

db

Bibliotheek
Proefstation
Naaldwijk

A

1

N

17

PROEFSTATION VOOR DE GROENTEN- EN FRUITTEELT ONDER GLAS,
TE NAALDWIJK.

Ontwikkeling van het bacterieleven in de grond na stomen, invloed van
uitspoelen op verschillende tijdstippen na het stomen, 1966 - 1967.

door:

L. Nederpel Jr.

Naaldwijk, 1968.

2233119

A
1
N
17

14471 + 14473 + 3520

Stambuch nr.
2305

PROEFSTATION VOOR DE GROENTEN- EN FRUITTEELT ONDER GLAS TE NAALDWIJK

Ontwikkeling van het bacterieleven in de grond na stomen.

Invloed van uitspoelen op verschillende tijdstippen na het stomen.

BIBLIOTHEEK
Proefstation voor de Groenten- en
Fruittelt onder Glas te Naaldwijk.

1966 - 1967

Inleiding

In vele gevallen verloopt een slateelt minder succesvol indien er vóór de teelt gestoomd wordt.

Onderzoek heeft uitgewezen dat deze nadelige effecten verminderd kunnen worden, indien na het stomen gespeeld wordt.

Ten einde na te gaan of dit uitspoelen ook invloed heeft op de ontwikkeling van het bacterieleven, zijn enkele proeven uitgevoerd. Hierbij zijn op verschillende tijdstippen bacteriestellingen verricht, zowel zonder dat gespeeld werd als nadat de grond enige tijd na het stomen uitgespoeld was.

Doel

De invloed van het stomen van de grond op de ontwikkeling van de bacteriënflora na te gaan, indien op verschillende tijdstippen doorgespoeld wordt. Als criterium hiervoor wordt het zg totaal bacteriegetal genomen.

Opzet

De monsters werden in B8 in de navolgende behandelingen in duplo gestoken.

1. Na stomen niet spoelen
2. Direkt na stomen spoelen
3. Drie dagen na het stomen spoelen
4. Dertig dagen na het stomen spoelen
5. Ongestoomd.

Het stomen geschiedde op 8 september door middel van stoomzeilen gedurende 10 uur. De grond werd doorgespoeld met leidingwater en uitgevoerd door de afdeling bodem- en bemesting.

Uitvoering

De monsters werden op 9 september, 13 september, 27 september en 3 oktober gestoken uit de vakken met volgnummer 20; 15; 17 en 14. De behandeling dertig dagen na het stomen spoelen werd alleen op 9 september en 3 oktober ingezet.

Voor de ligging van de vakken zie men de plattegrond op bijlage 1. De monsters gestoken op 9 september zijn in enkelvoud ingezet. Dit was direkt na het stomen voordat de diverse spoelbehandelingen werden uitgevoerd.

Het totale bacteriën getal werd volgens de plaatmethode bepaald¹⁾. Hiertoe werd 10 gram grond afgewogen en in steriel water gesuspenseerd tot 100 cc. (verduunning 1:10).

Hiervan werden de verschillende verdunningen gemaakt n.l. 1:100; 1:1000; 1:10.000; 1:100.000; 1:1.000.000. Van de verdunningen 1:10.000; 1:100.000 en 1 : 1000.000 werd in een drietal schalen elk 1 cc gepipetteerd.

Hierop werd een afgekoelde vloeibare agar voedingsbodem gegoten, waarna de schalen 4 dagen in een thermostaat bij 27°C werden gezet. Na het bebroeden wordt het aantal kolonies geteld. De meest betrouwbare resultaten²⁾ worden verkregen indien niet meer dan 40-200 kolonies per plaat voorkomen.

De gebruikte voedingsbodem had de volgende samenvatting:

Gedemineraliseerd water		1000 cc
Agar-agar		15 %
Glucose		1 %
Pepton		0,025 %
CaCO ₃	p.a	0,02 %
NH ₄ CL	p.a	0,02 %
K ₂ HPO ₄	p.a	0,02 %
MgSO ₄	7 eq p.a	0,02 %

Bij elke bepaling werd 1 controle schaal ingezet, waarin uitsluitend voedingsbodem was gedaan.

Resultaten:

Op de bijlage 2 en 3 zijn van de verschillende behandelingen het aantal getelde kolonies per plaat weergegeven.

Op bijlage 4 en grafiek 1 zijn de totale aantallen bacteriën per gram grond voorkomende in diverse behandelingen per parallel uitgezet, terwijl op grafiek 2 het gemiddelde aantal bacteriën per gram grond is uitgezet.

Direkt na het stomen, voordat de verschillende speelbehandelingen werden uitgevoerd, bleek het totale bacteriën getal rond de 16.000.000 bacteriën per gram grond te liggen.

Het totale bacteriën getal schommelde bij ongestoemd van 17 miljoen tot 60 miljoen bacteriën per gram grond.

Speelen direkt of drie dagen na het stomen bleek een grote invloed te hebben op de ontwikkeling van het totale bacteriënleven in de grond; de toename van het aantal bacteriën per gram grond bleek veel groter te zijn dan niet spelen en dertig dagen na het stomen spelen.

De toename van de bacteriën, indien dertig dagen na het stomen gespoeld werd, is te vergelijken met het niet gespoeld object. Hiervan werden alleen op 9 september en 3 oktober monsters ingezet. (stippellijn in grafiek 2).

Schimmel kolonies werden alleen waargenomen bij de schalen van het object ongestoemd.

Conclusies

Indien direkt of een paar dagen na het stomen de grond gespoeld wordt herstelt de bacteriënflora zich veel sneller dan wanneer niet gespoeld wordt of pas 30 dagen na het stomen gespoeld wordt.

De proefnemer,

L. Nederpel.

Litteratuur.

1. F.C. Gerritsen. Bodembacteriologie in dienst van land- en tuinbouw. Rijkslandbouw proefstation.
2. A. Waksman. Principles of soil microbiology 1932.
3. Methods of soil Analysis Part. 2 1965.

PLATTEGROND B. 8. 1

Buiten de proef					
Ongestoemd	10	20	30	40	Ongestoemd
	9	19	29	39	
	8	18	28	38	
	7	17	27	37	
	6	16	26	36	
	5	15	25	35	
	4	14	24	34	
	3	13	23	33	
	2	12	22	32	
	1	11	21	31	
Buiten de proef					1 poot

1 kap

- 20 - na stomen niet spoelen
- 15 - direkt na stomen spoelen
- 17 - drie dagen na stomen spoelen
- 14 - dertig dagen na stomen spoelen

BIJLAGE 2

AANTAL GETELDE KOLONIES PER PLAAT

Behandeling	Paral- lel	Inzetda- tum	1:10.000			1:100.000			1:1.000.000			
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Ongestoemd	A	9 sept.		-	-	176	172	187	-	-	-	
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	A	13 sept.	672	660	692	295	231	183	29	28	27	
	B	"	760	760	832	155	120	102	17	21	14	
	A	27 sept.	648	600	723	201	181	180	79	62	19	
	B	"	856	892	916	243	229	196	64	47	41	
	A	3 okt.	760	992	920	247	211	342	59	54	23	
	B	"	1280	824	864	200	465	173	23	29	22	
	Na stomen niet speelen	A	9 sept.	744	780	852	225	252	221	-	-	-
		B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		A	13 sept.	692	708	880	113	145	125	38	40	34
		B	"	848	676	772	136	152	123	33	29	44
A		27 sept.	1332	1240	1432	494	442	544	162	135	138	
B		"	1372	1268	1544	186	419	259	89	71	102	
A		3 okt.	1112	972	1168	236	140	190	29	30	28	
B		"	1356	1260	1240	246	242	235	46	44	62	

BIJLAGE 3

AANTAL GETELDE KOLONIES PER PLAAT

Behandeling	Paral- lel	Insetda- d a t u m	1:10.000			1:100.000			1:1.000.000			
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Direkt na stomen spoelen	A	9 sept.	608	856	624	274	133	179	-	-	-	
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	A	13 sept.	2704	2512	2752	708	764	540	161	184	196	
	B	13 sept.	3560	-	2856	884	848	672	142	181	157	
	A	27 sept.	2324	2024	2032	904	804	744	114	112	106	
	B	27 sept.	3152	1778	2228	748	665	696	161	136	173	
Drie dagen na stomen spoelen	A	3 okt.	3744	4008	3616	1180	1308	996	460	372	368	
	B	3 okt.	4244	4216	3400	1020	1044	1104	162	158	175	
	A	9 sept.	-	-	-	346	772	236	99	194	106	
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	A	13 sept.	2512	2420	3184	740	1052	720	109	110	100	
	B	13 sept.	3816	3544	2720	912	864	844	108	101	116	
	A	27 sept.	2168	2028	2030	728	1276	969	150	176	207	
	B	27 sept.	1872	2704	1600	1012	832	828	228	208	240	
	A	3 okt.	1916	1756	1696	1100	976	1280	153	148	137	
	B	3 okt.	1620	1656	-	548	628	536	88	62	89	
	Dertig dagen na stomen spoelen	A	9 sept.	341	836	1488	167	176	159	-	-	-
		B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A		3 okt.	1996	1708	-	596	656	692	128	119	134	
B		3 okt.	1944	1832	1856	369	500	496	109	80	82	

TOTAAL AANTAL BACTERIEN PER GRAM GROND

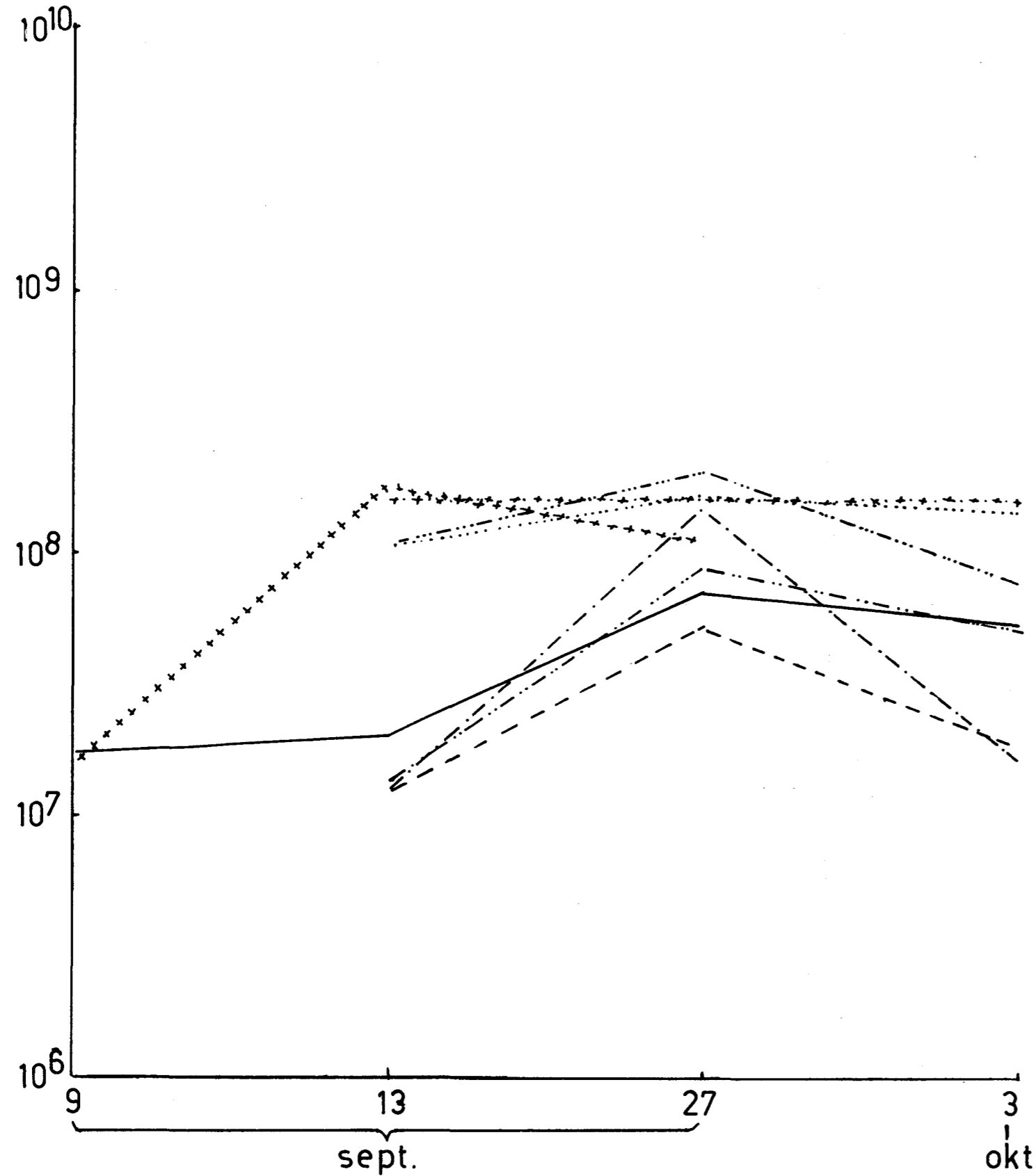
BIJLAGE 4

Insetda- datum	Par.	Ongestoemd	Na stomen niet spoelen	Direkt na stomen spoe- len	Drie dg na stomen spoelen	Dertig dg na stomen spoelen
9 sept.	A	17.800.000	-	15.600.000		16.750.000
	B	-	-	-	-	-
	gem	17.800.000	-	15.600.000		16.750.000
13 sept.	A	20.700.000	12.750.000	180.000.000	106.000.000	-
	B	12.550.000	13.700.000	160.000.000	108.300.000	-
	gem	16.625.000	13.225.000	170.000.000	107.100.000	-
27 sept.	A	70.500.000	145.000.000	110.000.000	163.000.000	-
	B	50.700.000	87.300.000	156.600.000		-
	gem	60.600.600	116.150.000	133.300.000	163.000.000	-
3 okt.	A	56.500.000	16.500.000	-	146.000.000	127.000.000
	B	18.600.000	50.600.000	165.000.000	79.600.000	90.300.000
	gem	37.550.000	33.550.000	165.000.000	112.800.000	108.650.000

Totaal aantal bacteriën per gram grond per parallel

grafiek 1

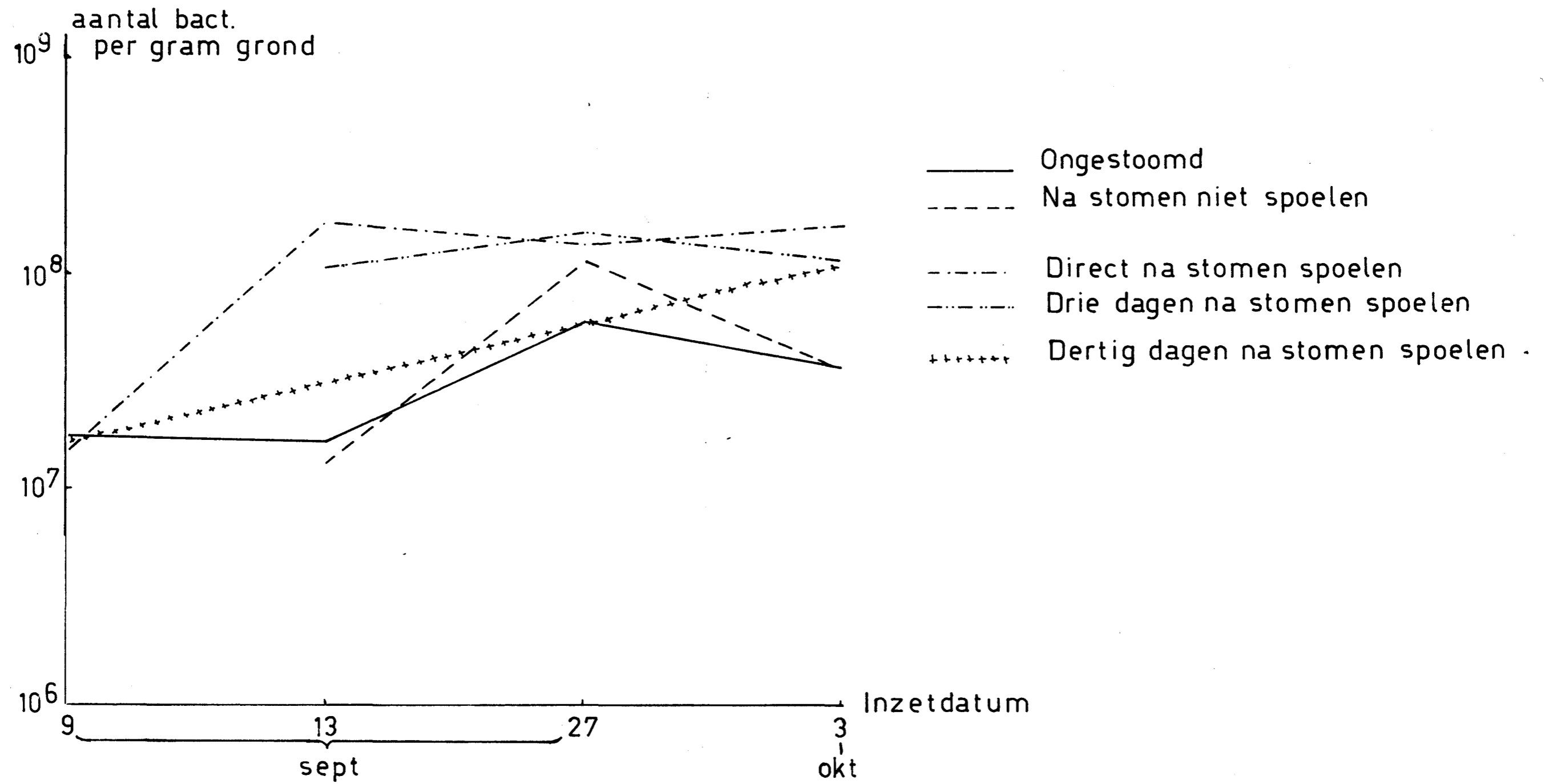
Totaal aantal bacteriën per gram grond



- Ongestoomd A
- - - Ongestoomd B
- . - . Na stomen niet spoelen A
- . . . Na stomen niet spoelen B
- + + + + + Direct na stomen spoelen A
- + Direct na stomen spoelen B
- Drie dagen na stomen spoelen A
- Drie dagen na stomen spoelen B

Inzetdatum

Totaal aantal bacteriën per gram grond van de behandelingen



Proef II 1967.

Doel: De invloed van het stomen van de grond op de ontwikkeling van de nitrificerende bacteriën na te gaan, indien op verschillende tijdstippen doorgespoeld wordt.

Opzet: De monsters werden in de volgende behandelingen in duplo in A 12 gestoken.

1. Na stomen niet spoelen.
2. Direct na stomen spoelen.
3. Drie dagen na stomen spoelen.
4. Twintig dagen na stomen spoelen.

Het stomen geschiedde op 19 september door middel van stoomzeilen gedurende 15 uur. De grond werd gespoeld met leidingwater en uitgevoerd door de afdeling Bodem en Bemesting.

Uitvoering: Voor de behandelingen "Na stomen niet spoelen" en ongestoemd werden de monsters op 15 september, 26 september, 17 oktober, 26 oktober, 21 november en 19 december uit de vakken met volgnummer (23) 18 en 24 gestoken. (Zie bijlage 1).

Het object ongestoemd werd alleen op 15 september ingezet.

Voor de behandeling twintig dagen na stomen spoelen werden de monsters gestoken op 17 oktober, 26 oktober, 21 november en 19 december uit het vak met volgnummer 23.

Voor behandeling 2 en 3 werden de monsters op bovengenoemde data gestoken uit de vakken met volgnummer 1 en 24 respectievelijk. Op 21 november en 19 december werd het leidingwater op het voorkomen van nitrificerende bacteriën onderzocht doch met negatief resultaat.

Van dese monsters werd 10 gram grond afgewogen en gesuspendeerd tot 100 ml (verdunding 1:10). Hiervan werden de navolgende verdunningen gemaakt 1:100; 1:1.000; 1:10.000; 1:100.000 en 1:1.000.000. Van elk van dese verdunningen werd 1 ml gepipeteerd in een zestal reageerbuisen waarin 10 ml steriele voedingsoplossing was gedaan.

Bij elke verdunning werd een controle buis ingezet welke alleen de voedingsoplossing bevatte.

De buizen werden gedurende 3 weken bewaard bij 27°C in een thermostaat.

De voedingsoplossing voor de ophopingscultuur heeft de volgende samenstelling.

Gedemineraliseerd water			1000 cc.
$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	p.a		0,1 %.
NaNO_2	p.a		0,1 %.
K_2HPO_4	p.a		0,1 %
MgSO_4	7.aq.	p.a	0,05 %
NaCl	p.a		0,1 %
CaCO_3	p.a		0,2 %
FeSO_4	7.aq.	p.a	0,01 %

Na het bebroeden werd een nitraatreactie uitgevoerd.

Van de te onderzoeken vloeistof wordt 5 ml in een reageerbuis bij voorkeur geen krijt neerslag. Daarna wordt toegevoegd 5 ml 1% ureum en 2 ml 10% H_2SO_4 .

Dit wordt voorzichtig tot koken verhit waardoor eventueel aanwezig nitriet wordt ontleed.

Na afkoeling wordt de buis schuingehouden en 3 ml. geconcentreerd H_2SO_4 , waarin een mespuntje di-phenyl-amine per 100 ml is opgelost, toegevoegd.

Op het scheidingsvlak ontstaat bij aanwezigheid van nitraat een donkerblauwe ring. Na enige tijd kan de gehele vloeistof blauw kleuren, hoewel deze speedig in een groene kleur kan overgaan.

Uit de verhouding van het aantal positieve en negatieve buizen bij een bepaalde verdunning kan aan de hand van de volgende tabel de meest waarschijnlijke concentratie bepaald worden.

p	q	c	P	p	q	c	P
6	1	0.2	1.00	5	1	0.2	1.00
-	2	0.4	0.83	-	2	0.4	0.80
-	3	0.6	0.56	-	3	0.8	0.58
-	4	1.0	0.50	-	4	1.4	0.54
-	5	1.7	0.51	-	5	>1.5	
-	6	>2.0					

p = totaal aantal buizen

q = aantal buizen met een positieve reactie

c = concentratie

P = De grootste kans dat de aantallen genoemd onder c werkelijk aanwezig zijn.

Door de concentratie (c) te vermenigvuldigen met de verdunning krijgen we het aantal bacteriën per gram grond.

De beste en betrouwbaarste resultaten worden verkregen, indien

q = 25 à 40 % van p.

Resultaten: Op bijlage 2 t/m 5 zijn het aantal positieve en negatieve buizen per inzetdatum weergegeven met in de laatste kolom het aantal nitrificerende bacteriën per gram grond in vergelijking met ongestoemd.

Op bijlage 6 zijn de aantallen nitrificerende bacteriën voorkomende in de diverse behandelingen per parallel en gemiddeld op de verschillende inzet data weergegeven. Dit is tevens weergegeven op de grafieken 1 en 2.

Direkt na het stomen werden geen nitrificerende bacteriën gevonden, hetgeen wijst op een totale vernietiging van deze nitrificerende bacteriën.

Een zeer snelle en sterke toename van deze bacteriën werd gevonden indien direkt of drie dagen na het stomen gespoeld werd.

De toename van het aantal nitrificerende bacteriën verliep trager als twintig dagen na stomen gespoeld werd, terwijl de herkolonisatie bij niet spoelen na het stomen zeer traag verliep.

Deze herkolonisatie is niet ontstaan door het leidingwater, waarmee gespoeld is, daar hierin geen nitrificerende bacteriën werden gevonden. Waarschijnlijk is door het spoelen het milieu gunstiger geworden waardoor de nitrificerende bacteriën zich sneller hebben kunnen vermeerderen.

Conclusie:

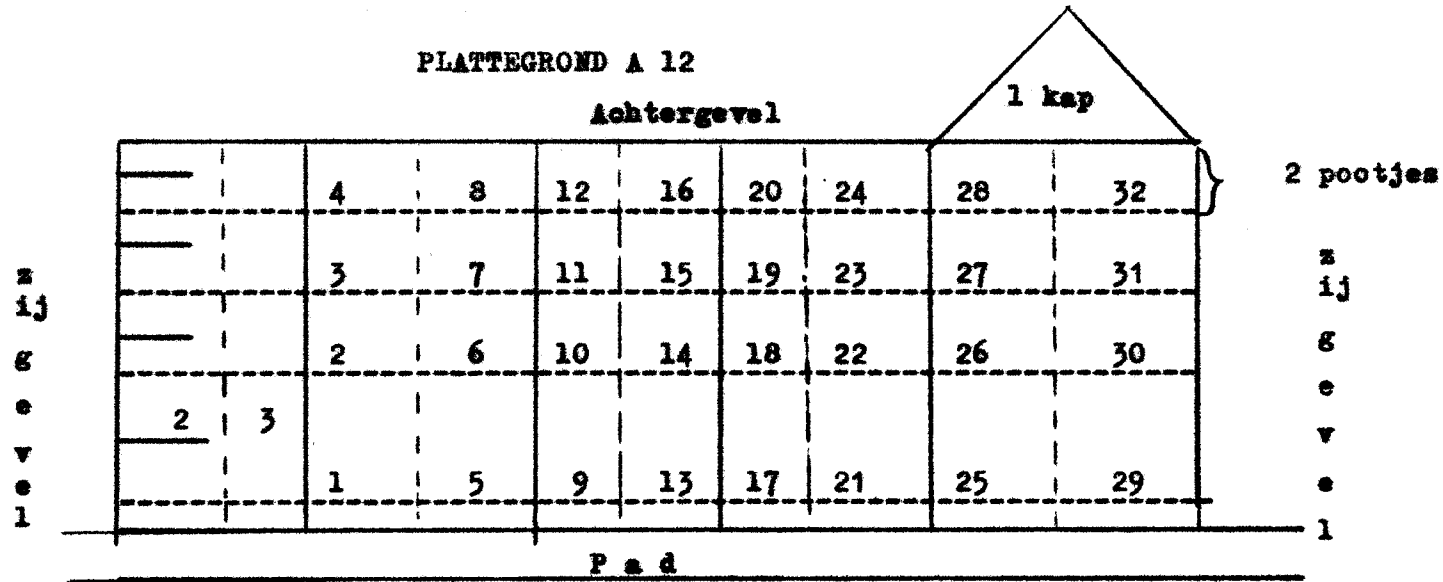
Direkt of een paar dagen na het stomen spoelen heeft een gunstig effect op de ontwikkeling van de nitrificerende bacteriën.

De proefnemer,

L. Nederpel.

Litteratuur:

1. C.W. Harmsen. Het microbiologisch grondonderzoek Deel III van de rapporten met betrekking tot de onderzoekingen in de Andijker proefpolder, gedurende de eerste vier cultuurjaren 1927-1931.
2. Methods of Soil Analysis. Part. 2 1965.



18 - niet spoelen na het stomen

1 - direkt na stomen spoelen

24 - drie dagen na stomen spoelen

23 - twintig dagen na stomen spoelen.

BIJLAGE 2

Object	Par.	Inzet datum	10 ¹		10 ²		10 ³		10 ⁴		10 ⁵		10 ⁶		Aantal p-gr	
			pos	neg.	p.	n	p	n	p	n	p	n	p	n		
Na stomen niet spoelen	A	15-9	1	5	-	6	-	5	-	6	-	6	-	6	0	
	B	"	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	0	
	A	26-9	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	0	
	B	"	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	0	
	A	17-10	2	4	-	5	-	6	-	6	-	6	-	6	4	
	B	"	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	0	
	A	26-10	6	-	3	3	-	6	-	6	-	6	-	6	60	
	B	"	6	-	2	4	-	6	-	6	-	6	-	6	40	
	A	21-11	6	-	6	-	2	4	-	6	-	6	-	6	400	
	B	"	6	-	5	1	-	6	-	6	-	6	-	6	170	
	A	19-12	6	-	6	-	6	-	2	4	-	6	-	6	4000	
	B	"	6	-	6	-	6	-	1	5	3	3	-	6	2000	
	Ongestoemd	A	15-9	6	-	6	-	5	-	6	-	6	1	3	3	600000
		B	"	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	4	2	1000000

BIJLAGE 3

Object	Par.	Inzet- datum	10 ¹		10 ²		10 ³		10 ⁴		10 ⁵		10 ⁶		Aantal p.gram grond	
			pos	neg	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n		
Direkt na stomen spoelen	A	19-9	-	6	-	4	-	6	-	6	-	6	-	6	0	
	B	"	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	5	0	
	A	26-9	6	-	1	5	-	6	-	6	-	6	-	6	20	
	B	"	1	5	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	2	
	A	17-10	6	-	6	-	2	4	-	6	-	6	-	6	400	
	B	"	6	-	6	-	4	1 3	3	3	2	4	-	6	40.000	
	A	26-10	6	-	6	-	6	-	6	-	4	2	1	5	200.000	
	B	"	6	-	6	-	6	-	6	-	2	4	-	6	40.000	
	A	21-11	6	-	6	-	6	-	6	-	5	1	2	4	400.000	
	B	"	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	2	4	400.000	
	A	19-12	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	2.000.000	
	B	"	6	-	6	-	6	-	6	-	4	2	3	3	600.000	
	Ongestoemd	A	15-9	6	-	6	-	6	-	5	-	6	1	3	3	600.000
		B	"	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	4	2	1000.000

BIJLAGE 4

Object	Par.	Inzet- datum	10 ¹		10 ²		10 ³		10 ⁴		10 ⁵		10 ⁶		Aantal p. gram grond	
			pos	neg	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n		
Drie dagen na stomen spelen	A	19-9	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	0	
	B	"	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	0	
	A	26-9	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	6	0	
	B	"	2	3	-	6	-	6	-	5	-	6	-	6	4	
	A	17-10	6	-	6	-	2	4	4	2	-	6	-	6	400	
	B	"	6	-	6	-	6	-	3	3	-	6	-	6	6000	
	A	26-10	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	2	4	400.000	
	B	"	6	-	6	-	6	-	5	1	3	3	-	6	60.000	
	A	21-11	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	3	3	600.000	
	B	"	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	2	4	400.000	
	Ongestoemd	A	15-9	6	-	6	-	5	-	6	-	6	-	3	3	600.000
		B	"	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	4	2	1.000.000

BIJLAGE 5

Object	par.	Inset- datum	10 ¹		10 ²		10 ³		10 ⁴		10 ⁵		10 ⁶		Aantal gram grond	
			pos	neg	p	n	p	n	p	n	p	n	p	n		
Twintig dagen na stomen spelen	A	17-10	5	1	3	3	1	5	-	6	-	6	-	6	200	
	B	"	5	-	2	4	-	6	-	6	-	6	-	6	40	
	A	26-10	6	-	6	-	6	-	6	-	1	5	-	6	20.000	
	B	"	6	-	6	-	6	-	6	-	-	6	-	6	-	
	A	21-11	6	-	6	-	6	-	6	-	3	3	-	5	60.000	
	B	"	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	2	4	400.000	
	A	19-12	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	3	3	600.000	
	B	"	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	2	4	400.000	
	Ongestoemd	A	15-9	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	3	3	600.000
		B	"	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	4	2	1000.000

AANTAL BACTERIEN PER GRAM GROND

BIJLAGE 6

Inzetda- datum	Par.	Niet spoelen	Direkt spoelen	Na drie dagen spoelen	Na twintig dagen spoelen	Ongestoemd
15(19)-9	A	0	0	0		600.000
	B	0	0	0		1.000. 000
	gen.	0	0	0		800.000
26-9	A	0	20	0		
	B	0	2	4		
	gen.	0	11	2		
17-10	A	4	400	400	200	
	B	0	40.400	6000	40	
	gen.	2	20.200	3200	120	
26-10	A	60	200.000	400.000	20.000	
	B	40	40.000	60.000	-	
	gen.	50	120.000	230.000	-	
21-11	A	400	400.000	600.000	60.000	
	B	170	400.000	400.000	400.000	
	gen.	285	400.000	500.000	230.000	
19-12	A	4000	22.000.000		600.000	
	B	2000	600.000		400.000	
	gen.	3000			500.000	

Aantal nitrificerende bacteriën
per gram grond

Grafiek 2

