhyfen over en in een bodem. De vraag is of deze eenvoudige methoden gebruikt kunnen worden om algemene ziekteverring te voorspellen. Er zijn maar weinig onderzoeken beschreven waarin resultaten van fungistasis zijn vergeleken met die van een plantenbiotoets. Op basis van deze summier gegevens lijken de uitkomsten van fungistasis-testen wel te correleren met ziekteonderdrukking, maar er zijn te weinig gegevens om dit hard te kunnen maken. Meer onderzoek is dus nodig.



Opzet van de wortelkolonisatietoets van Koppert.

Discussie over het thema - Biotoetsen voor het meten van ziekteonderdrukking in grond

Joeke Postma¹ en Gera van Os²

¹ Plant Research International; e-mail: joeke.postma@wur.nl

² Praktijkonderzoek Plant & Omgeving; e-mail: gera.vanos@wur.nl

Belangrijke aspecten bij het testen van ziekteonderdrukking met behulp van biotoetsen zijn:

1. **Validatie van de biotoets.** Hoe bepaal je of de gemeten resultaten in een biotoets overeenkomen met de praktijksituatie? Om hier achter te komen is het van groot belang om de resultaten uit de biotoets te vergelijken met de ervaringen van telers. De biotoets kan gevalideerd worden met gronden waarvan al bekend is dat ze ziekteverend zijn. Daarnaast geeft een biotoets altijd een relatieve uitslag van ziekteonderdrukking.
2. **Toetsomstandigheden.** Meestal wordt een biotoets onder constante omstandigheden uitgevoerd. De keuzes die gemaakt moeten worden ten aanzien van grond, gewas, pathogeen, milieucondities en proefopzet (zie inleiding van Aad Termorshuizen) zijn cruciaal. Enerzijds moeten de omstandigheden zo goed mogelijk aansluiten bij de praktijk, anderzijds zijn relatief hoge pathogeenconcentraties nodig om significante verschillen in ziekte-

expressie te krijgen. Dit kan in principe zorgen voor onrealistische resultaten.

3. **Verklarende parameters.** Een biotoets is relatief complex en duurt, afhankelijk van het pathogeen, enkele dagen (zaai-toetsen) tot enkele maanden (verwelking door vaatpathogenen). Daarom is men veelal op zoek naar eenvoudige metingen die overeenkomen met resultaten van ziekteonderdrukking in een biotoets. Het vinden van een (microbiële) meting (of een combinatie van eenvoudige metingen) die goed correleert met ziekteonderdrukking is een enorme uitdaging.
4. **Combinatie van biotoetsen.** De vraag werd gesteld wat een geschikte combinatie van biotoetsen zou zijn om de algemene ziekteverendheid van een bodem of de bodemgezondheid te meten. Hierbij zouden biotoetsen met zowel necrotrofe als obligate pathogenen gecombineerd moeten worden.

Dit thema biotoetsen voor het bepalen van ziekteonderdrukking leverde een veelheid aan verschillende voordrachten op, waarbij de inzichten en aanpak sterk werden bepaald door het doel waarvoor de biotoets gebruikt wordt. Combinatie van biotoetsen die door verschillende onderzoekers gebruikt worden, zou uiteindelijk kunnen leiden tot een soort 'modelset' voor de bepaling van bodemgezondheid.