

# Beïnvloedt mengteelt de ziekteverendheid van bodems tegen bodempathogenen?

G.A. Hiddink<sup>1</sup>, A.J. Termorshuizen<sup>1</sup>, J.M. Raaijmakers<sup>2</sup> en A.H.C. van Bruggen<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Biologische Bedrijfssystemen, Wageningen Universiteit, Marijkeweg 22, 6709 PG Wageningen, Nederland.

<sup>2</sup> Laboratorium voor Fytopathologie, Wageningen Universiteit, Binnenhaven 5, 6709 PD Wageningen, Nederland.

## Samenvatting

Mengteelten worden veelal beschouwd als stabiele teeltsystemen met een grotere oogstzekerheid dan monoculturen en minder schade door pathogenen. Uit kasexperimenten waarin de ziekteverendheid tegen drie bodempathogenen werd bepaald van grond afkomstig van een mono- of mengteelt bleek dat de ziektevering niet werd verhoogd door de toepassing van een mengteelt in het veld. De ziekteverendheid van de bodem bleek meer afhankelijk van het gewas dat erop geteeld werd, waarbij de teelt van gerst de meest ziekteverende grond bleek op te leveren. Nitraat- en ammoniumconcentraties van de grond waren niet gecorreleerd met de ziekteverendheid. Ook blijkt dat mengteelt niet of in slechts geringe mate een relatie heeft met de microbiële populatiesamenstelling (bepaald met DGGE) buiten de rhizosfeer. Ook de microbiële activiteit in een mengteelt was niet hoger dan die van een monocultuur. Ondanks het feit dat de ziekteverendheid van grondmonsters niet werd verhoogd door het telen van een menggewas heeft de teeltwijze wel positieve effecten zoals een hogere opbrengst aan organische stof en minder problemen met ziekten en onkruiden in de geteelde menggewassen zelf.

## Inleiding

Beheersing van bodemziekten in de hedendaagse landbouw zorgt voor steeds grotere problemen door verschraving van het aanbod van gewasbeschermingsmiddelen in combinatie met de nauwe vruchtwisseling die gebruikelijk is in de gangbare landbouw. Aanvullende maatregelen om bodempathogenen te beheersen zijn daarom noodzakelijk. Twee beheersstrategieën kunnen daarvoor gebruikt worden: (1) beheersing van het pathogeen met biologische bestrijders en (2) het voorkomen van schade door gebruik van resistente rassen of cultuurmaatregelen. Bij dit laatste valt te denken aan het gebruik van organische stof (bv.

compost) en ruimere vruchtwisseling (zoals in de biologische teelt gebruikelijk is). Genoemde cultuurmaatregelen zijn gerelateerd aan diversiteit van planten (vruchtwisseling en mengteelt), dan wel aan grotere aantallen, hogere activiteit of diversiteit van micro-organismen (organische-stofbeheer). Daarbij zijn er aanwijzingen dat ziekte-onderdrukking gerelateerd is aan de diversiteit van microbiële gemeenschappen (Workneh en van Bruggen, 1994).

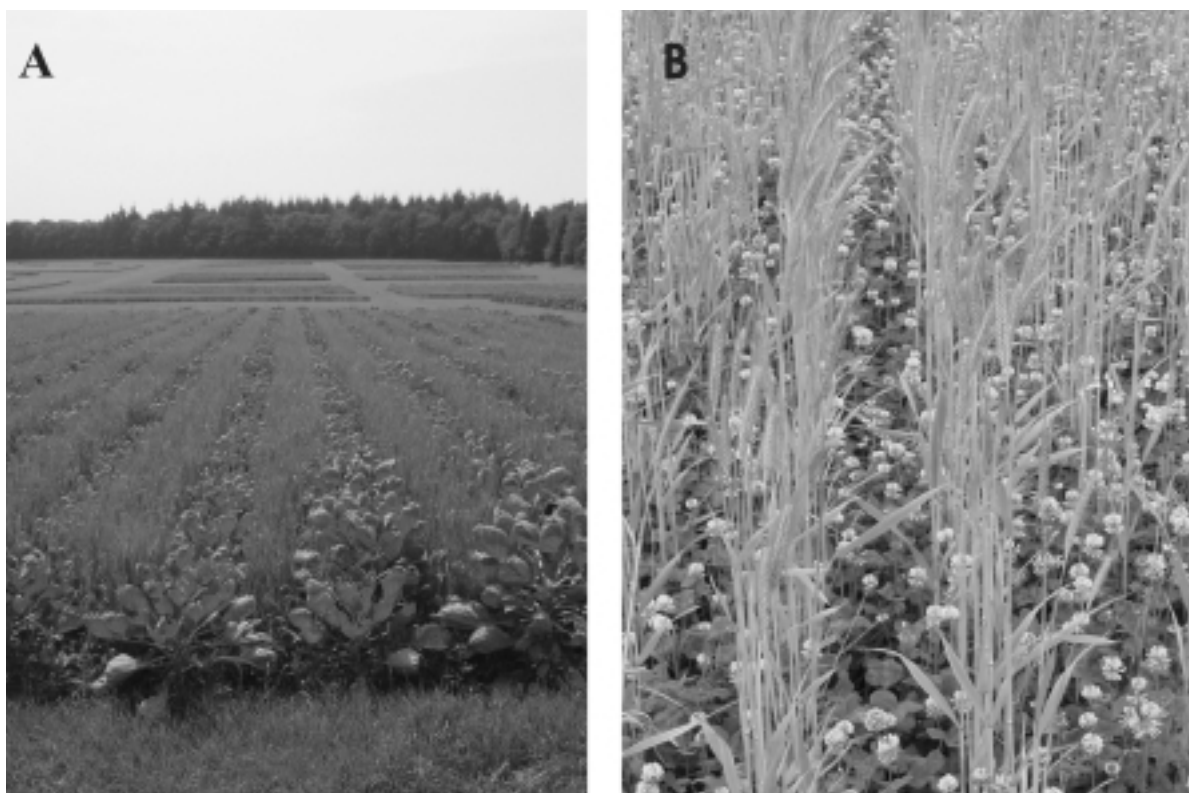
Het is algemeen bekend dat het gebruik van gewasdiversiteit in de tijd door middel van vruchtwisseling schade door bodempathogenen verminderd. De vraag is of ge-

wasdiversiteit op een perceel door middel van mengteelt effectief is tegen bodemgebonden plantpathogenen. We hebben ons geconcentreerd op de vraag of het gebruik van gewasdiversiteit resulteert in een meer ziekteverende bodem of dat ziekteverende effecten alleen aanwezig zijn door de verminderde dichtheid aan vatbare planten (Burdon en Chilvers, 1976) en door maskeereffecten (Gilbert et al, 1994) door vermenigving van plantspecifieke microbiële gemeenschappen in de rhizosfeer. Vermenging van rhizosferen en gewasresten in een mengteelt zou een substraat op kunnen leveren dat, zeker op lange termijn, een diverse microbiële gemeenschap ondersteunt. Hierdoor zou een algemeen mechanisme van ziekteonderdrukking in de grond kunnen ontstaan zodat een verscheidenheid aan bodempathogenen minder kans krijgt.

## Ziekteveringstoetsen

De ziekteverendheid werd bepaald van gronden, beteeld met spruitkool (*Brassica oleracea* L. cv. Maximus), gerst (*Hordeum aestivum* L. cv. Video), of de combinatie van deze gewassen (Figuur 1A) en van grond beteeld met triticale (*X Triticosecale* Wittm. cv. Galtjo), witte klaver (*Trifolium repens* L. cv. Pertina) of het triticale-witte klavermengsel (Figuur 1B).

ARTIKEL



Figuur 1. Velden waarop mono- en mengculturen spruitkool-gerst (A) en triticale-witte klaver (B) werden geteeld en waarvan de gronden zijn getest op hun ziekteverendheid.

Op verschillende tijdstippen werden grondmonsters genomen, gezeefd, besmet met een pathogeen en beteeld met een waardplant om de ziekteverendheid te toetsen.

De ziekteverendheid tegen *Rhizoctonia solani* AG 1 (waardplant: wortel), *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* (waardplant: vlas) en *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*

(waardplanten: gerst en triticale) werd bepaald in biotoetsen. Deze drie pathogenen zijn gekozen omdat hun ecologie sterk verschilt, waardoor ze mogelijk gevoelig zijn voor verschillende mechanismen van onderdrukking. Naast ziekteverendheid werden nitraat- en ammoniumconcentraties in de grond, de pH en de bodemrespiratie bepaald, alsmede de structuur van de microbiële gemeenschap met behulp van PCR-DGGE (zowel de bacteriën (16S) als de schimmels (18S)).

Tabel 1. Ziekteverendheid van gronden beteeld met mono- en mengculturen van spruitkool/gerst- en triticale/witte klavercombinaties, uitgedrukt als de hoeveelheid ziekte die optreedt in een vatbaar gewas na besmetting van de beteelde grond met een pathogeen.

Gewas	Biotoets		
	RS <sup>1</sup>	FOL	GGT
Spruitkool <sup>2</sup>	90,1 <sup>3</sup>	10,8a <sup>4</sup>	4,2
Gerst	83,0	9,2b	2,8
Spruitkool-gerst	71,3	10,9a	3,7
Triticale	46,8	10,1	3,6
Witteklaver	56,3	9,9	4,2
Triticale-witteklaver	42,7	10,6	3,3

<sup>1</sup> Biotoetsen uitgevoerd met *R. solani*-wortel, *Foxysporum* f.sp. *lini*-vlas en *G. graminis* var. *tritici*-gerst (spruitkool-gerst) of triticale (triticale-witte klaver).

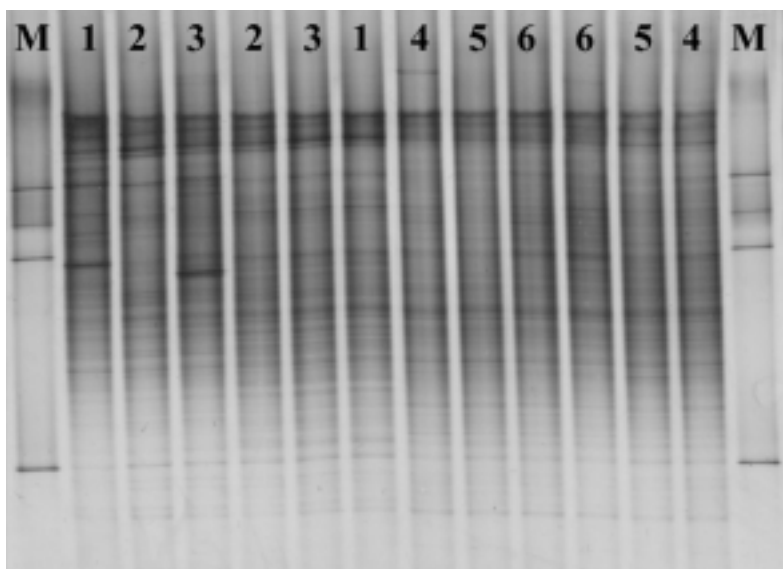
<sup>2</sup> Biotoetsen werden uitgevoerd met gronden van de locaties Achterberg en Wageningen Hoog (spruitkool-gerst) of met grond van de locatie Bornsesteeg Wageningen (triticale-klaver).

<sup>3</sup> Ziektescores zijn AUDPC's (oppervlakte onder de ziekte-voortschrijdingscurve) in de RS en FOL biotoetsen en gemiddelde ziekteklassen in de GGT biotoetsen.

<sup>4</sup> Verschillende letters achter de ziektescores geven binnen de kolom en binnen de gewascombinaties spruitkool-gerst of triticale-witte klaver significante verschillen aan (P=0,05).

## Resultaten uit de ziekteveringstoetsen

Het telen van een mengteelt blijkt de ziekteverendheid van gronden niet te verhogen (Tabel 1); integendeel, in de *F. oxysporum*-vlas biotoets is er significant meer ziekte in de met spruitkool-gerst beteelde grond dan in de grond waarop een monocultuur gerst werd geteeld. Ook in de biotoets



Figuur 2. Typisch voorbeeld van een bacterie DGGE-gel. Het gebruikte PCR-product is verkregen door amplificatie het 16S ribosomaal DNA (bacterie specifiek) extract van de mono- en mengculturen van spruitkool en gerst van twee verschillende locaties (Achterberg: 1 = spruitkool, 2 = gerst, 3 = spruitkool-gerst. Wageningen Hoog: 4 = spruitkool-gerst, 5 = gerst, 6 = spruitkool).

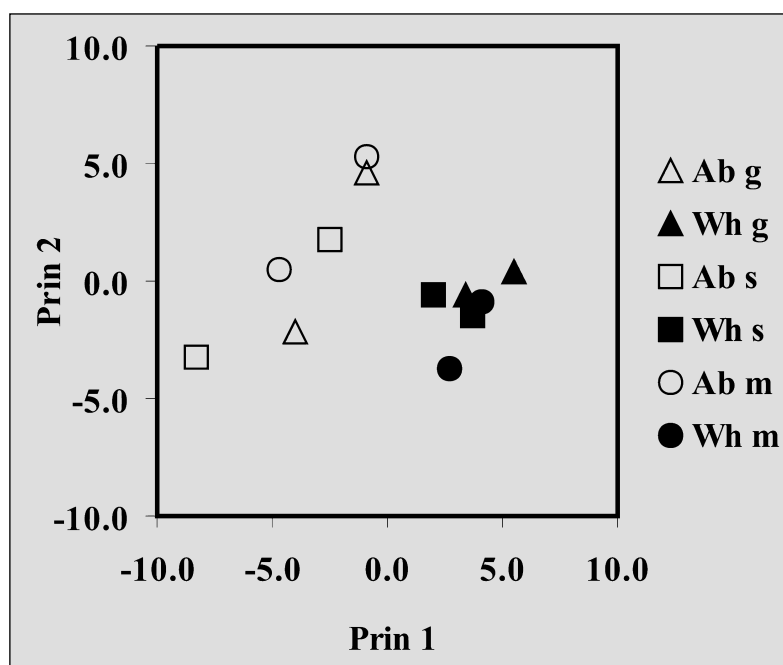
met *G. graminis* waren ziektescores het laagst (maar niet significant) op met gerst beteelde grond (Tabel 1). Analyse van alle biotoetsen met spruitkool/gerst-grond samen gaf aan dat ziekteverendheid van de alleen met gerst beteelde gronden significant hoger was ( $P < 0,01$ ) dan van gronden alleen beteelde met spruitkool. De ziekteverendheid van de met een mengteelt beteelde gronden was echter niet significant anders dan die van beide monoculturen. Tussen de grondmonsters van triticale-witte klaver mono- en mengteelten werden geen significante verschillen in ziekteverendheid gevonden.

Analyse van de spruitkool-gerst en triticale-witte klaver biotoetsen samen (monocotylen getest tegen dicotylen en de mengsels) liet zien dat gronden beteelde met monocotylen (grasachtigen) meer ziekteverend waren dan gronden beteelde met de dicotylen ( $P = 0,02$ ). De ziektevering van met mengsels beteelde gronden bleken niet significant te verschillen van monoculturen.

Verskil in ziekteverendheid van gronden beteelde met verschillende plantensoorten is eerder beschreven. Permanent met gras beteelde gronden bleken *R. solani* (AG 3)

meer te onderdrukken dan dezelfde gronden beteelde met maïs (Garbeva *et al.*, 2004). Het is opvallend dat ook in onze biotoetsen de gronden beteelde met grasachtigen (gerst) de laagste ziektescores vertonen (hoewel dit niet altijd significant was). Een mogelijke verklaring zou kunnen zijn dat gewasresten (stro) van grasachtigen minder stikstof bevatten dan die van de andere gewassen. Verschillen in stikstofconcentratie in de bodem bleken echter gering te zijn en niet te zijn gerelateerd aan de ziektescores.

Van de spruitkool werd verwacht dat deze een fumigerend effect zou hebben in de bodem en daarmee het bodemleven (pathogenen, maar ook nuttige micro-organismen) aanzienlijk zou beïnvloeden zoals is aangetoond voor bijvoorbeeld nitrificerende bacteriën (Bending en Lincoln, 2000). Dit fenomeen werd echter niet waargenomen. Mogelijk werd dit veroorzaakt doordat de gebruikte cultivar (Maximus) een



Figuur 3. Principale componentenanalyse van de mate van samenhang tussen de microbiële gemeenschappen van de verschillende gronden die gebruikt zijn in de FOL-biotoets (spruitkool-gerst). Ab = locatie Achterberg, Wh = locatie Wageningen Hoog, g = gerst, s = spruitkool, m = mengteelt. De prin-1-as verklaart 33,6% en de prin-2-as 14,5% van de aanwezige variatie.

laag gehalte aan glucosinolaten bevat, welke verantwoordelijk zijn voor de fumigatieproducten (Drobnica *et al.*, 1967).

De ziekteverendheid in de met gerst beteelde gronden lijkt beter (alhoewel niet significant) te zijn dan die van met triticale beteelde gronden en is mogelijk toe te schrijven aan het feit dat de triticale op een andere locatie groeide waardoor biotische en abiotische eigenschappen van de grond de ziektevering kunnen hebben beïnvloed. Plant-specifieke invloeden kunnen echter ook niet worden uitgesloten. Triticale bevat hydroxamidezuren en gerst niet (samengevat in Niemeyer, 1988). De anti-microbiële werking van aanwezige hydroxamidezuren in gewasresten van triticale beïnvloeden mogelijk de microbiële gemeenschap in de bodem, wat zou kunnen resulteren in minder ziektevering in met triticale beteelde grond.

## Microbiële gemeenschappen

Afgaande op de resultaten van de ziekteverendheidstoetsen werden geen grote verschillen tussen de microbiële gemeenschappen (biodiversiteit) verwacht. De gemeten hoeveelheid vrijgekomen CO<sub>2</sub>, als maat voor microbiële activiteit in de bodem, bleek niet significant te verschillen tussen de mono- en mengteelten triticale-witte klaver. De DGGE-patronen van zowel bacteriën als van schimmels verschilden weinig tussen de mono-

en mengteelten (Figuur 2). De locatie-specifieke eigenschappen overschaduwden het effect van de gewassen op de microbiële samenstelling buiten de rhizosfeer (Figuur 3). Shannon-Weaver indices, verkregen na analyse van PCR-DGGE microbiële populatieprofielen, leverden geen verschillen op tussen de verschillende gewasbehandelingen.

Ook de aanwezige dominante banden konden niet worden gerealiseerd aan lagere ziektescores. De betere ziektevering in de met gerst beteelde gronden is dus waarschijnlijk veroorzaakt door andere groepen of factoren dan die door ons zichtbaar gemaakt konden worden met DGGE.

## Conclusies

Uit de resultaten valt op te maken dat de teelt van een menggewas niet noodzakelijk leidt tot een verhoging van de ziekteverendheid tegen pathogene bodemschimmels in een volgend gewas. Ziekteverendheid van de grond wordt echter wel beïnvloed door gewassen die er op worden geteeld en grasachtigen lijken een meer ziekteverende grond achter te laten dan de andere onderzochte dicotyle gewassen. Verschillen in ziektevering komen niet tot uitdrukking in PCR-DGGE analyses van algemene bacterie- en schimmelpopulaties in de grond. Lange-termijneffecten als de opbouw van organische stof door de grotere biomassa-productie in mengteelten zijn door ons niet onderzocht maar hebben mogelijk wel hun

weerslag op de microbiële gemeenschap en ziektevering. Onderdrukking van bodempathogenen in een mengteelt zelf is overigens een beschreven en werkend mechanisme door verdunning van 'aanbod' van de waardplant maar berust dus op andere principes dan die wij onderzocht hebben. Verder leidt mengteelt ook tot duidelijke vermindering van door de lucht verspreide plaaginsecten en schimmelziektes (samengevat door Wolfe, 1985).

## Referenties

- Bending, G.D., and Lincoln, S.D. 2000. Inhibition of soil nitrifying bacteria communities and their activities by glucosinolate hydrolysis products. *Soil Biology & Biochemistry* **32**:1261-1269.
- Burdon, J.J., and Chilvers, G.A. 1976. Epidemiology of pythium-induced damping-off in mixed species seedling stands. *Annals of Applied Biology* **82**:233-240.
- Drobnica, L., Zemanová, M., Nemeč, P., Antoš, K., Kristiá, P., Štullerová, A., Knopová, V., and Nemeč, P. jr. 1967. Antifungal activity of isothiocyanates and related compounds. *Applied Microbiology* **15**:701-709.
- Garbeva, P., Veen, J.A. van, and Elsas, J.D. van 2004. Assessment of the diversity, antagonism towards *Rhizoctonia solani* AG3, of *Pseudomonas* species in soil from different agricultural regimes. *FEMS Microbiology Ecology* **47**:51-64.
- Gilbert, G.S., Handelsman, J., Parke, J.L. 1994. Root camouflage and disease control. *Phytopathology* **84**:222-225.
- Niemeyer, H.M. 1988. Hydroxamic acids (4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones), defence chemicals in *Gramineae*. *Phytochemistry* **27**:3349-3358.
- Wolfe, M.S. 1985. The current status and prospects of multiline cultivars and variety mixtures for disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, **23**:251-273.
- Workneh, F., and Bruggen, A.H.C. van 1994. Microbial density, composition and diversity in organically and conventionally managed rhizosphere soil in relation to suppression of corky root of tomatoes. *Applied soil ecology* **1**:219-230.