

A  
3  
R  
85

Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente  
Vestiging Naaldwijk  
Postbus 8, 2670 AA Naaldwijk  
Tel. 0174-636700, fax 0174-636835

## **ONTWIKKELINGSSNELHEID BIOLOGISCH EVENWICHT: MICROBIOLOGISCHE EN FYSISCHE ASPECTEN**

Proeven 1999



W.T.Runia  
Naaldwijk, januari 2000

Intern verslag 206

2203275

# INHOUD

<b>1. INLEIDING</b>	<b>6</b>
<b>2. MATERIAAL EN METHODEN</b>	<b>8</b>
2.1 proef 1 en 2: invloed van het type gietwater op het optreden van <i>Trichoderma</i>	8
2.2 Proef 3 en 4: invloed van <i>Trichoderma</i> op de groei van <i>Pythium aphanidermatum</i>	8
2.3 proef 5: invloed EC op bepaalde micro-organismen	9
2.4 proef 6: populatieontwikkeling actinomyceten in komkommer	9
2.5 proef 7: populatieontwikkeling actinomyceten in tomaat	9
2.6 proef 8: letale temperatuur <i>Trichoderma harzianum</i>	10
<b>3. RESULTATEN</b>	<b>11</b>
3.1 proef 1 en 2	11
3.2 proef 3 en 4	12
3.3 proef 5	13
3.4 proef 6	15
3.5 proef 7	15
3.6 proef 8	16
<b>4. CONCLUSIE</b>	<b>17</b>
4.2 proef 3 en 4	17
4.3 proef 5	17
4.1 proef 1 en 2	17
4.4 proef 6	17
4.5 proef 7	18
4.6 proef 8	18
<b>BIJLAGEN</b>	<b>18</b>

## SAMENVATTING

In het kader van het project "Ontwikkelingssnelheid biologisch evenwicht; microbiologische en fysische aspecten" zijn in 1999 een viertal labproeven en een viertal kasproeven uitgevoerd.

De labproeven hebben betrekking op de schimmels *Trichoderma atroviride* en *Trichoderma virens*, die beide kunnen voorkomen in de voedingsoplossing van substraatteelten.

In de proeven 1 en 2 is onderzocht in hoeverre het type gietwater het optreden van *Trichoderma atroviride* en van *Trichoderma virens* beïnvloedt. Bij een EC van 5 mS/cm groeien *Trichoderma atroviride* en *Trichoderma virens* het beste; bij EC 0 neemt de vitaliteit na vijf dagen meestal af. Dit geldt voor zowel bassinwater (omgekeerde osmosewater + regenwater) als leidingwater.

In de proeven 3 en 4 is onderzocht of *Trichoderma atroviride* en/of *Trichoderma virens* antagonistisch werken tegen *Pythium aphanidermatum*. *Trichoderma atroviride* en *Trichoderma virens* hebben geen antagonistisch effect op *Pythium aphanidermatum*. Dit geldt zowel voor isolaat 301 als voor isolaat V1.

In de kasproeven is gekeken naar de micro-organismen in de wortelzone in substraatteelten en in tweede instantie ook in het drainwater.

In proef 5 is onderzocht wat de invloed is van de EC op bepaalde micro-organismen in de voedingsoplossing in een komkommerteelt op steenwol met hergebruik van drainwater. *Trichoderma* wordt zeer onregelmatig aangetoond in de voedingsoplossing van de komkommerteelt. De aantallen zijn over het algemeen laag (0-400) met enkele uitschieters bij de EC's van 4 en 6 mS/cm, respectievelijk maximaal 1019 en 2728 per ml. Bij een EC van 2 mS/cm zijn maximaal 230 *Trichoderma*'s per ml aangetoond. In de onderbakken met drainwater en verse voedingsoplossing is het maximale aantal 40 per ml.

Bij de actinomyceten is duidelijk sprake van opbouw in de tijd; de eerste maand zijn de aantallen nog laag maar lopen daarna sterk op. De aantallen actinomyceten bij de EC's van 4 en 6 mS/cm zijn gelijkwaardig en maximaal circa 5500 per ml voedingsoplossing. Het aantal actinomyceten in de steenwolmat is bij een EC van 2 mS/cm maximaal 370 per ml. In de onderbak worden maximaal 30 actinomyceten per ml aangetoond. Het percentage actinomyceten in de onderbak is maximaal 1,1% ten opzichte van het aantal in de steenwolmat. Het drainwater in de onderbak is echter wel verdund met verse voedingsoplossing, waardoor de exacte verhouding niet is aan te geven.

De gisten *Sporobolomyces* zijn aanvankelijk volop aanwezig in de voedingsoplossing van de steenwolmat (1000-2000 per ml), maar verdwijnen later in de teelt vrijwel geheel. Dit geldt voor alle drie EC-waarden van 2, 4 en 6 mS/cm.

In de proeven 6 en 7 is de populatieontwikkeling onderzocht van actinomyceten in een komkommerteelt (proef 6) en een tomatenteelt (proef 7) op steenwol met hergebruik van drainwater. De opbouw van actinomyceten in de voedingsoplossing in de steenwolmat van een komkommerteelt komt pas na een maand op gang. Het maximale aantal is

in deze proef 6000 actinomyceten per ml voedingsoplossing. Dit is een bevestiging van het resultaat van proef 5. Er zijn geen behandelingseffecten waargenomen.

Het aantal actinomyceten in de steenwolmat van de tomatenteelt is maximaal circa 7000 per ml voedingsoplossing. Het aantal actinomyceten in het drainwater is veel lager; meestal minder dan 10% ten opzichte van het aantal in de wortelzone. De actinomyceten verblijven dus het meest in de wortelzone van de tomaat.

In proef 8 is de letale temperatuur vastgesteld voor *Trichoderma harzianum* bij verschillende behandelingstijden.

Een deel van de toegevoegde *Trichoderma* overleeft een temperatuur van 55°C gedurende 15 seconden. Langere behandelingstijden en hogere temperaturen zijn letaal voor de schimmel. De overlevingskans van *Trichoderma* in verhittingsinstallaties voor drainwaterontsmetting zijn minimaal omdat voor de doding van plantpathogenen hogere temperaturen nodig zijn. De vraag is echter of *Trichoderma* niet vooral in de wortelzone aanwezig is en weinig in het drainwater, zoals in de proeven 5 en 7 bij de actinomyceten het geval was. In dat geval is het niet relevant wat de letale temperatuur is voor *Trichoderma*. Dit zal nog moeten blijken uit onderzoek.

## 1. INLEIDING

In het kader van het project "ontwikkelingssnelheid biologisch evenwicht; microbiologische en fysische aspecten" zijn in 1999 een viertal labproeven en een viertal kasproeven uitgevoerd.

De labproeven hebben betrekking op de schimmels *Trichoderma atroviride* en *Trichoderma virens*, die beide kunnen voorkomen in de voedingsoplossing van substraatteelten.

In proef 1 is onderzocht in hoeverre het type gietwater het optreden van *Trichoderma atroviride* beïnvloedt.

In proef 2 is onderzocht in hoeverre het type gietwater het optreden van *Trichoderma virens* beïnvloedt.

In proef 3 is onderzocht of *Trichoderma atroviride* antagonistisch werkt tegen *Pythium aphanidermatum*.

In proef 4 is onderzocht of *Trichoderma virens* antagonistisch werkt tegen *Pythium aphanidermatum*.

In de kasproeven is gekeken naar de micro-organismen in de wortelzone in substraatteelten en in tweede instantie ook in het drainwater.

In proef 5 is onderzocht wat de invloed is van de EC op bepaalde micro-organismen in de voedingsoplossing in een komkommerteelt op steenwol met hergebruik van drainwater.

In proef 6 is de populatieontwikkeling onderzocht van actinomyceten in een komkommerteelt op steenwol met hergebruik van drainwater.

In proef 7 is de populatieontwikkeling onderzocht van actinomyceten in een tomatenteelt op steenwol met hergebruik van drainwater.

In proef 8 is de letale temperatuur vastgesteld voor *Trichoderma harzianum* bij verschillende behandelingstijden. Deze schimmel is in de handel als antagonist. Overleving van antagonisten bij drainwaterontsmetting zou een pré zijn voor de ontsmettingsmethodiek.

## 2. MATERIAAL EN METHODEN

### 2.1 PROEF 1 EN 2: INVLOED VAN HET TYPE GIETWATER OP HET OPTREDEN VAN TRICHODERMA

Types water: bassinwater (regenwater + omgekeerde osmosewater) en leidingwater. Het water is vóór gebruik tot 70°C geautoclaveerd gedurende een half uur om eventueel aanwezige *Trichoderma* uit te schakelen.

Verschillende EC's (0 – 2 – 5 mS/cm) zijn gerealiseerd door variatie in hoeveelheden hoofdelementen van stockoplossingen A en B voor tomaat en constante hoeveelheden spoorelementen toe te voegen aan de beide types water.

De voedingsoplossingen zijn geanalyseerd op hoofd- en spoorelementen; deze zijn als bijlagen 1 (proef 1) en 2 (proef 2) opgenomen.

De pH in de beide proeven is aangezuurd tot 5,6.

De watertemperatuur was in de eerste proef 22-23°C en in de tweede proef 24°C.

Van beide *Trichoderma*-isolaten is één schaal afgeschraapt en gemengd met 80 ml steriel demi-water. In proef 1 is 0,1 ml *Trichoderma atroviride* en in proef 2 is 0,1 ml *Trichoderma virens* aan de diverse voedingsoplossingen toegevoegd. Als controle dienden behandelingen zonder toevoeging van *Trichoderma*.

De voedingsoplossingen zijn na één en vijf dagen bemonsterd en uitgeplaat met de spiraalplaattechniek op een selectieve voedingsbodem (TSM). Per behandeling zijn twee schalen TSM gebruikt. De schalen zijn in de broedstof bij 24°C bebroed. Na circa vier dagen is het aantal *Trichoderma*-kolonies op de schalen geteld.

Uitvoering proef 1: 02-06-1999

Uitvoering proef 2: 16-06-1999

### 2.2 PROEF 3 EN 4: INVLOED VAN TRICHODERMA OP DE GROEI VAN PYTHIUM APHANIDERMATUM

Type water: leidingwater. Het water is vóór gebruik tot 70°C geautoclaveerd gedurende een half uur om eventueel aanwezige *Trichoderma* uit te schakelen.

De EC van de voedingsoplossing was 5 mS/cm en de pH is aangezuurd tot 5,6.

De watertemperatuur was 23°C in proef 3 en 25°C in proef 4.

Van beide *Trichoderma*-isolaten is één schaal afgeschraapt en gemengd met 80 ml steriel demi-water. In proef 3 is 0,1 ml *Trichoderma atroviride* en in proef 4 is 0,1 ml *Trichoderma virens* aan de diverse voedingsoplossingen toegevoegd.

Vervolgens is 0 – 0,1 – 1 of 10 ml *Pythium*suspensie (1 schaal van isolaat V1 + 1 schaal van isolaat 301 in 500 ml water) toegevoegd aan de voedingsoplossing.

Direct (dag 0) en na één en zeven dagen is de voedingsoplossing bemonsterd op *Trichoderma* door uit te platen op TSM; twee schalen per behandeling. De schalen zijn in de broedstof bij 24°C bebroed. Na circa vier dagen zijn de schalen beoordeeld op het aantal kolonies *Trichoderma*.

Voor het aantonen van *Pythium aphanidermatum* zijn op dag 0, dag 1 en dag 6 per behandeling zes filtreerpapierjes in de voedingsoplossingen gelegd, die van tevoren circa vier uur in antibiotica hadden gelegen. Deze filtreerpapierjes zijn een dag later uitgelegd op wateragar en na één en twee dagen beoordeeld op *Pythium*groei. Dit is een kwalitatieve methodiek, omdat myceliumgroei wordt waargenomen en er geen kolonies worden gevormd.

In twee behandelingen zijn de beide *Pythium*isolaten getest zonder toevoeging van *Trichoderma*.

Uitvoering proef 3: 30-06-1999

Uitvoering proef 4: 14-07-1999

### 2.3 PROEF 5: INVLOED EC OP BEPAALDE MICRO-ORGANISMEN

In een komkommerproef op steenwol met hergebruik van drainwater is het effect nagegaan van de EC op het optreden van actinomyceten, gisten en *Trichoderma*. Er zijn drie EC-niveaus gerealiseerd; 2, 4 en 6 mS/cm. Alle behandelingen zijn in viervoud uitgevoerd. De werkelijke EC- waarden tijdens de proef staan vermeld in Bijlage 4. De verschillende EC's zijn gerealiseerd door variatie in de hoeveelheden stockoplossingen A en B. De hoeveelheden spoorelementen en ammonia waren voor alle behandelingen gelijk. De pH-waarden tijdens de proef zijn opgenomen in Bijlage 5.

Wekelijks zijn monsters voedingsoplossing genomen uit de mat, onder het opweekblok van alle behandelingen en alle herhalingen. Vanaf week 42 zijn ook monsters genomen uit de onderbakken van de behandelingen 6 (EC 4) en 11 (EC 6). In deze onderbakken kwam het drainwater terecht, dat vervolgens werd gemengd met verse voedingsoplossing. De watermonsters zijn met de spiraalplaattechniek uitgeplaat op TSM (voor *Trichoderma*), Bya (voor gisten) en wateragar met pH 10,5 (voor actinomyceten); twee schalen per watermonster. De schalen zijn in de broedstroof bebroed bij 20°C. Na vier dagen zijn de schalen beoordeeld en de kolonies geteld. Bij de gisten is alleen gekeken naar het vóórkomen van *Sporobolomyces* omdat deze gist goed is te onderscheiden op schaal.

De komkommers (Odessa) zijn geplant op 9 september en de proef is beëindigd op 1 december 1999. Per behandeling waren er drie goten (schijnherhalingen) met in elke goot tien planten. De temperatuurinstelling was aanvankelijk 20°C overdag en 's nachts en later 21°C overdag en 18°C 's nachts.

### 2.4 PROEF 6: POPULATIEONTWIKKELING ACTINOMYCETEN IN KOMKOMMER

Vanaf week 41 zijn in een komkommerteelt op steenwol met hergebruik van drainwater (kasafdeling 306-3) wekelijks watermonsters genomen in de steenwolmat onder het opweekblok. Het betrof een proef met biologische bestrijders van *Pythium aphanidermatum*, die in de opweekfase en bij het uitplanten waren toegepast. De watermonsters zijn onderzocht op de aanwezigheid van actinomyceten. De komkommers (Odessa) waren geplant op 7 oktober 1999. De watermonsters zijn genomen tot en met 31 november (week 48). De verwerking van de monsters is gelijk aan proef 5. De temperatuurinstelling was 21°C overdag en 18°C 's nachts. Alleen de eerste vijf dagen werd de temperatuur op 25°C overdag gehouden en 's nachts 23°C.

### 2.5 PROEF 7: POPULATIEONTWIKKELING ACTINOMYCETEN IN TOMAAT

Van week 42 tot en met week 48 zijn in een proef met tomaat op steenwol met recirculatie van drainwater (kasafdeling 105-6) watermonsters genomen van de voedingsoplossing in de steenwolmat en van het drainwater in de onderput. In deze put kwam in tegenstelling tot in proef 5 **alleen drainwater** terecht. De watermonsters zijn onderzocht op de aanwezigheid van actinomyceten. De verwerking van de watermonsters is gelijk aan proef 5. De proef is in drie herhalingen bemonsterd. Het gewas

(Aromata) is geplant op 20 april 1999. In deze proef zijn geen speciale behandelingen uitgevoerd.

## **2.6 PROEF 8: LETALE TEMPERATUUR *TRICHODERMA HARZIANUM***

*Trichoderma harzianum* (1 gram Supresivit) is toegevoegd aan 1400 liter drainwater van tomaat. Het drainwater is behandeld bij verschillende temperaturen en behandelings-tijden in een commerciële ontsmettingsinstallatie op basis van verhitting met warmtewisselaars. De gerealiseerde temperaturen zijn: 62,2 - 58,4 - 54,8 - 49,9 - 46,0 - 42,0 - 38,0 en 33,9°C. De temperaturen zijn geregistreerd met een recorder. De behandelingstijden waren bij elke temperatuur: 15 - 75 - 135 en 195 seconden. Nadat het drainwater door de installatie was geleid werd het in 3 seconden teruggekoeld naar circa 42°C. Vervolgens is het water afgetapt en uitgeplaat met de spiraalplaattechniek naar een specifiek medium voor *Trichoderma*: TSM. Per watermonster zijn twee schalen gebruikt. Op 16 november is de proef uitgevoerd en op 22 november zijn de schalen beoordeeld op het aantal *Trichoderma* kolonies. Het drainwater is geanalyseerd op hoofd- en spoorelementen. Deze zijn opgenomen in Bijlage 10.



### 3. RESULTATEN

#### 3.1 PROEF 1 EN 2

De resultaten van proef 1 en 2 zijn samengevat in Tabel 1. Uit de tabel blijkt dat bij een EC van 5 mS/cm de beide *Trichoderma*soorten het beste overleven; bij EC 0 neemt de vitaliteit na vijf dagen meestal af. De effecten gelden voor beide types water. Ook in drie van de vier controlebehandelingen wordt *Trichoderma* aangetroffen; mogelijk is dit een andere soort.

Tabel 1 - Effect van EC op de groei van *Trichoderma*

Watertype	EC mS/cm	<i>Trichoderma Atroviride</i> toegevoegd	Gemiddelde aantal <i>Trichoderma</i> kolonies per ml	
			dag 1	dag 5
bassinwater	0	+	2119	1039
	2	+	2259	1989
	5	+	2379	2299
	0	-	160	440
	2	-	0	0
	5	-	0	0
leidingwater	0	+	2129	830
	2	+	3098	1739
	5	+	2548	2568
	0	-	0	0
	2	-	0	0
	5	-	0	0
<i>Trichoderma virens</i>				
bassinwater	0	+	280	520
	2	+	2179	1269
	5	+	2109	1929
	0	-	0	20*
	2	-	60	30*
	5	-	0	0
leidingwater	0		1619	750
	2		2079	1039
	5		2249	1269
	0	-	0	10*
	2	-	0	170*
	5	-	0	50*

\* = kleinere en plattere kolonies

### 3.2 PROEF 3 EN 4

De resultaten van proef 3 en 4 zijn samengevat in Tabel 2. Uit Tabel 2 blijkt dat er geen waarneembaar antagonistisch effect is van beide *Trichoderma*-isolaten op de groei van *Pythium aphanidermatum*. Na twee dagen wordt geen *Pythium* aangetoond in de proef met *Trichoderma virens* maar na acht dagen is weer uitgroei van *Pythium* bij de grootste toegevoegde hoeveelheden. De algemene terugloop in groei na dag 8 is toe te schrijven aan de afnemende vitaliteit van *Pythium aphanidermatum* in de tijd. Bij de controle wordt geen *Pythium* meer aangetoond na twee en acht dagen. De reden hiervan is niet bekend.

In Bijlage 3 staan de gegevens over de groei van *Trichoderma* na toevoeging van verschillende hoeveelheden *Pythium aphanidermatum*. Uit deze bijlage blijkt dat de hoeveelheden *Pythium* geen effect hebben op de groei van de beide *Trichoderma*-soorten. Ook is er geen verschil tussen de beide *Pythium*-isolaten.

Tabel 2 – Effect van *Trichoderma* op de groei van *Pythium aphanidermatum* (P.a.)

Pythium-isolaat	Toegevoegde aantal ml P.a.	Pythium (aantal filtreerpapierjes per behandeling = 6)		
		Dag 1	Dag 2	Dag 8
<b>Proef 3 - <i>Trichoderma atroviride</i></b>				
V1	0	0	0	0
V1	0.1	6	6	0
V1	1	6	6	2
V1	10	6	6	6
<b>Proef 4 <i>Trichoderma virens</i></b>				
V1	0	0	0	0
V1	0.1	5	0	0
V1	1	6	0	5
V1	10	6	0	6
<b>Proef 3 <i>Trichoderma atroviride</i></b>				
301	0	0	0	0
301	0.1	6	6	4
301	1	6	6	4
301	10	6	6	6
<b>Proef 4 <i>Trichoderma virens</i></b>				
301	0	0	0	0
301	0.1	6	0	0
301	1	3	0	5
301	10	6	0	5
<b>Geen toevoeging van <i>Trichoderma</i></b>				
301	10 ml	6	0	0
V1	10 ml	6	0	0

### 3.3 PROEF 5

De resultaten van de watermonsters zijn weergegeven in de tabellen 3 tot en met 6. In Tabel 3 staat het gemiddelde aantal *Trichoderma's* per ml voedingsoplossing. Uit deze tabel blijkt dat er geen lijn zit in het optreden van deze schimmel in de tijd. Er is ook geen verband tussen de herhalingen. Het hoogste aantal (2728 per ml) wordt wel bij de hoogste EC (= 6 mS/cm) aangetroffen en bij een EC van 2 mS/cm is het maximale aantal slechts 230 per ml. Dat voldoende voeding belangrijk is voor deze schimmel was ook al gebleken in de proeven 1 en 2. De gegevens per herhaling staan vermeld in Bijlage 6, in Bijlage 7 is het aantal *Trichoderma's* in de mat en in de onderbakken (drainwater + verse voedingsoplossing) van de behandelingen 6 (EC = 4) en 11 (EC = 6) weergegeven. In de onderbakken worden maximaal 40 *Trichoderma's* per ml aange- toond.

In Tabel 4 zijn de resultaten samengevat van de actinomyceten in de voedingsoplossing. Hier is duidelijk sprake van een opbouw van actinomyceten in de tijd; de eerste maand zijn de aantallen nog laag maar lopen daarna sterk op. De spreiding tussen de herha- lingen is zeer groot. De aantallen actinomyceten bij de EC's van 4 en 6 mS/cm zijn gelijkwaardig en maximaal circa 5500 per ml voedingsoplossing. Het maximale aange- toonde aantal bij een EC van 2 mS/cm is slechts 370 per ml. De gegevens per herhaling staan vermeld in Bijlage 8. In Tabel 5 is het aantal actinomyceten in de mat en in de onderbakken (drainwater + verse voedingsoplossing) van de behandelingen 6 (EC = 4) en 11 (EC = 6) weergegeven. Uit Tabel 5 blijkt dat het percentage actinomyceten in de onderbak maximaal 1,1% is ten opzichte van het aantal in de steenwolmat. De verdun- ning van het drainwater met verse voedingsoplossing is beperkt geweest vanwege de geringe verdamping in deze tijd van het jaar en een hevige *Botrytisaantasting* in het gewas.

In Tabel 6 staat een samenvatting van de aangetoonde gisten *Sporobolomyces*. Uit de tabel blijkt dat de gisten aanvankelijk volop aanwezig zijn (1000-2000 per ml) maar later in de teelt vrijwel verdwijnen. Dit geldt voor alle drie EC-waarden. Er is een grote spreiding tussen de herhalingen. In bijlage 9 staan de gegevens van de afzonderlijke herhalingen.

Tabel 3 - Gemiddelde aantal *Trichoderma's* in de voedingsoplossing in de steenwolmat van een komkommerteelt

Week	Gemiddeld aantal <i>Trichoderma's</i> per ml (=spreiding) n=4		
	2	4	6
37	105 (30-230)	45 (20-100)	33 (0-80)
38	5 (0-10)	3 (0-10)	35 (0-90)
39	8 (0-10)	53 (10-160)	30 (10-50)
40	15 (0-20)	143 (30-400)	108 (10-340)
41	48 (10-80)	280 (20-1019)	822 (20-2728)
42	23 (20-30)	38 (10-80)	60 (20-140)
43	0 (geen)	3 (0-10)	3 (0-10)
44	55 (90-170)	48 (10-110)	18 (0-70)
45	58 (0-170)	15 (0-40)	63 (0-230)
46	0 (geen)	0 (geen)	0 (geen)
47	5 (0-10)	13 (10-20)	225 (0-890)
48	5 (0-10)	8 (0-20)	293 (0-1130)
Variatie	0-105	0-280	0-822

**Tabel 4 - Gemiddelde aantal actinomyceten in de voedingsoplossing in de steenwolmat van een komkommerteelt**

Week	Gemiddeld aantal Actinomyceten per ml (= spreiding)					
	2		4		6	
37	0	(0)	0	(0)	0	(0)
38	0	(0)	3	(0-10)	18	(0-70)
39	0	(0)	13	(0-30)	5	(0-20)
40	20	(0-50)	50	(10-110)	25	(10-40)
41	8	(0-20)	78	(0-220)	330	(0-1260)
42	63	(0-230)	75	(0-270)	925	(0-3600)
43	48	(0-150)	530	(10-1800)	1153	(0-2800)
44	35	(0-100)	693	(40-1800)	410	(10-1200)
45	8	(0-30)	760	(0-2800)	2325	(40-5600)
46	115	(20-370)	765	(0-2800)	1665	(20-4400)
47	15	(10-30)	1308	(0-5200)	1315	(0-4200)
48	8	(0-30)	1345	(0-4400)	790	(20-1800)

**Tabel 5 - Aantal actinomyceten in de steenwolmat en in de onderbak van een komkommerteelt**

Week	Behandeling 6 (EC 4)		Behandeling 11 (EC 6)	
	mat	onderbak*	mat	onderbak
42	270	0 (0%)**	3600	10 (0,3%)
43	1800	10 (0,6%)	2800	0 (0%)
44	1800	0 (0%)	1200	0 (0%)
45	2800	30 (1,1%)	5600	20 (0,4%)
46	2800	10 (0,4%)	4400	0 (0%)
47	5200	0 (0%)	4200	10 (0,2%)
48	4400	0 (0%)	1800	10 (0,6%)

\* onderbak bevat drainwater, verdund met verse voedingsoplossing

\*\* ( ) = % ten opzichte van het aantal in de mat

**Tabel 6 - Gemiddelde aantal Sporobolomyces in de voedingsoplossing in de steenwolmat van een komkommerteelt**

Week	Gemiddeld aantal Sporobolomyces per ml (= spreiding) n = 4		
	2	4	6
37	390 (40-1139)	345 (220-660)	230 (0-600)
38	113 (30-250)	48 (10-90)	493 (10-1830)
39	168 (0-610)	130 (20-230)	38 (0-100)
40	15 (0-30)	153 (20-370)	23 (0-50)
41	45 (0-170)	55 (20-130)	45 (20-90)
42	28 (0-80)	30 (0-100)	43 (10-80)
43	58 (0-200)	23 (0-40)	10 (0-40)
44	15 (0-40)	28 (10-60)	5 (0-10)
45	5 (0-10)	30 (0-110)	70 (20-200)
46	5 (0-20)	5 (0-20)	50 (0-200)
47	0 (geen)	8 (0-10)	3 (0-10)
48	8 (0-20)	5 (0-10)	0 (geen)
totaal	0-390	5-345	0-493

### 3.4 PROEF 6

In Tabel 7 zijn de resultaten van deze proef samengevat. Uit Tabel 7 blijkt dat in alle acht behandelingen hetzelfde wordt waargenomen als in proef 5; in de eerste maand zijn er nauwelijks actinomyceten. Vervolgens komt de opbouw van actinomyceten op gang, hoewel er grote verschillen zijn tussen de behandelingen die niet zijn toe te schrijven aan de diverse behandelingen. Het maximale aantal is in deze proef 6000 per ml voedingsoplossing.

Tabel 7 - Aantal actinomyceten in de voedingsoplossing in de steenwolmat van een komkommerteelt

Behandeling	Aantal actinomyceten per ml voedingsoplossing							
	1	2	3	4	5	6	7	8
week								
41	0	0	0	0	0	0	0	0
42	0	0	0	0	10	0	0	0
43	0	0	0	0	0	0	0	0
44	0	50	0	10	0	70	0	70
45	30	200	10	20	40	20	60	30
46	20	200	100	510	40	10	0	40
47	50	6000	70	1100	0	110	10	10
48	0	4000	0	400	0	100	1100	80

### 3.5 PROEF 7

De resultaten van proef 7 staan vermeld in Tabel 8. Uit Tabel 8 blijkt dat het aantal actinomyceten in de mat van de tomatenteelt kan oplopen tot circa 7000 per ml voedingsoplossing. Het aantal actinomyceten in het drainwater in de onderbakken is veel lager; in 16 van de 21 monsters is het percentage in het drainwater minder dan 10% ten opzichte van het aantal in de mat. In drie monsters ligt het percentage tussen de 10 en 17,5% en in twee monsters is het 30 en 32,5%.

Tabel 8 - Aantal actinomyceten in de voedingsoplossing in de steenwolmat en in het drainwater van een tomatenteelt

Week	Herhaling 1		Herhaling 2		Herhaling 3	
	mat	onderbak	mat	onderbak	mat	onderbak
42	3600	240 (6,7%)	3600	90 (2,5%)	3600	320 (8,9%)
43	5200	150 (2,9%)	5200	90 (1,7%)	5200	210 (4,0%)
44	3600	300 (8,3%)	5200	250 (4,8%)	1800	310 (17,2%)
45	7200	360 (5,0%)	3200	140 (4,4%)	3600	630 (17,5%)
46	7200	360 (5,0%)	2800	180 (6,4%)	4000	400 (10%)
47	900	270 (30%)	2800	910 (32,5%)	4000	150 (3,8%)
48	4400	340 (7,7%)	3200	90 (2,8%)	2800	260 (9,3%)

( ) = percentage ten opzichte van het aantal in de mat

### 3.6 PROEF 8

De resultaten van deze proef staan vermeld in Tabel 9. Het aantal kolonievormende eenheden in de behandelingen is vergeleken met het aantal in het onbehandelde drainwater met *Trichoderma* daarin. Uit de tabel blijkt dat na 15 seconden bij 55°C nog een kleine hoeveelheid *Trichoderma* wordt aangetoond en dat bij langere behandelings-tijden en hogere temperaturen *Trichoderma* niet overleeft. De *Trichoderma* die bij 58°C na een behandelingstijd van 135 seconden wordt aangetoond, kan een besmetting vanuit de lucht zijn. Gedetailleerde gegevens van de resultaten zijn opgenomen in Bijlage 11.

Tabel 9 - Letale temperatuur *Trichoderma harzianum* bij verschillende behandelingstijden

Behandelingstijd	Percentages (%) overleving van <i>Trichoderma</i> ten opzichte van de controle onbehandeld (= 820 kve/ml)							
	34 °C	38°C	42 °C	46 °C	50 °C	55 °C	58 °C	62 °C
15 sec	90,2	100	100	100	100	14,6	0	0
75 sec	85,4	100	100	100	95,1	0	0	0
135 sec	100	100	100	100	91,5	0	1,2	0
195 sec	78,0	100	100	100	82,9	0	0	0

## 4. CONCLUSIE

### 4.1 PROEF 1 EN 2

Bij een EC van 5 mS/cm groeien *Trichoderma atroviride* en *Trichoderma virens* het beste; bij EC 0 neemt de vitaliteit na vijf dagen meestal af. Dit geldt voor zowel bassinwater (omgekeerde osmosewater + regenwater) als leidingwater.

### 4.2 PROEF 3 EN 4

*Trichoderma atroviride* en *Trichoderma virens* hebben geen antagonistisch effect op *Pythium aphanidermatum*. Dit geldt zowel voor isolaat 301 als voor isolaat V1.

### 4.3 PROEF 5

*Trichoderma* wordt zeer onregelmatig aangetoond in de voedingsoplossing van de komkommerteelt. De aantallen zijn over het algemeen laag (0-400) met enkele uitschieters bij de EC's van 4 (maximaal 1019 per ml) en 6 mS/cm (maximaal 2728 per ml). Bij een EC van 2 mS/cm zijn maximaal 230 *Trichoderma*'s per ml aangetoond. In de onderbakken, waarin drainwater en verse voedingsoplossing zit is het maximale aantal 40 per ml.

Bij de actinomyceten is duidelijk sprake van opbouw in de tijd; de eerste maand zijn de aantallen nog laag maar lopen daarna sterk op. De aantallen actinomyceten bij de EC's van 4 en 6 mS/cm zijn gelijkwaardig en maximaal circa 5500 per ml voedingsoplossing. Het aantal actinomyceten in de steenwolmat is bij een EC van 2 mS/cm maximaal 370 per ml. In de onderbak worden maximaal 30 actinomyceten per ml aangetoond. Het percentage actinomyceten in de onderbak is maximaal 1,1% ten opzichte van het aantal in de steenwolmat. Het drainwater in de onderbak is echter wel verdund met verse voedingsoplossing, waardoor de exacte verhouding niet is aan te geven. De verdunning van het drainwater met verse voedingsoplossing is beperkt geweest vanwege de geringe verdamping in deze tijd van het jaar en een hevige *Botrytisaantasting* in het gewas.

De gisten *Sporobolomyces* zijn aanvankelijk volop aanwezig in de voedingsoplossing van de steenwolmat (1000-2000 per ml) maar verdwijnen later in de teelt vrijwel geheel. Dit geldt voor alle drie EC-waarden van 2, 4 en 6 mS/cm.

### 4.4 PROEF 6

De opbouw van actinomyceten in de voedingsoplossing in de steenwolmat van een komkommerteelt komt pas na een maand op gang. Het maximale aantal is in deze proef 6000 actinomyceten per ml voedingsoplossing. Dit is een bevestiging van het resultaat van proef 5. Er zijn geen behandelingseffecten waargenomen.

#### 4.5 PROEF 7

Het aantal actinomyceten in de steenwolmat van de tomatenteelt is maximaal circa 7000 per ml voedingsoplossing. Het aantal actinomyceten in het drainwater is veel lager; in 16 van de 21 monsters is het percentage in het drainwater minder dan 10% ten opzichte van het aantal in de mat. In drie monsters ligt het percentage tussen de 10 en 17,5% en in twee monsters is het 30 en 32,5%. De actinomyceten verblijven dus het meest in de wortelzone van de tomaat. In proef 5 werd hetzelfde resultaat behaald bij komkommer, maar in die proef was nog sprake van een verdunning van het drainwater, wat niet het geval is in proef 7.

#### 4.6 PROEF 8

Een deel van de toegevoegde *Trichoderma* overleeft een temperatuur van 55°C gedurende 15 seconden. Langere behandelingstijden en hogere temperaturen zijn letaal voor de schimmel. De overlevingskans van *Trichoderma* in verhittingsinstallaties voor drainwaterontsmetting zijn minimaal omdat voor de doding van plantpathogenen hogere temperaturen nodig zijn. De vraag is echter of *Trichoderma* niet vooral in de wortelzone aanwezig is en weinig in het drainwater, zoals in de proeven 5 en 7 bij de actinomyceten het geval was. In dat geval is het niet relevant wat de letale temperatuur is voor *Trichoderma*. Dit zal nog moeten blijken uit onderzoek.



## BIJLAGE 1. Voedingsanalyses proef 1

Codes: B = bassinwater, L = leidingwater; 0, 2 en 5 is EC in mS/cm

Bestandsnaam	990602ms
Projectnummer	1682
Proefnummer	
Onderzoeker	M. vd Sar
Bemonsteringsdatum	02-jun-99
Verzenddatum	09-jun-99
Soort onderzoek	water
Monstersoort	voeding
Analysekosten	
Lab-nr.	9900-1539 t/m 1544
begin/eind	
Monsteridentificatie	

Labnr	Code	pH	EC mS/cm	NH4 mmol/l	K mmol/l	Na mmol/l	NO3 mmol/l	Ca mmol/l
99-1539	B0	6.69	1.08	0.12	0.08	0.11	0.52	0.20
99-1540	B2	6.30	2.06	0.76	6.94	0.35	10.85	3.71
99-1541	B5	5.97	5.10	1.97	18.70	0.51	30.13	9.94
99-1542	L0	6.59	0.57	0.12	0.25	0.97	2.56	1.40
99-1543	L2	6.60	2.15	0.84	6.08	1.26	11.30	4.02
99-1544	L5	6.11	4.95	2.06	16.58	1.42	29.30	10.06

Cl mmol/l	SO4 mmol/l	HCO3 mmol/l	P mmol/l	Fe umol/l	Mn umol/l	Zn umol/l	B umol/l	Cu umol/l
<0.1	<0.5	<0.1	0.08	2.2	0.8	1.0	18	0.6
<0.1	2.93	<0.1	1.01	15.7	15.5	9.8	69	3.1
<0.1	8.19	<0.1	2.97	18.2	17.2	10.0	67	2.3
1.14	0.68	0.20	0.17	3.0	1.4	0.8	10	1.2
1.15	2.59	0.12	0.96	12.0	12.1	6.2	55	6.2
1.13	7.13	<0.1	2.76	15.0	14.7	7.0	53	5.1

## BIJLAGE 2. Voedingsanalyses proef 2

Codes: B = bassinwater, L = leidingwater; 0, 2 en 5 is EC in mS/cm

Bestandsnaam	990602ms
Projectnummer	1682
Proefnummer	
Onderzoeker	M. vd Sar
Bemonsteringsdatum	16-jun-99
Verzenddatum	23-jun-99
Soort onderzoek	water
Monstersoort	voeding
Analysekosten	
Lab-nr.	9900-1699 t/m 1704
begin/eind	
Monsteridentificatie	

Labnr	Code	pH	EC mS/cm	NH4 mmol/l	K mmol/l	Na mmol/l	NO3 mmol/l	Ca mmol/l
99-1699	B0	5.73	0.05	<0.05	<0.05	0.07	0.52	0.08
99-1700	B2	5.61	1.95	0.75	6.60	0.31	10.56	3.42
99-1701	B5	5.62	4.75	2.06	17.68	0.46	30.01	9.54
99-1702	L0	5.83	0.54	<0.05	0.12	0.92	1.66	1.31
99-1703	L2	5.80	2.02	0.79	5.48	1.21	10.70	3.76
99-1704	L5	5.73	4.82	2.12	16.42	1.39	30.13	9.84

Cl mmol/l	SO4 mmol/l	HCO3 mmol/l	P mmol/l	Fe umol/l	Mn umol/l	Zn umol/l	B umol/l	Cu umol/l
<0.1	<0.5	<0.1	<0.05	2.1	<0.2	1.4	10	0.4
<0.1	2.85	<0.1	1.01	16.2	12.4	9.1	52	1.6
<0.1	7.73	<0.1	2.71	18.9	12.7	8.9	55	1.5
1.24	0.64	0.53	<0.05	3.4	<0.2	0.6	6	3.0
1.22	2.47	0.57	0.95	14.8	12.4	8.4	50	4.4
1.23	7.21	0.58	2.70	18.2	12.8	7.8	49	4.0

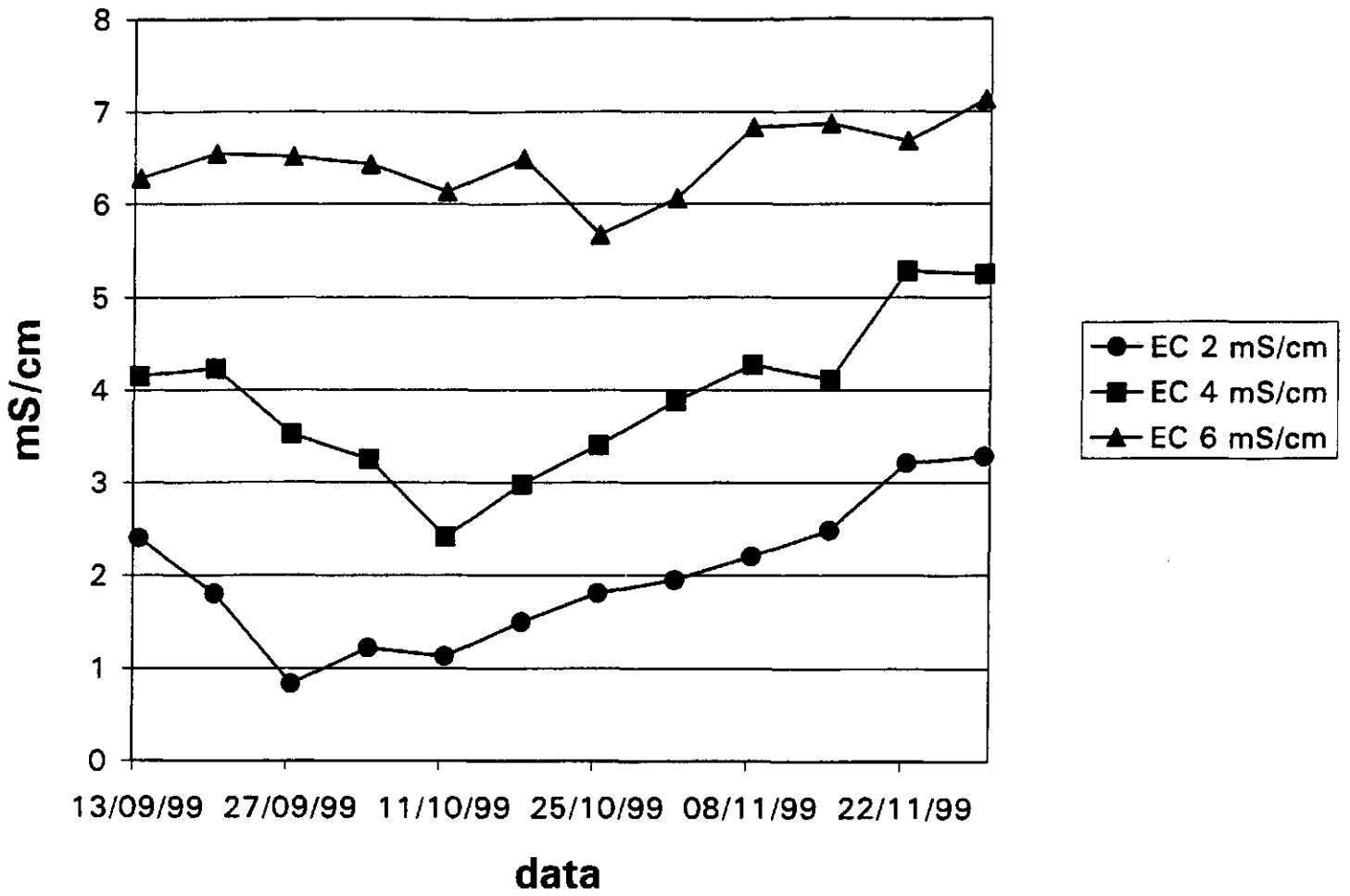
**BIJLAGE 3. Groei van *Trichoderma* na toevoeging van verschillende hoeveelheden *Pythium aphanidermatum***

Toegevoegde hoeveelheid <i>Pythium aphanidermatum</i>	Gemiddelde aantal <i>Trichoderma</i> kolonies per ml voedingsoplossing (EC 5 mS/cm in leidingwater)		
	Dag 0	Dag 1	Dag 7
<b>Proef 3 – isolaat 301 – <i>Trichoderma atroviride</i></b>			
0 ml	2479	2528	2039
0,1 ml	2818	2688	2039
1 ml	2758	2279	1899
10 ml	2768	2279	1229
<b>Proef 3 – isolaat V1</b>			
0 ml	2668	2628	1989
0,1 ml	2888	2638	1879
1 ml	2648	2439	1689
10 ml	2449	2369	1839
<b>Proef 4 – isolaat 301 P.a. – <i>Trichoderma virens</i></b>			
0 ml	2189	-	1369
0,1 ml	2648	-	1329
1 ml	2179	-	1069
10 ml	2499	-	1609
<b>Proef 4 - isolaat V1</b>			
0 ml	2209	-	1599
0,1 ml	2528	-	2099
1 ml	2219	-	1759
10 ml	2209	-	2079
<b>Controle - geen toevoeging van <i>Trichoderma</i></b>			
10 ml 301	20	10*	20*
10 ml V1	0	0	0

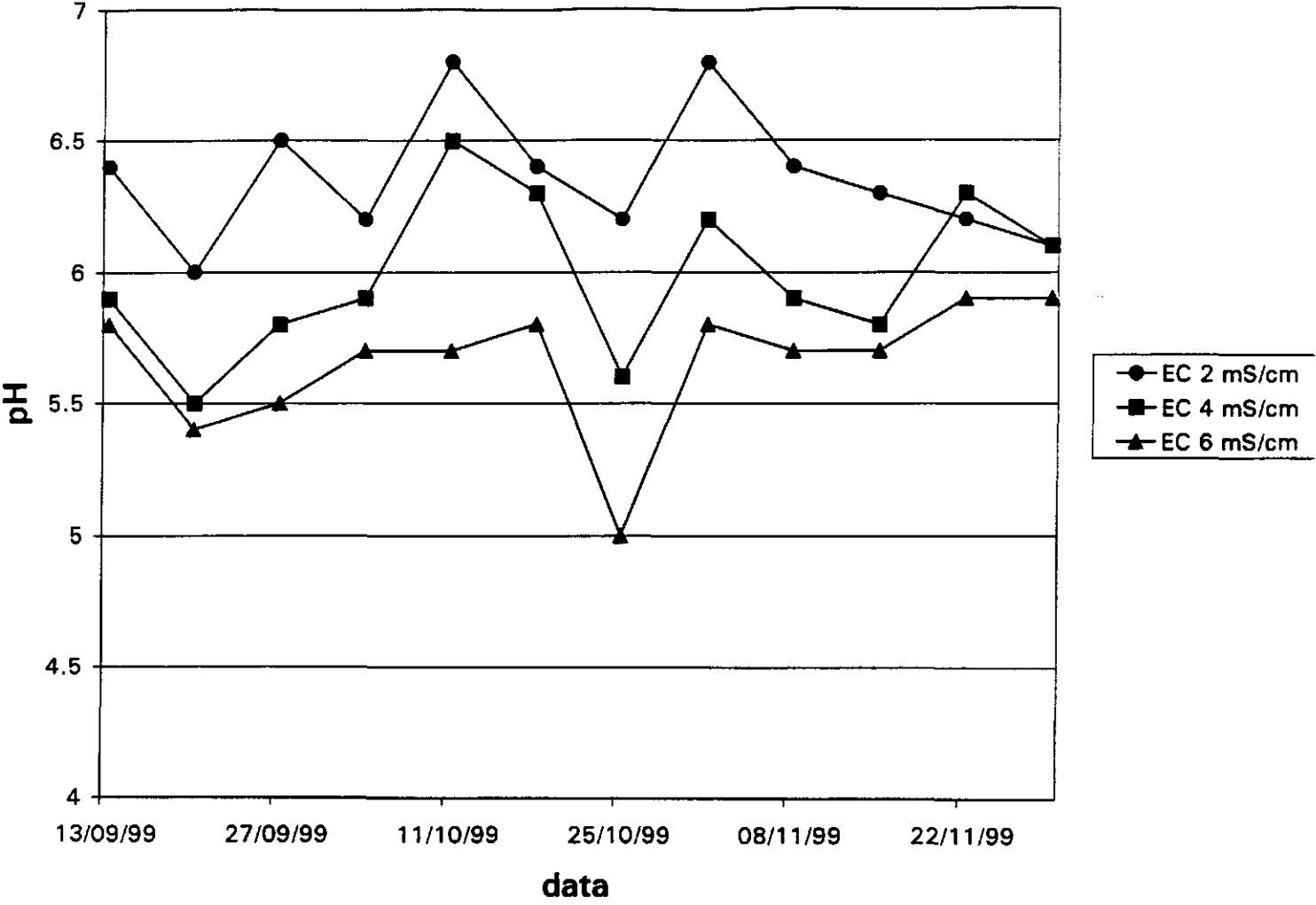
- = geen waarnemingen

\* = andere vorm kolonies

BIJLAGE 4. EC-gegevens proef 5



**BIJLAGE 5. pH-gegevens proef 5**



**BIJLAGE 6. Aantallen kolonievormende eenheden (kve) van *Trichoderma* in de voedingsoplossing van de steenwolmat**

Week	Aantal kve per ml											
Beh.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
EC	2 mS/cm				4 mS/cm				6 mS/cm			
37	230	30	110	50	100	20	40	20	0	80	10	40
38	0	10	0	10	0	10	0	0	50	0	0	90
39	0	10	10	10	160	10	20	20	50	40	10	20
40	20	20	0	20	400	50	30	90	340	20	10	60
41	10	50	80	50	1019	20	40	40	490	2728	50	20
42	30	20	20	20	10	40	20	80	140	40	40	20
43	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10	0	0
44	20	170	0	30	20	110	10	50	70	0	0	0
45	40	20	0	170	10	0	40	10	20	230	0	0
46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
47	0	10	0	10	20	10	10	10	10	0	0	890
48	10	0	10	0	10	0	20	0	10	30	0	1130

**BIJLAGE 7. Aantallen kolonievormende eenheden (kve) van *Trichoderma* per ml voedingsoplossing van de steenwolmat en van het drainwater gemengd met verse voedingsoplossing in de onderbak**

Week	Behandeling 6 (EC 4)		Behandeling 11 (EC 6)	
	mat	onderbak	mat	onderbak
42	10	0	40	0
43	0	0	10	0
44	20	0	0	0
45	10	10	230	0
46	0	0	0	0
47	20	0	0	0
48	10	0	30	40

**BIJLAGE 8. Aantal actinomyceten in de voedingsoplossing van de steenwolmat**

Week	Aantal actinomyceten per ml											
Beh.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
EC	2 mS/cm				4 mS/cm				6 mS/cm			
37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	70
39	0	0	0	0	30	10	10	0	20	0	0	0
40	20	10	50	0	110	50	10	30	30	20	10	40
41	20	0	10	0	220	10	0	80	60	1259	0	0
42	230	20	0	0	270	10	0	20	50	3200-4000	50	0
43	0	150	0	40	1600-2000	10	40	270	1600-2000	2400-3200	10	0
44	0	100	30	10	1600-2000	700-1000	40	80	410	1000-1400	10	20
45	30	0	0	0	2400-3200	20	0	220	3200-4000	4800-6400	40	60
46	20	370	20	50	2400-3200	0	10	250	2000-2400	4000-4800	40	20
47	10	10	10	30	4800-5600	30	0	0	800-1200	3600-4800	0	60
48	30	0	0	0	4000-4800	860	0	120	800-1600	1600-2000	140	20



**BIJLAGE 9. Aantal Sporobolomyces (rode gisten) in de voedingsoplossing van de steenwolmat**

Week	Aantal rode gisten (Sporobolomyces) per ml											
Beh.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
EC	2 mS/cm				4 mS/cm				6 mS/cm			
37	40	40	1139	340	220	660	460	40	80	240	600	0
38	60	30	250	n.w.	20	70	90	10	1830	30	10	100
39	20	610	0	40	230	20	190	80	50	0	0	100
40	20	30	0	10	120	20	100	370	10	50	0	30
41	0	170	0	10	20	20	50	130	40	20	90	30
42	0	80	30	0	20	0	0	100	10	n.w.	80	40
43	10	200	20	0	30	0	40	20	0	0	40	0
44	10	40	10	0	10	30	10	60	10	0	10	0
45	10	10	0	0	10	0	110	0	20	200	40	20
46	20	0	0	0	20	0	0	0	0	200	0	0
47	0	0	0	0	10	10	10	0	10	0	0	0
48	0	10	0	20	0	10	10	0	0	0	0	0

n.w. = niet waargenomen door overdadige schimmelgroei

## BIJLAGE 10. Voedingsanalyse drainwater tomaat van proef 8

Bestandsnaam	991116WR
Projectnummer	3001
Proefnummer	
Onderzoeker	W. Runia
Bemonsteringsdatum	16-nov-99
Verzenddatum	16-nov-99
Soort onderzoek	water
Monstersoort	voeding
Analysekosten	
Lab-nr.	9900-3058
begin/eind	
Monsteridentificatie	

Labnr	Code	pH	EC mS/cm	NH4 mmol/l	K mmol/l	Na mmol/l
3058	TH	4.24	2.09	0.17	5.93	0.47
NO3 mmol/l	Ca mmol/l	Mg mmol/l	Cl mmol/l	SO4 mmol/l	HCO3 mmol/l	P mmol/l
13.02	4.16	1.82	<0.1	2.11	<0.1	1.16
Fe umol/l	Mn umol/l	Zn umol/l	B umol/l	Cu umol/l		
13.1	5.0	4.8	18	1.5		

**BIJLAGE 11. Overleving van *Trichoderma harzianum* bij verschillende temperaturen en behandelingstijden**

Behandeling	Aantal <i>Trichoderma</i> kolonies per 50,030 µl			<i>Trichoderma</i> per ml	Overleving (%)
	Schaal 1	Schaal 2	gemiddeld		
0	40	42	41	820	100
15 sec - 62°C	0	0	0	0	0
75 sec - 62°C	0	0	0	0	0
135 sec - 62°C	0	0	0	0	0
195 sec - 62°C	0	0	0	0	0
15 sec - 58°C	0	0	0	0	0
75 sec - 58°C	0	0	0	0	0
135 sec - 58°C	1	0	0,5	10	1,2
195 sec - 58°C	0	0	0	0	0
15 sec - 55°C	5	7	6	120	14,6
75 sec - 55°C	0	0	0	0	0
135 sec - 55°C	0	0	0	0	0
195 sec - 55°C	0	0	0	0	0
15 sec - 50°C	59	48	53,5	1070	100
75 sec - 50°C	31	47	39	780	95,1
135 sec - 50°C	48	27	37,5	750	91,5
195 sec - 50°C	27	41	34	680	82,9
15 sec - 46°C	63	49	56	1120	100
75 sec - 46°C	41	53	47	940	100
135 sec - 46°C	57	46	51,5	1030	100
195 sec - 46°C	50	47	48,5	970	100
15 sec - 42°C	54	51	52,5	1050	100
75 sec - 42°C	45	46	45,5	910	100
135 sec - 42°C	50	44	47	940	100
195 sec - 42°C	54	40	47	940	100
15 sec - 38°C	60	52	56	1120	100
75 sec - 38°C	41	56	48,5	970	100
135 sec - 38°C	48	40	44	880	100
195 sec - 38°C	40	46	43	860	100
15 sec - 34°C	38	36	37	740	90,2
75 sec - 34°C	32	38	35	700	85,4
135 sec - 34°C	43	40	41,5	830	100
195 sec - 34°C	33	31	32	640	78,0