

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

INVLOED VAN AMMONIUMNITRAAT OP DE GROEI VAN TRICHODERMA IN VOEDINGSOPLOSSING

Proef 1602.26



W.T.Runia
Naaldwijk, januari 2000

Vertrouwelijk Rapport

2204895

INHOUD

1.	INLEIDING	7
2.	MATERIAAL EN METHODEN	8
3.	RESULTATEN EN DISCUSSIE	9
4.	CONCLUSIE	11
	BIJLAGEN	12

SAMENVATTING

In 1999 is op het Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente te Naaldwijk onderzoek verricht naar de invloed van ammoniumnitraat op de groei van *Trichoderma atroviride* in voedingsoplossing.

Er is een proef in drie herhalingen uitgevoerd met twee herkomsten van ammoniumnitraat: Porsgrunn, Rostock (0,08%) en Rostock (0,12%). Vanuit geconcentreerde voedingsoplossingen met 150 gram Kristalon per liter, met daarin ammoniumnitraat, zijn verdunningen gemaakt naar 75, 4, 2 en 1 gram Kristalon per liter. Aan deze vijf concentraties is de schimmel *Trichoderma atroviride* toegevoegd, waarna na één, twee en drie weken de voedingsoplossingen zijn uitgeplaat op een specifiek medium voor *Trichoderma*. Na enkele dagen zijn de gevormde kolonies geteld.

In de behandelingen met 150, 75 en 4 gram Kristalon per liter groeit na één en twee weken *Trichoderma* het beste in de voedingsoplossingen met Rostock (0,08%). Bij de lagere concentraties van 2 en 1 gram Kristalon per liter zijn de aantallen lager en is het verband minder duidelijk. Na drie weken neemt de vitaliteit van de schimmel af en zijn de aantallen bij alle concentraties lager en de resultaten grilliger.

Drie weken na toediening van *Trichoderma atroviride* aan de diverse voedingsoplossingen is in de glazen van 75 gram Kristalon per liter met daarin Rostock (0,08% en 0,12%) ernstige groei van mycelium waargenomen. Na uitplaten bleek het de schimmel *Trichoderma* te zijn. Bij 150 gram Kristalon met Rostock (0,12%) werd lichte myceliumgroei waargenomen. Ruim een week later was de myceliumgroei nog ernstiger bij de behandelingen met Rostock. Bij de behandeling met Porsgrunn werd pas vijf weken na toepassing van *Trichoderma* voor het eerst lichte myceliumgroei waargenomen bij 75 gram Kristalon per liter. De geconcentreerde voedingsoplossing van deze behandeling vertoonde geen myceliumgroei.

De juiste keuze van ammoniumnitraat is van essentieel belang om het risico van verstopping van druppelaars zo klein mogelijk te maken.

In deze proef is kunstmatig *Trichoderma atroviride* toegevoegd, die was geïsoleerd uit een verstopte druppelaar. Onder praktijkomstandigheden kunnen verschillende soorten van de schimmel *Trichoderma* echter overal spontaan optreden en tot verstopping leiden van druppelaars. *Trichoderma* is namelijk een bodemschimmel, die in alle klimaatzones kan voorkomen en uitbundig sporen vormt.

1. INLEIDING

In de land- en tuinbouw wordt aan bepaalde meststoffen ammoniumnitraat toegevoegd als anti-caking middel om klontering van de meststoffen te voorkomen.

In de praktijk is de vraag gerezen of ammoniumnitraat de groei van de schimmel *Trichoderma* stimuleert, waardoor verstopping van de druppelaars kan optreden.

In opdracht van Hydro Agri Rotterdam B.V. te Vlaardingen is in 1999 onderzoek verricht naar de invloed van ammoniumnitraat op de groei van *Trichoderma atroviride*.

Deze schimmel is geïsoleerd uit een verstopte druppelslang van een praktijkbedrijf.

Na diverse behandelingstijden is de vitaliteit van de schimmel vastgesteld. Het onderzoek, dat is uitgevoerd op het laboratorium, is beschreven in dit verslag.

2. MATERIAAL EN METHODEN

Het onderzoek is uitgevoerd met de schimmel *Trichoderma atroviride*, in dit verslag verder aangeduid als *Trichoderma*. Deze schimmel is geïsoleerd uit een verstopte druppelslang van een praktijkbedrijf.

Er zijn drie verschillende voedingsoplossingen onderzocht met ieder vijf concentraties. Als basis voor de voeding diende Kristalon Blauwmerk (19 + 6 + 20 + 3 MgO), waaraan één van drie ammoniumnitraat (AN)-herkomsten werd toegevoegd. De meststoffen werden aangeleverd door Hydro Agri in drie jerrycans in een concentratie van 150 gram per liter. Hieruit zijn op het PBG te Naaldwijk de volgende concentraties gemaakt: 75, 4, 2 en 1 gram per liter door verdunning met leidingwater.

Per behandeling is 1 liter voedingsoplossing in een bekersglas gedaan, waaraan vervolgens 0,1 ml sporensuspensie van *Trichoderma* is toegevoegd.

Na één, twee en drie weken zijn de behandelingen bemonsterd en uitgeplaat, met een spiraalplaattechniek, op een specifieke voedingsbodem voor *Trichoderma*: TSM. Per behandeling zijn steeds twee schalen gebruikt, die bebroed zijn in een broedstoof bij 20°C. Na vijf dagen is het aantal kolonievormende eenheden (KVE) geteld.

De proef is gestart op 1 december 1999. Omdat op 22 december 1999 myceliumgroei zichtbaar werd in sommige behandelingen, is op 5 januari 2000 in aanwezigheid van W. Hijmans en M. Slobbe van Hydro Agri Rotterdam B.V. de hele proef nogmaals visueel beoordeeld op myceliumgroei. Een dag later is het mycelium in de bekersglazen gefotografeerd. Het mycelium is op 29 december uitgeplaat op pda, waarna op 3 januari 2000 is vastgesteld dat het mycelium afkomstig is van de schimmel *Trichoderma*.

De gegevens met betrekking tot de pH en EC staan vermeld in Bijlage 1. De visuele beoordelingen van de myceliumgroei zijn samengevat in Bijlage 2.

3. RESULTATEN EN DISCUSSIE

De resultaten van de proeven zijn weergegeven in de bijlagen 3 tot en met 7 en zijn samengevat in Tabel 1. Uit Tabel 1 blijkt dat in de behandelingen met 150, 75 en 4 gram Kristalon per liter na één en twee weken *Trichoderma* het beste groeit in de voedingsoplossingen met Rostock (0,08%). Bij de lagere concentraties van 2 en 1 gram Kristalon per liter zijn de aantallen lager en is het verband minder duidelijk. Na drie weken neemt de vitaliteit van de schimmel af en zijn de aantallen bij alle concentraties lager en de resultaten grilliger.

Tabel 1 - Gemiddelde aantal *Trichoderma*-kolonies per ml

Kristalon (gram/l)	AN-Porsgrunn	AN-Rostock (0,08%)	AN-Rostock (0,12%)
150			
Na 1 week	2432	3635	3191
Na 2 weken	3028	3788	3441
Na 3 weken	2702	2758	2845
75			
Na 1 week	2638	3115	2725
Na 2 weken	2735	3221	2638
Na 3 weken	2951	2552	3494
4			
Na 1 week	2115	3694	3105
Na 2 weken	2765	3132	2798
Na 3 weken	2775	1872	2778
2			
Na 1 week	2668	3008	2678
Na 2 weken	2429	2325	2049
Na 3 weken	1809	1942	2179
1			
Na 1 week	1902	1829	2112
Na 2 weken	1666	2185	2109
Na 3 weken	1106	1799	1689

Drie weken na toediening van *Trichoderma atroviride* aan de diverse voedingsoplossingen is in de bekeerglazen van 75 gram Kristalon per liter met daarin ammoniumnitraat van Rostock (0,08% en 0,12%) ernstige groei van mycelium waargenomen. Na uitplaten op een voedingsbodem bleek het de schimmel *Trichoderma* te zijn. Bij 150 gram Kristalon met Rostock (0,12%) werd lichte myceliumgroei waargenomen. Vijf weken na toediening van *Trichoderma* was de myceliumgroei nog ernstiger bij de behandelingen met Rostock. Bij de behandeling met Porsgrunn werd toen pas voor het eerst lichte myceliumgroei waargenomen bij 75 gram Kristalon per liter. De geconcentreerde voedingsoplossing van deze behandeling vertoonde geen myceliumgroei. De beoordeling van myceliumgroei in de bekeerglazen met voedingsoplossing en *Trichoderma* is schematisch weergegeven in Bijlage 2. Uit de myceliumgroei in de bekeerglazen met verschillende types ammoniumnitraat in de voedingsoplossing blijkt overduidelijk dat het van zeer groot belang is om het juiste

ammoniumnitraat aan de voedingsoplossingen toe te voegen om myceliumgroei van *Trichoderma* zoveel mogelijk te voorkomen. Onderzoek kan uitwijzen welk ammoniumnitraat het meest geschikt is.

In deze proef is kunstmatig *Trichoderma atroviride*, die was geïsoleerd uit een verstopte druppelaar, toegevoegd. Onder praktijkomstandigheden kunnen verschillende soorten van de schimmel *Trichoderma* echter overal spontaan optreden en tot verstopping leiden van druppelaars. *Trichoderma* is namelijk een bodemschimmel, die in alle klimaatzones kan voorkomen en uitbundig sporen vormt.

4. CONCLUSIE

- *Trichoderma* groeit gedurende de eerste twee weken het beste in de voedingsoplossingen met 150, 75 en 4 gram Kristalon per liter met daarin Rostock (0,08%) als ammoniumnitraat.
- Bij de lagere concentraties van 2 en 1 gram Kristalon per liter zijn de aantallen lager en is het verband minder duidelijk.
- Na drie weken neemt de vitaliteit van de schimmel af en zijn de aantallen bij alle concentraties lager en de resultaten grilliger.
- Drie weken na toediening van *Trichoderma atroviride* is myceliumgroei waargenomen in de hoogste concentraties voedingsoplossing met als ammoniumnitraat Rostock. In de twee weken daarna werd de myceliumgroei steeds ernstiger.
- Vijf weken na toediening van *Trichoderma atroviride* is voor het eerst lichte myceliumgroei waargenomen bij de voedingsoplossing met 75 gram Kristalon per liter en Porsgrunn als ammoniumnitraat.
- Het mycelium is uitgeplaat op een voedingsbodem en na enkele dagen beoordeeld als *Trichoderma*.
- Als een geconcentreerde stockoplossing met Rostock als ammoniumnitraat langer dan twee weken op een praktijkbedrijf worden gebruikt, dan bestaat de kans dat de schimmel *Trichoderma* daarin mycelium gaat vormen.

Bijlage 1. Gegevens pH en EC

ammoniumnitraat	Kristalon (gram/liter)	pH	EC (mS/cm)
Porsgrunn	150	4,3	-
Porsgrunn	75	4,7	-
Porsgrunn	4	6,3	5,6
Porsgrunn	2	6,7	2,8
Porsgrunn	1	7,0	1,4
Rostock (0,08%)	150	4,2	-
Rostock (0,08%)	75	4,6	-
Rostock (0,08%)	4	6,3	5,6
Rostock (0,08%)	2	6,7	2,8
Rostock (0,08%)	1	7,0	1,4
Rostock (0,12%)	150	4,3	-
Rostock (0,12%)	75	4,7	-
Rostock (0,12%)	4	6,4	5,6
Rostock (0,12%)	2	6,7	2,8
Rostock (0,12%)	1	7,1	1,4

- = niet waargenomen

Bijlage 2. Beoordeling myceliumgroei *Trichoderma* na 5 weken

PORSGRUNN	Na 2 weken	Na 3 weken	Na 5 weken
150 gram/l Kristalon	-	-	-
75 gram/l	-	-	++
4 gram/l	-	-	+
2 gram/l	-	-	+ (?)
1 gram/l	-	-	+ (?)
ROSTOCK (0,08%)			
150 gram/l Kristalon	-	-	++
75 gram/l	-	++++	++++
4 gram/l	-	-	+
2 gram/l	-	-	+
1 gram/l	-	-	+ (?)
ROSTOCK (0,12%)			
150 gram/l Kristalon	-	++	+++++ C
75 gram/l	-	++++	++++
4 gram/l	-	-	+
2 gram/l	-	-	+
1 gram/l	-	-	+

- = geen myceliumgroei
- + (?) mogelijk beginnende myceliumgroei
- + = beginnende myceliumgroei
- ++ = lichte myceliumgroei
- +++ = matige myceliumgroei
- ++++ = ernstige myceliumgroei
- +++++ = zeer ernstige myceliumgroei
- +++++ C = zeer ernstige, compacte myceliumgroei

Bijlage 3. Aantal *Trichoderma*-kolonies in voedingsoplossing met 150 gram Kristalon per liter

Kristalon(gram/l)	AN-Porsgrunn			AN-Rostock (0,08%)			AN-Rostock (0,12%)		
	schaal 1	schaal 2	per ml	schaal 1	schaal 2	per ml	schaal 1	schaal 2	per ml
Na 1 week									
herhaling 1	107	112	2189	147	151	2978	129	152	2808
2	130	123	2528	186	196	3818	148	181	3288
3	138	120	2578	201	210	4108	158	190	3478
Na 2 weken									
herhaling 1	131	157	2878	185	196	3808	179	158	3368
2	163	158	3208	192	184	3758	182	191	3728
3	145	155	2998	200	180	3798	152	171	3228
Na 3 weken									
herhaling 1	109	130	2389	129	121	2499	125	122	2469
2	127	143	2698	141	138	2788	138	166	3038
3	148	154	3018	144	155	2988	154	149	3028

Bijlage 4. Aantal *Trichoderma*-kolonies in voedingsoplossing met 75 gram Kristalon per liter

Kristalon(gram/l)	AN-Porsgrunn			AN-Rostock (0,08%)			AN-Rostock (0,12%)		
	schaal 1	schaal 2	per ml	schaal 1	schaal 2	per ml	schaal 1	schaal 2	per ml
75									
Na 1 week									
herhaling 1	88	99	1869	133	132	2648	95	110	2049
2	143	155	2978	140	154	2938	158	143	3008
3	148	159	3068	185	191	3758	145	167	3118
Na 2 weken									
herhaling 1	151	138	2888	184	153	3368	133	132	2648
2	135	134	2688	158	156	3138	154	134	2878
3	132	131	2628	156	160	3158	117	122	2389
Na 3 weken									
herhaling 1	142	174	3158	124	118	2419	102	113	2149
2	143	147	2898	129	128	2568	191	203	3937
3	143	137	2798	128	139	2668	211	229	4397

Bijlage 5. Aantal *Trichoderma*-kolonies in voedingsoplossing met 4 gram Kristalon per liter

Kristalon (gram/l)	AN-Porsgrunn			AN-Rostock (0,08%)			AN-Rostock (0,12%)		
	schaal 1	schaal 2	per ml	schaal 1	schaal 2	per ml	schaal 1	schaal 2	per ml
Na 1 week									
herhaling 1	39	38	770	149	154	3028	100	84	1839
2	127	131	2578	182	202	3838	174	192	3658
3	154	146	2998	219	203	4217	176	206	3818
Na 2 weken									
herhaling 1	129	127	2558	159	145	3038	120	148	2678
2	136	135	2708	130	120	2499	144	129	2728
3	152	151	3028	197	189	3858	148	151	2988
Na 3 weken									
herhaling 1	105	102	2069	45	54	989	90	88	1779
2	146	147	3288	116	91	2069	153	154	3068
3	149	148	2968	143	113	2558	185	164	3488

Bijlage 6. Aantal *Trichoderma*-kolonies in voedingsoplossing met 2 gram Kristalon per liter

Kristalon(gram/l)	AN-Porsgrunn			AN-Rostock (0,08%)			AN-Rostock (0,12%)		
	schaal 1	schaal 2	per ml	schaal 1	schaal 2	per ml	schaal 1	schaal 2	per ml
Na 1 week									
herhaling 1	49	66	1149	141	171	3118	81	86	1669
2	152	164	3158	165	163	3278	170	144	3138
3	184	186	3698	129	134	2628	166	157	3228
Na 2 weken									
herhaling 1	131	89	2199	159	142	3008	146	123	2688
2	131	116	2469	101	109	2099	109	96	2049
3	130	132	2618	88	99	1869	64	77	1409
Na 3 weken									
herhaling 1	35	39	740	75	82	1569	85	68	1529
2	143	148	2908	123	122	2449	116	130	2459
3	96	82	1779	102	79	1809	126	129	2548

Bijlage 7. Aantal *Trichoderma*-kolonies in voedingsoplossing met 1 gram Kristalon per liter

Kristalon(gram/l)	AN-Porsgrunn			AN-Rostock (0,08%)			AN-Rostock (0,12%)		
	schaal 1	schaal 2	per ml	schaal 1	schaal 2	per ml	schaal 1	schaal 2	per ml
Na 1 week									
herhaling 1	50	54	1039	37	55	919	56	66	1219
2	101	72	1729	124	116	2399	132	136	2678
3	146	148	2938	107	110	2169	124	120	2439
Na 2 weken									
herhaling 1	95	90	1849	121	86	2069	124	102	2259
2	96	68	1639	127	144	2708	154	124	2778
3	76	75	1509	92	86	1779	55	74	1289
Na 3 weken									
herhaling 1	34	32	660	59	63	1219	45	47	919
2	75	80	1549	112	135	2469	109	132	2409
3	64	47	1109	86	85	1709	89	85	1739