

## Saprotrofe schimmels bieden perspectief voor verduurzaming landbouw



Anna Clocchiatti

Wietse de Boer<sup>1,3</sup>,  
Emilia Hannula<sup>2</sup>,  
Gerard Korthals<sup>4</sup>,  
Maria Hundscheid<sup>4</sup>,  
Anna Clocchiatti<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Dept. Microbial Ecology,  
NIOO-KNAW, Wageningen

<sup>2</sup> Dept. Terrestrial Ecology,  
NIOO-KNAW, Wageningen

<sup>3</sup> Chairgroup Soil Biology,  
Wageningen University,  
Wageningen

<sup>4</sup> Centre for Soil Ecology,  
Wageningen

**Op 10 Februari, verdedigde Anna Clocchiatti haar proefschrift “Bringing Soil Fungi into Action – Options for forward-looking agriculture” in de digitale aula van de Wageningen Universiteit. Met dit proefschrift laat ze zien dat stimulatie van saprotrofe bodemschimmels een belangrijke rol kan spelen bij de verduurzaming van gewasteelten, en met name bij het verhogen van natuurlijke onderdrukking van wortelinfecterende, pathogene schimmels.**

Het beschreven onderzoek is uitgevoerd aan het Nederland Instituut voor Ecologisch onderzoek (NIOO-KNAW) binnen een door STW (Stichting voor Technische Wetenschappen, nu NWO-TTW) gefinancierd project “Saprofeed”. Deelnemende bedrijven en onderzoeksgroepen waren: Bejo Zaden, Joordens Zaden, Ecostyle en WUR-business unit Biointeracties & Plantgezondheid. Het CSE (Centrum voor Bodem Ecologie, WUR-NIOO) heeft een belangrijke rol gespeeld bij de coördinatie. De promotie verliep via de WUR- leerstoelgroep Bodembioogie.

### Schimmels in landbouwbodems

Als we het hebben over schimmels in landbouwbodems dan gaat het meestal over ziekteverwekkende bodemschimmels. Dat is goed te begrijpen want verliezen in gewasopbrengsten door pathogenen kunnen enorm zijn. Een tweede groep van schimmels die regelmatig in de belangstelling staat, zijn mycorrhiza-vormers. In de landbouw zijn dat vooral arbusculaire mycorrhiza. De samenleving die deze schimmels hebben met wortels van veel gewassen kan bijdragen aan een efficiëntere opname van minerale voedingsstoffen en een verhoogde weerbaarheid tegen stresscondities. Maar in landbouwbodems is ook nog een andere belangrijke functionele groep van schimmels aanwezig, namelijk de saprotrofe schimmels. Deze schimmels, die ook wel saprofyten worden genoemd, leven van de afbraak van niet-levende, organische materialen. In natuurlijke ecosystemen zijn ze ruim vertegenwoordigd en kunnen we ze ook vaak zien op bijvoorbeeld rottend hout (Fig. 1). In landbouwbodems en met name in akkerbouwbodems is hun aanwezigheid veel minder zichtbaar. Hier vormen bacteriën vaak de dominante groep van micro-organismen. De hoeveelheid aan saprotrofe bodemschimmels in intensieve teelten is 5-10 keer lager dan in bodems van meer natuurlijke ecosystemen. De belangrijkste oorzaken

zijn intensieve grondbewerking (verstoring van de dradige schimmelnetwerken), gebruik van bestrijdingsmiddelen en tekort aan afbreekbare organische materialen. Hiervan lijkt de laatste factor de belangrijkste zijn. Door afvoer van gewassen en gewasresten en het veelvuldig gebruik van minerale meststoffen blijft er voor de schimmels niet veel over om op te groeien. Dat is jammer, want saprotrofe schimmels kunnen een uiterst waardevolle bijdrage leveren aan het goed functioneren van bodems en de gezondheid van gewassen.

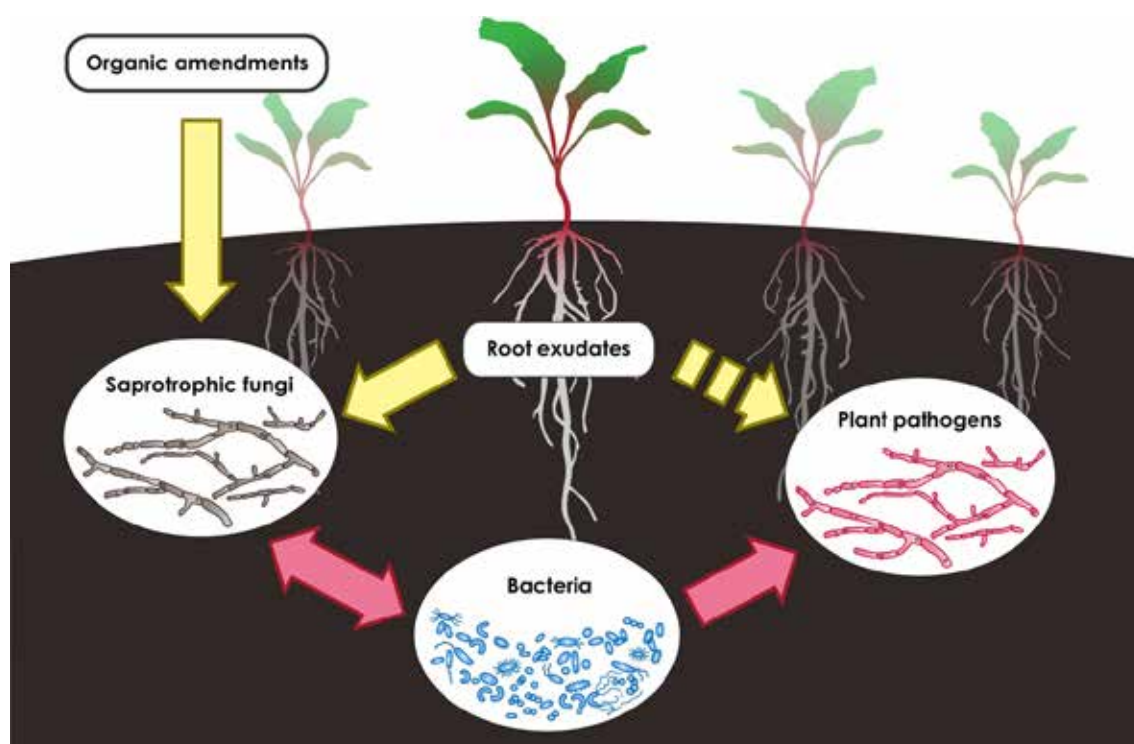
### Saprofeed concept

De basisgedachte van het saprofeed project is dat een goed getimede stimulatie van saprotrofe schimmels in akkerbouwbodems kan resulteren in een versterking van de natuurlijke onderdrukking van aantastingen door ziekteverwekkende bodemschimmels. Verhoging van de microbiële concurrentie voor voedings- en signaalstoffen die door wortels worden uitgescheiden (exudaten) is daarbij het beoogde doel. Wortel-exudaten spelen immers een belangrijke rol bij de activering van bodempathogenen.

Om de verhoogde concurrentie voor wortel-exudaten te realiseren moeten saprotrofe schimmels dus niet alleen gestimuleerd worden in de bodem, maar moeten ze ook actief gaan worden in de wortelomgeving (rhizosfeer). Hierbij kan dan ook een gunstig effect op de samenstelling van bacteriën in de rhizosfeer worden verwacht. Uit eerder onderzoek was al gebleken dat een toename van saprotrofe schimmels in de wortelomgeving kan resulteren in een verschuiving



Figuur 1. Saprotrofe schimmels spelen een sleutelrol bij afbraak van dood hout in bossen (foto: Gera Hol).



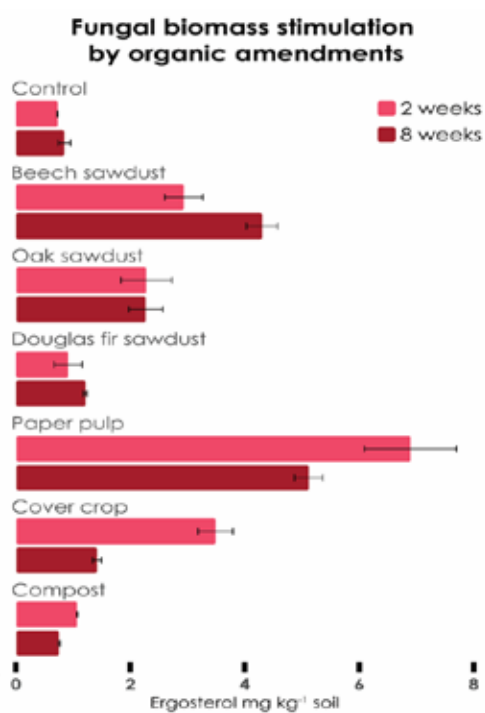
Figuur 2. Saprofeed concept: Stimuleren van saprotrofe bodemschimmels kan leiden tot een verhoogde onderdrukking van pathogene schimmels door directe concurrentie om wortelxudaten of door toename van rhizosfeer bacteriën met anti-schimmel eigenschappen.

van de bacteriële samenstelling met een toename van bacteriën met schimmel-onderdrukkende eigenschappen (De Boer et al., 2015). De verwachte effecten van stimulatie van saprotrofe schimmels op pathogeenonderdrukking zijn weergegeven in Figuur 2.

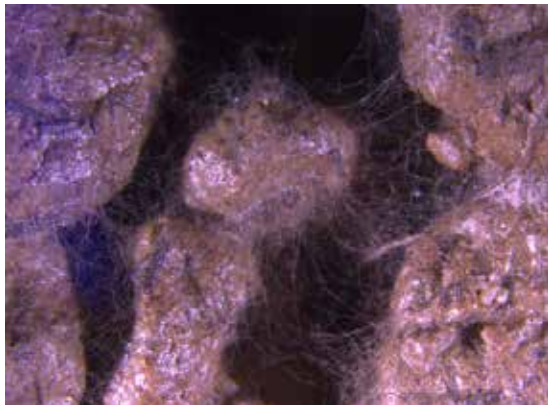
### Schimmelstimulerende materialen

In de eerste fase van het project heeft Anna onderzocht welke organische materialen het meest geschikt zijn om de beoogde stimulatie van saprotrofe schimmels in akkerbouwbodems te realiseren (Clocchiatti et al. 2020). Als maat voor de groei van schimmels is ergosterol gemeten, een sterol dat voorkomt in de celmembranen van schimmels. Celluloserijke materialen zoals houtzaagsel en papierpulp kwamen als beste schimmelstimulanten naar voren (Fig. 3). Deze materialen geven een snelle (< 2 weken) en blijvende (> 8 weken) toename van saprotrofe schimmels, met name van ascomyceten (Fig 4.) Een belangrijk aspect is wel dat de cellulose goed toegankelijk moet zijn. Kleine houtdeeltjes (zaagsel of houtmeel) voldoen veel beter dan grotere fragmenten zoals houtsnippers. Ook de houtsoort is van belang. Loofhout werkt over het algemeen goed, terwijl zaagsel van naaldhout maar een heel beperkte stimulatie te zien geeft (Fig. 3). In het saprofeed onderzoek is vooral gewerkt met beukenzaagsel.

Figuur 3. Effect van organische materialen op schimmelgroei (bepaling op basis van ergosterol) in akkerbouwgrond. Toegevoegde materialen: zaagsel (beuk, eik, Douglasspar), papierpulp, groenbemester (wikke) en groencompost.



Aangezien beukenzaagsel weinig stikstof bevat (C/N ratio > 200) moet er wel een stikstof-bevattende meststof worden toegevoegd om optimale schimmelgroei te krijgen. Ook bij eventuele toepassingen is dit van belang omdat enkel zaagsel kan leiden tot stikstof



Figuur 4. Schimmeldraden van vooral ascomyceten tussen bodemdeeltjes, in een behandeling met zaagsel (foto: Tijmen Bijker).

immobilisatie en tekorten voor planten. Zonder stikstof toevoeging nemen de zaagselafbrekende schimmels namelijk stikstof op uit de bodem. Dit komt later wel weer vrij want uiteindelijk worden ook de schimmels zelf weer afgebroken. Deze dynamiek van snelle stikstofopname door schimmels gevolgd door geleidelijke afgifte kan overigens ook interessant zijn om de stikstofbeschikbaarheid voor gewassen te gaan reguleren en verliezen door uitspoeling te beperken (zie: *Overige effecten*).

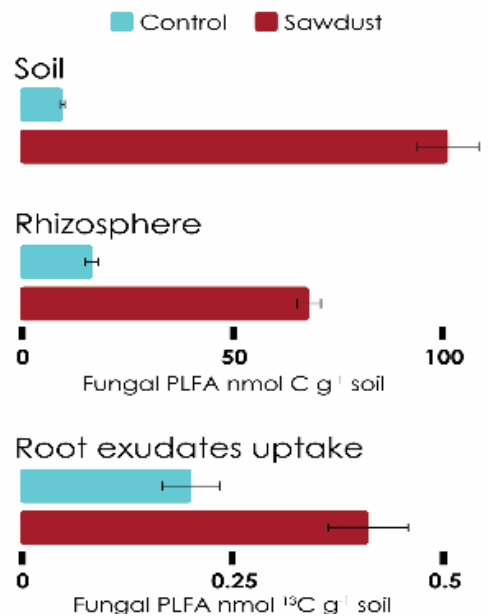
### Effecten in de rhizosfeer

Door planten in daglicht een korte tijd in een omgeving te laten groeien die verrijkt is met een zwaarder isotoop van koolstof in koolzuurgas ( $^{13}\text{CO}_2$ ), worden ook kortstondig wortel-exudaten geproduceerd die  $^{13}\text{C}$  bevatten. Vervolgens is bij micro-organismen die op deze wortel-exudaten groeien, de inbouw van  $^{13}\text{C}$  in fosfolipiden (PLFA) meetbaar. Op deze manier kon Anna aantonen dat saprotrofe schimmels die door zaagsel in de bodem worden gestimuleerd ook toenemen in de rhizosfeer en daar actief deelnemen aan de groei op wortel-exudaten (Fig. 5). Dit lijkt wellicht vreemd omdat samenstelling van zaagsel heel anders is dan die van wortel-exudaten. Zoals eerder aangegeven, groeien de schimmels met name op de cellulose in zaagsel. Om cellulose als energiebron voor groei te kunnen gebruiken, scheiden schimmels enzymen (cellulases) af. De suikers die door de cellulases worden vrijgemaakt worden in de schimmeldraden opgenomen en zijn de eigenlijke voedingsstoffen. Suikers vormen ook een belangrijk bestanddeel van wortel-exudaten, en zijn dus een prima extra energiebron voor de schimmels.

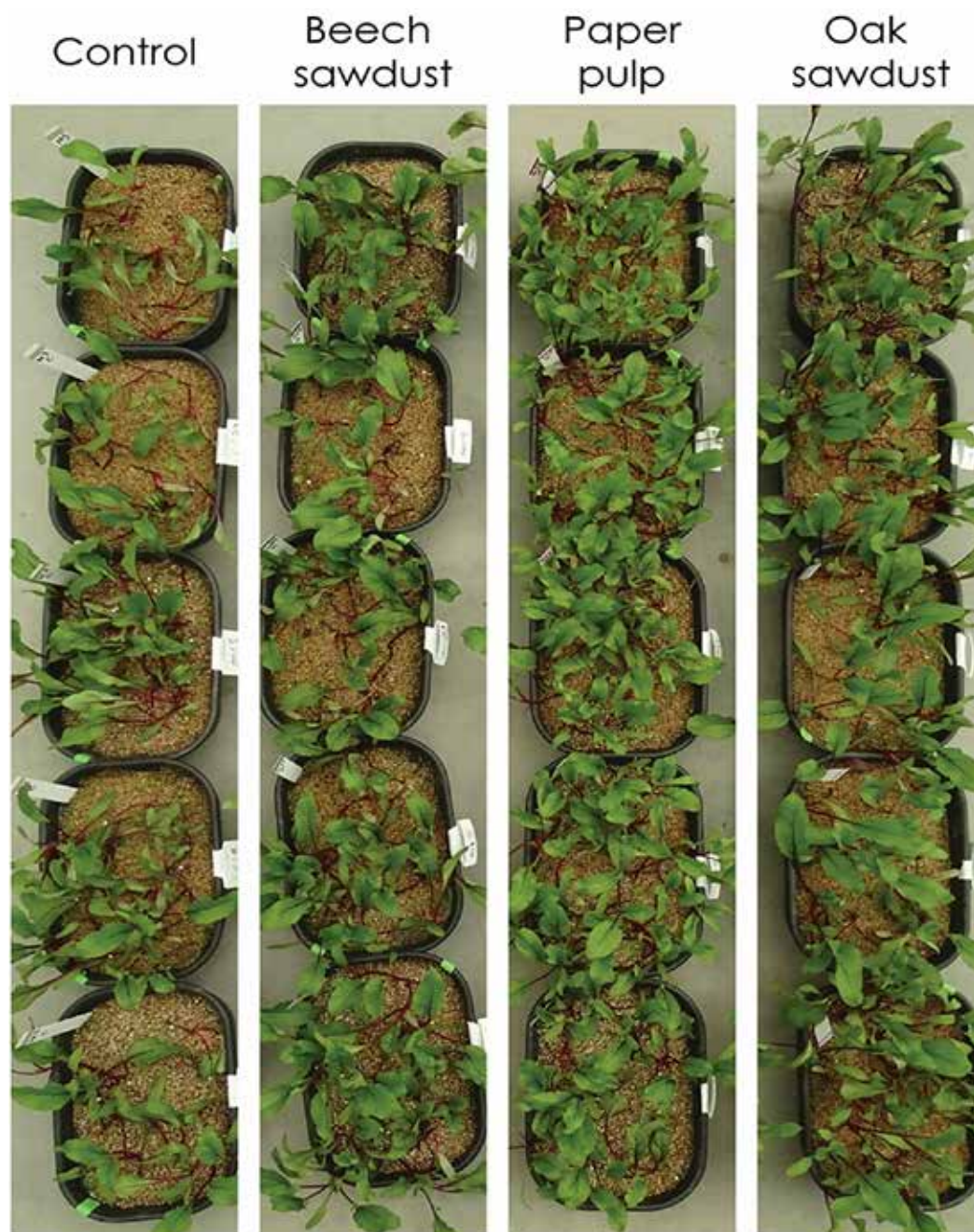
Wat is nu het effect van deze hogere activiteit van saprotrofe schimmels op andere micro-organismen?

Vanwege de veronderstelde concurrentie met bacteriën werd verwacht dat de hoeveelheid en activiteit van bacteriën in de rhizosfeer zou verlagen. Maar dit was niet het geval. De bacteriële groei op wortel-exudaten was niet verschillend tussen behandelingen met en zonder zaagsel. Wel was er een effect van zaagsel op de samenstelling van de rhizosfeer-bacteriën. Het lijkt er dus op dat er in totaal meer exudaten door de wortels worden uitgescheiden dan er door bacteriën worden gebruikt. De extra opname door saprotrofe schimmels kan dan heel belangrijk zijn om de hoeveelheid wortel-exudaten die beschikbaar blijft voor activering van pathogenen te verlagen. Analyse van met  $^{13}\text{C}$ -verrijkt DNA toonde inderdaad aan dat zaagseltoevoegingen de opname van wortel-exudaten verlaagde voor groepen van schimmels die pathogenen bevatten. Een ander interessant gegeven is dat de hoeveelheid en activiteit van arbusculaire mycorrhiza schimmels toenam met zaagseltoevoeging. Mogelijk speelde fosfaatbeperking hierbij een rol. In deze proef was alleen mineraal N als meststof aan de gebruikte akkerbouw bodem toegeediend, maar saprotrofe schimmels hebben ook andere minerale voedingsstoffen nodig, waaronder fosfaat. Het is bekend dat de beschikbaarheid van fosfaat een belangrijke invloed heeft op de kolonisatie van wortels door mycorrhiza.

### Effect of Sawdust on Fungal Biomass and Activity



Figuur 5. Effect van zaagsel op groei van schimmels in bodem en rhizosfeer en op hun exudaat opname-activiteit. Alle bepalingen op basis van fosfolipide-analyses.



Figuur 6. Effect van zaagsel (beuk, eik) en papierpulp op ontwikkeling van rode bietplantjes in een biotoets met *Rhizoctonia solani*-besmette bodem. Materialen zijn 2 weken voor zaaien met de grond gemengd.

### Effecten op plantenziekten

Met conclusies over ziekte-onderdrukking op basis van DNA-analyses kan niet worden volstaan omdat DNA van sommige pathogenen sterk kan lijken op dat van niet-pathogenen. Om een beter onderbouwde conclusie te kunnen trekken over het effect van schimmelstimulatie op onderdrukking van pathogenen kan de ziekte-ontwikkeling bij gewassen beter met biotoetsen worden onderzocht. In het proefschrift worden de resultaten van biotoetsen beschreven voor rode bietplantjes die zijn gezaaid in een bodem die

afkomstig was van plekken met aantasting door *Rhizoctonia solani* (Fig. 6). In deze proef werden twee factoren onderzocht, namelijk het effect van verschillende schimmelstimulerende materialen en het effect van de lengte van het tijdsinterval tussen toevoeging van die materialen en tijdstip van zaaien. Daar kwamen een aantal interessante resultaten uit naar voren. Verschillende zaagsels gaven duidelijke ziekte-onderdrukking te zien en het tijdstip van inwerken versus dat van zaaien speelde daarbij geen belangrijke rol. In deze proef kwam zaagsel van zomereik er als best onderdrukkend materiaal uit. Ook nadere analyses (qPCR) lieten zien dat

schimmels sterk door zaagsel worden gestimuleerd maar dat dit niet resulteerde in een stimulatie van *Rhizoctonia*.

Heel anders verliep het experiment voor papierpulp. Direct inzaaien van rode biet na inwerking van papierpulp resulteerde in een sterke toename van aantasting door *Rhizoctonia*. Als het zaaien echter 2 of 4 weken na het inwerken van papierpulp gebeurde was er juist een duidelijke ziekte-onderdrukking te zien (Fig. 6). De qPCR analyses lieten zien dat papierpulp in de bodem naast stimulatie van saprotrofe schimmels ook een sterke stimulatie van *Rhizoctonia* teweegbracht. Maar die stimulatie van *Rhizoctonia* is kortstondig en na 2 weken al niet meer te zien. Testen met verschillende materialen in petrischalen lieten ook zien dat *R. solani* uitstekend kan groeien op papierpulp. Voor zaagsels was dat heel verschillend per boomsoort.

We denken dat de dynamiek met papierpulp (ziektestimulerend gevolgd door ziekte-onderdrukkend) wordt veroorzaakt door antagonistische micro-organismen die gaan toenemen als *Rhizoctonia* toeneemt en *Rhizoctonia* vervolgens onderdrukken. Maar dit wordt momenteel nog onderzocht. Interessant is dat deze opeenvolging van *Rhizoctonia*-ziektestimulering gevolgd door ziektevermindering na toevoeging van cellulose ook onder veldomstandigheden is waargenomen (observatie door Dr. Joeke Postma, WUR).

In deze proef zijn ook nog twee andere materialen, chitine (gemalen garnalendoppen) en haarmeel, meegenomen die veel worden onderzocht met betrekking tot ziekte-onderdrukking. Deze stikstofrijke materialen die geen cellulose bevatten gaven weinig stimulatie van schimmels te zien en ook niet van *Rhizoctonia*. Het effect op ziekte-onderdrukking in de biotoetsen was beperkt.

### Overige effecten

Het gebruik van schimmelstimulatie door zaagsel kan ook interessant zijn om tijdelijk een overmaat aan minerale stikstof (ammonium en nitraat) vast te laten leggen door schimmels. Overmaat aan minerale stikstof is er vooral in het begin van het groeiseizoen en na de oogst. Met name in zandige bodems kan dit leiden tot nitraatuitspoeling naar grond- en oppervlaktewater. Het onderzoek dat Anna heeft gedaan aan dit aspect, is niet in het proefschrift opgenomen, maar wordt dit jaar nog wel uitgewerkt tot een publicatie. De sterkste N-opname is gedurende de eerste 5 weken en daarna komt de minerale N geleidelijk weer vrij in de volgende maanden. In een veldproef die we afgelopen najaar ondanks de Covid-restricties gelukkig nog konden doen met WUR-studenten,



Figuur 7. Beukenzaagsel voor inwerking in een proefvlak.

bleek dat er binnen 2 weken 30 – 40 kg N/ha kan worden vastgelegd door schimmels met 500 g/m<sup>2</sup> (5 ton/ha) ingewerkt zaagsel (Fig. 7).

Een ander interessant effect is de werking van zaagsel op bodemstructuur. In een kleibodem die het afgelopen droge voorjaar moeilijk bewerkbaar werd door het vormen van grote harde brokken, gaf een eerdere inwerking van zaagsel een veel lossere structuur te zien (Fig. 8). Hier doen we momenteel verder onderzoek aan en we hebben al een duidelijke relatie kunnen laten zien tussen de stimulatie van schimmelm-groei met zaagsel en de verbetering van structuur van kleigrond. Het belang van schimmelm-groei bij bodemaggregaatvorming is al uit ander onderzoek bekend, en met zaagseltoevoeging lijkt schimmelm-groei snel te kunnen worden gerealiseerd. Er lopen nu veldproeven bij boeren op klei. Onze verwachting is dat ook verstuiving op zandbodems met het stimuleren van schimmels sterk kan worden verminderd.

### Naar de praktijk

Hoewel er voor optimalisering van timing en werking van schimmelstimulatie door zaagsel nog veel onderzoek nodig is, moedigen we telers aan zelf te experimenteren op een stukje grond. Als er rekening gehouden wordt met de tijdelijke stikstofvastlegging kan er namelijk niet zo veel fout gaan. Onze resultaten laten zien dat er met zaagseltoevoeging geen toename van pathogene schimmels te verwachten is, alleen van saprotrofen.

Belangrijke punten die in acht genomen moeten worden zijn: de hoeveelheid zaagsel, het soort zaagsel, de inwerkingsdiepte en het tijdstip van inwerken. Om met het laatste te beginnen, als schimmels gestimuleerd gaan worden om bodemziekten bij zaailingen te onderdrukken zal het zaagsel 1-3



Figuur 8. Kleigrond uit plantgaten uit een plot met (boven) en zonder (onder) ingewerkt beukenzaagsel.

weken voor het zaaien moet zijn ingewerkt. Zeker bij snel kiemende gewassen. De saprotrofe schimmels moeten zich namelijk al ontwikkeld hebben om een negatief effect op ziekteverwekkers te kunnen hebben. Men zou ook kunnen overwegen om het zaagsel voor de winter in te werken. Met name in geval van structuurverbetering in kleibodems en tegengaan van verstuiving op zand zou dit ook interessant kunnen zijn. Om stikstofverliezen na de oogst tegen te gaan, zou het zaagsel juist dan ingewerkt kunnen worden en kan gecombineerd worden met groenbemesters.

In de experimenten die door Anna zijn gedaan is vooral met beukenzaagsel gewerkt. Voor de praktijk is dit waarschijnlijk te duur. Zaagsel van snelgroeiende loofbomen zoals hazelaar en wilg zijn interessanter, vooral ook omdat daar jaarlijks veel snoeihout van wordt geleverd. Hiervan gaat nu veel naar biomassacentrales en dat is jammer. Veel beter is het om dit materiaal voor bodemverbetering te gebruiken. Gunstig is wel dat voor de biomassacentrales houtige materialen ook fijngemaakt en gedroogd worden. Ideaal voor gebruik in de bodem.

In de experimenten werd meestal 5 g/kg droge grond toegevoegd, maar ook bij 2,5 g/kg wordt al een goede schimmelstimulatie gevonden. Gerekend naar een inwerkingsdiepte van 10 cm en een bodemdichtheid van 1-1.5 g/cm<sup>3</sup> zitten we in de range van 2,5 tot 7,5 ton/ha. Voor grotere inwerkingsdieptes is dus meer nodig. Maar afhankelijk van de toepassing en het type landbewerking kan worden gekeken hoe zaagseltoevoegingen verder kunnen worden geoptimaliseerd.

We hopen dat veel telers met zaagsel willen experimenten en we willen uiteraard graag advies geven en horen hoe het is uitgekapt. Alleen onder veldomstandigheden, met alle variatie die zich daarbij voor kan doen, komen we te weten of de gunstige effecten van zaagsel die we in gecontroleerde proeven vinden ook in de praktijk optreden.

#### Referenties

De Boer, W., Hundscheid, M.P.J., Klein Gunnewiek, P.J.A., de Ridder-Duine, A.S., Thion, C., van Veen, J.A., and van der Wal, A. (2015) Antifungal rhizosphere bacteria can increase as response to the presence of saprotrophic fungi. *PLoS One* **10**: e0137988. doi:10.1371/journal.pone.0137988.

Clocchiatti, A., Hannula, S.E., van den Berg, M., Korthals, G., and de Boer, W. (2020) The hidden potential of saprotrophic fungi in arable soil: Patterns of short-term stimulation by organic amendments. *Appl Soil Ecol* **147**: 103434. doi:10.1016/j.apsoil.2019.103434

Clocchiatti, A (2021) Bringing soil fungi into action: Options for forward-looking agriculture. Ph.D thesis, Wageningen University, pp. 190.

#### Proefschrift en contact

Een pdf van het proefschrift van Anna kan op aanvraag worden verkregen bij Anna Clocchiatti (a.clocchiatti@nioo.knaw.nl / anna.clocchiatti.ecol@gmail.com) of Wietse de Boer (w.deboer@nioo.knaw.nl). Via deze mailadressen kan ook nadere info worden gevraagd over het onderzoek en toepassingen. Met betrekking tot toepassingen kan ook contact worden opgenomen met Gerard Korthals (Gerard.Korthals@wur.nl / g.korthals@nioo.knaw.nl)

