

Samenvattingen van de voordrachten van de Willie Commelin Scholtendag

gehouden op 27 januari 2000 te Utrecht

Verbetering van biologische beheersing van Fusarium-verwelkingsziekte in radijs door het gebruik van combinaties van Pseudomonas stammen

M. de Boer, I. van der Sluis, J.J.B. Keurentjes, L.C. van Loon en P.A.H.M. Bakker
Fytopathologie, Botanische Ecologie en Evolutiebiologie, Universiteit Utrecht,
Postbus 80084, 3508 TB Utrecht

Een van de mogelijkheden om *Fusarium* verwelkingsziekte te beheersen is het toepassen van ziekteonderdrukkende microorganismen zoals fluorescerende *Pseudomonas* spp.. Mechanismen die betrokken zijn bij onderdrukking van verwelkingsziekte door deze pseudomonaden zijn inductie van systemische resistentie, concurrentie, bijvoorbeeld om ijzer, of productie van antibiotica. Om biologische gewasbescherming middels pseudomonaden effectiever en meer consistent te maken, werden verschillende ziekteonderdrukkende stammen en daarmee verschillende mechanismen met elkaar gecombineerd.

Voor een aantal *Pseudomonas* spp. stammen werd de rol van concurrentie om ijzer onderzocht door gebruik te maken van siderofoor-biosynthese mutanten. Geïnduceerde resistentie als mechanisme werd onderzocht in een biotoets waarin pathogeen en pseudomonaden gescheiden werden gehouden en directe interacties tussen beide populaties konden worden uitgesloten. Beide mechanismen blijken een rol te spelen bij de onderdrukking van *Fusarium* verwelkingsziekte. Bovendien werd in een van de onderzochte stammen een additioneel, nog onbekend, mechanisme van ziekteonderdrukking ontdekt.

Onze resultaten laten zien dat het combineren van pseudomonaden met verschillende ziekteonderdrukkende mechanismen kan leiden tot verbeterde en meer consistente beheersing van *Fusarium* verwelkingsziekte in radijs. Echter, in sommige combinaties lijken in vitro interacties tussen de verschillende stammen van *Pseudomonas* spp. ziekteonderdrukking door de combinatie van die stammen negatief te beïnvloeden. Uit

experimenten waarin kolonisatie van de rhizosfeer van radijs door de stammen is onderzocht, blijkt dat de in vitro negatieve interacties niet tot uiting komen op het niveau van populatiedichtheden.

Root colonisation traits of Pseudomonas fluorescens WCS365

M.M. Camacho, G.V. Bloemberg en B.J.J. Lugtenberg
Institute of Molecular Plant Sciences,
Rijksuniversiteit Leiden

Microbial control of pythopathogenic fungi is an alternative to reduce the use of chemical pesticides. Efficient root colonisation is considered as the limiting step in biocontrol. Our research is aimed at unravelling bacterial traits that are important for efficient root colonisation.

Pseudomonas fluorescens strain WCS365 was selected for its excellent root colonising ability. Transposon mutagenesis resulted in strains PCL1201 and PCL1202. They are severely impaired in their colonisation ability when tested in competition with the wild type but not when tested alone. The transposon of PCL1201 inserted in a *nuoD* homologue of *E.coli*. *nuoD* is part of a 14 gene operon that codes for NADH dehydrogenase I, an enzyme of the aerobic respiratory chain. There are two known NADH dehydrogenases in *E.coli*, both located in the cytoplasmic membrane and their function is to transfer electrons from NADH to ubiquinone. One of them is encoded by the *nuo* operon, and the other one by the *ndh* gene. We isolated a *ndh* homologue from WCS365 and analyzed its role in root colonization. Although both, the *nuo* operon and the *ndh* gene are expressed in the rhizosphere, *nuo* is more relevant to competitive colonisation than *ndh*.

The Tn5*lacZ* insertion in mutant PCL1202 is located in a gene that has homology to *pyrR* from *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis* and *Thermus aquaticus*. *pyrR* codes for the repressor of the *de novo* pyrimidine biosynthesis. In our case we think that the *pyrR* in *P. fluorescens* is not a repressor but a transcriptional acti-

WCS-DAG

vator. By addition of exogenous pyrimidines to the gnotobiotic system we were able to rescue the competitive colonisation defect of this mutant.

Onderdrukking van take-all en effecten op de saprophytische rhizosfeermicroflora van in het veld gegroeide tarweplanten door genetisch gemodificeerde *Pseudomonas putida* stam WCS358r::phz

D.C.M. Glandorf¹, P. Verheggen¹, T. Jansen¹, J. Jorritsma¹, L.S. Thomashow², E. Smit³, P. Leeflang³, K. Wernars³, J.E. Thomas-Oates⁴, P.A.H.M. Bakker¹ en L.C. van Loon¹

¹)Faculteit Biologie, sectie Fytopathologie, Universiteit Utrecht, Postbus 80084, 3508 TB Utrecht

²)USDA, Washington State University, USA

³)Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, Postbus 1, 3720 AA Bilthoven

⁴)Vakgroep Biomoleculaire Massaspectrometrie, Universiteit Utrecht, F.A.F.C. Went-gebouw, Sorbonnelaan 16 3584 CA Utrecht

Om mogelijke verstoring van het bodemecosysteem door de introductie van genetisch gemodificeerde micro-organismen (GGM's) onder veldcondities te onderzoeken, is de plantengroei-stimulerende bodembacterie *Pseudomonas putida* WCS358r gemodificeerd met de *phz* biosynthesegenen uit *P. fluorescens* 2-79. Dit resulteerde in constitutieve productie van het schimmelremmende phenazine-1-carbonzuur door WCS358r::*phz*. De GGM's bleken door de modificatie in staat de *in vitro* groei van een reeks van saprophytische bodemschimmels te remmen en aantasting van tarweplanten door *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* te verminderen. De GGM's zijn in 1997 en 1998 op tarwezaden in de bodem van een proefveld geïntroduceerd en effecten van de GGM's op de saprophytische microflora van tarwe wortels werden vergeleken met effecten van de ouderstam WCS358r en een onbehandelde controle. Gedurende de teelt namen populaties van WCS358r en de GGM's in gelijke mate af in de tarwerhizosfeer. De genetische modificatie bleek stabiel in de GGM's en de phenazinegenen kwamen tot expressie in de rhizosfeer, aangezien phenazine ook daadwerkelijk werd aangetoond in rhizosfeerextracten van planten die met GGM's waren behandeld. In tegenstelling tot de andere behandelingen hadden de GGM's een voorbijgaand negatief effect op enkele kweekbare schimmelgroepen. Introductie van zowel WCS358r als de GGM's had een effect op de samenstelling van de schimmelmicroflora, zoals bepaald met Amplified 18S Ribosomal DNA Restriction Analysis (ARDA) van DNA geëxtraheerd uit de rhizosfeer van de tarweplanten. Effecten van de GGM's waren verschillend van die van WCS358r en waren detecteerbaar tot negentig dagen na zaaien, terwijl effecten van WCS358r slechts tot 27 dagen na zaaien waarneembaar waren.

[WCS-DAG



Field site for the introduction of genetically modified *Pseudomonas*. (foto: Bart Glandorf)

Mechanistische aspecten achter competitieve substraat kolonisatie door *Botrytis cinerea* en *Ulocladium atrum*

G.J.T. Kessel^{1,2}, B.H. de Haas¹, W. van der Werf² en J.Köhl¹

¹ Plant Research International, Postbus 16, 6700 AA Wageningen

² Laboratorium voor Theoretische Productie-ecologie, postbus 430, 6700 AK Wageningen

De saprofytische schimmel *Ulocladium atrum* 385 is een succesvolle biologische bestrijder van de necrotrofe plantpathogene schimmel *Botrytis cinerea* in cyclamen en in druif (Köhl *et al.*, Phytopathology 88: 568-575; Schoene en Köhl, Gesunde Pflanzen 51: 81-85). Het bestrijdingseffect berust op competitie tussen *B. cinerea* en *U. atrum* in necrotisch blad. Saprofytische kolonisatie van necrotisch weefsel door het pathogeen is een belangrijke tussenstap naar infectie van de gezonde cyclamen plant. Het competitief mechanisme tussen *B. cinerea* en *U. atrum* was echter nog niet eenduidig geïdentificeerd. Resultaten van elektronenmicroscopische studies (Köhl *et al.*, Phytopathology 87: 634-642), histologische kwantificering van mycelium, dubbelcultures en vervangingsreeksen bevestigen de hypothese van competitie om voedingsstoffen. Resultaten van een dynamisch simulatiemodel, wat de competitie tussen *B. cinerea* en *U. atrum* simuleert uitsluitend gebaseerd op competitie om voedingsstoffen, komen overeen met experimentele resultaten van vervangingsreeksen. Geconcludeerd wordt dat *B. cinerea* en *U. atrum* in necrotisch cyclamenweefsel uitsluitend concurreren om voedingsstoffen.

Visualisation of the interactions between *Pseudomonas fluorescens* WCS365 and *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* on tomato roots using autofluorescent proteins

A.L. Lagopodi, G.V. Bloemberg, A. Ram, A.H.M. Wijffes, E.M. Gerda, C.A.M.J.J. Van den Hondel en B.J.J. Lugtenberg
Institute of Molecular Plant Sciences, Rijksuniversiteit Leiden

Biological control of soil-borne plant pathogenic fungi with rhizobacteria forms an alternative to the use of

chemical pesticides. In order to improve the efficacy of biocontrol systems fundamental knowledge of the interactions between plants, biocontrol bacteria and fungi is required.

Pseudomonas fluorescens WCS365 has been shown to suppress crown and root rot disease of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (*F.o.r.l.*) in greenhouse experiments (Dekkers L.C. 1997. PhD Thesis, Leiden University, The Netherlands). Artificial inoculations of tomato with *F.o.r.l.* and biocontrol treatments with WCS365 bacteria were successfully reproduced in a gnotobiotic sand system. When tomato seedlings inoculated with bacteria were planted in sand mixed with spores of the fungus, the number of plants developing a severe crown and root rot syndrome was reduced by 35-70%. In this system where the host, the pathogen and the biocontrol agent are present as the only biotic factors, biocontrol can be studied in detail. *F.o.r.l.* was successfully transformed with *gfp* (green fluorescent protein). The expression of the gene was stable after several generations on nutrient media as well as on tomato. Different autofluorescent proteins like GFP and CFP (cyan fluorescent protein) were used to label the bacteria. Confocal laser microscopic analysis of the interactions between the fungus, the bacteria and the plant showed that the pathogen and the biocontrol bacteria compete in colonization of specific sites on the host root. In addition the bacteria interact directly with the fungus by colonizing the fungal hyphae. Studying the interactions between WCS365 and *F.o.r.l.* on the tomato roots will contribute to a deeper knowledge of the nature of the biocontrol effect, and to the development of more efficient methods for biocontrol.

Biologische bestrijding van *Sclerotinia sclerotiorum* in witlof met *Coniothyrium minitans*

J.G. Lamers¹, M.C. Plentinger¹ en M. Gerlagh²

¹ Praktijkonderzoek voor Akkerbouw en Vollegrondsgroenteteelt (PAV), Postbus 430, 8200 AK Lelystad

² Plant Research International, Postbus 16, 6700 AA Wageningen

In 1998 is een proef gestart in de Noordoost Polder bij twee telers met witlof, die was aangetast door *Sclerotinia sclerotiorum*. Nagegaan werd wat de effecten van een veldbehandeling met *Coniothyrium minitans* (8×10^6 sporen per ml in 500 liter water), of een naooogst penbehandeling met *C. minitans* (spuiten met 5×10^6 sporen/ml of dompelen in een oplossing met 5×10^6 sporen/ml) waren op de lofopbrengst, lofkwiteit en

ziekteontwikkeling. Als referentie dienden een chemische naooogstbehandeling met 35 ml per ton product Ronilan FL[®] (vinchlozolin) en een onbehandelde controle.

Bij een teler leidde de veldbehandeling tot een lager aandeel uitval na de bewaring door *Sclerotinia*. Het spuiten met *C. minitans* na de oogst en de bespuiting met Ronilan[®] gaven bij beide telers 4-16% hogere lofopbrengsten. Bij één teler kwam dit tot stand door een verlaging van de kropuitval van 15 % naar 5-7 % door *Sclerotinia* aantasting. De dompelbehandeling met *C. minitans* gaf wisselende resultaten (-7 tot +19% lofopbrengst) door minder aantasting van de kroppen als gevolg van *Sclerotinia*, maar door meer aantasting van de pennen en zijwortels door *Phytophthora* en *Pythium*. De beste biologische bestrijdingswijze van sclerotienrot bij de trek van witlof werd verkregen met een naooogst bespuiting met *C. minitans*, waarvan het effect vergelijkbaar was met een naooogst bespuiting met het chemische middel Ronilan[®].

De rol van ABC transporters in bescherming van *Botrytis cinerea* tegen plantenafweerstoffen en fungiciden

H.J. Schoonbeek^{1,3}, G. Del Sorbo² en M.A. De Waard¹

¹ Laboratorium voor Fytopathologie, Wageningen-UR, Research Centrum, Postbus 8025, 6700 EE, Wageningen

² Department ARBOPAVE, section of Plant Pathology, Via Università, 100, 80055 Portici (Naples), Italië

Botrytis cinerea is een plantpathogene schimmel met een zeer brede waardplantenreeks. Deze gastheren maken plantafweerstoffen van uiteenlopende structuur. Kennelijk kan *B. cinerea* de toxische effecten van phytoalexines en phytoanticipines omzeilen. Verder wordt het pathogeen geconfronteerd met een scala aan gewasbeschermingsmiddelen, waarvoor het reeds tolerantie ontwikkelde.

Een mechanisme van schimmels om de werking van antimycotica te beperken is het verminderen van de netto accumulatie door actieve export met ATP-binding cassette (ABC) transporters. De superfamilie van ABC transporters bestaat uit membraan gebonden eiwitten met een ATP-bindings cassette. Onder verbruik van ATP transporteren ze een breed spectrum aan stoffen over verschillende membranen. Subfamilies worden onderscheiden op basis van de topologische organisatie van transmembraan helices (TM), en de

nucleotide-binding plaats (NBF). Karakteristiek voor de NBF zijn de nucleotide-binding motieven beschreven door Walker en de typische ABC-signature. In gist bieden ABC-transporters in het PDR network bescherming tegen verschillende stoffen, waaronder fungiciden en secundaire metabolieten van planten.

Met het PDR5-gen uit gist als probe werden in een genomische bank van *B. cinerea* twee genen voor ABC transporters met een [TM₆-NBF]₂ topologie gevonden, *BcatrA* en *BcatrB*. Verhoogde expressie van *BcatrA* kan worden geïnduceerd door het antibioticum cycloheximide, *BcatrB* kan geïnduceerd worden door het fungicide fenpiclonil en resveratrol, een phytoalexine uit druif. Mutanten waarin *BcatrB* gedeleteerd is zijn gevoeliger voor fenpiclonil en resveratrol. Tevens zijn de (*BcatrB* mutanten verminderd virulent op druivenbladeren, maar niet op planten die geen resveratrol produceren.

In een ESTbank van *B. cinerea* zijn sequenties gevonden voor elf extra ABC-transporters en vier major facilitators welke betrokken kunnen zijn bij bescherming van de schimmel. Deze ESTs worden door fungiciden verschillend geïnduceerd in stammen met normale of verlaagde gevoeligheid voor deze stoffen.

Frequentie en diversiteit van antibioticaproducerende *Pseudomonas* spp.

J.T. Souza en J.M. Raaijmakers
Laboratory voor Fytopathologie,
Wageningen-UR, Postbus 8025,
6700 EE Wageningen

Antibiotica-producerende *Pseudomonas* spp. worden wereldwijd getoetst op hun vermogen om plantpathogene bodemschimmels te onderdrukken. De meeste aandacht gaat uit naar *Pseudomonas* spp. die de antibiotica 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG), phenazine (Phz), pyrrolnitrine (Prn) of pyoluteorine (Plt) produceren. Hoewel er relatief veel informatie beschikbaar is over de biosynthese van deze antibiotica én over de activiteit van specifieke *Pseudomonas* isolaten, is er echter nog weinig bekend over de dynamiek en diversiteit van natuurlijk-voorkomende *Pseudomonas* populaties die deze antibiotica produceren.

In dit onderzoek, zijn specifieke probes en primers gebruikt en ontwikkeld om de populatiedichtheden en diversiteit van deze groepen antagonistische bacteriën te bepalen in de rhizosfeer van tarwe. Hiertoe werden gronden gebruikt van vijf verschillende landbouwpercelen, waaronder gronden met een geschiedenis van 14 en 27 jaar continue teelt van tarwe. Phz- of Prn-producerende *Pseudomonas* spp. waren aanwezig in de rhizo-

WCS-DAG

sfeer van tarwe in relatief lage dichtheden van respectievelijk 3×10^4 en 4×10^4 CFU/g. Plt-producerende *Pseudomonas* spp. konden niet gedetecteerd worden. DAPG-producerende *Pseudomonas* spp. waren aanwezig in de rhizosfeer van tarwe in dichtheden van 2×10^4 tot 2×10^6 CFU/g. Met name in gronden met een geschiedenis van 14 en 27 jaar continueteelt van tarwe waren DAPG-producerende *Pseudomonas* spp. sterk verrijkt. Dit onderzoek toonde tevens aan dat deze gronden ziekteverend zijn voor *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* en dat DAPG-producenten ook in Nederlandse 'take-all-decline'-gronden een belangrijke bijdrage leveren aan de onderdrukking van deze pathogene bodemschimmel. RAPD-analyse toonde aan dat de populaties DAPG-producerende *Pseudomonas* spp. aanwezig in de rhizosfeer van tarwe erg divers zijn. Gezien de breed-spectrum activiteit van DAPG, wordt nu onderzocht of de diversiteit binnen deze groep antagonistische *Pseudomonas* spp. geëxploiteerd kan worden voor biologische bestrijding van diverse bodempathogenen van andere gewassen.

Karakterisatie en isolatie van avirulentie genen door middel van para-sexuele fusie van verschillende *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* fysio's

H. Teunissen, J. Mes, B. Cornelissen en M. Haring

Sectie Fytopathologie, Swammerdam Instituut voor Levenswetenschappen, Kruislaan 318, 1098 SM Amsterdam

Resistentie van tomaat tegen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) is monogeen en dominant. Fol fysio 1 isolaten bevatten het avirulentie gen *I-1* (A1) en zijn avirulent op tomatenlijnen die in het bezit zijn van het corresponderende resistentie gen (*I-1*). Deze gen-omgen hypothese is ook van toepassing op fysio 3 isolaten die het avirulentie gen *I-3* (A3) bevatten en avirulent zijn op *I-3* tomaten cultivars. Voor de isolatie van beide Fol genen is gekozen voor een genetische aanpak. Aangezien Fol een *fungus imperfectus* is en dus geen sexueel stadium bekend is, zijn er para-sexuele kruisingen gebruikt voor genetische analyses. Een fysio 1 isolaat, (genotype *A1a2a3*), en een fysio 3 isolaat, (*a1a2A3*), zijn getransformeerd met resp. een phleomycine- en een hygromycine resistentie marker bevattend plasmide. Genomische Southern blot analyse heeft aangetoond dat de meeste transformanten een enkele insertie van het marker gen hebben. Transformanten zijn geselecteerd voor fusie experimenten wanneer een enkele integratie is geconstateerd en de pathogeniteit gehand-

haafd is (virulent op algemeen vatbare controle cultivar). Protoplast fusie tussen een phleomycine resistente fysio 1 transformant en een hygromycine resistente fysio 3 transformant resulteerde in nakomelingen die resistent zijn voor beide antibiotica. Zeventien stabiele fusieproducten zijn geïdentificeerd afkomstig uit experimenten waarin zeven verschillende ouder combinaties zijn gebruikt. Drie van deze zeventien zijn uitvoerig geanalyseerd op moleculair niveau. Karyotype analyse met behulp van CHEF-gel elektroforese liet zien dat de drie fusieproducten een vergelijkbaar karyotype hebben met hun fysio 1 ouder. Pathogeniteits testen zijn uitgevoerd met de stabiele fusieproducten en hun ouders op tomatenlijnen met *I-1* en met *I-3*. Alle drie de fusieproducten gedroegen zich anders dan hun ouders; zowel op de *I-1* als op de *I-3* plantenlijn waren zij avirulent en worden daarom aangeduid als 'avirulentie recombinanten'. AFLP analyses lieten zien dat aan de genetische samenstelling van twee van de drie fusieproducten 95-97% wordt bijgedragen door de fysio 1 ouder. De overige 5-3%, afkomstig van de fysio 3 ouder, wordt verantwoordelijk geacht voor het verkrijgen van A3. Zes polymorfismen zijn geïdentificeerd die corresponderen met het fenotype van de drie fusieproducten. Deze polymorfe DNA fragmenten zijn gesequenced en worden gebruikt voor localisatie van A3.

Statistiek en praktijk van routinebemonstering op bruinrot *Ralstonia solanacearum* in aardappel

M. Wenneker¹, W. van de Berg² en J.D. Janse¹

¹ Plantenziektenkundige Dienst (PD), Postbus 9102, 6700 HC Wageningen

² Praktijkonderzoek Akkerbouw in de Vollegrond (PAV), Postbus 430, 8200 AK Lelystad

Bruinrot is een quarantaineziekte van aardappel die veroorzaakt wordt door de bacterie *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*. Na de uitbraak van bruinrot in 1995 in Nederland worden door de Plantenziektenkundige Dienst en de NAK aardappelpartijen getoetst op het voorkomen van deze ziekte. De richtlijn in het toetsingsprotocol geeft aan dat per partij per 25 ton aardappelen een monster van 200 knollen wordt genomen. Bij 1,5% bruinrotbesmetting, random verdeeld in de partij, is er 95% kans op het vinden van een besmette knol.

Het aantonen van de bacterie vindt plaats door middel van een voorscreening van aardappelextracten met immunofluorescentie microscopie (IF-toets). Bevestiging vindt plaats via isolatie en karakterisering met behulp van uitplaten op een selectieve voedingsbodem, en na

verkrijgen van een reïncultuur met PCR, pathogeniteits- en biochemische toetsen. Om de aardappelkolom vrij te krijgen van bruinrot moeten besmette partijen uit het systeem verwijderd worden. In theorie zou een éénmalige bemonstering van tweehonderd-knollen per partij (ongeacht de grootte) volstaan bij 1,5 % aantasting. Doordat in de praktijk van elke 25 ton aardappelen in een partij een monster wordt genomen, en daarmee meestal meerdere monsters per partij, neemt de trefkans toe en wordt tevens de kans op het vinden van lage besmettingsniveaus groter.

In het seizoen '98/'99 werd een groot aantal zetmeel-aardappeltelers (>100 bedrijven) getroffen door bruinrot in het ras Karnico, afkomstig van een drietal besmette pootgoedlijnen. Mede naar aanleiding hiervan werd een onderzoek gestart naar strategie en betrouwbaarheid van bruinrotbemonsteringen in de praktijk. Op percelen met aangetoonde bruinrotbesmetting werden op verschillende wijzen veldbemonsteringen uitgevoerd. Het onderzoek gaf geen aanleiding om de hypothese dat bruinrot random verspreid voorkomt te verwerpen. Het percentage geïnfecteerde knollen was op alle percelen onder de 1,5%. Besmette knollen (zowel visueel als latent geïnfecteerd) bleken voldoende bruinrotbacteriën te bevatten voor detectie met de huidige toetsingsmethoden. De trefkans op een besmette knol blijkt niet toe te nemen door knollen van een bepaalde gewichtsklasse te gaan bemonsteren. Bij bemonstering van gerooide partijen, waar gemerkte knollen aan waren toegevoegd, bleek de trefkans op een gemerkte knol te voldoen aan de statistische verwachting.

Biologische beheersing van *Rhizoctonia solani* in verschillende gewassen

C.E. Westerdijk

Praktijkonderzoek Akkerbouw en Vollegronds-groenteteelt (PAV), Postbus 430, 8200 AK Lelystad

In samenwerking met onder andere het IPO Wageningen-UR, het IRS (Instituut voor Rationele Suikerproductie), TNO en plantenkwekers werden en worden veld- en kasproeven uitgevoerd met biologische beheersing van *Rhizoctonia solani*. Met de antagonist *Verticillium biguttatum* werden daarin in de afgelopen jaren positieve resultaten geboekt in de vermindering van schade door *Rhizoctonia solani* in de gewassen pootaardappelen, suikerbieten, bloemkool en sla. De antagonist *V. biguttatum*, toegepast bij het groenrooien, remt de ontwikkeling van lakschurft op de aardappelknol. Enkele onderzochte formuleringen van *V. biguttatum* verschilden niet in werking en waren minstens zo goed in het verminderen van de lakschurft als toepassing van chemische middelen bij het groenrooien. Naast vermindering van het aantal sclerotiën gaf toepassing van *V. biguttatum* ook een sterke verlaging van de vitaliteit van de sclerotiën.

Toepassing van *V. biguttatum* in de kas gaf bij suikerbieten en (bloem)kool goede resultaten te zien. Tijdens de opkweek van bloemkool werden ook *Trichoderma harzianum* en *Bacillus subtilis* op hun werking tegen *R. solani* getoetst. Deze konden schade door de kunstmatig aangebrachte besmetting met *R. solani* onvoldoende tegengaan.

In een meerjarige veldproef met kropsla bleek het veilig gewicht per krop bij de toepassingen met de antagonist trendmatig hoger dan de onbehandelde. Het optreden van schade door *R. solani* werd eveneens verminderd. Bij de toetsing van grondmonsters op de aanwezigheid van de antagonist in de grond, werd deze naar verhouding van de toegepaste hoeveelheden duidelijk in de grond teruggevonden.

WCS-DAG