



# Stoomvrij telen van chrysanthe

Esmée de Graaf, Annelein Meisner, Kirsten Leiss, Suzanne Breeuwsmā,  
Caroline van der Salm, Marta Streminska, Floortje Tilli en Aat van Winkel

Rapport WPR-1347

## Referaat

In de glastuinbouw neemt duurzaamheid een prominente plaats in waarbij het verminderen van fossiele brandstoffen en milieuvriendelijke teeltmethoden steeds crucialer worden. In de chrysantenteelt wordt de grond traditioneel gestoomd om deze vrij van ziekte en plagen te houden. Dit verbruikt veel energie, wat aanleiding gaf tot een zoektocht naar innovatieve alternatieven voor een stoomvrije chrysantenteelt. In dit rapport wordt de potentie van geoptimaliseerde spectrumcompositie van LED-verlichting en aangepaste perspotsamenstellingen tijdens de bewortelingsfase, om de plantweerbaarheid van de chrysanten onderzocht. Uit de proeven kwam naar voren dat de perspotsamenstelling en de LED belichtingen effect hadden op de weerbaarheid tegen *Pythium*. De resultaten waren echter niet altijd consistent. Direct steken van de stekken in de grond had een negatief effect op het optreden van *Verticillium*. Voor de andere ziekten en plagen waren de resultaten niet consistent.

## Abstract

Sustainability is taking a more prominent place in greenhouse horticulture, where reducing fossil fuels and environmentally friendly cultivation methods are becoming increasingly crucial. In chrysanthemum cultivation, the soil is traditionally steamed to keep it free of diseases and pests. This uses a lot of energy, which prompted a search for innovative alternatives for steam-free chrysanthemum cultivation. This report provides clarity about the potential of optimized spectrum composition of LED lighting and adapted press pot compositions during the rooting phase to increase the plant resilience of chrysanthemums. The experiments showed that press pot and LED light composition had an effect on the resistance to *Pythium*. However, the results were not always consistent. Directly sticking the cuttings in the ground had a negative effect on the occurrence of *Verticillium*. The results were not consistent for the other diseases and pests.

## Rapportgegevens

Rapport WPR-1347

Projectnummer: 3742305900

BO-nummer: 43.10-006-001-WPR

DOI: <https://doi.org/10.18174/670586>

Dit project is gefinancierd vanuit het programma Kas als Energiebron in samenwerking met LTO Glaskracht Nederland en het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit.



Ministerie van Landbouw,  
Natuur en Voedselkwaliteit



## Disclaimer

© 2024 Wageningen, Stichting Wageningen Research, Wageningen Plant Research, Business unit Glastuinbouw, Postbus 20, 2665 MV Bleiswijk T 0317 48 56 06, [www.wur.nl/plant-research](http://www.wur.nl/plant-research).

Kamer van Koophandel nr.: 09098104

BTW nr.: NL 8113.83.696.B07

Stichting Wageningen Research. Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Stichting Wageningen Research.

Stichting Wageningen Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

## Adresgegevens

### Wageningen University & Research, BU Glastuinbouw

Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk

Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk

T +31 (0)317 - 48 56 06

F +31 (0)10 - 522 51 93

[glastuinbouw@wur.nl](mailto:glastuinbouw@wur.nl)

[wur.nl/glastuinbouw](http://wur.nl/glastuinbouw)

---

# Inhoud

<b>Samenvatting</b>	<b>5</b>
<b>1 Inleiding</b>	<b>7</b>
<b>2 Oriënterende proef inductie plantweerbaarheid met verschillende kleuren LED verlichting in de opweekfase van chrysanten</b>	<b>9</b>
2.1 Inleiding	9
2.2 Methode	10
2.2.1 LED behandelingen tijdens de bewortelingsfase van chrysanten	10
2.2.2 Wortel-, stekontwikkeling en metabolomics na beworteling	10
2.2.3 Weerbaarheid en biotoetsen	10
2.3 Resultaten	13
2.3.1 Wortel- en stekontwikkeling	13
2.3.2 Plantinhoudsstoffen	14
2.3.3 Resultaten biotoetsen	18
2.4 Conclusies	23
<b>3 Verdieping van oriënterende proef voor inductie plantweerbaarheid chrysanten met verschillende kleuren LED verlichting</b>	<b>24</b>
3.1 Inleiding	24
3.2 Methode	25
3.2.1 LED verlichting behandeling chrysanten	25
3.2.2 Biomassa, wortelontwikkeling en metabolomics	25
3.2.3 Biotoetsen	25
3.2.4 Statistische analyses	27
3.3 Resultaten	28
3.3.1 Biomassa en wortellengte	28
3.3.2 Weerbaarheid chrysanten	29
3.3.3 Plantinhoudsstoffen	36
3.4 Conclusies	37
<b>4 Toetsen van een gradiënt aan blauw licht voor de inductie van plantweerbaarheid tijdens de opweekfase van chrysanten</b>	<b>38</b>
4.1 Inleiding	38
4.2 Methode	39
4.2.1 LED verlichting behandeling chrysanten	39
4.2.2 Biomassa, wortelontwikkeling en metabolomics	39
4.2.3 Bodem	39
4.2.4 Biotoetsen	40
4.2.5 Statistische analyses	40
4.3 Resultaten	41
4.3.1 Biomassa en wortellengte	41
4.3.2 Weerbaarheid chrysanten	43
4.3.3 Vers- en drooggewicht	48
4.3.4 Plantinhoudsstoffen	50
4.4 Conclusies	54
<b>5 Perspotproef 1</b>	<b>55</b>
5.1 Inleiding	55
5.2 Materialen en methoden	56
5.2.1 Opweek pathogenen	56

5.2.2	Bodem	56
5.2.3	Opzet kasproef	56
5.2.4	Beoordeling chrysantengroei en ziektesymptomen	57
5.3	Resultaten	58
5.3.1	Plantengroei	58
5.3.2	Ziekteontwikkeling	61
5.4	Conclusies	64
<b>6</b>	<b>Effect samenstelling perspot op weerbaarheid</b>	<b>65</b>
6.1	Inleiding	65
6.1.1	Vraagstelling	65
6.2	Materiaal en methode	66
6.2.1	Perskluiten	66
6.2.2	Behandelingen	66
6.2.3	Opzet kasproef	66
6.2.4	Beoordelingen Chrysantengroei, biomassa en ziektesymptomen	66
6.2.5	Microbioom analyses	67
6.3	Resultaten	68
6.3.1	Biomassa en plantengroei	68
6.3.2	Ziekteontwikkeling	71
6.3.3	Microbioom analyse	72
6.4	Conclusies	74
<b>7</b>	<b>Combinatie perspot en LED</b>	<b>75</b>
7.1	Inleiding	75
7.2	Methode	76
7.2.1	LED verlichting behandeling chrysanten	76
7.2.2	Biomassa, wortelontwikkeling en metabolomics na beworteling	76
7.2.3	Bodem	76
7.2.4	Biotoetsen	77
7.3	Resultaten proef zomer 2023	78
7.3.1	Ontwikkeling stek en wortel	78
7.3.2	Weerbaarheid chrysanten	83
7.3.3	Vers- en drooggewicht en lengte bij einde van de teelt	86
7.4	Resultaten winter 2023/2024	89
7.4.1	Ontwikkeling stek en wortel	89
7.4.2	Weerbaarheid chrysanten	93
7.5	Conclusies	100
<b>8</b>	<b>Discussie</b>	<b>101</b>
	<b>Literatuur</b>	<b>103</b>
<b>Bijlage 1</b>	<b>Kasplattegrond Perspot 1</b>	<b>105</b>
<b>Bijlage 2</b>	<b>Wortelknobbel index (WKI)</b>	<b>106</b>
<b>Bijlage 3</b>	<b>Kasplattegrond Perspot 2</b>	<b>107</b>

---

# Samenvatting

Ook in de chrysantenteelt wordt duurzaamheid steeds belangrijker, waarbij de focus ligt op het verminderen van het gebruik van fossiele brandstoffen en milieuvriendelijkere teeltmethoden. Traditioneel wordt de teeltgrond van chrysant gestoomd om bodemgebonden ziekten en plagen te beheersen, maar dit vraagt veel energie. De sector zoekt naar alternatieven voor het stomen van de grond om energieverbruik te verminderen. Het project stoomvrije chrysantenteelt onderzocht de mogelijkheid om geoptimaliseerde LED-verlichtingsrecepten en perspotsamenstellingen te gebruiken om ziekten en plagen te onderdrukken. Het doel van het project was om de optimale condities voor de bewortelingsfase vast te stellen door LED-verlichting en perspotsamenstellingen afzonderlijk te testen, en deze methoden te combineren voor weerbaardere chrysanten tijdens de teelt. Het streven was om een energiezuinige teeltstrategie te ontwikkelen en hierdoor bij te dragen aan een veerkrachtige en toekomstbestendige chrysantenteelt zonder gebruik van stomen.

De meeste getoetste maatregelen gaven niet altijd een eenduidig beeld en konden in de laatste proef waarin LED beworteling en perspot samenstelling werd gecombineerd niet altijd worden herhaald. Redenen hiervoor kunnen de variërende uitgangsmaterialen zijn, zoals andere typen grond uit de praktijk en de voorbehandeling van de gebruikte chrysantenstekken.

Uit de experiment kunnen desalniettemin de volgende conclusies worden getrokken:

- Er zijn indicaties dat een verhoging van het percentage blauwe LED verlichting tijdens de bewortelingsfase de weerbaarheid tegen *Pythium* verhoogd door een versterkt wortelstelsel.
- We vonden geen consistent effect op trips, *Botrytis* of aaltjes.
- Direct steken in de grond gaf een verhoging van *Verticillium* infectie en wordt daarom afgeraden.
- Daarnaast was er indicatie dat een andere perspot samenstelling kan bijdragen aan de weerbaarheid tegen *Pythium*.



---

# 1 Inleiding

In de agrarische sector wordt duurzaamheid steeds meer een leidend principe, waarbij het verminderen van het gebruik van fossiele brandstoffen en het bevorderen van milieuvriendelijke teeltmethoden centraal staan. In de chrysantenteelt vormt het stomen van de grond traditioneel een cruciale stap om de opbouw van ziekten en plagen te beheersen. Echter, deze praktijk gaat gepaard met aanzienlijk energieverbruik waardoor er van de sector gevraagd wordt op zoek te gaan naar innovatieve alternatieven voor stomen om deze impact te verminderen.

Chrysanten behoren tot het meest geteelde bloemgewas wereldwijd en vormen het grootste sierteeltgewas in de Nederlandse glastuinbouw. De chrysantenteelt is een grondgebonden teelt met 4-6 teeltcycli per jaar. Vanwege de monocultuur van chrysanten ontstaat er een voortdurende uitdaging door de sterke ziekte opbouw in de bodem tijdens de teelten. De voornaamste bodemgebonden ziekten en plagen waarmee de chrysantenteelt te maken heeft, zijn trips, *Pythium*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, en *Meloidogyne* (wortelknobbelaaltjes). Momenteel is het gebruikelijk om de grond minstens eenmaal per jaar te stomen om ziekten en plagen onder controle te houden, met een gerelateerd energieverbruik van 3 m<sup>3</sup> gas per m<sup>2</sup> per jaar (Raaphorst en Van Tuyl, 2023). Ter vergelijking: in 2023 besloeg het chrysantenareaal 502 hectare.

De opbouw van ziekten in de bodem bij de chrysantenteelt wordt in verband gebracht met verschillende factoren, waaronder bedrijfshygiëne, stekken, perspotten voor de opkweek, de overgang van opkweekmedium naar teeltbodem, watergift en het onderwerken van wortelresten en perspotten in de teeltbodem (Blok et al., 2021). Voor een stoomvrije chrysantenteelt, met aanvaardbare risico's, is een systeemaanpassing vereist. Binnen de kaders van dit project wordt onderzocht of geoptimaliseerde LED-verlichtingsspectra en perspotsamenstellingen tijdens de opkweekfase preventief de druk van ziekten en plagen kunnen verminderen.

LED-verlichting is in de eerste plaats een belangrijke factor om het energieverbruik in de glastuinbouwsector te verminderen vanwege de hoge efficiëntie en energiezuinigheid ervan. Bovendien biedt het de mogelijkheid om bijna elk lichtspectrum in te stellen. De spectrumcompositie is nauw gelinkt met gewasfysiologie en plantweerbaarheid. Hierdoor is het dus ook mogelijk om met het licht te sturen op verhoogde plantweerbaarheid. LED verlichting kan assimilatenproductie in planten stimuleren, wat essentieel is voor hun groei en ontwikkeling. Daarnaast zou het verdedigingsmechanismen in planten kunnen activeren, zoals de salicylzuurroute en de jasmonzuurroute. Dit verbetert het vermogen van de plant om te reageren op plantpathogenen of plagen. Een essentieel moment bij de chrysantenteelt is het moment van de overgang van de opkweek naar de teeltbodem in de kas. Hier worden jonge (en daardoor vaker vaatbare) chrysanten op teeltgrond gezet en blootgesteld aan mogelijke pathogenen. Door LED-verlichting te optimaliseren tijdens de opkweekfase wordt beoogd planten sterker en minder vatbaar te maken voor ziekten en plagen, wat resulteert in minder afhankelijkheid van intensieve bodembehandelingen.

Een verandering in perspotsamenstelling, waarin onbewortelde stekken worden geplaatst, kan ook een verschil maken om weerbaardere planten te produceren. Zo kan een verandering in perspotsamenstelling een effect hebben op waterretentie en drainage en op het aanwezige zuurstofgehalte in de perskluit. Een luchtige perspot is goed voor de wortels van de plant en kan weerstand bieden tegen (water-minnende) plantpathogenen. Daarnaast is de perspotsamenstelling van invloed op de microbiële samenstelling rondom de wortels en in de perspot. Gunstige bodemmicroben kunnen helpen bij het afbreken van organisch materiaal, het vrijmaken van voedingsstoffen en het beschermen van planten tegen ziekteverwekkers. Door de specifieke behoeften van chrysantenplanten voor perspotsamenstelling te onderzoeken in de opkweekfase, kunnen kwekers weerbaardere planten produceren die beter bestand zijn tegen stressfactoren en een hogere opbrengst en kwaliteit kunnen leveren tijdens de teeltfase.

---

Door LED verlichting en perspotsamenstellingen afzonderlijk te testen onder geconditioneerde omstandigheden, kunnen optimale condities voor de bewortelingsfase worden bepaald. Het uiteindelijke doel van dit project is te onderzoeken of een combinatie van optimale LED-verlichtingsspectra en perspotsamenstellingen elkaar kunnen versterken en leiden tot weerbare chrysantenplanten met behoud van groei en kwaliteit tijdens de teeltfase. Daarnaast wordt hiermee de afhankelijkheid van fossiele brandstoffen verminderd. Het programma Kas als Energiebron, een initiatief dat energiebesparing en het gebruik van duurzame energie in de glastuinbouw stimuleert, speelt een centrale rol in deze transitie. In samenwerking met LTO Glaskracht Nederland en het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit focust dit programma zich op het demonstreren van technologische innovaties die gericht zijn op het terugdringen van het gebruik van fossiele brandstoffen en energie in de glastuinbouwsector. Binnen dit kader wordt dit project gefinancierd met als doel een gas- en energiezuinige teeltstrategie te ontwikkelen door chrysanten te telen zonder gebruik te maken van stoom om ziekten en plagen in de teeltbodem te onderdrukken en zodoende bij te dragen aan een veerkrachtige en toekomstbestendige chrysantenteelt.



---

## 2 Oriënterende proef inductie plantweerbaarheid met verschillende kleuren LED verlichting in de opweekfase van chrysanten

### 2.1 Inleiding

(Bodemgebonden) ziekten en plagen spelen een belangrijke rol in de teelt van chrysanten onder glas. (Californische) trips (*Frankliniella occidentalis*), *Pythium*, *Verticillium* en wortelknobbelaaltjes (*Meloidogyne spp*) zijn de belangrijke veroorzakers van uitval. Door telers wordt gebruik gemaakt van chemische middelen en grondstomen tegen deze ziekten. Het gebruik van chemische middelen staat onder druk en duurzamere alternatieven voor intensieve methoden, zoals het stomen van de grond, moeten worden ontwikkeld. Het optreden van ziekten in de chrysantenteelt wordt in verband gebracht met het stekken, de perspotten, de overgang naar de teeltkas, ongelijke watergift en met de wortelresten en perspotten die na de teelt achterblijven. In deze proef wordt gefocust op de opweekfase en overgang naar de teeltkas. In de opweekfase verandert een wortelloze stek naar een beworteld plantje. De klimaatinstellingen moeten dus zowel bewortelingsbevorderend werken als zorgen voor optimale condities voor opname van water en voeding. De toediening van een specifiek lichtrecept beïnvloedt niet alleen de gewasfysiologie, maar ook de plantweerbaarheid, waardoor met licht ook gestuurd kan worden op de inductie van plantweerbaarheid. Om het stomen van de grond overbodig te kunnen maken wordt in deze proef onderzocht of, en met welke, LED verlichtingsrecept tijdens de bewortelingsfase de plantweerbaarheid tijdens de teelt geïnduceerd kan worden. Met verbeterde plantweerbaarheid is een plant sterker en minder vatbaar wanneer deze mogelijk in aanraking komt met plagen of ziekten.

*Doel:*

Het doel van deze proef is om inzicht te krijgen in welke samenstelling van LED verlichting tijdens de bewortelingsfase zorgt voor een inductie van de weerbaarheid in chrysanten tegen verschillende ziekten (trips, *Verticillium*, *Pythium* en *Meilodogyne*).

## 2.2 Methode

### 2.2.1 LED behandelingen tijdens de bewortelingsfase van chrysanten

Een totaal van 1728 stekken van twee chrysanten rassen, Baltica en Pina Colada, werden gedurende 10 dagen behandeld met zes verschillende LED recepten voor 20 uur per dag. Deze zes behandelingen bestonden uit referentielicht, referentielicht met extra groen licht, UV-B licht (1 uur per dag (middernacht)), blauw licht, rood licht en een hoge lichtintensiteit. Voor een gedetailleerd overzicht van de spectra, lichtintensiteit en referenties, zie Tabel 2.1. De LED verlichting was op een hoogte van 60 cm boven de stekken bevestigd en afgeschermd met niet-lichtdoorlatende zeilen. De stekken werden dagelijks gebroesd en bij 23°C en 90% luchtvochtigheid geteeld.

### 2.2.2 Wortel-, stekontwikkeling en metabolomics na beworteling

**Tabel 2.1** Samenstellingen van de LED verlichting behandelingen tijdens de bewortelingsfase.

Spectra	Groen	Blauw	Rood	Verrood	UV-B	Intensiteit	Referentie
Referentielicht		10%	90%	10%		50 µmol	Referentielicht
Referentielicht met groen licht	20%	10%	70%	10%		50 µmol	
Blauw licht		100%		10%		50 µmol	(Chen et al., 2020)
Rood licht			100%	10%		50 µmol	(Yang et al., 2015)
Hoge lichtintensiteit		10% dag	90% dag; 5 µmol/m <sup>2</sup> /s hele nacht	10% dag		50 µmol dag; 5 µmol nacht	Dubbele lichtsterkte van referentielicht, goede ervaring van telers voor betere beworteling
UV-B		10%	90%	10%	0.60 kJ/m <sup>2</sup> /dag	0.60 kJ/m <sup>2</sup> /dag	(Escobar-Bravo et al., 2021)

Per LED verlichting en per ras werden 24 planten in duo's verdeeld na de opkweekfase. De wortels in de perskluitjes werden schoongespoeld met water en gescheiden van de stek (bestaande uit de stengel en bladeren). Hierna werd het wortelstelsel gefotografeerd voor een lengtebepaling en de stekken gewogen voor versgewicht. De stekken werden hierna apart ingevroren in stikstof en bewaard bij -80°C. Na vriesdrogen werden deze opgestuurd naar Czech University of Life Sciences Prague, Department of Food Science, in Praag voor een inhoudsstofmetingen met behulp van <sup>1</sup>H NMR. Verschillen in inhoudsstoffen tussen de LED behandelingen konden hierdoor bepaald worden.

### 2.2.3 Weerbaarheid en biotoetsen

#### 2.2.3.1 Bodem

Voor alle experimenten in dit hoofdstuk is gebruik gemaakt van een lichte zavelgrond die bemonsterd is op een praktijkbedrijf met een besmetting van wortelknobbel aaltjes (zie 2.2.3.6). De bodem had 3% klei, 11% silt en 80% zand. Het organische stof gehalte was 4.9% voor het stomen en 4.7% na het stomen. De bodem had een pH van 7. In de ongestoomde grond was *Pythium ultimum* gevonden met de Eurofins multiscan en *Meloidogyne aaltjes* (zie 2.2.3.6). Afhankelijk van de ingebrachte ziekteverwekker is gebruik gemaakt van gestoomde of ongestoomde grond (zie toetsen).

#### 2.2.3.2 Beoordelen weerbaarheid en ziekteontwikkeling

Per behandeling met LED verlichting en per ras werden 25 planten gebruikt voor trips, *Verticillium*, *Pythium* en een *Meloidogyne* biotoets. Ook werden nog 15 planten gebruikt voor een tweeweekse *Pythium* biotoets. Na de 10 dagen LED behandelingen werden voor de biotoetsen de perspotjes op ø13 cm potjes geplaatst gevuld met 0,8L (on)gestoomde praktijkgrond (ongestoomd in het geval van *Meloidogyne*). Wekelijks werden de chrysanten beoordeeld op ziektesymptomen en na 2, 5 en 10 weken teelt werd de lengte van de planten gemeten. Hiernaast werd gekeken naar groeiachterstand: de lengtemeting van de desbetreffende planten in vergelijking met controle planten. Na 10 weken teelt werd het vers- en drooggewicht bepaald. Voor het drooggewicht zijn per behandeling (combinatie LED + ziekte) en per ras 5 planten gewogen.

---

### 2.2.3.3 Trips bladtoets

Voor de biotoets trips werd na 10 dagen LED behandeling het derde blad van boven van de stek geplukt. De rest van de plant werd ter controle gebruikt voor de andere ziekteontwikkelingen en dus overgebracht naar de teeltkas. Het afgenomen blad werd op een laag 1% water agar gelegd in een 280 cc plastic bakje met het steeltje in de agar tegen uitdroging. Per bakje werden vijf volwassen Californische tripsen (*Frankliniella occidentalis*) op het blad geplaatst en het bakje werd afgesloten met een deksel met gaas. De bakjes werden voor 7 dagen bij 20°C geplaatst waarna de bladschade door trips in mm<sup>2</sup> met het oog werd geteld.

### 2.2.3.4 *Verticillium* biotoets

Aan de potjes met gestoomde grond bestemd voor de *Verticillium* biotoets werden 9\*10<sup>4</sup> sclerotiën van *Verticillium* toegevoegd alvorens de perskulties hierop werden gezet (140 g inoculum/50 L grond). *Verticillium* werd na 10 weken gescoord met een ziektescore voor zowel blad als de gehele plant:

- 1-2-3 score blad: 1 = ±30% van blad vergeeld, 2 = ±60% van blad vergeeld, 3 = ±100% van blad vergeeld (hierbij is per plant de gemiddelde score genomen van alle bladeren die vergeling vertoonden)
- 1-2-3 score plant: 1 = ±30% van alle bladeren vergeeld, 2 = ±60% van alle bladeren vergeeld, 3 = ±100% van alle bladeren vergeeld

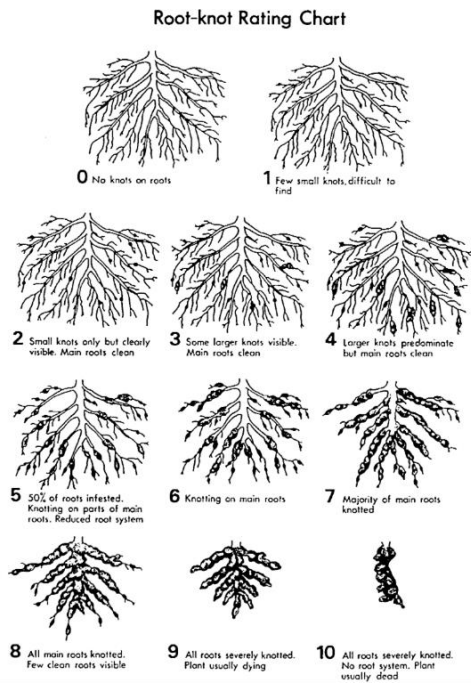
Verder is ook gescoord op necrose en verwelking met 1 = wel necrose/verwelking of 0 = geen necrose/verwelking.

### 2.2.3.5 *Pythium* biotoets

*Pythium* werd opgekweekt in standaard V8 groentesap op een schudmachine bij 90 rpm en 25°C. Na drie weken werd de concentratie bepaald. Aan de potjes met gestoomde grond werd 1\*10<sup>6</sup> sporen *Pythium ultimum* toegevoegd alvorens de perskulties hierop werden gezet (10 mL inoculum per plant). Na twee weken werden 15 planten per LED behandeling en per ras gebruikt voor het meten van de wortel- en stengellengte. Na 10 weken hetzelfde voor 25 planten. Verder werd er gescoord op levend/dood en groeiachterstand.

### 2.2.3.6 *Meloidogyne* biotoets

Wortelknobbelaaltjes waren aanwezig in de ongestoomde praktijkgrond. De concentratie van de aaltjes in de grond werd voor de start van de proef bepaald door Eurofins Analytico B.V. Perskulties werden op de ongestoomde grond gezet. Na 10 weken teelt werd de wortelknobbindex bepaald voor ziekte met *Meloidogyne*. De score werd gegeven volgens Figuur 2.1 (Bridge and Page, 1980). Ook is het aantal aaltjes in het tweede jeugd stadium (J2) per gram wortel geteld. Wortels van de chrysanten werden in stukjes geknipt en vier weken weggezet in een mistkamer bij 20°C. Om de 15 minuten werd de verneveling in de mistkamer aangezet om te streven naar 100% luchtvochtigheid. Door de waternevel werden de aaltjes uit het wortelmateriaal geëxtraheerd en in opvangbakjes opgevangen. Verzamelde aaltjes werden per monster afgegoten in 50 mL Greiner buizen en de hoeveelheid aanwezige aaltjes werden in nematoden telschaaltjes geteld onder een omkeermicroscop.



**Figuur 2.1** Wortelknobbelindex bepaling door Bridge and Page, 1980.

#### 2.2.4 Statistische analyses

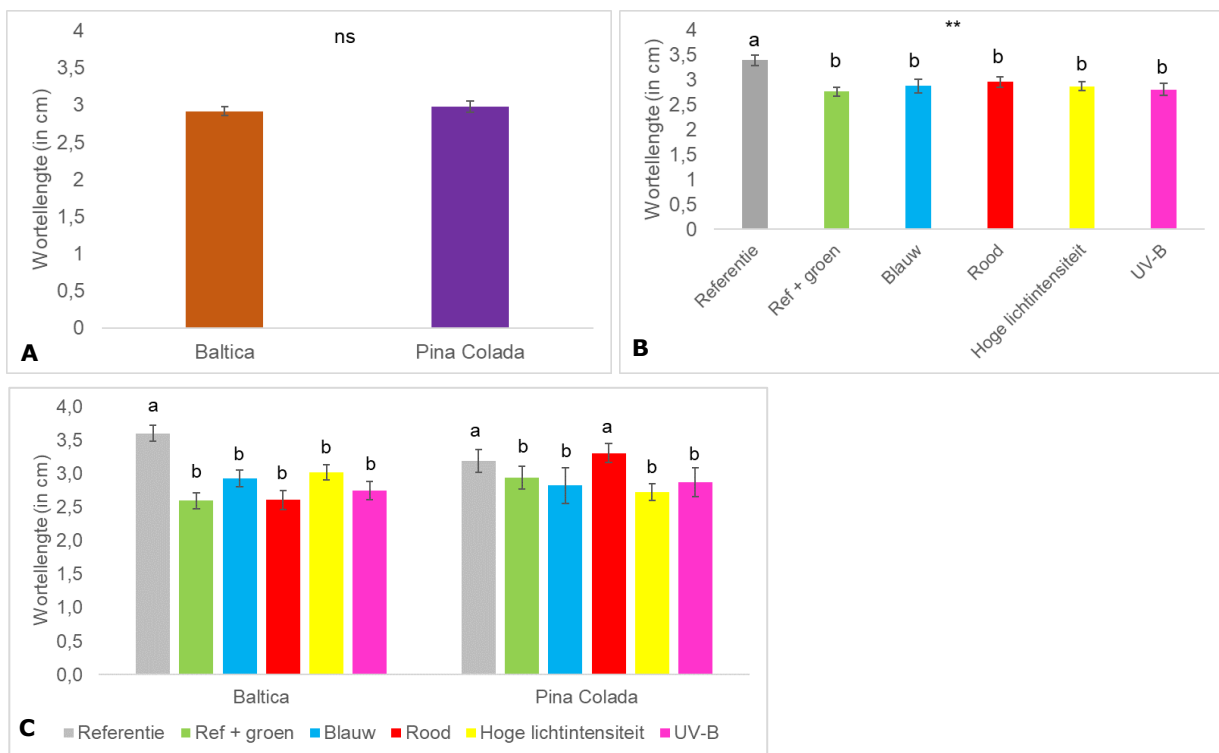
Statistische analyses werden uitgevoerd met behulp van IBM SPSS Statistics 25 software. Om verschillen tussen de LED behandeling op de weerbaarheid tegen de verschillende ziekten/plagen in de rassen te evalueren werden modellen gegenereerd voor alle biotoetsen apart. De zogenoemde goodness-of-fit werd bepaald door de residuals te onderzoeken op eventuele schendingen van normaliteit of homoscedasticiteit. Per biotoets werden voor de vergelijkingen Multi-Way Analysis of Variance (ANOVA) uitgevoerd. Daaropvolgende werden Tukey post-hoc tests op de modellen toegepast om eventueel aanwezige significantie levels tussen de behandelingen te bepalen. Een significantieniveau van  $p \leq 0,05$  werd gebruikt. In het geval de residuals niet normaal verdeeld waren werd een niet-parametrische Kruskal-Wallis toets uitgevoerd. De score voor mate van aantasting door *Verticillium* en *Meloidogyne* werd met een Chi-square test geanalyseerd met een significantieniveau van  $p \leq 0,05$ .

## 2.3 Resultaten

Chrysantenstekken werden voor 10 dagen belicht met verschillende LED verlichting recepten om te onderzoeken of LED verlichting tijdens de bewortelingsfase de plantweerbaarheid kan induceren en ook verhoogd kan houden tijdens de teelt. Dit werd gedaan door de wortel-, stekontwikkeling, weerbaarheid tegen trips en inhoudsstoffen te meten direct na de LED behandelingen. Hierna werden de chrysanten nog tien weken geteeld om verschillende ziekteontwikkelingen te beoordelen, specifiek tegen *Pythium*, *Verticillium* en *Meloidogyne*.

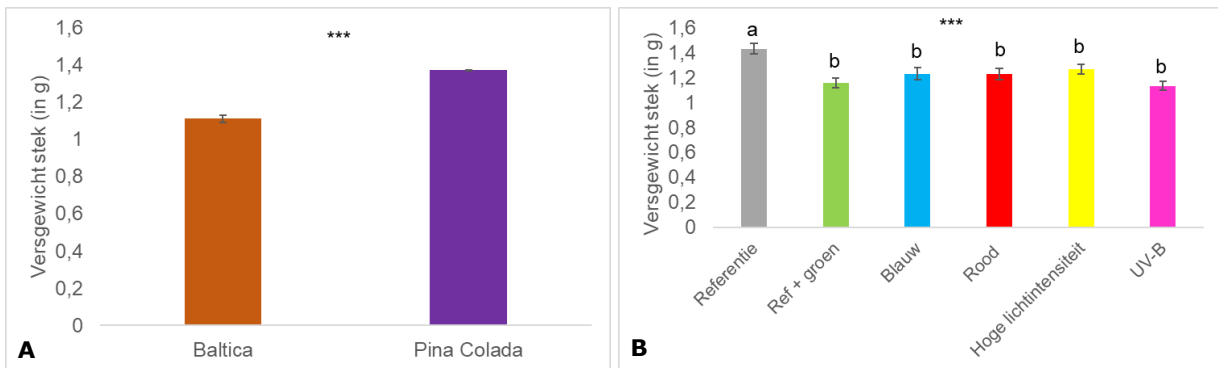
### 2.3.1 Wortel- en stekontwikkeling

Voor het effect van de verschillende LED behandelingen op de wortelontwikkeling zijn de wortellengtes gemeten. Er bleek geen significant verschil tussen de twee rassen Baltica en Pina Colada te zijn, zie Figuur 2.2A. Voor de LED behandelingen gold dat het referentielicht significant langere wortellengtes had dan de andere LED behandelingen (ANOVA,  $p < 0,01$ ), zie Figuur 2.2B. Ook bleek een significante interactie aanwezig te zijn: ten opzichte van Baltica had Pina Colada naast het referentielicht ook bij rood licht significant langere wortels (ANOVA,  $p < 0,01$ ), zie Figuur 2.2C. Randeffecten waren niet waarneembaar.



**Figuur 2.2** Geen significant verschil in wortellengte (in cm) tussen de Baltica en Pina Colada (A). Het referentielicht had significant langere wortels (B). Bij Pina Colada had ook rood licht significant langere wortels (C). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters met  $**p \leq 0,01$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

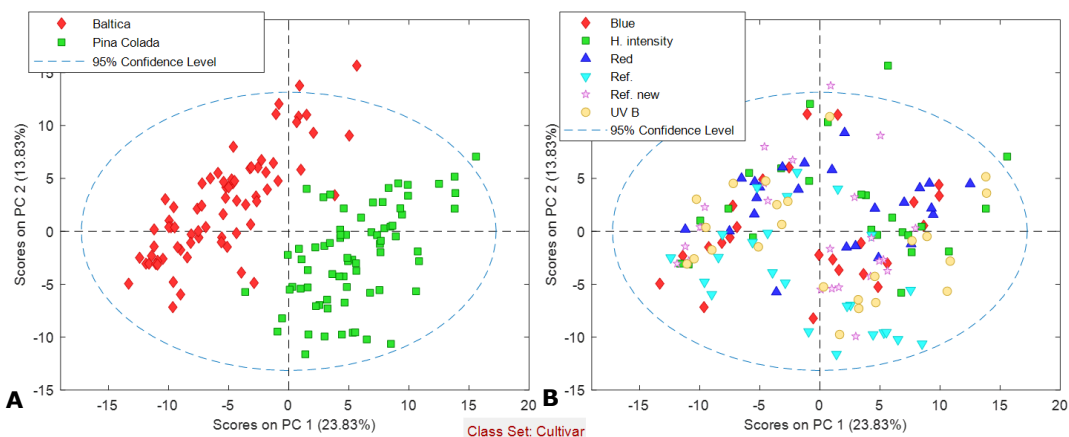
Van de stekken, gescheiden van de wortels, werd het versgewicht bepaald. In Figuur 2.3A is te zien dat het versgewicht van Pina Colada significant hoger was dan het versgewicht van Baltica (ANOVA,  $p < 0,001$ ). Het referentielicht gaf een significant hoger versgewicht dan de andere LED behandelingen (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 2.3B. Er was geen interactie tussen Baltica en Pina Colada in versgewicht.



**Figuur 2.3** Pina Colada stekken hadden significant een hoger versgewicht (in g) dan Baltica (A). Het referentielicht resulteerde in significant zwaardere stekken dan de andere LED behandelingen (B). Significantie is aangetoond met verschillende letters en met  $***p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

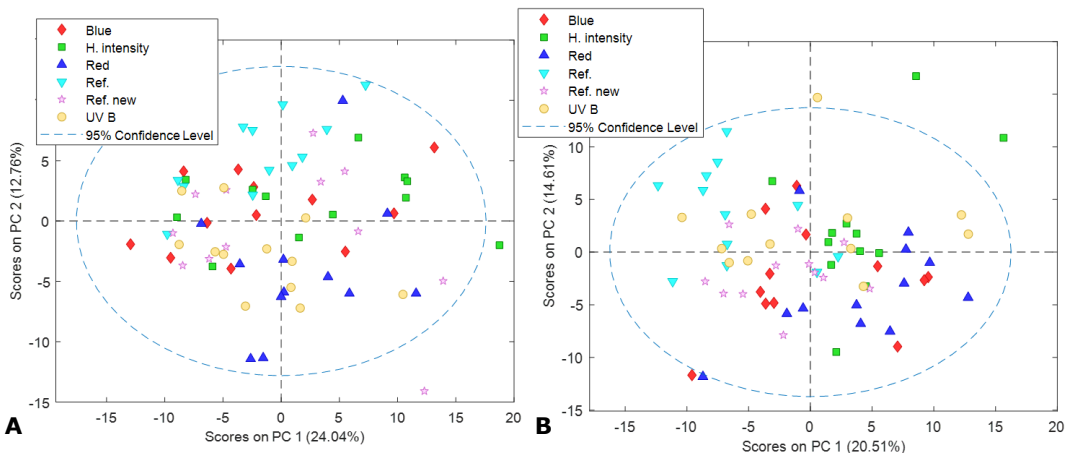
### 2.3.2 Plantinhoudsstoffen

Na de 10 dagen opkweek onder verschillende LED behandelingen werden de plantinhoudsstoffen (metabolieten) in de stekken met behulp van  $^1\text{H}$  NMR gemeten. Bij de untargeted Principle Component Analysis (PCA) bleken de rassen Baltica en Pina Colada duidelijk te verschillen in inhoudsstoffen: twee duidelijk afzonderlijke groepen vormden zich, zie Figuur 2.4A. De LED behandelingen bleken meer gemengd met elkaar en dus leken de inhoudsstoffen niet wezenlijk van elkaar te verschillen, zie Figuur 2.4B.



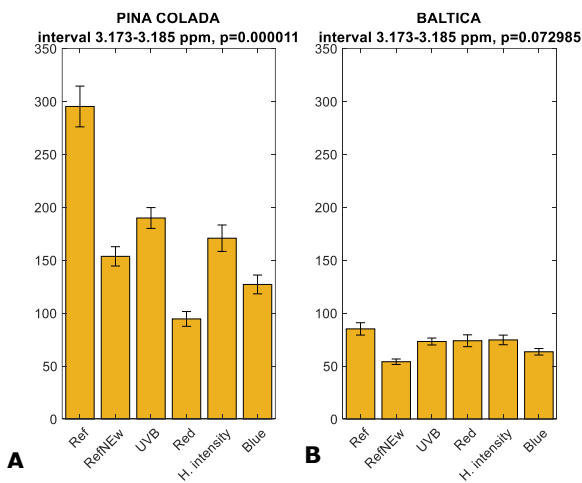
**Figuur 2.4** Principle Component Analysis van untargeted metabolomic samples waarbij Baltica en Pina Colada duidelijk verschillen in plantinhoudsstoffen (A) en inhoudsstoffen tussen de verschillende LED behandelingen meer overeenkomen (B).

Bij analyse met PCA van het metabooloom per ras leken er iets duidelijkere groepen te ontstaan tussen de LED behandelingen, maar uitgesproken verschillen in inhoudsstoffen waren er niet, zie Figuur 2.5.



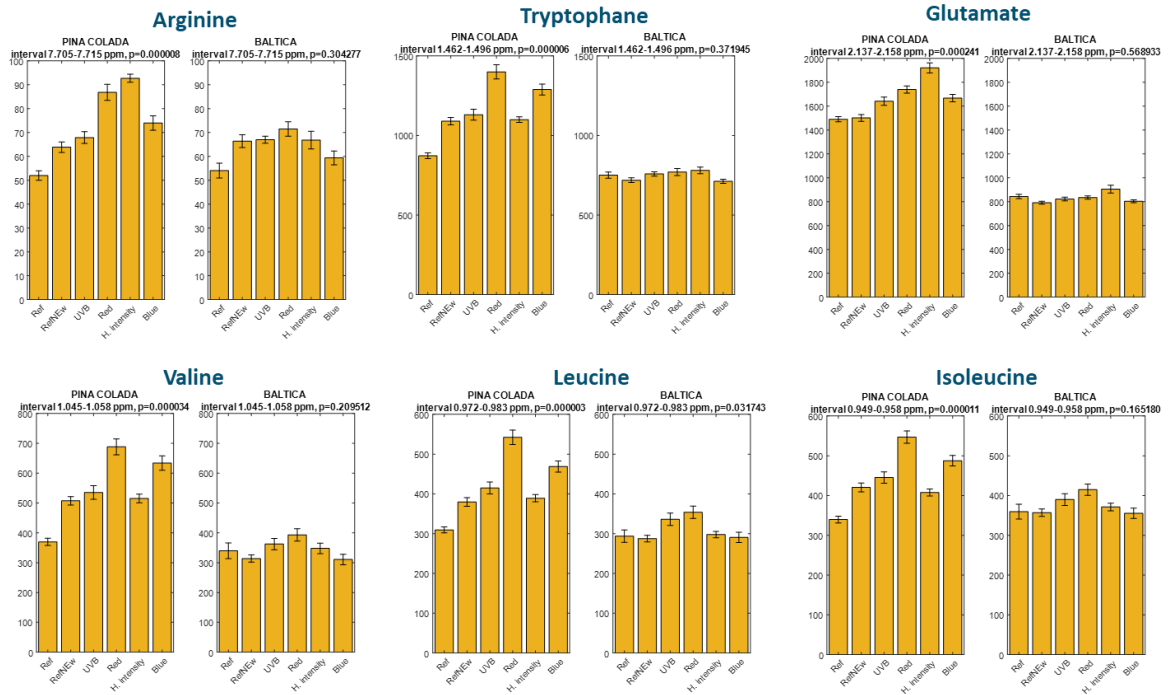
**Figuur 2.5** Principle Component Analysis van Baltica (A) en Pina Colada (B) gebaseerd op verschillen in inhoudsstoffen per LED behandeling.

Primaire metabolieten, zoals suikers en aminozuren, waren geanalyseerd. Suikers zoals glucose waren bij Pina Colada meer aanwezig dan bij Baltica, zie Figuur 2.6. Dit zou mogelijk het hogere versgewicht van Pina Colada kunnen verklaren. Zo had ook het referentielicht de meeste glucose en bleek zowel de wortellengte als het versgewicht van de stekken bij het referentielicht het hoogst te zijn (Figuur 2.2 en 2.3). Malaat en glutamaat werden ook teruggevonden, maar lieten geen significante verschillen zien tussen de behandelingen.



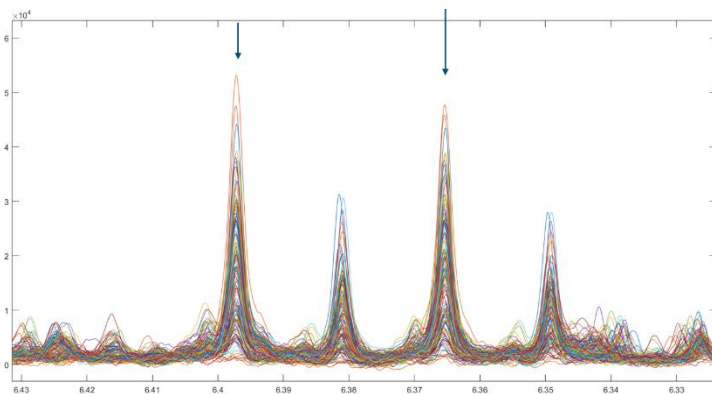
**Figuur 2.6** Aanwezigheid van glucose in Pina Colada (A) en Baltica (B) bij verschillende LED behandelingen met het referentielicht de hoogste concentratie.

Ook bij de aminozuren had Pina Colada een hogere concentratie dan Baltica, zie Figuur 2.7. Referentielicht had de laagste concentratie aan aminozuren; alle LED behandelingen verhogen de concentratie aan aminozuren ten opzichte van het referentielicht. De concentratie aminozuren in Baltica leken niet tot veel minder op de LED behandelingen te reageren, zie Figuur 2.7.



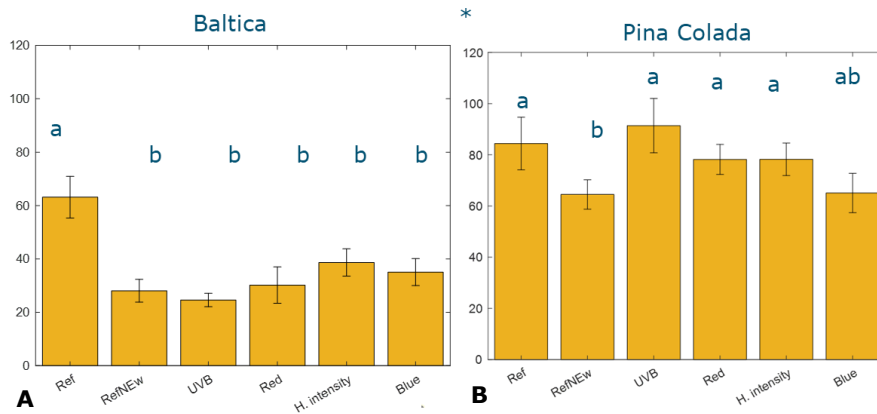
**Figuur 2.7** Aanwezigheid van diverse aminozuren in Pina Colada (links) en Baltica (rechts) na de bewortelingsfase onder verschillende LED behandelingen.

Tot slot werden ook de secundaire metabolieten, de afweerstoffen, geanalyseerd. Onder andere werd gefocust op chlorogeenzuur: een belangrijke natuurlijke stof gerelateerd aan plantweerbaarheid. Het gebied onder de pieken binnen het  $^1\text{H}$  NMR spectrum van chlorogeenzuur (Figuur 2.8) werd berekend en vergeleken voor de verschillende LED behandelingen en rassen. Voor elk ras waren de LED behandelingen significant verschillend van elkaar. Daarbij was er een interactie tussen de rassen met de LED behandelingen. Baltica behandeld met het referentielicht had significant meer chlorogeenzuur dan de andere LED behandelingen, zie Figuur 2.9A. Bij Pina Colada verschilde het referentielicht alleen significant in aanwezig chlorogeenzuur met referentielicht dat extra groen licht bevatte, zie Figuur 2.9B. Proline en trigonelline werden ook gevonden, maar hadden geen significante verschillen tussen de behandelingen.



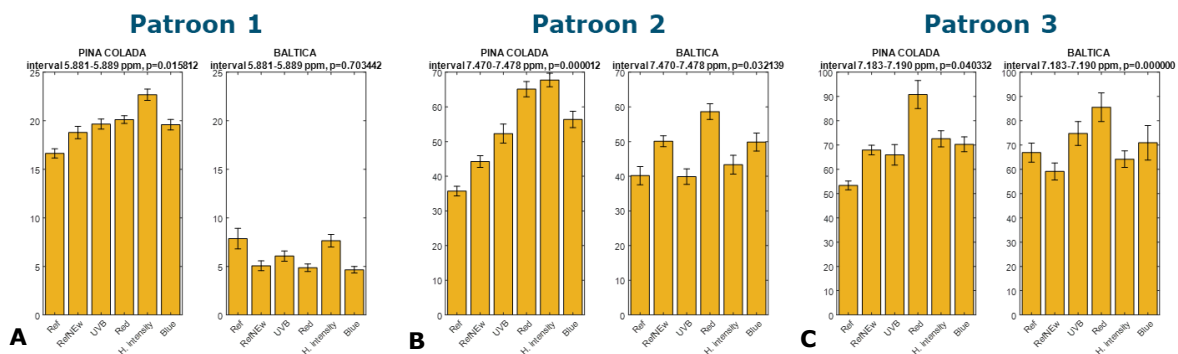
**Figuur 2.8**  $^1\text{H}$  NMR spectrum van chlorogeenzuur.





**Figuur 2.9** Chlorogeenzuur voornamelijk aanwezig bij het referentielicht in Baltica (A). Bij Pina Colada had referentielicht met extra groen minder chlorogeenzuur dan andere LED behandelingen (B). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters met  $*p \leq 0,05$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

Verder bleek uit de analyse nog 15 pieken te verschijnen. Deze pieken konden niet geïdentificeerd worden: onduidelijk is tot welke stoffen deze pieken behoren en of mogelijk verschillende pieken tot één stof behoren. Wel bleken voornamelijk drie patronen te ontstaan. Allereerst valt op dat Pina Colada een hogere concentratie aan afweerstoffen had dan Baltica. Deze verhoging was te zien bij alle LED behandelingen ten opzichte van het referentielicht, zie Figuur 2.10A. Een tweede patroon dat vaak werd waargenomen laat een verhoging in afweerstoffen zien bij Pina Colada door alle LED behandelingen. Baltica had hier een minder sterke verhoging aan afweerstoffen, maar reageerde sterk op rood licht en referentielicht met extra groen licht, zie Figuur 2.10B. Tot slot liet een derde trend zien dat Pina Colada opnieuw een verhoging aan afweerstoffen had voor alle LED behandelingen, maar voornamelijk door rood licht en licht met een hoge lichtintensiteit. Baltica daarentegen had voornamelijk een verhoging door rood licht en UV-B licht, zie Figuur 2.10C.



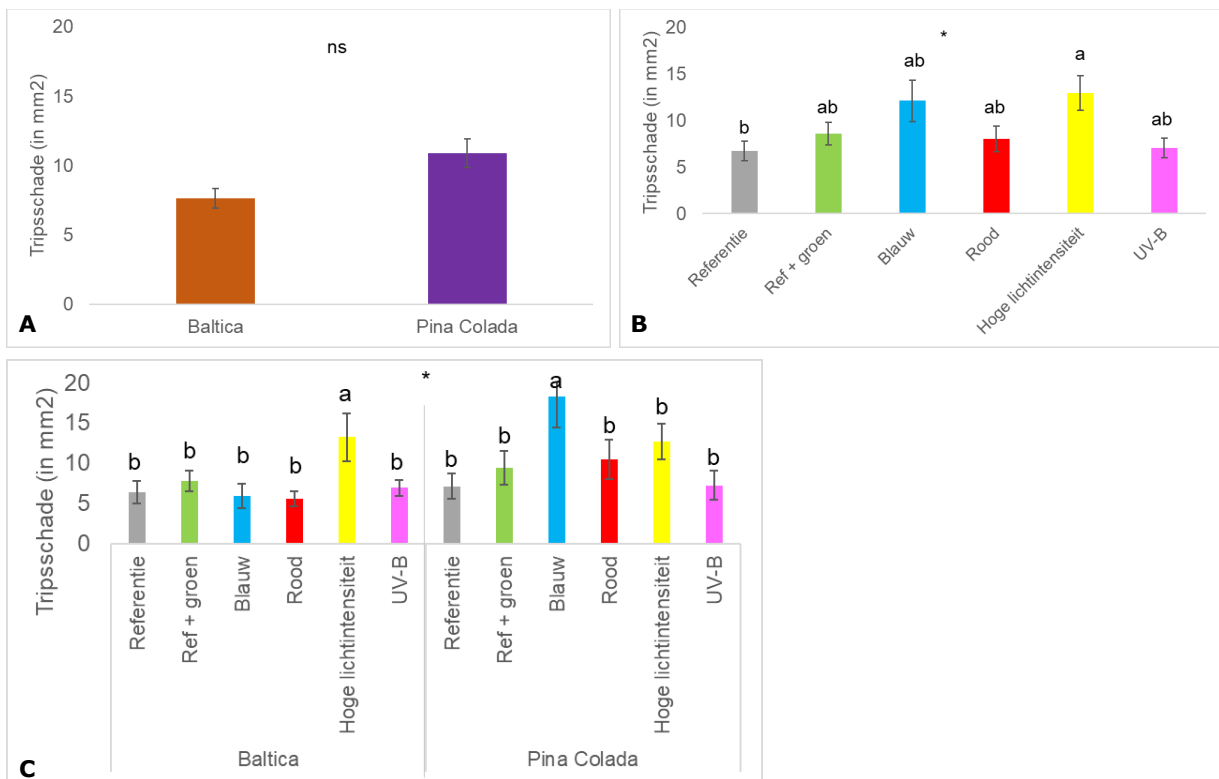
**Figuur 2.10** Terugkerende patronen van de invloed van verschillende LED behandelingen op de aanwezigheid van secundaire metabolieten in Pina Colada en Baltica.

Samengevat reageerden de plantinhoudsstoffen van Pina Colada anders dan van Baltica op de verschillende LED behandelingen. Daarbij was het referentielicht het meest verschillend van rood licht en een hoge lichtintensiteit. UV-B licht varieerde veel en leek hierdoor mogelijk verstrooid te zijn. Ook waren de suikers, aminozuren en (secundaire) afweerstoffen tussen de rassen en LED behandelingen met elkaar vergeleken. Voor suikers gold dat Pina Colada hogere concentraties aan suikers had dan Baltica, met de hoogste concentratie voor het referentielicht. Bij de aminozuren had het referentielicht de laagste concentratie. Pina Colada had hier hogere concentraties dan Baltica en had voor elke LED behandeling een verhoging ten opzichte van het referentielicht. Baltica gaf weinig reactie. Verder was chlorogeenzuur in beide rassen lager in het referentielicht met extra groen licht. Tot slot gold voor de secundaire metabolieten dat Pina Colada verhoogde concentraties met alle LED behandelingen had en de meeste toename onder rood licht en hoge lichtintensiteit. Baltica had een minder sterke reactie, maar wel een verhoging onder rood licht, UV-B of referentielicht met extra groen licht.

### 2.3.3 Resultaten biotoetsen

#### 2.3.3.1 Trips bladtoets

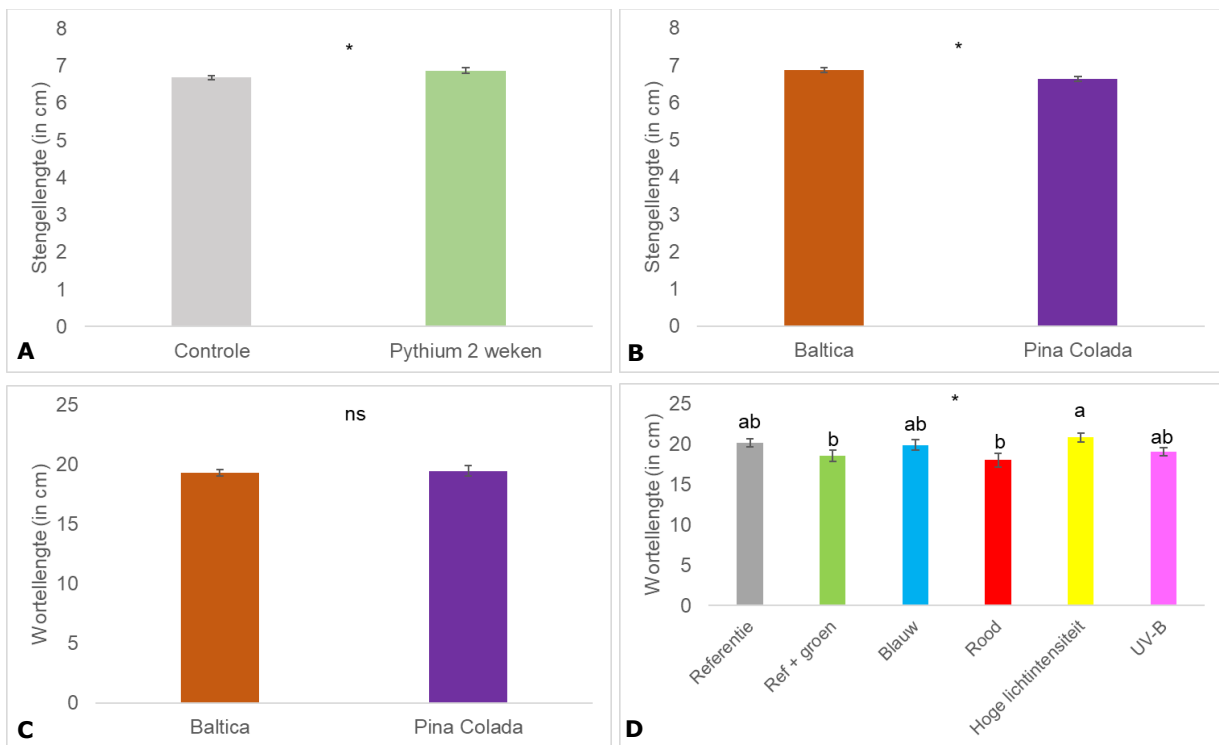
Een week na het inzetten van de trips bladtoets werd de tripsschade beoordeeld. De tripsen bleken weinig actief te zijn en de schade was niet zoals gewoonlijk wordt waargenomen bij trips biotoetsen. De schade was dan ook relatief laag, zie Figuur 2.11. In Figuur 2.11A is te zien dat er geen significant verschil was tussen Baltica en Pina Colada in tripsschade. Bij de LED behandelingen bleek de hoge lichtintensiteit significant meer tripsschade te geven dan het referentielicht (ANOVA,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 2.11B. Ook was er een interactie waarneembaar: in Baltica was er significant meer tripsschade onder hoge lichtintensiteit terwijl in Pina Colada blauw licht significant meer tripsschade gaf (ANOVA,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 2.11C.



**Figuur 2.11** Geen verschil in tripsschade (in mm<sup>2</sup>) tussen de rassen Baltica en Pina Colada (A). Het referentielicht had een significant lagere tripsschade dan de hoge lichtintensiteit LED behandeling (B). Bij Baltica had hoge lichtintensiteit meer tripsschade dan het referentielicht en bij Pina Colada gaf blauw licht significant meer tripsschade (C). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters met \*  $p \leq 0,05$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

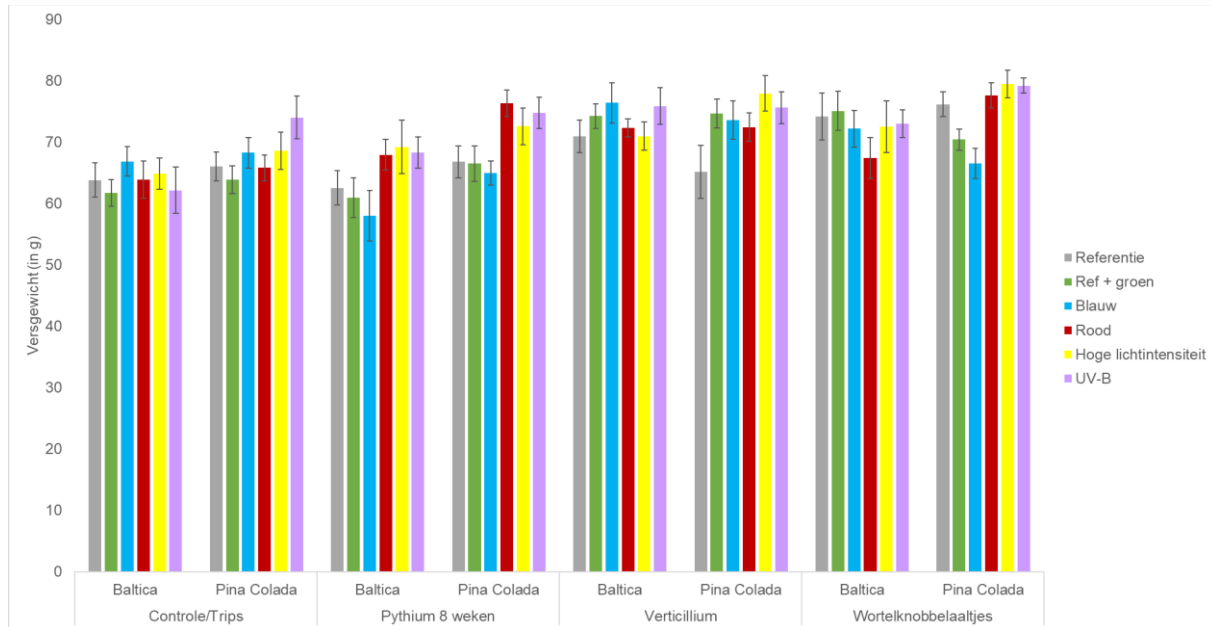
### 2.3.3.2 *Pythium* biotoets

Voor *Pythium* werd na twee weken teelt de stengel- en wortellengte gemeten. Planten met twee weken *Pythium* infectie waren significant langer vergeleken met de niet-geïnfecteerde controle planten (ANOVA,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 2.12A. Een significant verschil in de stengellengte bij de rassen bleek hierbij aanwezig te zijn waarbij Baltica een langere stengel had dan Pina Colada (ANOVA,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 2.12B. Tussen de verschillende LED behandelingen was geen significant verschil of interactie in stengellengte waarneembaar. Voor de wortellengte was geen significant verschil tussen de rassen zichtbaar, zie Figuur 2.12C. Wel hadden planten onder een hoge lichtintensiteit een significant langere wortel vergeleken met planten onder referentielicht met extra groen licht of rood licht (ANOVA,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 2.12D. Er was hier geen verschil met het referentielicht of een interactie.



**Figuur 2.12** Stengels van met *Pythium* geïnfecteerde planten waren significant iets langer dan die van controle planten na twee weken teelt (A). Baltica had een significant langere stengellengte dan Pina Colada (B). Geen verschil was er waargenomen tussen Baltica en Pina Colada in wortellengte (C). Geen verschil tussen referentielicht en andere LED behandelingen in wortellengte, maar hoge lichtintensiteit was significant langer dan referentielicht met additioneel groen licht en dan rood licht (D). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters met  $*p \leq 0,05$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

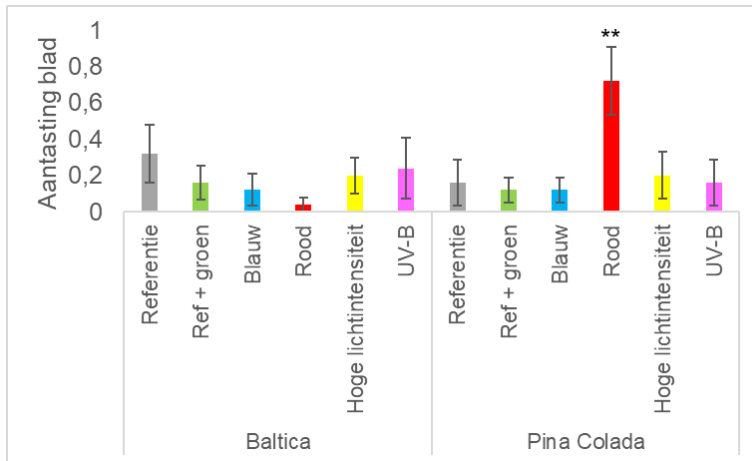
Ook was aan het einde van de teelt (na 10 weken) het versgewicht bepaald voor alle ziektebehandelingen, zie Figuur 2.13. Uit een non-parametrische Kruskal-Wallis test bleken er significante verschillen tussen de ziektebehandelingen te zijn. Uit two-way ANOVA analyses per ziektebehandeling bleek dat bij de controle planten Pina Colada een significant hoger versgewicht had dan Baltica ( $p \leq 0,05$ ). Voor de *Pythium* ziektebehandeling gold dat er een hoger versgewicht is bij de LED behandelingen met een hoge lichtintensiteit, rood licht en UV-B in vergelijking met blauw licht voor zowel Pina Colada als Baltica ( $p \leq 0,001$ ). Het referentielicht verschilde hierbij niet van de andere LED behandelingen.



**Figuur 2.13** Verschillen in versgewicht (in g) na tien weken teelt tussen de LED behandelingen voor de verschillende ziektebehandelingen en rassen. Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 2.3.3.3 *Verticillium* biotoets

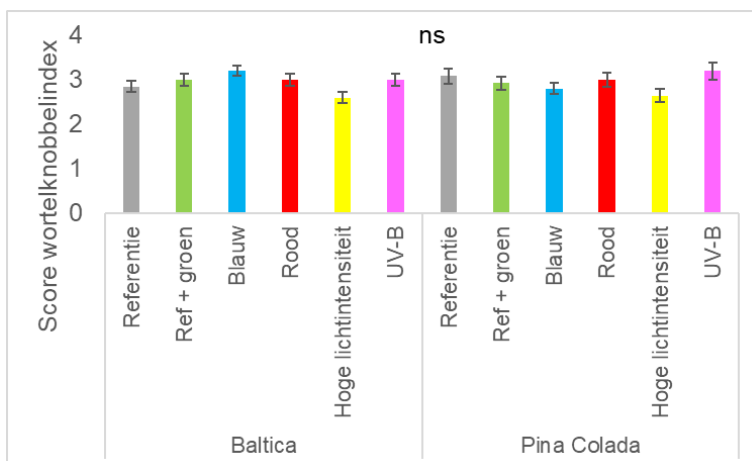
Voor de *Verticillium* biotoets werd een score voor aantasting van het blad en plant afzonderlijk gegeven. Met 0 voor geen symptomen en 3 voor zware aantasting. Dezelfde trend kwam hieruit naar voren. Gemiddeld gezien was er weinig infectie opgetreden en was er relatief een lichte aantasting door *Verticillium*. Met uitzondering van rood licht in Pina Colada. Bij de mate van bladaantasting ( $p \leq 0,01$ ) waren verder geen significante verschillen gevonden bij de Chi-square test, zie Figuur 2.14. Ook bij plantaantasting was rood licht in Pina Colada net niet significant ( $p = 0,103$ ). Necrose en verwelking gaven geen statistische verschillen. Bij de *Verticillium* besmetting werden geen significante verschillen in versgewicht gevonden tussen ras en/of LED behandeling, zie Figuur 2.13.



**Figuur 2.14** Scoregemiddelde voor aantasting van het blad door *Verticillium* infectie voor Baltica en Pina Colada waarbij rood licht significant meer aantasting bleek te hebben bij Pina Colada. Significantie is aangetoond met \*\* $p \leq 0,01$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

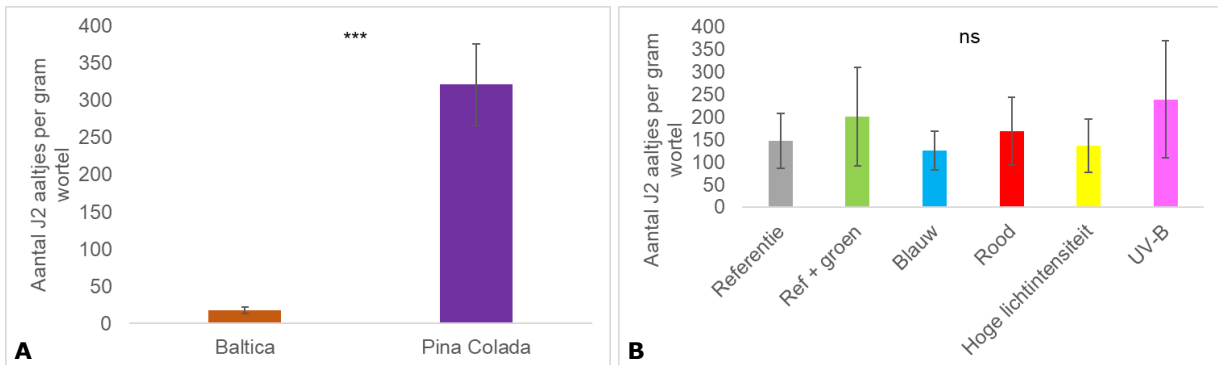
### 2.3.3.4 Meloidogyne biotoets

Voor het vaststellen van infectie door nematoden werd de wortelknobbindex bepaald. Hoe groter de aantasting van de wortel door de nematoden, hoe hoger de score. Alhoewel de hoge lichtintensiteit behandeling de laagste wortelknobbindex had, bleek uit de Chi-square test dat er geen significante verschillen waren tussen de rassen en LED behandelingen, zie Figuur 2.15.



**Figuur 2.15** Geen significant verschil in de score voor wortelknobbelaaltjes aantasting veroorzaakt door Meloidogyne in de rassen en de LED behandelingen. Data zijn gemiddelden met standaardfout.

Naast de wortelknobbelindex werden het aantal aaltjes in het tweede jeugd stadium geteld. Hier werden zeer grote significante verschillen tussen Baltica en Pina Colada in het aantal aanwezige aaltjes per gram wortel waargenomen (ANOVA,  $p < 0,001$ ). Waar Baltica gemiddeld onder de 25 aaltjes scoorden, haalde Pina Colada 300 aaltjes per gram wortel, zie Figuur 2.16A. Tussen de LED behandelingen was geen significant verschil vastgesteld, zie Figuur 2.16B. De variatie binnen de LED behandelingen was groot.



**Figuur 2.16** Pina Colada had significant meer aaltjes in het tweede jeugd stadium per gram wortel dan Baltica (A). Er was geen significant verschil in tweede jeugd stadium aaltjes tussen de LED behandelingen (B). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met  $***p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

Tot slot, ook het versgewicht was bepaald van de planten behandeld op grond met nematoden: alleen een significante interactie werd gevonden voor ras met LED (ANOVA,  $p \leq 0,05$ ), zie Figuur 2.13.

---

## 2.4 Conclusies

De stekken Baltica en Pina Coloda werden in de opkweekfase beworteld bij zes verschillende LED verlichting samenstellingen waarvan verwacht werd dat deze een positief effect hadden op de plantweerbaarheid. De recepten waren referentielicht (10% blauw, 90% rood, 10% verrood, 50µmol intensiteit); referentielicht met extra groen licht (20% groen, 10% blauw, 90% rood, 10% verrood, 50µmol intensiteit); blauw licht (100% blauw, 10% verrood, 50 µmol intensiteit); rood licht (100% rood, 10% verrood, 50 µmol intensiteit); hoge lichtintensiteit (referentielicht met 100 µmol intensiteit) en UV-B licht (referentielicht met 0.6 KJ/m<sup>2</sup>/dag UV-B). Na de bewortelingsfase werden plantmetingen uitgevoerd zoals wortellengte, stekbiomassa en gevoeligheid voor trips. Tijdens en na de teeltfase werd ook de lengte van plant en wortel in de gaten gehouden en weerbaarheidstoetsen uitgevoerd voor *Pythium*, *Verticillium* en nematoden. De resultaten van de bewortelingsfase lieten zien dat het versgewicht en de wortellengte van het referentielicht significant hoger was dan bij de andere LED behandelingen. Het versgewicht van Pina Colada was na de beworteling hoger dan Baltica. Voor de wortellengte werd geen verschil gevonden tussen de twee rassen. De tripsschade was bij beide rassen niet significant verschillend. Wel zagen we dat de tripsschade bij Pina Colada significant hoger was na behandeling met blauw licht en bij hoge lichtintensiteit. Opvallend was dat het referentielicht een relatief lage tripsschade vertoonde en dat de tripsen over het algemeen bij deze proef sloom reageerden. De LED behandelingen leken ook nauwelijks effect op *Pythium* of *Verticillium* te laten zien. Wellicht was het percentage infectie met *Verticillium* relatief laag (de gebruikte rassen zijn namelijk minder gevoelig voor *Verticillium*). Bij de nematoden werden geen verschillen tussen de LED behandelingen en het referentielicht aangetoond, maar planten beworteld onder LED met een hoge lichtintensiteit hadden een lagere wortelknobbelindex vergeleken met planten die beworteld werden met UV-B licht. Wat betreft het aantal nakomelingen van *Meloidogyne* (tweede jeugd stadium (J2) per gram wortel) waren er grote verschillen tussen de rassen: in Pina Colada waren er meer nakomelingen dan in Baltica. Een effect van LED behandelingen was niet waargenomen. Analyse van de plantinhoudsstoffen door NMR liet duidelijke verschillen zien tussen rassen en ook tussen LED behandelingen. Het ras Pina Colada reageerde veel sterker op de LED behandelingen dan Baltica. Baltica liet vooral verschillen zien tussen het referentielicht en rood licht terwijl Pina Colada daarnaast ook verschillen liet zien tussen het referentielicht en hoge lichtintensiteit. Pina Colada vertoonde veel hogere concentraties aan primaire metabolieten zoals suikers, aminozuren en organische zuren vergeleken met Baltica, maar ook hogere concentraties aan secundaire metabolieten die bij plantenafweer betrokken zijn. Verdiepend onderzoek naar de effecten van de LED behandelingen tijdens de bewortelingsfase op de plantweerbaarheid zijn nodig.

### Samenvattend:

- Resultaten toonden significant betere beworteling onder het referentielicht. Het versgewicht van Pina Colada was na de beworteling hoger dan Baltica.
- Relatief weinig tripsschade met het referentielicht behandeling, maar tripsen waren vrij inactief.
- Nog weinig effect van LED behandelingen op *Pythium*, *Verticillium* of nematoden reductie.
- Diepgaander onderzoek naar LED-effecten op plantweerbaarheid tijdens bewortelingsfase is nodig.

---

# 3 Verdieping van oriënterende proef voor inductie plantweerbaarheid chrysanten met verschillende kleuren LED verlichting

## 3.1 Inleiding

Om een stoomvrije chrysantenteelt mogelijk te maken werd er eerder al gefocust op het effect van verschillende LED verlichting recepten om de weerbaarheid van chrysantenstekken tijdens de bewortelingsfase te induceren. Deze proef van najaar 2021 gaf aanwijzingen voor de effecten van LED verlichting op de plantweerbaarheid. Deze resultaten waren echter nog onvoldoende uitgesproken om een onderbouwde keuze te kunnen maken voor een specifieke behandeling met LED verlichting. Daarom is besloten de behandelingen in aangepaste vorm te herhalen. Hiervoor werden dezelfde LED behandelingen gebruikt, behalve het LED recept met hoge lichtintensiteit (vanwege onder andere de haalbaarheid in de praktijk en energiegebruik), deze werd vervangen door een recept zonder verrood (10% blauw, 90% rood, 50µmol intensiteit). Om te onderzoeken of de LED behandelingen ook een universele werking op verschillende rassen hebben werd het experiment uitgebreid naar drie chrysantenrassen: Baltica, Chic en Pina Colada. Ook werd de duur van de bewortelingsfase verlengd van 10 dagen naar 14 dagen. Tot slot, aangezien *Verticillium* weinig invloed had op de rassen Baltica en Pina Colada werd deze ziekte vervangen worden door een biotoets met de nectrofe schimmel *Botrytis*. Na de bewortelingsfase werd opnieuw de beworteling beoordeeld, veranderingen in metabolieten geanalyseerd en zullen er verschillende biotoetsen voor veelvoorkomende chrysantenziekten getoetst worden.

### *Doel:*

Het doel van deze proef is om te bepalen welke kleuren LED verlichting zorgen voor een inductie van de weerbaarheid in chrysanten tegen verschillende ziekten (*trips*, *Botrytis*, *Pythium* en *Meilodogyne*).



## 3.2 Methode

### 3.2.1 LED verlichting behandeling chrysanten

Drie nog onbewortelde chrysanten rassen (Baltica (Deliflor Chrysanten B.V.), Chic (Royal Van Zanten) en Pina Colada (Deliflor Chrysanten B.V.)), gestoken in perskluitjes, werden gedurende twee weken behandeld met zes verschillende LED spectra voor 20 uur per dag. De dichtheid van de stekken was conform de praktijk: 400 stekken per 1m<sup>2</sup>. De zes LED behandelingen bestonden uit referentielicht, referentielicht met groen licht, referentielicht zonder verrood, rood licht, UV-B licht (15 minuten per dag om 17:00 uur 's middags) en blauw licht. Voor een gedetailleerd overzicht van de spectra, lichtintensiteit en referenties, zie Tabel 3.1. De LED verlichting was op een hoogte van 60 cm boven de stekken bevestigd en afgeschermd met niet-lichtdoorlatende zeilen. De stekken werden bijna dagelijks gebroesd en bij 23°C en 90% luchtvochtigheid geteeld. Na twee weken behandeling onder verschillende LED verlichting samenstellingen werden de stekken gerandomiseerd verdeeld voor metabolomics onderzoek, groei-ontwikkeling en weerbaarheidstoetsen tegen veelvoorkomende chrysantenziektes, zoals trips, *Botrytis*, *Pythium* en *Meloidogyne* (zie 3.2.2).

### 3.2.2 Biomassa, wortelontwikkeling en metabolomics

**Tabel 3.1** Samenstellingen van de LED verlichting behandelingen tijdens de bewortelingsfase.

Spectra	Groen	Blauw	Rood	Verrood	UV-B	Intensiteit	Referentie
Referentielicht		10%	90%	10%		50 µmol	Referentielicht
Referentielicht met groen licht	20%	10%	70%	10%		50 µmol	
Referentielicht zonder verrood		10%	90%			50 µmol	Alternatieve versie op behandeling door (Dieleman, 2022)
Rood licht			100%	10%		50 µmol	(Yang et al., 2015)
Blauw licht		100%		10%		50 µmol	(Chen et al., 2020)
UV-B		10%	90%	10%	0.60 kJ/m <sup>2</sup> /dag	0.60 kJ/m <sup>2</sup> /dag	(Escobar-Bravo et al., 2021)

Per LED behandeling en per ras werden 20 planten in duo's verdeeld en gebruikt voor destructieve metingen en metabolomics analyses. De wortels in de perskluitjes werden schoongespoeld met water en gescheiden van de stek. Hierna werd het wortelstelsel gefotografeerd voor een latere lengtebepaling met ImageJ. De stekken, bestaande uit de stengel en bladeren, werden gewogen voor het versgewicht. De wortels en stekken werden apart ingevroren in stikstof en bewaard bij -80°C. Na vriesdrogen werden deze opgestuurd naar Czech University of Life Sciences Prague, Department of Food Science, in Praag voor een inhoudsstofmetingen met behulp van <sup>1</sup>H NMR. Ook werden per LED behandeling en per ras van 10 planten metabolomic samples genomen na twee, vier en acht weken teelt op grond. Deze samples bestonden uit drie bladeren die eerder tijdens de bewortelingsfase blootgesteld waren aan de LED verlichtingen.

### 3.2.3 Biotoetsen

#### 3.2.3.1 Bodem

Grond met een besmetting met wortelknobbelaaltjes werd bemonsterd op een praktijkbedrijf voor en na het stomen. De gestoomde grond (lichte zavel) had een klei gehalte van 13%, silt van 35% en zand van 34%. Het organische stof gehalte was 15.5% en de pH was 6.9. De ongestoomde grond had een klei gehalte van 16%, silt van 38% en zand van 28%. Het organische stof gehalte was 15.5% en de pH was 6.8. De perskluitjes met inmiddels bewortelde stekken werden op gestoomde of ongestoomde grond gezet in 0,8L potten (zie 3.2.1 voor bewortelingsfase). Afhankelijk van de biotoets is gebruik gemaakt van de gestoomde of ongestoomde grond (zie hieronder). De volgende klimaatomstandigheden waren in de kas ingesteld: 800 ppm CO<sub>2</sub>, 75% luchtvochtigheid, 18,5°C stoken, 20°C luchten en lichtverhoging 3°C, daarbij standaard belichting van 00.00 uur tot 04.00 uur en een donkerdoek van 19.00 uur tot 08.00 uur dicht.

### 3.2.3.2 Beoordelingen ziekteontwikkeling

Na twee weken opkweek onder de LED verlichtingen werden de planten op gestoomde of ongestoomde grond geteeld of ingezet voor biotoetsen. De potjes waren gevuld met 0,8L gestoomde of ongestoomde praktijkgrond opgehaald bij een kwekerij (ongestoomd in het geval van *Meloidogyne*). Tijdens de teelt op grond, werden de chrysanten wekelijks beoordeeld op ziektesymptomen en bij de eerste, derde en zevende week werd de lengte van de planten gemeten. Voor groeiachterstand werd de lengtemeting van de desbetreffende groep vergeleken met de controle planten. De *Pythium* biotoets werd na drie weken beëindigd. Na zeven weken werden van de controle planten en de *Meloidogyne* groep het vers- en drooggewicht bepaald. Voor het drooggewicht zijn per LED behandeling en per ras 5 planten gewogen. Verdere details over de biotoetsen staan hieronder per ziekte beschreven.

### 3.2.3.3 Trips bladtoets

10 planten per LED behandeling en per ras werden gebruikt voor de trips biotoets. Van de stekken werd het derde blad van onder geplukt. Deze bladeren waren genoeg blootgesteld aan de LED verlichtingen. De plant werd hierna ter controle gebruikt voor de andere ziekteontwikkelingen en geteeld op gestoomde grond. Het afgenomen blad werd op een laag 1% water agar gelegd in een 280 cc plastic bakje met het steeltje in de agar tegen uitdroging. Per bakje werden vijf volwassen Californische tripsen (*Frankliniella occidentalis*) op het blad geplaatst en het bakje werd afgesloten met een deksel met gaas. De bakjes werden voor 4 dagen bij 20°C geplaatst en hierna 3 dagen in een koelcel bij 4°C opgeslagen zodat de tripsen inactief werden. Hierna werd de bladschade in mm<sup>2</sup> met het oog geteld.

### 3.2.3.4 Botrytis bladtoets

Van 10 planten per LED behandeling en per ras werd het derde blad van onder geplukt voor de *Botrytis* biotoets. De plant werd hierna gebruikt voor de *Pythium* biotoets en geteeld op gestoomde grond. Het afgenomen blad werd op een laag 1% water agar gelegd in een petrischaal met het steeltje in de agar tegen uitdroging. *Botrytis* werd voor 10 dagen op Potato Dextrose Agar (PDA) opgekweekt bij 22°C. De kweek werd hierna voor minstens 1 nacht geïncubeerd onder UV-licht om spoorvorming te stimuleren. 1\*10<sup>6</sup> sporen/mL werden gedurende 2 uur bij kamertemperatuur weggezet, hierna werden 2 druppels van 2 µL op de bladeren gepipetteerd (nerven vermijdend). De petrischalen werden bij 20°C geplaatst en na 3 en 6 dagen werden de ontstane laesies, met de grootste diameter, aan beide kanten op het blad gemeten in cm.

### 3.2.3.5 Pythium biotoets

40 planten per LED behandeling en per ras werden op gestoomde grond geteeld voor de *Pythium* biotoets. *Pythium ultimum* werd van tevoren opgekweekt in standaard V8 groentesap op een schudmachine bij 90 rpm en 25°C. Na drie weken werd de concentratie bepaald. Aan de potjes met gestoomde grond was 1\*10<sup>6</sup> sporen *Pythium* toegevoegd alvorens de perskluitjes met stekken hierop werden gezet (10 mL inoculum per plant). Na 3 weken teelt werd de lengte gemeten, het wel/niet bewortelen van de plant in de grond beoordeeld en gescoord op bladvergeling.

### 3.2.3.6 Meloidogyne biotoets

Wortelknobbelaaltjes waren aanwezig in ongestoomde praktijkgrond. De concentratie van de aaltjes in de grond werd voor de start van de proef bepaald door Eurofins Analytico B.V. Perskluitjes van 25 planten per LED behandeling en per ras werden op de ongestoomde grond gezet. Naast de lengtemeting en ziektesymptomen scoring werd na zeven weken de wortelknobbel index bepaald voor ziekte met *Meloidogyne*. De score werd gegeven volgens Figuur 2.1. Ook werd na zeven weken van 5 planten per ras en per LED behandeling de wortels in stukjes geknipt en vier weken weggezet in een mistkamer bij 20°C. Om de 15 minuten werd de verneveling in de mistkamer aangezet om te streven naar 100% luchtvochtigheid. Door de waternevel werden de aaltjes uit het wortelmateriaal geëxtraheerd en in opvangbakjes opgevangen. Verzamelde aaltjes werden per monster afgegoten in 50 mL Greiner buizen en de hoeveelheid aanwezige aaltjes werden in nematoden telschaaltjes geteld onder een omkeermicroscop. Ten slotte, na zeven weken werd het vers- en drooggewicht bepaald. Voor het drooggewicht zijn per LED behandeling en per ras 5 planten gewogen.

---

### 3.2.4 Statistische analyses

Statistische analyses werden uitgevoerd met behulp van IBM SPSS Statistics 25 software. Om verschillen tussen de zes LED behandelingen en de rassen op de groeiontwikkeling of weerbaarheid tegen de verschillende ziekten/plagen te evalueren, en mogelijke interacties tussen de twee onafhankelijke variabelen, werden modellen gegenereerd voor alle biotoetsen apart. De zogenoemde goodness-of-fit werd bepaald door de residuals te onderzoeken op eventuele schendingen van normaliteit of homoscedasticiteit. Per biotoets werden voor de vergelijkingen Multi-Way Analysis of Variance (ANOVA) uitgevoerd. Daaropvolgende Tukey post-hoc-tests werden op de modellen toegepast om significantie levels tussen de behandelingen of rassen te bepalen. Een significantieniveau van  $p \leq 0,05$  werd gebruikt. In het geval de residuals niet normaal verdeeld waren werd een niet parametrische Kruskal-Wallis toets uitgevoerd.

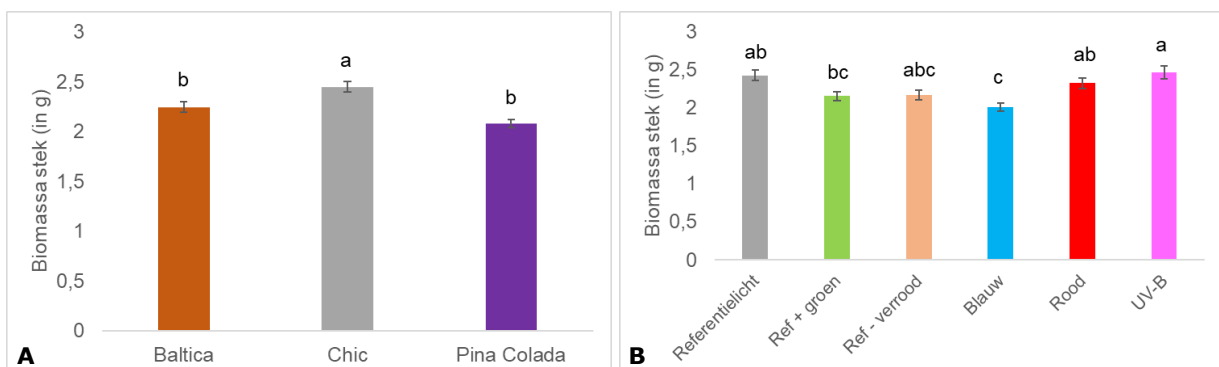
### 3.3 Resultaten

Onbewortelde chrysantenstekken werden twee weken belicht met verschillende LED spectra om het effect op wortel- en stekontwikkeling en plantweerbaarheid te onderzoeken. Direct na de twee weken opkweek werd de biomassa van de stek en de wortellengte gemeten en samples voor een plantinhoudstoffenbepaling opgeslagen, ook werd weerbaarheid tegen trips en *Botrytis* getoetst. De inmiddels bewortelde stekken werden verder geteeld bij korte dag om de weerbaarheid tegen *Pythium* en *Meloidogyne* te toetsen. Plantsamples werden gedurende de teelt meerdere malen genomen om het verloop van de plantinhoudstoffen te meten.

#### 3.3.1 Biomassa en wortellengte

##### 3.3.1.1 Biomassa stek

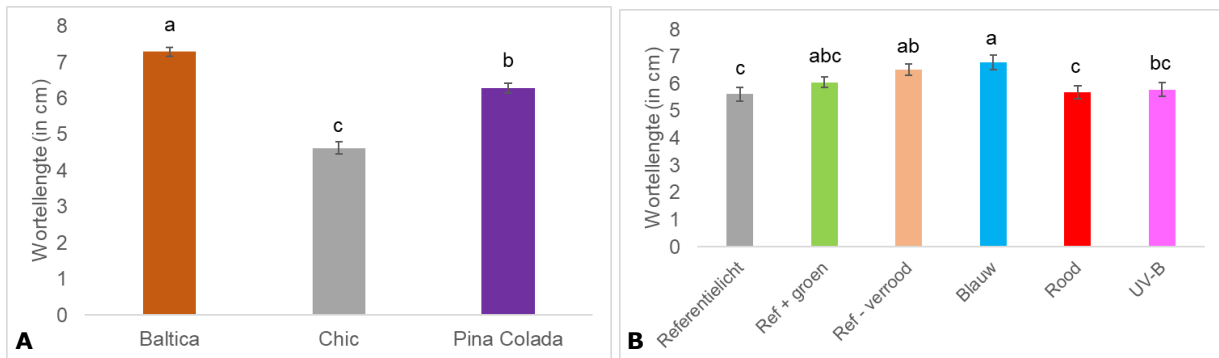
Het effect van de verschillende LED behandelingen op de biomassa werd direct na de twee weken beworteling gemeten. Onder biomassa wordt het gewicht (in g) van de stekken (blad+stengel) verstaan. Uit de resultaten bleek dat Chic een significant hogere biomassa had in vergelijking met Baltica en Pina Colada (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.1A. Voor verschillen tussen de LED behandelingen was de stek biomassa van het referentielicht alleen significant zwaarder dan blauw licht (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.1B. Significante interacties tussen de cultivars en LED behandelingen werden niet teruggevonden. Dat blauw licht de lengte, en daardoor indirect de biomassa, remt werd ook bevestigd door WUR onderzoeker Hoogdalem, waarbij blauw licht compacte groei veroorzaakte in verschillende perk- en potplanten (Staalduinen (2022), Vakblad Onder Glas). Mogelijk zijn dezelfde twee cruciale eiwitten betrokken bij de regulering van de strekking/biomassa in chrysanten onder blauw licht.



**Figuur 3.1** Chic had een significant zwaardere biomassa stek dan Baltica en Pina Colada (A). Het referentielicht resulteerde in zwaardere stekken dan stekken opgekweekt onder blauw LED licht (B). Significantie is aangetoond met verschillende letters waarvan  $***p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 3.3.1.2 Wortellengte stek

Direct na twee weken LED behandeling werden de wortellengtes van de chrysantenstekken bepaald met behulp van ImageJ. Voor de rassen gold dat Baltica significant langere wortels had dan Chic en Pina Colada; Pina Colada had significant langere wortels dan Chic (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.2A. Het referentielicht had significant kortere wortels dan referentielicht zonder verrood en blauw licht (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.2B. Er was geen significante interactie tussen de rassen en de LED behandelingen. Een Pearson correlatie (uit blauw licht) wees uit dat er echter geen trend bleek te zijn tussen lagere biomassa met langere wortels en vice versa ( $p = 0,103$ ) (Figuur 3.1 en Figuur 3.2).

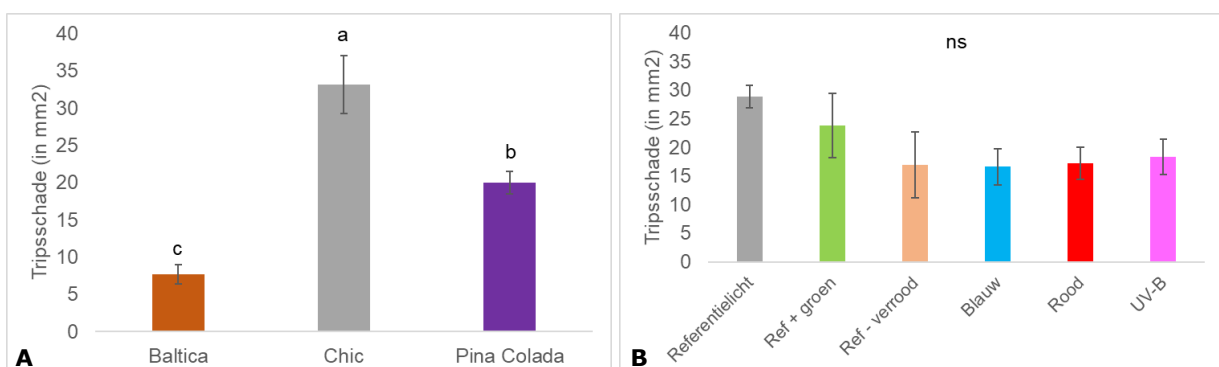


**Figuur 3.2** Baltica had significant de langste wortels, gevolgd door Pina Colada en dan door Chic (A). Referentielicht zonder verrood en blauw licht hadden significant langere wortels dan het referentielicht (B). Significantie is aangetoond met verschillende letters waarvan  $***p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 3.3.2 Weerbaarheid chrysanten

#### 3.3.2.1 Weerbaarheid tegen trips

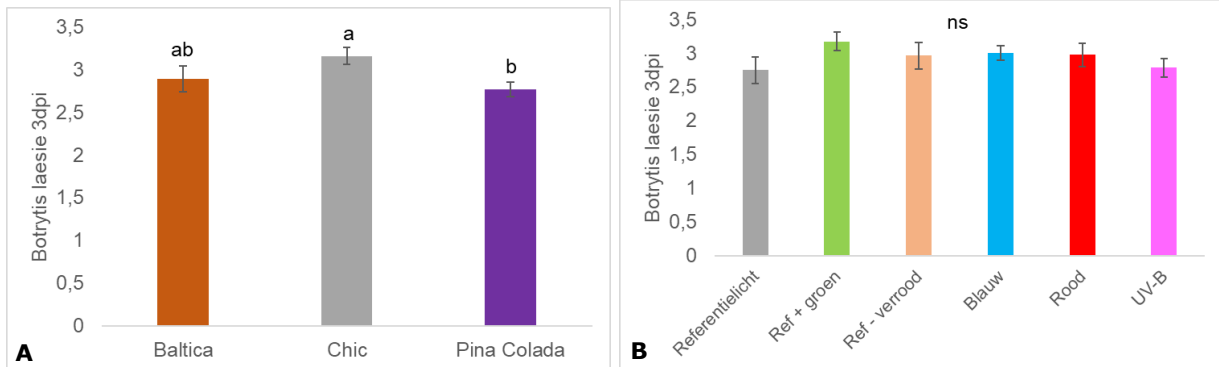
Na twee weken LED behandeling werden bladtoetsen ingezet om de weerbaarheid tegen trips te beoordelen. De tripsen waren erg actief en na 4 dagen werd de blootstelling aan trips gestopt en de schade geteld. In Figuur 3.3A is te zien dat Chic significant meer trips schade had dan Baltica en Pina Colada; Pina Colada had meer tripsschade dan Baltica (ANOVA,  $p < 0,001$ ). Een significant verschil tussen de LED behandelingen werd niet waargenomen. Er leek desalniettemin een trend uit te komen waarbij het referentielicht resulteerde in meer tripsschade dan het referentielicht zonder verrood, rood licht, UV-B licht en blauw licht. Door de hoge standaard error was dit verschil niet significant.



**Figuur 3.3** Chic had significant de meeste tripsschade (in  $\text{mm}^2$ ), gevolgd door Pina Colada en dan door Baltica (A). Er was geen verschil in tripsschade tussen de LED behandelingen (B). Significantie tussen de rassen met  $***p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 3.3.2.2 Weerbaarheid tegen *Botrytis*

Een dag na de twee weken LED behandeling werd *Botrytis* op afgenomen bladeren geïntroduceerd. Na 3 en 6 dagen werd de uitgroei van ontstane laesies veroorzaakt door *Botrytis* gemeten. Chic had significant grotere laesies dan Pina Colada 3 dagen na introductie (ANOVA,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 3.4A. Dit significante effect viel weg bij 6 dagen postinfectie. Bij zowel 3 dagen als 6 dagen na introductie van *Botrytis* was er geen significant verschil waarneembaar tussen de LED behandelingen, zie Figuur 3.4B. Wel was er een significante interactie tussen de rassen en LED behandelingen 6 dagen na *Botrytis* introductie: bij Pina Colada had blauw licht significant grotere laesies dan bij het referentielicht.

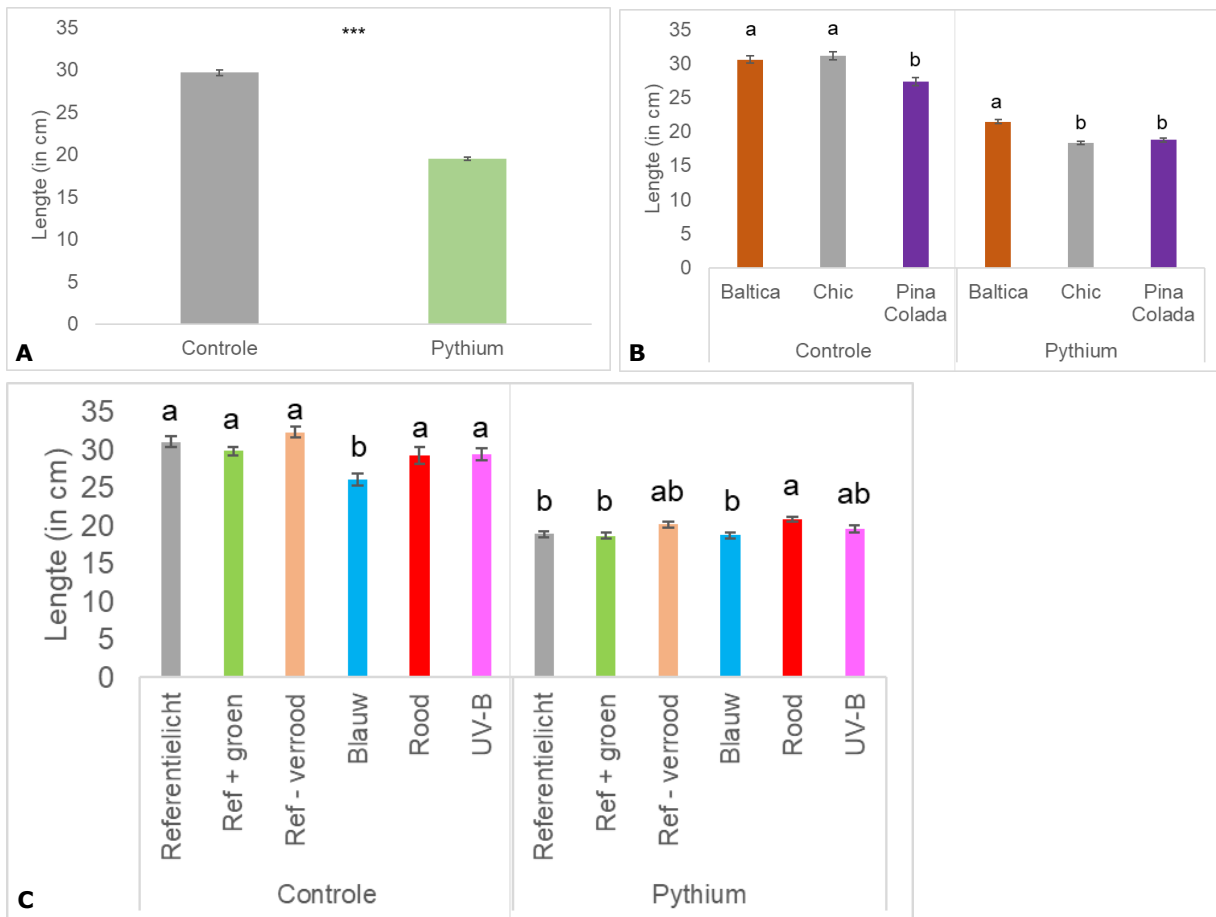


**Figuur 3.4** Significante verschillen in de grootte van *Botrytis* laesies (in cm) tussen Chic en Pina Colada 3 dagen na introductie (A); geen significant verschil tussen de LED verlichting behandelingen (B). Significantie tussen de rassen is aangetoond met verschillende letters met  $*p \leq 0,05$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 3.3.2.3 Weerbaarheid tegen *Pythium*

#### Lengtemetingen

Om de weerbaarheid tegen *Pythium* te testen werd direct na de twee weken LED behandeling en na drie weken teelt de lengte van de plant van de *Pythium* groep vergeleken met de controle groep. Aan het begin van de proef bleek de random selectie van de *Pythium* groep lichtelijk significant kleiner te zijn in vergelijking met de controle groep ( $10,4 \pm 0,1$  versus  $10,9 \pm 0,2$  cm) (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Na drie weken teelt was dit lengteverschil aanzienlijk groter geworden ( $19,5 \pm 0,2$  voor *Pythium* versus  $29,7 \pm 0,4$  cm voor controle) (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.5A. Een significant verschil was aanwezig tussen de rassen: Baltica was significant langer dan Chic en Pina Colada (ANOVA,  $p < 0,001$ ). Daarnaast was er een significante interactie binnen de lengte van de rassen tussen de controle en *Pythium* behandelde planten. Bij de controle planten bleek naast Baltica ook Chic significant langer te zijn dan Pina Colada (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.5B. Chic was hier vergelijkbaar qua lengte met Baltica. Voor het effect van de LED behandelingen op de lengte van de chrysanten gold dat blauw licht in significant kleinere planten resulteerde bij de controle planten in vergelijking met het referentielicht (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.5C. Bij de *Pythium* behandeling was geen significant verschil in lengte tussen referentielicht en blauw licht waargenomen. Wel bleek rood licht voor significant langere planten te zorgen in vergelijking met het referentielicht (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.5C.



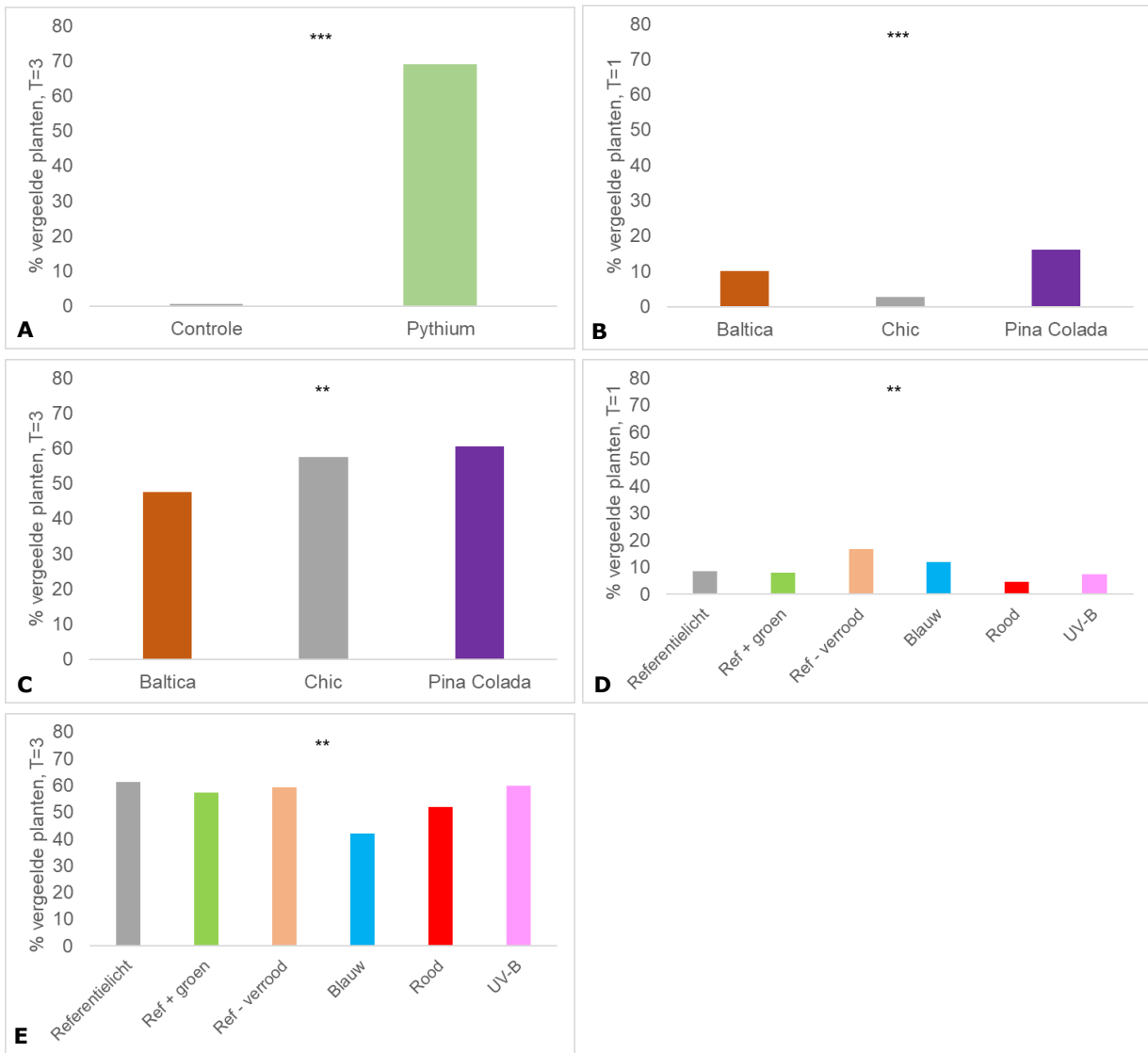
**Figuur 3.5** Controle planten waren na 3 weken teelt significant langer dan *Pythium* planten (A). Bij de controle planten waren Baltica en Chic significant langer dan Pina Colada; bij *Pythium* is alleen Baltica significant langer (B). Bij de LED behandelingen resulteerde blauw licht in significant kleinere planten ten opzichte van het referentielicht bij controle planten; voor *Pythium* bleek rood licht in langere planten te resulteren ten opzichte van het referentielicht (C). Significantie is aangetoond met verschillende letters met \*\*\* $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

---

### Bladvergeling

Gedurende de drie weken teelt werden de planten wekelijks beoordeeld op bladvergeling. Een chi-square test is uitgevoerd op de aan- of afwezigheid van gele bladeren, een kenmerk voor de aanwezigheid van *Pythium*. Voor zowel de eerste, tweede en derde week van de teelt bleek dat significant minder controle planten last hadden van bladvergeling ten opzichte van de *Pythium* behandeling ( $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.6A. Voor de rassen bleek een significant effect waarneembaar na één en drie weken teelt. Na één week teelt had Pina Colada significant de meest vergeelde planten, gevolgd door Baltica en dan door Chic ( $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.6B. Het percentage planten met gele bladeren was na drie weken aanzienlijk groter dan na één week teelt. Na drie weken teelt had Pina Colada de meest vergeelde planten, gevolgd door Chic en dan door Baltica met het minst aantal vergeelde planten ( $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.6C. Ook bij de LED behandelingen was een significant effect waarneembaar na één en drie weken teelt. Na één week teelt had rood licht de laagste hoeveelheid planten met vergeelde bladeren en de LED behandeling met referentielicht zonder verrood het hoogste percentage vergeelde planten ( $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.6D. Het percentage planten met gele bladeren was na drie weken aanzienlijk groter dan na één week teelt. Na drie weken teelt had blauw licht significant de minste hoeveelheid vergeelde planten en het referentielicht het hoogste percentage vergeelde planten, zie Figuur 3.6E. Bij twee weken teelt was geen significant verschil in het aantal planten met gele bladeren voor zowel de rassen als de verschillende LED behandelingen. Verder duidde een chi-square analyse op elke LED behandeling afzonderlijk aan dat na twee en drie weken teelt *Pythium* behandelde planten significant meer gele bladeren hadden dan de controle behandeling ( $p < 0,001$ ). Geen significant verschil was hierbij waargenomen voor de verschillende rassen, op blauw licht na ( $p < 0,05$  voor twee weken teelt en  $p < 0,01$  voor drie weken teelt). Na één week teelt bleek tussen de controle en *Pythium* behandeling alleen een significant verschil te zijn in aanwezigheid van gele bladeren bij het referentielicht zonder verrood ( $p < 0,01$ ) en blauw licht ( $p < 0,05$ ). Tussen de rassen was er een significant verschil in aanwezigheid van bladvergeling bij het referentielicht ( $p < 0,05$ ), blauw licht ( $p < 0,01$ ) en referentielicht zonder verrood ( $p < 0,001$ ).



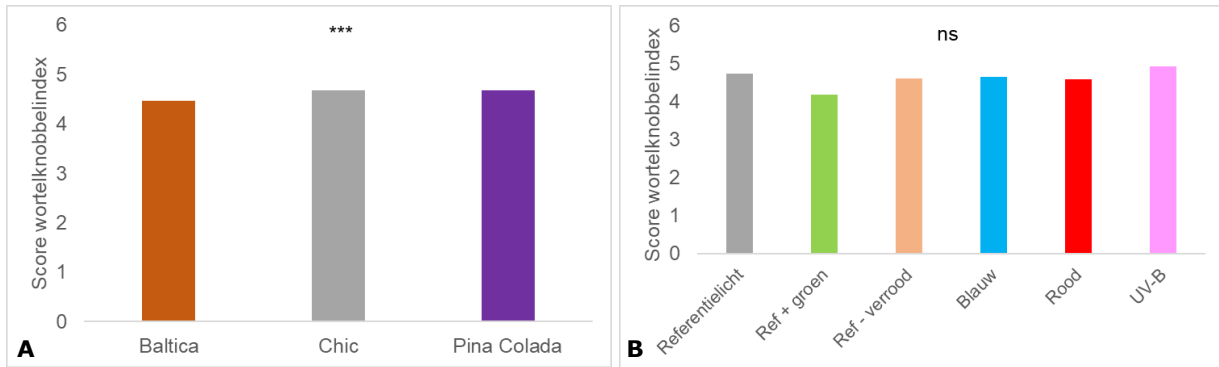


**Figuur 3.6** Significant groter percentage aan vergeelde bladeren bij de Pythium behandelde planten dan controle planten (A). Pina Colada heeft de meeste vergeelde bladeren, gevolgd door Baltica na één week teelt (B) en Chic bij drie weken teelt (C). Significant verschil in percentage vergeelde planten tussen de LED behandelingen (D en E). "T" duidt het aantal weken teelt aan. Significantie aangegeven met  $**p \leq 0,01$  en  $***p \leq 0,001$ .

### 3.3.2.4 Nematoden biotoets

#### Wortelknobbelindex

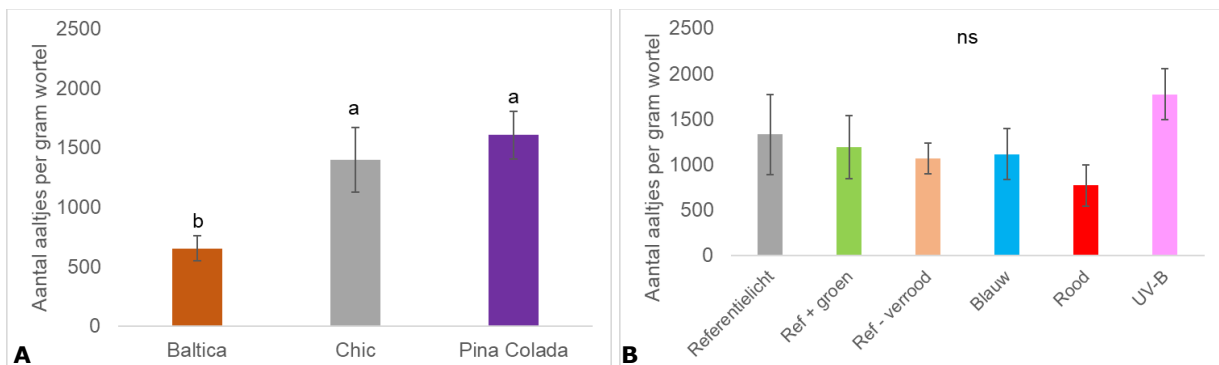
Weerbaarheid tegen nematoden werd onder andere beoordeeld door middel van een wortelknobbelindex. Een hoge wortelknobbelindex betekent meer aantasting van de wortel door aaltjes (zie Figuur 2.1) en dus geven lagere waarden een indicatie voor een versterkte plantweerbaarheid. Uit de analyse, zoals weergegeven in Figuur 3.7A, bleek dat er bij Baltica significant minder aantasting door aaltjes was waargenomen dan bij de andere cultivars (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ). Een significant verschil tussen de LED behandelingen was niet waargenomen, zie Figuur 3.7B.



**Figuur 3.7** Baltica heeft significant minder aantasting door wortelknobbelaaltjes dan Chic en Pina Colada (A). Geen significant verschil tussen de LED behandelingen in wortelknobbelindex (B). Significantie tussen de rassen met \*\*\* $p \leq 0,001$ .

#### Aaltjes telling

Naast de wortelknobbelindex werd ook een telling voor het aantal aaltjes uitgevoerd door wortels een aantal weken in de mistkamer weg te zetten. Door de waternevel in de mistkamer werden de aaltjes uit het wortelmateriaal geëxtraheerd. Per gram wortel waren er minder aaltjes aanwezig bij Baltica dan bij de andere cultivars (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.8A. Een significant verschil tussen de LED behandelingen werd door de grote standaard error er niet uitgehaald, zie Figuur 3.8B.

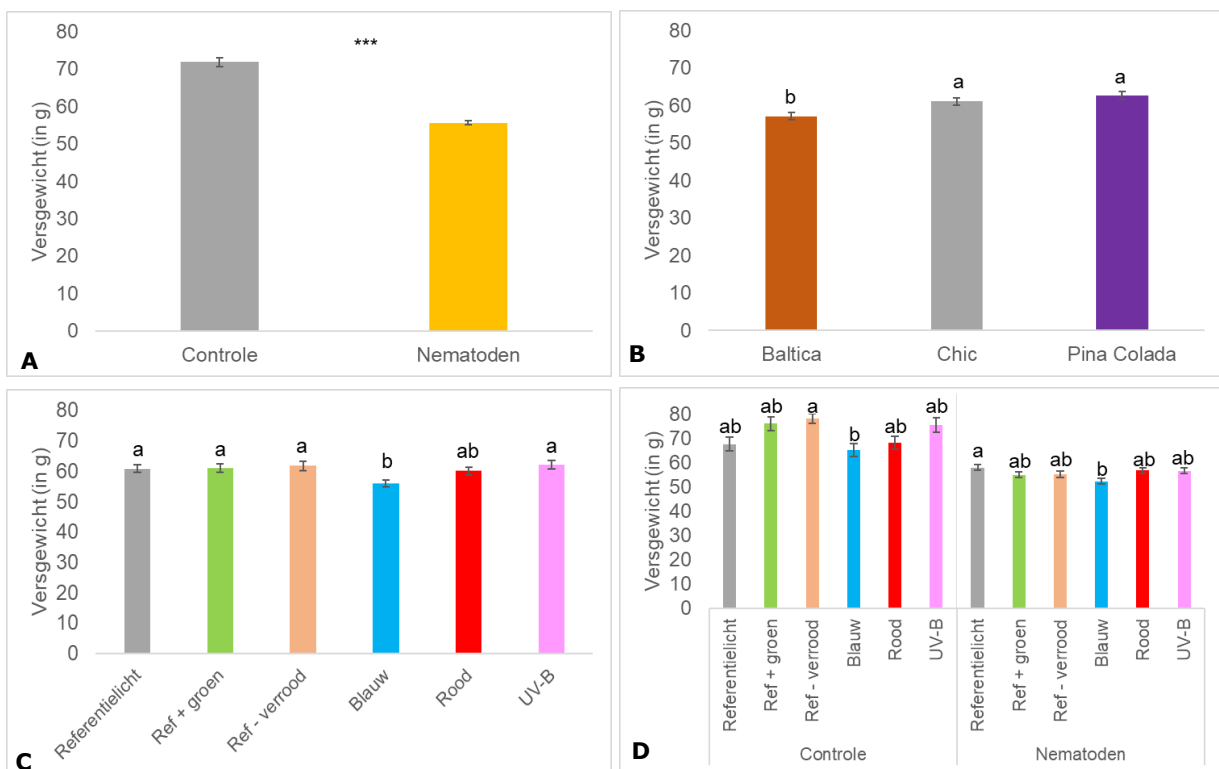


**Figuur 3.8** Baltica heeft significant minder aaltjes per gram wortels dan Chic en Pina Colada (A). Tussen de LED behandelingen was geen significant verschil in de hoeveelheid aanwezige aaltjes (B). Significantie tussen de rassen met \*\*\* $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### Vers- en drooggewicht

Naast de aaltjesindex werd ook het vers- en drooggewicht bepaald voor de controle planten en nematoden behandelingsgroep na acht weken teelt. Voor het versgewicht werd de gehele stengel met bladeren gewogen. De controle planten, geteeld op gestoomde grond, bleken significant zwaarder te zijn dan de planten geteeld op ongestoomde grond met nematoden (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.9A. Het ras Baltica was significant lichter dan Chic en Pina Colada (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.9B. Uit de LED behandelingen bleken de planten onder het referentielicht significant zwaarder te zijn dan met blauw licht (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.9C. Een significante interactie tussen de rassen en LED verlichting behandeling was niet aanwezig, eveneens als een interactie tussen de rassen en de controle/nematoden behandeling. Wel was er een significante interactie tussen de controle/nematoden behandeling en de LED behandelingen (ANOVA,  $p < 0,001$ ): waar bij de controleplanten het referentielicht niet significant verschillend was van andere LED verlichtingen bleek het referentielicht bij de nematoden behandelingsgroep significant verschillend te zijn van blauw licht. Bij blauw licht waren de planten minder zwaar, zie Figuur 3.9D.

Per LED behandeling en per ras werden 5 planten gedroogd en gewogen voor een bepaling van het drooggewicht. De controle planten bleken een significant zwaarder drooggewicht te hebben dan de planten die groeiden op grond met nematoden ( $13,3 \pm 0,3$  versus  $10,1 \pm 0,2$  g) (ANOVA,  $p < 0,001$ ). De LED behandelingen en de verschillende rassen gaven beiden geen significante verschillen in drooggewicht.



**Figuur 3.9** Planten geteeld op ongestoomde, nematoden bevattende grond hadden een significant lager versgewicht dan controle planten na 8 weken teelt (A). Baltica had een lager versgewicht dan Chic en Pina Colada (B). Blauw licht had een significant lager versgewicht dan het referentielicht (C). Een significante interactie was aanwezig tussen de controle/nematoden behandeling met de LED behandelingen. Bij controle planten had de LED behandeling geen effect in versgewicht ten opzichte van het referentielicht en bij de nematoden behandelde planten was blauw licht significant lager in versgewicht dan planten onder het referentielicht beworteld (D). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters met  $***p < 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 3.3.3 Plantinhoudstoffen

Direct na de twee weken LED behandelingen werden monsters voor analyse van metabolieten genomen van wortels en stekken van elke LED behandeling. Inhoudsstoffen (metabolieten) uit de wortels en stekken werden met behulp van <sup>1</sup>H NMR gemeten. Verder werden gedurende de teelt na twee, vier en acht weken monsters genomen om het aanhouden van secundaire metabolieten te kunnen volgen. Gezien de grote verschillen tussen het referentielicht en blauw licht in de teelt waren samples van alleen deze twee specifieke lichtbehandelingen opgestuurd voor een analyse. Uit de resultaten bleek dat er een significant verschil was in metabolieten tussen het referentielicht en de behandeling met blauw licht. Dit effect was later in de teelt na 2 weken ook nog terug te vinden. Daarnaast bleken er verschillen in het wortelmetaboloom te zijn. De metabolische verschillen tussen de planten behandeld met blauw licht ten opzichte van de controle zijn te zien in Figuur 3.10. In deze tabel zijn alleen de geïdentificeerde stoffen meegenomen. Voor de stekken gold dat vooral bij Baltica veel activiteit gemeten was. Alle aminozuren, suikers, 3-0-caffeoyl kininezuur, 5-0-ferruoyl kininezuur, en chlorogeenzuur (CGA) waren significant verhoogd. Ook bij Chic waren de aminozuren alanine, proline, glutamine, asparagine en tryptofaan verhoogd bij de stekken onder blauw licht ten opzichte van het referentielicht. Eveneens als sucrose, inuline en de fenolische compounds chlorogeenzuur en 3-0-caffeoyl kininezuur. Bij Pina Colada werden alleen de suikers verhoogd onder blauw licht ten opzichte van het referentielicht. Malaat, glutamaat en trigonelline werd ook teruggevonden in de analyse, maar gaven geen significante verschillen tussen de behandelingen.

Voor de wortels gold dat alleen bij Baltica de metabolieten geïnduceerd werden. Bij Chic en Pina Colada was juist een reductie van de metabolieten te zien, ook bij chlorogeenzuur. Baltica kreeg dus onder de behandeling van blauw licht meer energie vergeleken met het referentielicht en daarnaast vooral ook een verhoging van inhoudsstoffen betrokken bij plantweerbaarheid.

Direct na de LED behandelingen bleken afweerstoffen in wortels dus te verlagen (voor Chic en Pina Colada), maar toe te nemen in de stekken (voor Baltica en Chic).

2 weken na de lichtbehandelingen was bij alle rassen een verhoging van de suikers gemeten. Wel was er een reductie van chlorogeenzuur en kininezuren. Na twee weken teelt leken de stoffen dus lager ten opzichte van het referentielicht voor de aminozuren en afweerstoffen; suikers bleken wel te hoger. Mogelijk voor extra energie in groei-ontwikkeling.

	Stekken			Wortels			Stekken na 2 weken		
	Pina colada	Baltica	Chic	Pina colada	Baltica	Chic	Pina colada	Baltica	Chic
Isoleucine		↑↑↑		↓↓↓					
Valine		↑↑↑		↓↓↓		↓	↑	↑↑↑	
Threonine		↑↑↑		-	-	-			
Alanine		↑↑	↑↑		↑↑	↓			
Proline		↑↑↑	↑	-	-	-			
Glutamine		↑↑↑	↑↑↑	↓↓↓	↑↑↑		↑		
Asparagine		↑↑	↑↑↑	↓↓↓				↓↓↓	↓↓↓
Tryptophane		↑↑↑	↑	-	-	-			
Glucose	↑↑↑	↑↑			↑↑↑			↑↑↑	
Sucrose	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑		↑↑↑		↑↑↑	↑	↑
Inuline	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑		↑↑		↑	↑↑	↑
CGA		↑	↑	↓↓↓		↓↓↓	↓	↓	↓↓↓
3-0-caffeoyl quinic acid		↑↑	↑↑↑	↓↓↓		↓↓↓	↓	↓	↓
5-0-ferruoyl quinic acid		↑↑		↓		↓↓↓	↓	↓↓↓	↓↓↓
Histidine		↑↑		-	-	-			
Ethanol	-	-	-		↑				
probable Acetate	-	-	-	↓↓↓		↓			

**Figuur 3.10** Metabolistische veranderingen in de planten behandeld met blauw licht ten opzichte van het referentielicht. Alleen geïdentificeerde stoffen zijn weergegeven. Data was geanalyseerd met een ongepaarde t-test. Symbolen ↑/↓ voor  $p < 0,05$ , ↑↑/↓↓ voor  $p < 0,01$  en ↑↑↑/↓↓↓ voor  $p < 0,001$ .

---

## 3.4 Conclusies

Om te onderzoeken welk LED spectracompositie plantweerbaarheid het beste induceert en een universele werking heeft op verschillende rassen was dit experiment uitgebreid naar de drie rassen Baltica, Chic en Pina Colada. Na de bewortelingsfase bleek dat Baltica de langste wortels had, gevolgd door Pina Colada en Chic met de kortste wortels. Voor zowel Baltica, Chic als Pina Colada hadden stekken onder blauw licht significant langere wortels. Echter ook een significant lagere biomassa. Toch kon er geen significant negatieve correlatie tussen wortellengte en biomassa geobserveerd worden.

Voor de biotoetsen vonden we dat Chic de meest tripsschade vertoonde, gevolgd door Pina Colada en Baltica met de minste schade. Het leek of alle behandelingen iets minder tripsschade dan de referentie vertoonden, maar de variatie in de data was relatief hoog. Er was dan ook geen significant effect van de LED behandelingen op tripsschade vastgesteld.

Chic had significant meer *Botrytis* schade in vergelijking met Pina Colada na 3 dagen. De LED behandelingen hadden geen effect op *Botrytis*.

Pina Colada had de meeste vergeling door *Pythium* infectie. Over alle rassen heen hadden planten onder blauw licht minder vergeling vergeleken met het referentielicht op alle gemeten tijdstippen: 1, 2 en 3 weken na inoculatie.

Van planten met de nematoden infectie was het versgewicht aan het einde van de teelt bij Baltica significant lager dan de andere twee rassen. Blauw licht leidde tot een significant lager versgewicht voor alle rassen vergeleken met de meeste andere lichtbehandelingen. In drooggewicht waren er geen significante verschillen te observeren voor de rassen en voor de LED behandelingen.

Voor de aaltjesindex bleek dat Baltica significant minder aaltjes bevatte dan Chic en Pina Colada. Ook had Baltica significant minder aaltjes per gram wortel dan Chic en Pina Colada. Tussen de LED behandelingen was geen significant effect aanwezig.

Plantenmateriaal was direct na de LED behandelingen en tijdens de teelt bemonsterd voor metaboliëtenanalyse. Het referentielicht en blauw licht werden vergeleken. Effecten op plantweerbaarheid konden na de LED behandelingen gemeten worden. De meeste rassen vertoonden sterke veranderingen in hun metabooloom direct na behandeling met blauw LED licht: in de bladeren zijn zowel primaire metaboliëten (zoals aminozuren, suikers en organische zuren) als ook secundaire metaboliëten, welke voor de plantenafweer gebruikt worden, (zoals fenolen) verhoogd. Vooral bij Baltica werd hier veel activiteit gezien. Twee weken in de teelt bleken de suikers in alle rassen gestegen te zijn, maar werd een reductie in chloroogeen- en kininezuren vastgesteld. In de wortels was een verhoging van suikers bij blauw LED licht waar te nemen, maar afweerstoffen leken af te nemen. Deze gegevens ondersteunen de hypothese dat blauw LED licht de wortellexudaten zou kunnen veranderen wat tot een aangepast microbioom kan leiden; wat tevens plantweerbaarheid kan beïnvloeden.

### Samengevat:

- Na de LED behandelingen had Baltica de langste wortels, gevolgd door Pina Colada en Chic met kortste wortels.
- Onder blauw licht hadden alle rassen significant langere wortels, maar ook een lagere biomassa.
- De LED behandelingen vertoonden geen significant effect op tripsschade, al leken alle behandelingen lager in tripsschade dan het referentielicht.
- Blauw licht verminderde vergeling door *Pythium*-infectie bij alle rassen.
- Baltica had significant minder aaltjes per gram wortel dan Chic en Pina Colada.
- Metaboliëtenanalyse toonde verhoogde niveaus van primaire en secundaire metaboliëten na behandeling met blauw licht, vooral bij Baltica, wat de hypothese kan ondersteunen dat blauw LED-licht wortellexudaten kan veranderen en plantweerbaarheid kan beïnvloeden.

---

# 4 Toetsen van een gradiënt aan blauw licht voor de inductie van plantweerbaarheid tijdens de opkweekfase van chrysanten

## 4.1 Inleiding

Uit de verdiepende proef (Hoofdstuk 3) om te toetsen welke LED behandeling tijdens de bewortelingsfase de plantweerbaarheid het beste induceert kwamen positieve resultaten van de behandeling met monochromatisch blauw licht. Het bleek dat deze LED behandeling voornamelijk een positief effect had op de beworteling en de weerbaarheid tegen *Pythium*. Aangezien monochromatisch licht in de praktijk niet gegeven wordt (het zorgde ook voor een lagere biomassa) zal er binnen deze proef gekeken worden naar verschillende gradiënten blauw licht om een optimale behandeling tijdens de bewortelingsfase te vinden om de weerbaarheid verder te induceren. In deze proef zullen onbewortelde chrysantenstekken twee weken belicht worden met een gradiënt aan blauw licht met een range van 5% tot 100% blauw-rood. Hierna wordt de stekontwikkeling en plantweerbaarheid, tegen trips, *Botrytis*, *Pythium* en *Meloidogyne*, gemeten. Ook worden eventuele verschillen in plantinhoudsstoffen gedurende de teelt bepaald.

*Doel:*

Plantweerbaarheid testen van drie chrysantenrassen tegen verschillende ziekten na LED behandelingen met verschillende gradiënten aan blauw licht zonder dat er sterke effecten zijn op de groei en ontwikkeling van de plant.

## 4.2 Methode

### 4.2.1 LED verlichting behandeling chrysanten

Drie nog onbewortelde chrysanten rassen (Baltica (Deliflor Chrysanten B.V.), Chic (Royal Van Zanten) en Pina Colada (Deliflor Chrysanten B.V.)), gestoken in perskluitjes, werden gedurende twee weken behandeld met een gradiënt aan zes verschillende blauwe LED verlichtingen voor 20 uur per dag. De dichtheid van de stekken was conform praktijk: 400 stekken per 1m<sup>2</sup>. De zes LED behandelingen bestonden uit 5% blauw, 10% blauw (referentielicht vorig jaar), 30% blauw, 50% blauw, 70% blauw en 100% blauw (monochromatisch blauw zoals vorig jaar). Het licht werden aangevuld met rood licht tot 100% en additioneel verrood 10%. Voor een gedetailleerd overzicht van de spectra, lichtintensiteit, zie Tabel 4.1. De LED verlichting werd op een hoogte van 60 cm boven de stekken bevestigd en afgeschermd met niet-lichtdoorlatende zeilen. De stekken werden gebroesd wanneer de perskluiten droger werden en bij 23°C en 90% luchtvochtigheid geteeld. Na twee weken behandeling met de gradiënt aan blauw licht werden de stekken gerandomiseerd verdeeld voor metabolomics onderzoek, wortel- en stekontwikkeling en weerbaarheidstoetsen tegen veelvoorkomende chrysantenziektes, specifiek tegen trips, *Botrytis*, *Pythium* en *Meloidogyne*.

### 4.2.2 Biomassa, wortelontwikkeling en metabolomics

**Tabel 4.1** Samenstellingen van de LED verlichting behandelingen tijdens in de opkweekfase.

Spectra	Blauw	Rood	Verrood	Intensiteit
5% Blauw	5%	95%	10%	50 µmol
10% Blauw	10%	90%	10%	50 µmol
30% Blauw	30%	70%	10%	50 µmol
50% Blauw	50%	50%	10%	50 µmol
70% Blauw	70%	30%	10%	50 µmol
100% Blauw	100%	0%	10%	50 µmol

Per gradiënt blauwlicht en per chrysanten ras werden 20 planten gebruikt voor destructieve metingen en metabolomics analyses. De wortels in de perskluitjes werden schoongespoeld met water en gescheiden van de stek. De wortellengte werd gemeten en de stekken, bestaande uit de stengel en bladeren, werden gewogen voor het versgewicht. De wortels en stekken werden afzonderlijk in duo's verdeeld en ingevroren in stikstof waarna ze bewaard bleven bij -80°C. Na vriesdrogen werden deze opgestuurd naar Czech University of Life Sciences Prague, Department of Food Science, in Praag voor een inhoudsstofmetingen met behulp van <sup>1</sup>H NMR. Per LED behandeling en per ras werden ook van 10 planten monsters genomen voor metabolomic analyses na vier weken teelt op grond. Deze samples bestonden uit drie bladeren die eerder blootgesteld waren aan de LED verlichtingen.

### 4.2.3 Bodem

In de praktijk werd grond bemonsterd voor en na het stomen. De gestoomde bodem (zware zavel) had 14% klei, 28% silt en 30% zand. Het organische stof gehalte was 25.9% en de bodem had een pH van 6.6. de ongestoomde bodem had 14% klei, 30% silt en 28% zand. Het organische stof gehalte was 25.2% en de pH was 6.7. De perskluitjes met inmiddels bewortelde stekken werden op gestoomde en ongestoomde grond gezet in 0,8L potten. De volgende klimaatomstandigheden waren in de kas ingesteld: 800 ppm CO<sub>2</sub>, 75% luchtvochtigheid, 18,5°C stoken, 20°C luchten en lichtverhoging 3°C, daarbij standaard belichting van 00.00 uur tot 04.00 uur en een donkerdoek van 19.00 uur tot 08.00 uur dicht.

---

#### 4.2.4 Biotests

Na twee weken LED behandelingen werden de planten op grond geteeld of ingezet voor biotests, specifiek als controle planten of voor trips-, *Botrytis*-, *Pythium*- en *Meloidogyne* biotests. Wekelijks werden de chrysanten beoordeeld op ziektesymptomen, een percentage van mate van bladvergeling eveneens als een percentage voor het aantal bladeren dat vergeeld was op de planten. Daarbij werd, geteld vanaf de teelt op grond, de derde en tiende week de lengte van de planten gemeten. Voor groeiachterstand werd de lengtemeting van de desbetreffende groep vergeleken met de controle planten. De potjes waren gevuld met 0,8L gestoomde of ongestoomde praktijkgrond, afgehaald bij een kwekerij (ongestoomd in het geval van *Meloidogyne*). Na tien weken werd het vers- en drooggewicht bepaald van de planten. Voor het drooggewicht zijn per LED behandeling en per ras 5 planten gewogen. Verdere details over de biotests staan hieronder beschreven per ziekte.

##### 4.2.4.1 Trips bladtoets

10 planten per LED behandeling en per ras werden gebruikt voor de trips biotests. Van de stekken werd het derde blad van onder geplukt. Deze bladeren waren genoeg blootgesteld aan de LED verlichtingen. De plant werd hierna ter controle gebruikt voor de andere ziekteontwikkelingen en geteeld op gestoomde grond. Het afgenomen blad werd op een laag van 1% water agar gelegd in een 280 cc plastic bakje met het steeltje in de agar tegen uitdroging. Per bakje werden vijf volwassen Californische tripsen (*Frankliniella occidentalis*) op het blad geplaatst en het bakje werd afgesloten met een deksel met gaas. De bakjes werden voor 4 dagen bij 20°C geplaatst en hierna 3 dagen in een koelcel bij 4°C opgeslagen zodat de tripsen inactief werden. Hierna werd de bladschade in mm<sup>2</sup> geteld.

##### 4.2.4.2 Botrytis bladtoets

Van 10 planten per LED behandeling en per ras werd het derde blad van onder geplukt voor de *Botrytis* biotests. De plant werd hierna gebruikt voor de *Pythium* biotests en geteeld op gestoomde grond. Het afgenomen blad werd op een laag 1% water agar gelegd in een petrischaal met het steeltje in de agar tegen uitdroging. *Botrytis* werd voor 10 dagen op Potato Dextrose Agar (PDA) opgekweekt bij 22°C. De kweek werd hierna voor minstens 1 nacht geïncubeerd onder UV-licht om spoorvorming te stimuleren. 1\*10<sup>6</sup> sporen/mL werden gedurende 2 uur bij kamertemperatuur weggezet, hierna werden 2 druppels van 2 µL op de bladeren gepipetteerd (nerven vermijdend). De petrischalen werden bij 20°C geplaatst en na 3 en 6 dagen werden de ontstane laesies aan beide kanten op het blad gemeten in cm.

##### 4.2.4.3 Pythium biotests

40 planten per LED behandeling en per ras werden op grond geteeld voor de *Pythium* biotests. *Pythium ultimum* werd van tevoren opgekweekt in standaard V8 groentesap op een schudmachine bij 90 rpm en 25°C. Na drie weken werd de concentratie bepaald. Aan de potjes met gestoomde grond was 1\*10<sup>6</sup> sporen *Pythium* toegevoegd alvorens de perskluittjes met stekken hierop werden gezet (10 mL inoculum per plant). Naast de lengtemeting werd bladvergeling gescoord en het wel/niet bewortelen van de plant in de grond.

##### 4.2.4.4 Meloidogyne biotests

Wortelknobbelaaltjes waren aanwezig in ongestoomde praktijkgrond. De concentratie van de aaltjes in de grond werd voor de start van de proef bepaald door Eurofins Analytico B.V. Perskluittjes van 25 planten per LED behandeling en per ras werden op de ongestoomde grond gezet. Naast de lengtemeting en ziektesymptomen scoring werd na zeven weken de wortelknobbel index bepaald voor ziekte met *Meloidogyne*. De score werd gegeven volgens Figuur 2.1.

#### 4.2.5 Statistische analyses

Statistische analyses werden uitgevoerd met behulp van IBM SPSS Statistics 25 software. Om verschillen tussen de zes LED behandelingen en de rassen op de groei-ontwikkeling of weerbaarheid tegen de verschillende ziekten/plagen te evalueren, en mogelijke interacties tussen de twee onafhankelijke variabelen, werden modellen gegenereerd voor alle biotests apart. De zogenoemde goodness-of-fit werd bepaald door de residuals te onderzoeken op eventuele schendingen van normaliteit of homoscedasticiteit. Per biotest werden voor de vergelijkingen Multi-Way Analysis of Variance (ANOVA) uitgevoerd. Daaropvolgende Tukey post-hoc-tests werden op de modellen toegepast om significantie levels tussen de behandelingen of rassen te bepalen. Een significantieniveau van  $p \leq 0,05$  werd gebruikt. In het geval de residuals niet normaal verdeeld waren werd een niet-parametrische Kruskal-Wallis toets uitgevoerd.



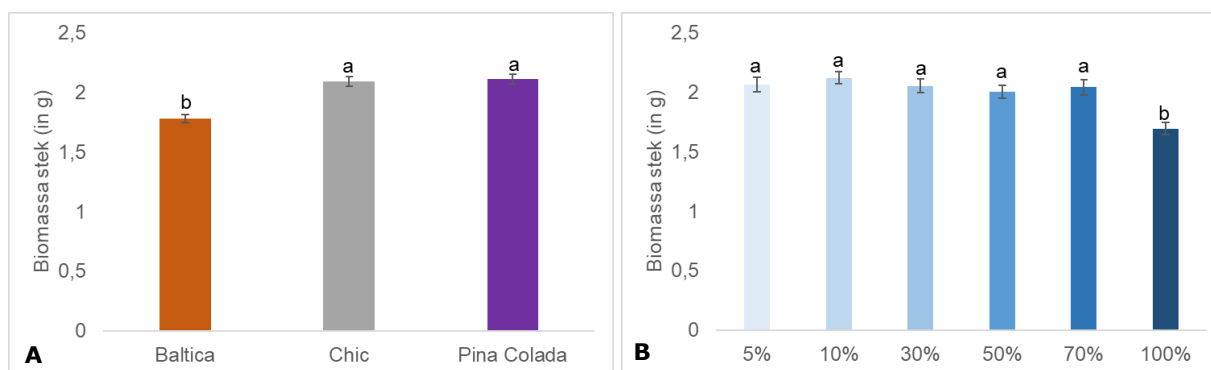
## 4.3 Resultaten

Uit de resultaten van de eerdere experimenten (Hoofdstuk 2 en 3) bleek monochromatisch blauw licht een positief effect te hebben op de reductie van *Pythium*. Daarom werden in deze proef onbewortelde chrysantenstekken twee weken belicht met een gradiënt aan blauw om vervolgens een optimale conditie te vinden voor zowel plantontwikkeling als plantweerbaarheid. Direct na de twee weken behandeling werden de biomassa en de wortellengte gemeten en monsters voor plantinhoudstoffen bepaling werden opgeslagen. De inmiddels bewortelde stekken werden verder geteeld bij korte dag om de weerbaarheid tegen verschillende ziekten en plagen te beoordelen. Plantsamples werden gedurende de teelt nogmaals genomen om het verloop van plantinhoudstoffen te meten.

### 4.3.1 Biomassa en wortellengte

#### 4.3.1.1 Biomassa stek

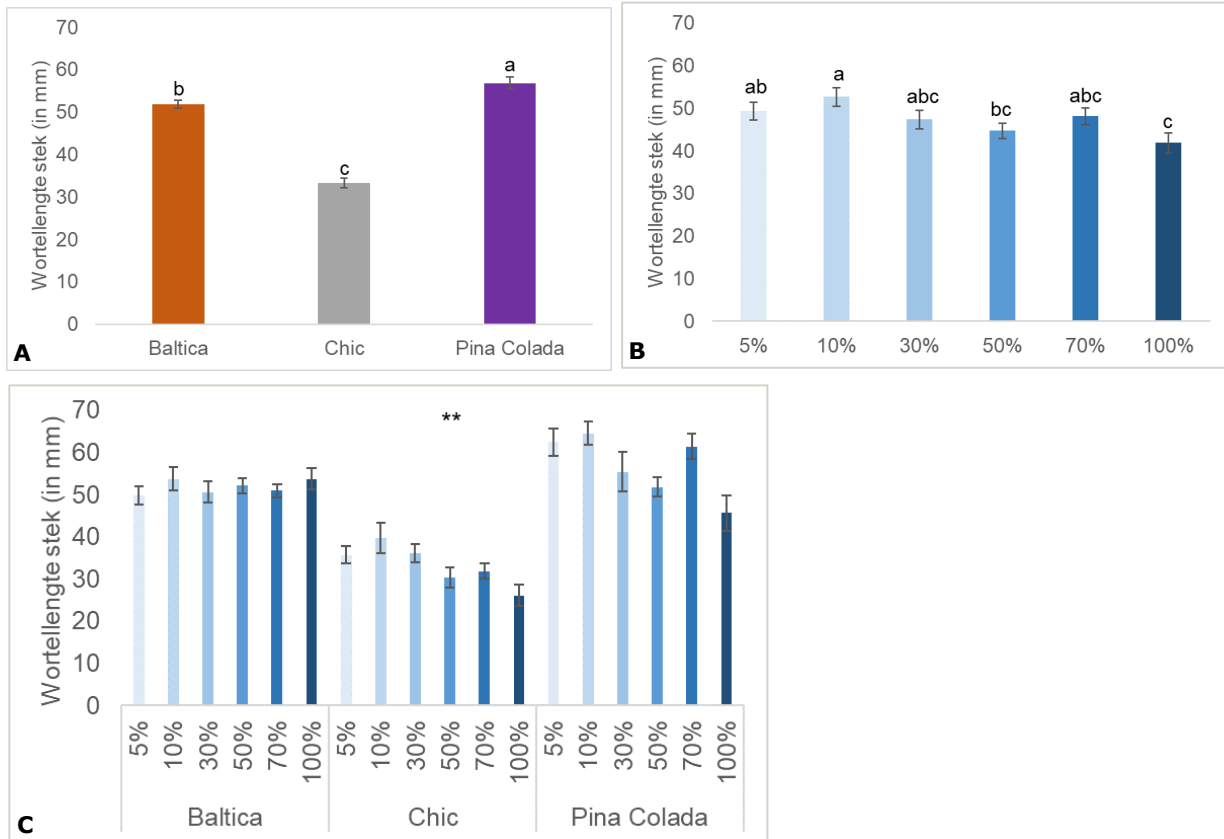
Het effect van de verschillende LED verlichtingen op de biomassa werd direct na de twee weken behandeling gemeten. Onder biomassa werd het gewicht (in g) van de stekken (blad+stengel) verstaan. Uit de resultaten bleek dat Chic en Pina Colada een significant hogere biomassa hadden in vergelijking met Baltica (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.1A. Voor verschillen in biomassa tussen de LED behandelingen was alleen 100% blauw licht significant minder zwaar dan de andere behandeling (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 3.1B. Dit ten opzichte van de vorige proef waar alleen het referentielicht (10% blauw) significant zwaarder was dan blauw licht (ANOVA,  $p < 0,001$ ). Significante interacties tussen de cultivars en LED behandelingen werden niet teruggevonden ( $p = 0,394$ ).



**Figuur 4.1** Baltica had een significant lichtere stekbiomassa dan Pina Colada en Chic (A). Monochromatisch blauw licht (100%) was significant lichter dan de andere LED behandelingen (B), en tussen de het referentielicht (10% blauw) en monochromatisch licht (100% blauw) (B). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters met  $***p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 4.3.1.2 Wortellengte stek

Direct na twee weken LED behandeling werden ook de wortellengtes van de chrysantenstekken gemeten. Voor de rassen gold dat Pina Colada significant langere wortels had dan Baltica en Chic; Baltica had significant langere wortels dan Chic (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.2A. Het referentielicht (10% blauw) had significant langere wortels dan 50% en 100% blauw (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.2B. 100% blauw had significant kortere wortels dan 5% en 10% blauw (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.2B. Tot slot, er was een significante interactie tussen de rassen en de LED behandelingen (ANOVA,  $p < 0,01$ ): bij Baltica gaf 100% blauw licht wel langere wortels.

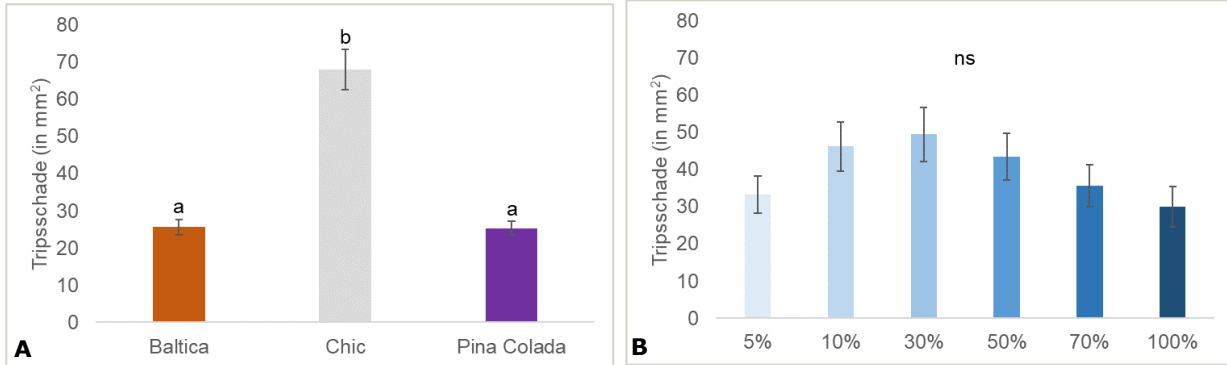


**Figuur 4.2** Significante verschillen in wortellengte (in cm) met Pina Colada de langste wortels, gevolgd door Baltica en dan Chic (A). Significante verschil tussen de LED verlichting behandelingen met het referentielicht (10%) significant langere wortels dan 50% en 100% blauw (B). Bij Baltica gaf 100% monochromatisch blauw licht significant langere wortels vergeleken met Chic en Pina Colada (C). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters met  $***p \leq 0,001$  en  $**$  voor  $p \leq 0,01$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

## 4.3.2 Weerbaarheid chrysanten

### 4.3.2.1 Weerbaarheid tegen trips

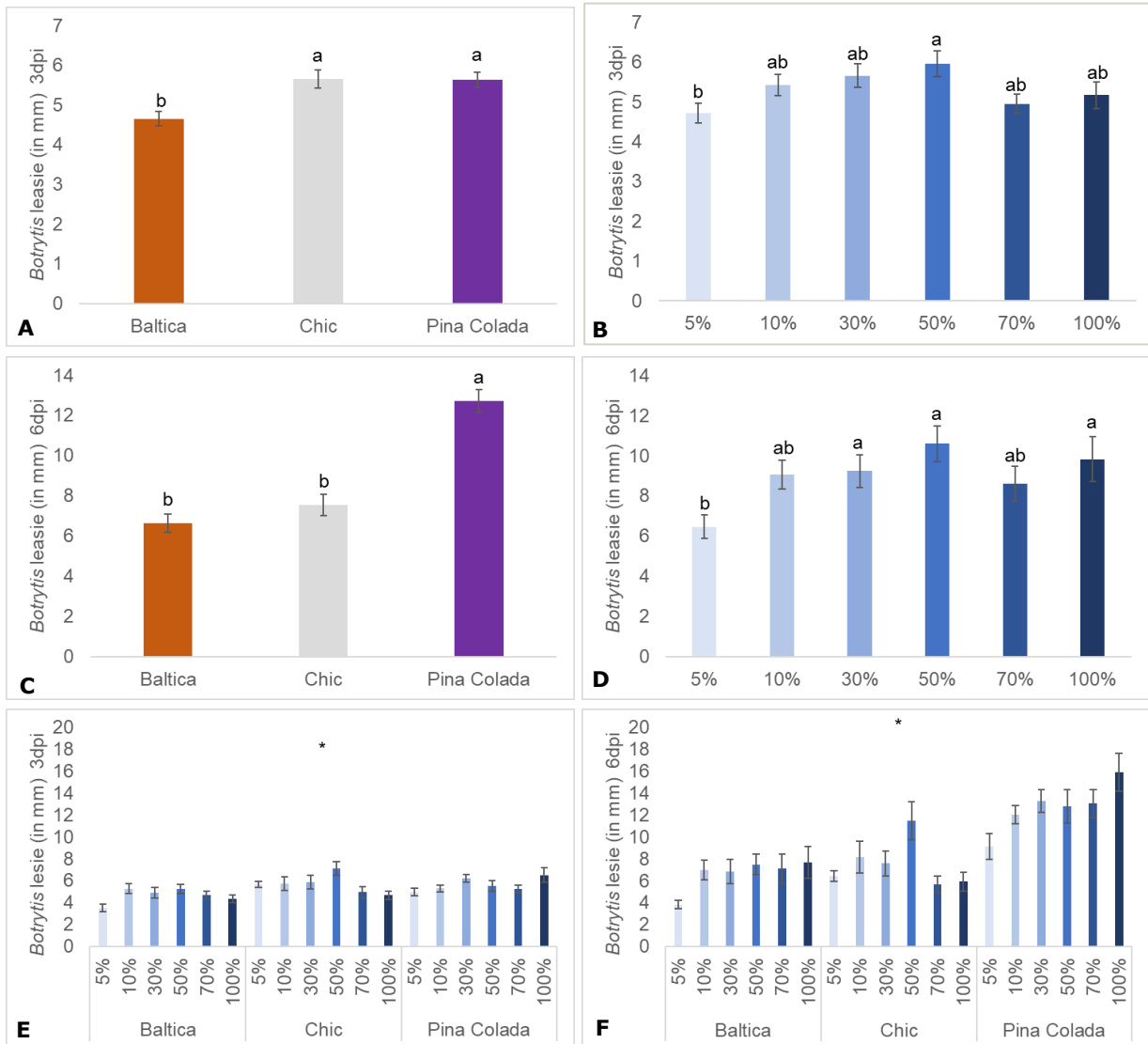
Na twee weken LED behandeling werden bladtoetsen ingezet om de weerbaarheid tegen trips te beoordelen. In Figuur 4.3A is te zien dat Chic significant meer tripsschade had dan Baltica en Pina Colada (ANOVA,  $p < 0,001$ ). Een significant verschil tussen de LED behandelingen was niet waargenomen.



**Figuur 4.3** Chic had significant de meeste tripsschade (in mm<sup>2</sup>) (A). Geen significant verschil tussen de LED behandelingen (B). Significantie tussen de rassen is aangetoond met verschillende letters met \*\*\* $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 4.3.2.2 Weerbaarheid tegen *Botrytis*

Een dag na de twee weken LED behandeling werd *Botrytis* op bladtoetsen geïntroduceerd. Na 3 en 6 dagen werd de uitgroei van ontstane laesies veroorzaakt door *Botrytis* gemeten. Chic en Pina Colada hadden significant grotere laesies dan Baltica 3 dagen na introductie (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.4A. 6 dagen postinfectie bleek Pina Colada significant grotere laesies te hebben dan zowel Baltica en Chic (ANOVA,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 4.4C. Bij zowel 3 als 6 dagen postinfectie (dpi) had 5% blauw de kleinste *Botrytis* laesies en 50% blauw de grootste laesies (ANOVA,  $p < 0,05$  en  $p < 0,001$  respectievelijk). Het referentielicht verschilde niet van de andere lichtbehandelingen, zie Figuur 4.4B en 4.4D. Daarnaast was bij zowel 3 dpi als 6 dpi een interactie tussen de rassen en de LED behandelingen: Pina Colada had bij 100% blauw significant de grootste laesies in vergelijking met de andere LED behandelingen (ANOVA,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 4.4E en 4.4F.

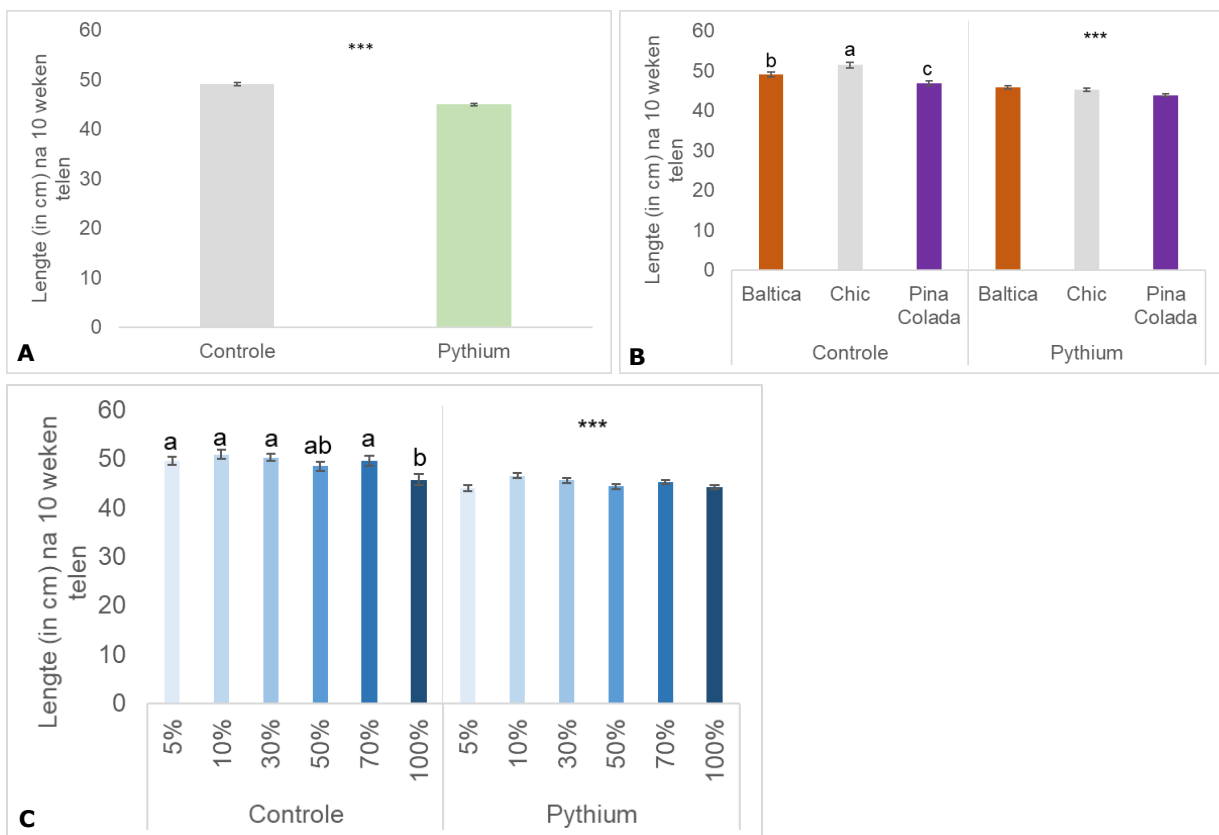


**Figuur 4.4** Baltica had significant de kleinste *Botrytis* laesies (in cm) 3 dagen postinfectie (A) en samen met Chic bij 6 dagen postinfectie (C). Het referentielicht was niet significant verschillend vergeleken met andere LED behandelingen. 5% blauw had de kleinste *Botrytis* laesies en 50% blauw de grootste laesies bij beide dagen postinfectie (B en D). Significante interacties bij beide dagen waarbij Pina Colada bij 100% blauw significant de grootste laesies had (E en F). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters met \* voor  $p \leq 0,05$ , \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 4.3.2.3 Weerbaarheid tegen *Pythium*

#### Lengtemetingen

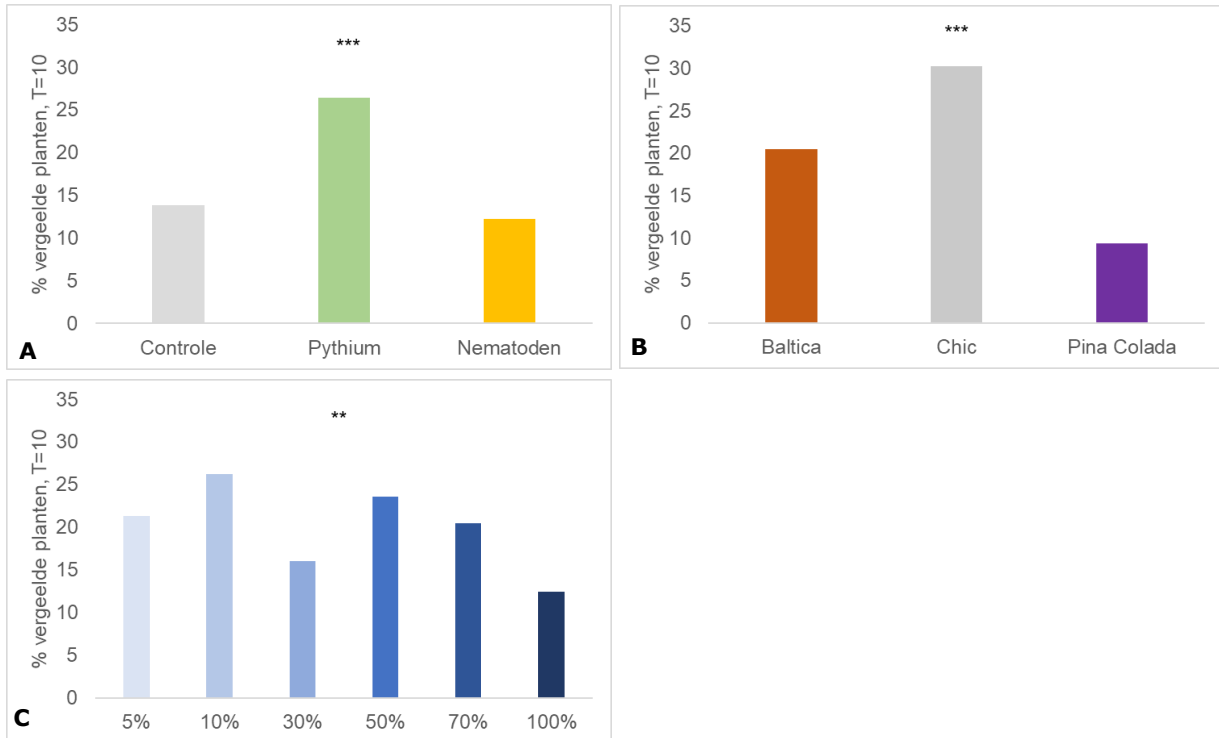
Om de weerbaarheid tegen *Pythium* te testen werd na drie en tien weken telen op grond de lengte van de planten van de *Pythium* groep vergeleken met de controle groep. Drie weken na de LED behandeling bleek de *Pythium* groep significant kleiner te zijn in vergelijking met de controle groep ( $25,3 \pm 0,2$  versus  $28,7 \pm 0,4$  cm) (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ). Dit effect bleef aanhouden en werd ook na tien weken telen op grond teruggevonden ( $45,0 \pm 0,2$  versus  $49,1 \pm 0,4$  cm) (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.5A. Infectie met *Pythium* zorgde dus voor een kleinere plant. Tien weken na telen bleek bij de controle planten het ras Chic significant het grootst te worden, gevolgd door Baltica en dan Pina Colada (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.5B. Bij de *Pythium* groep is Baltica significant het grootst gevolgd door Chic en dan Pina Colada (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.5B. Voor het effect van de LED behandelingen op de lengte van de chrysanten gold dat bij de controle planten 100% blauw licht in significant kleinere planten resulteerde vergeleken met de andere LED behandelingen, behalve met 50% blauw (ANOVA,  $p < 0,01$ ). Bij de *Pythium* groep was er een significant verschil waarbij 10% blauw in de langste planten resulteerde en 5% blauw in de kleinste planten (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.5C.



**Figuur 4.5** Planten met *Pythium* behandeld waren significant kleiner dan controle planten na tien weken teelt op grond (A). Bij controle planten was Chic significant het langst na 10 weken teelt en bij behandeling met *Pythium* is dit Baltica (B). Bij de controle planten waren de planten onder 100% blauw licht significant het kleinst terwijl bij de *Pythium* behandeling de planten onder 5% licht het kleinst bleven (C). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters waarbij \*\* voor  $p \leq 0,01$  en \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

## Bladvergeling

Gedurende de tien weken teelt op grond werden de planten beoordeeld op bladvergeling. Een chi-square test was uitgevoerd op de aan- of afwezigheid van gele bladeren na tien weken teelt. Bladvergeling is met name een kenmerk voor de aanwezigheid van *Pythium*, maar ook voor nematoden is dit gevalideerd. Er bleek een significant verschil in het percentage vergeelde planten te zijn voor zowel de ziektebehandeling, de rassen en de LED behandelingen. Bij de ziektebehandeling had *Pythium* significant meer planten met vergeelde bladeren dan de controle planten en planten behandeld met nematoden (Pearson Chi-Square,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.6A. Voor de rassen gold dat Chic significant de meest vergeelde planten had, gevolgd door Baltica en dan door Pina Colada (Pearson Chi-Square,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.6B. Ook de hoeveelheid blauw licht bleek significant effect te hebben op het aantal planten met vergeelde bladeren (Pearson Chi-Square,  $p < 0,01$ ). 100% blauw licht, gevolgd door 30% blauw licht hadden het laagste aantal planten met vergeelde bladeren. 10% blauw licht had het hoogste aantal planten met vergeelde bladeren, zie Figuur 4.6C.

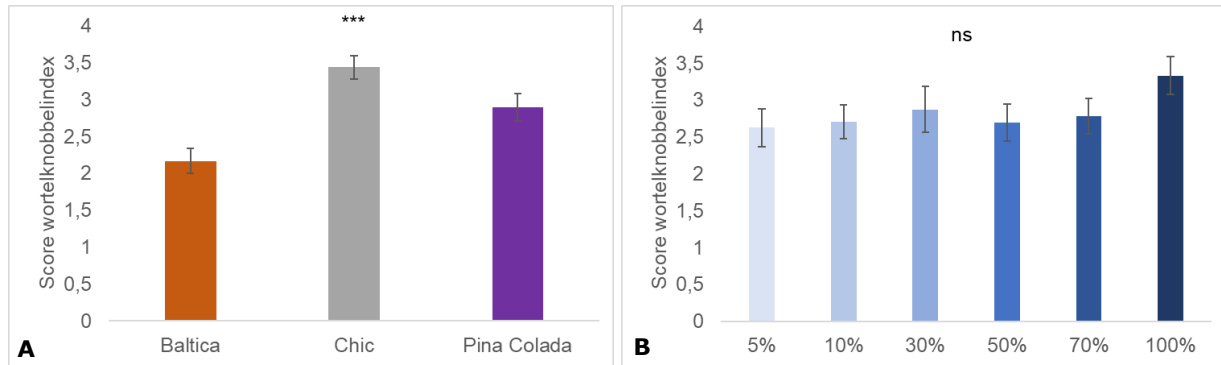


**Figuur 4.6** Significant meer planten met vergeelde bladeren bij de *Pythium* behandeling dan de controle en nematoden behandeling (A). Chic had significant de meeste vergeelde planten, gevolgd door Baltica en Pina Colada (B). Het referentielicht (10% blauw) had significant de meeste planten met vergeelde bladeren. 30% en 100% hadden het laagste aantal vergeelde planten (C). "T" duidt het aantal weken teelt aan. Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met \*\* voor  $p \leq 0,01$  en \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ .

#### 4.3.2.4 Meloidogyne biotoets

##### Wortelknobbelindex

Naast de bladvergeling werd de weerbaarheid tegen nematoden beoordeeld aan de hand van de wortelknobbelindex. Een hoge wortelknobbelindex betekent meer aantasting aan de wortel (zie Figuur 2.1) en dus geven lagere waarden een indicatie voor een versterkte plantweerbaarheid. Uit de proef bleek Baltica significant het minst gevoelig te zijn tegen aantasting van aaltjes. Chic had significant de meeste aantasting (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.7A. Hoewel monochromatisch blauw licht de hoogste score had, werd er geen significant verschil tussen de LED behandelingen waargenomen, zie Figuur 4.7B.

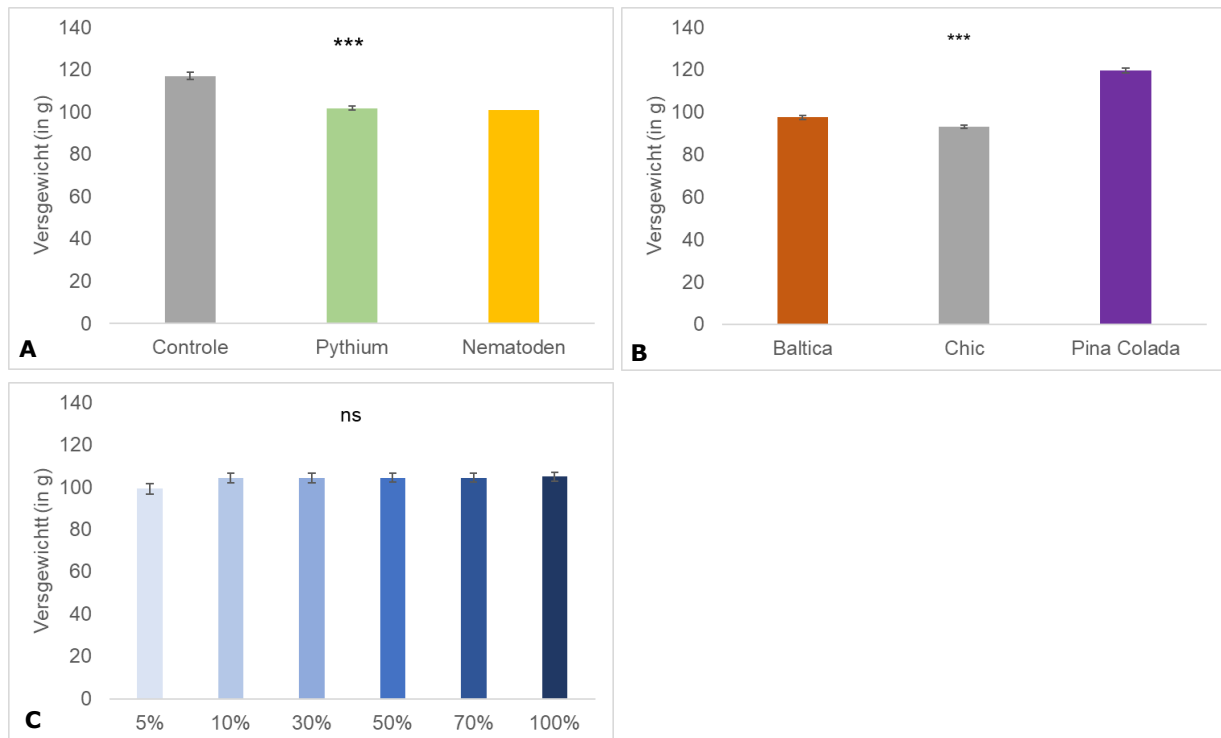


**Figuur 4.7** Baltica had significant de minste wortelknobbelaaltjes aantasting en Chic de meeste aantasting (A). Tussen de LED behandelingen was geen significant verschil in wortelknobbelindex (B). Significantie tussen de rassen is aangetoond met \*\*\* $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 4.3.3 Vers- en drooggewicht

#### 4.3.3.1 Versgewicht

Naast de analyse voor *Pythium* bladvergeling en de nematoden aaltjesindex werd ook het vers- en drooggewicht bepaald voor de controle planten en de behandelingsgroepen na de teelt. Voor het versgewicht werd de gehele stengel met bladeren gewogen. Zowel de behandeling met nematoden als de behandeling met *Pythium* resulteerde in planten die een significant lager versgewicht hadden dan de controle planten (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.8A. Ook bleek er een significant verschil te zijn tussen de rassen, waarbij Pina Colada significant het hoogste versgewicht had (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.8B. Tussen de verschillende percentages blauw LED licht was geen significant verschil in het gemeten versgewicht, zie Figuur 4.8C.

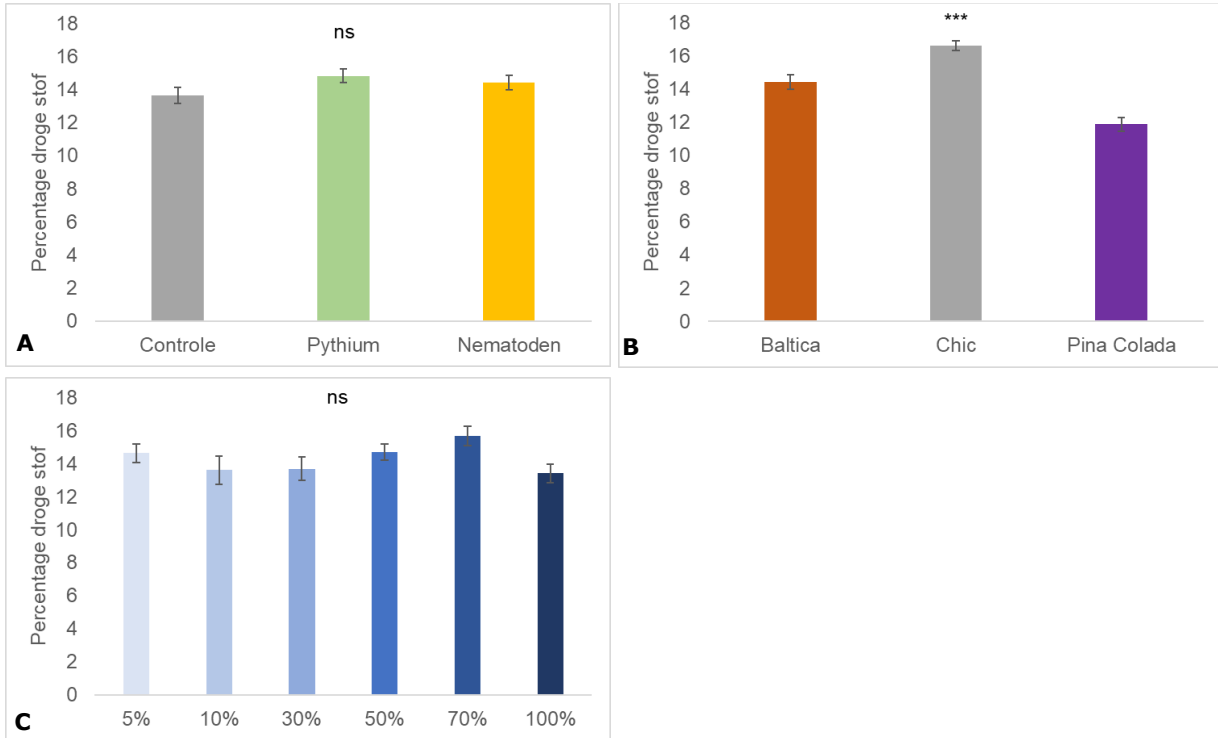


**Figuur 4.8** Controle planten hadden een significant hoger versgewicht dan de *Pythium* en nematoden behandelgroep (A). Pina Colada had significant het hoogste versgewicht (B). Geen significant verschil in versgewicht tussen de LED behandelingen (C). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met \*\*\* $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.



### 4.3.3.2 Percentage droge stof

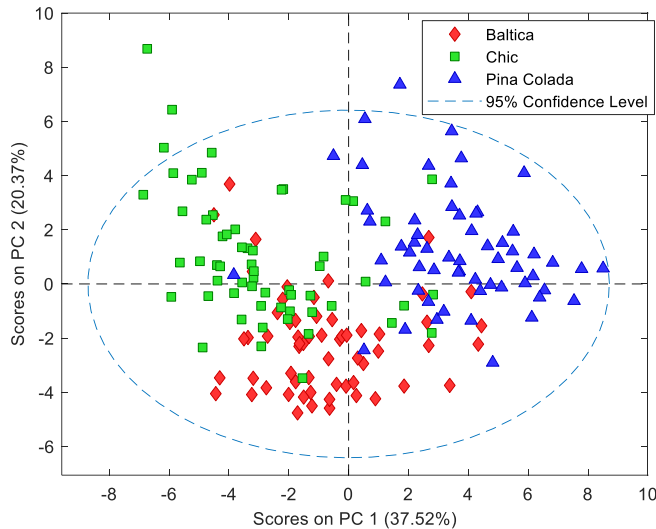
Per ziektebehandeling werden per LED behandeling en per ras 5 planten gedroogd en gewogen voor een drooggewicht bepaling. Hieruit werd het droge stof percentage berekend: het percentage drooggewicht van het oorspronkelijk versgewicht van de plant. De verschillende ziektebehandelingen bleken niet significant verschillend van elkaar te zijn in percentage droge stof, zie Figuur 4.9A. Bij de rassen bleek Chic een hoger percentage droge stof te hebben dan Baltica en Pina Colada (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 4.9B. De LED behandelingen gaven geen significant verschil in percentage droge stof, zie Figuur 4.9C.



**Figuur 4.9** Geen significant verschil in percentage droge stof tussen de verschillende ziektebehandelingen na 10 weken teelt (A). Chic bleek een significant hoger percentage te hebben dan Baltica en Pina Colada (B). Geen significant verschil in percentage droge stof tussen de LED behandelingen (C). Significantie tussen de rassen is aangetoond met \*\*\* $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

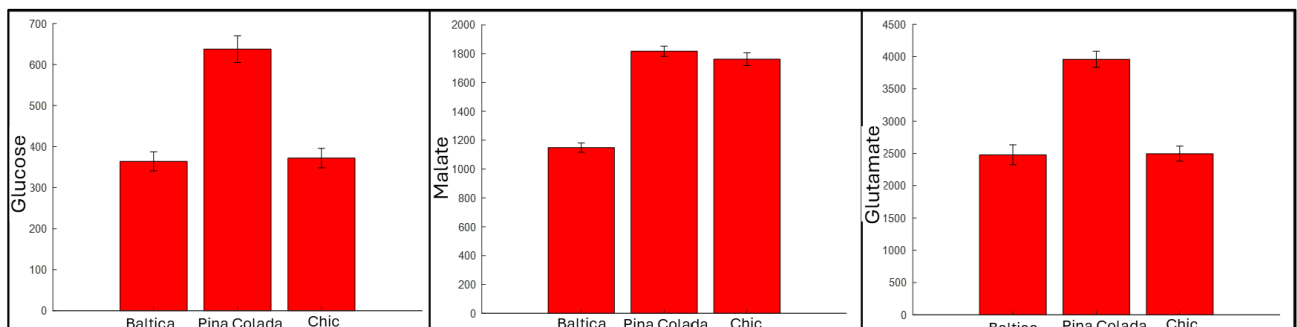
#### 4.3.4 Plantinhoudstoffen

Direct na de twee weken LED behandelingen werden monsters genomen van wortels en stekken van elke LED behandeling voor metaboliëtenanalyse. Inhoudsstoffen uit de wortels en stekken werden met behulp van  $^1\text{H}$  NMR gemeten. Verder werden gedurende de teelt na vier weken nogmaals monsters genomen om het verloop van secundaire metaboliëten te kunnen volgen. Na analyse bleken er zeer duidelijk verschillen tussen de rassen aanwezig te zijn. Dit was ook eerder teruggevonden bij de metaboliëtenanalyse zoals beschreven in Hoofdstuk 2. De rassen waren geclusterd en hadden verschillende metaboliëtenprofielen, zie Figuur 4.10.

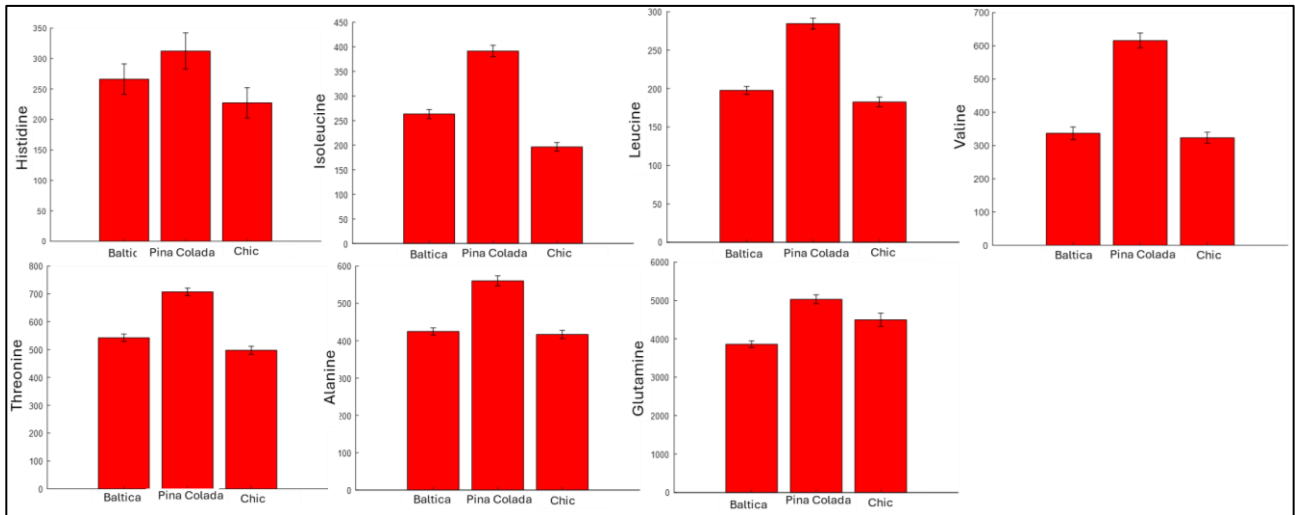


**Figuur 4.10** Principle Component Analysis van untargeted metabolomic samples waarbij Baltica, Chic en Pina Colada duidelijk verschillen in plantinhoudstoffen.

Pina Colada bleek van de drie rassen de hoogste biomassa en wortellengte te hebben. Uit de analyse van de plantinhoudstoffen bleek Pina Colada ook veel meer, glucose, organische zuren en aminozuren te bevatten dan Baltica en Chic, zie Figuur 4.10 en 4.11.

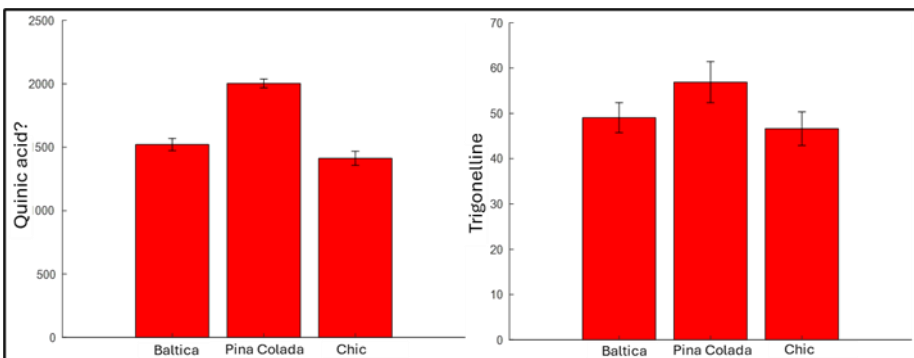


**Figuur 4.10** Verhoging van glucose, malaat en glutamaat respectievelijk bij Pina Colada ten opzichte van Baltica en Chic. Waarden weergegeven in relatieve signaal intensiteit.

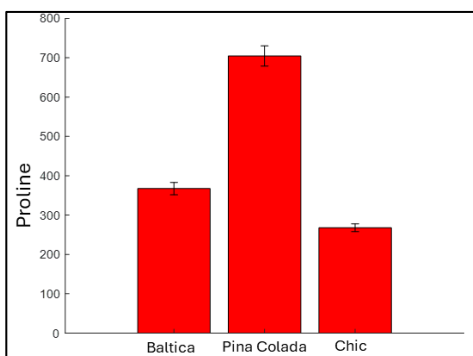


**Figuur 4.11** Verhoging van aminozuren bij Pina Colada ten opzichte van Baltica en Chic. Waarden weergegeven in relatieve signaal intensiteit.

Daarnaast had Pina Colada een hoger gehalte aan biotische (zie Figuur 4.12) en abiotische (zie Figuur 4.13) stoffen betrokken bij de plantafweer (fenolen, alkaloiden). Waarbij biotische stoffen betrokken zijn bij biotische stress, zoals infecties, en abiotische stoffen betrokken zijn bij abiotische stress, zoals bij droogte. De kininezuren, zoals weergegeven in Figuur 4.12, zijn kininezuur derivaten. De exacte stof kon niet bepaald worden.



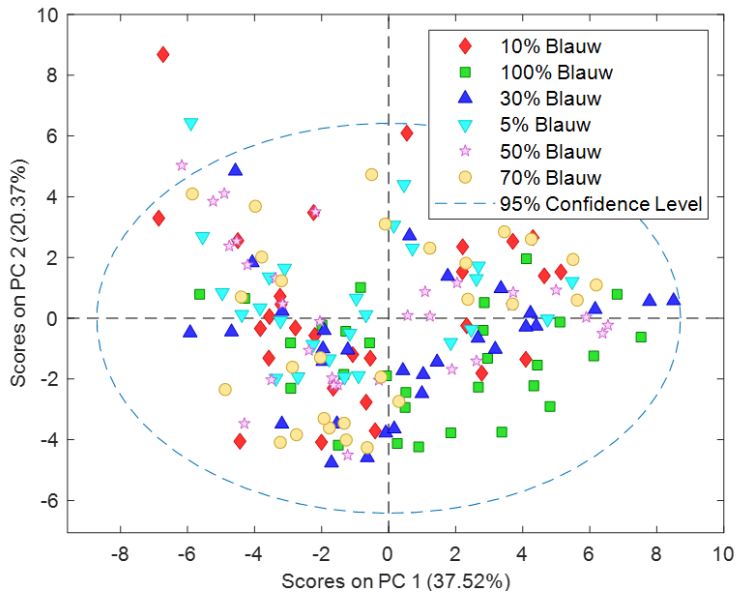
**Figuur 4.12** Verhoging van biotische plantafweerstoffen Quinic acid derivaten en trigonelline bij Pina Colada ten opzichte van Baltica en Chic. Waarden weergegeven in relatieve signaal intensiteit.



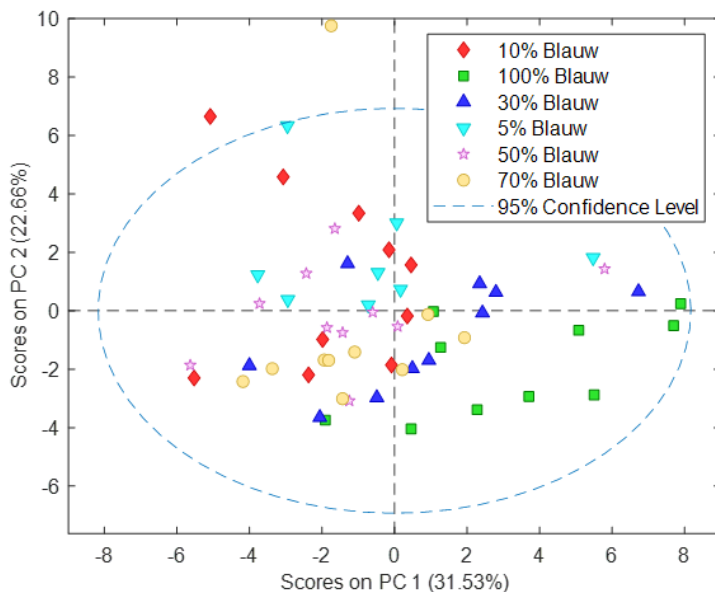
**Figuur 4.13** Verhoging van de abiotische plantafweerstoffen Proline, betrokken bij droogte, bij Pina Colada ten opzichte van Baltica en Chic. Waarden weergegeven in relatieve signaal intensiteit.

Daarnaast bleek uit de resultaten het ras Chic het meest gevoelig te zijn voor trips. Opmerkelijk is dat dit ras een verhoogd gehalte van een afgeleide van chlorogeenzuur bevatte, wat verwacht was betrokken te zijn bij verhoging van plantweerbaarheid (tegen trips). Met andere plantinhouddsstoffen, waarvan bekend is dat deze betrokken zijn bij plantweerbaarheid, werden geen correlaties gevonden.

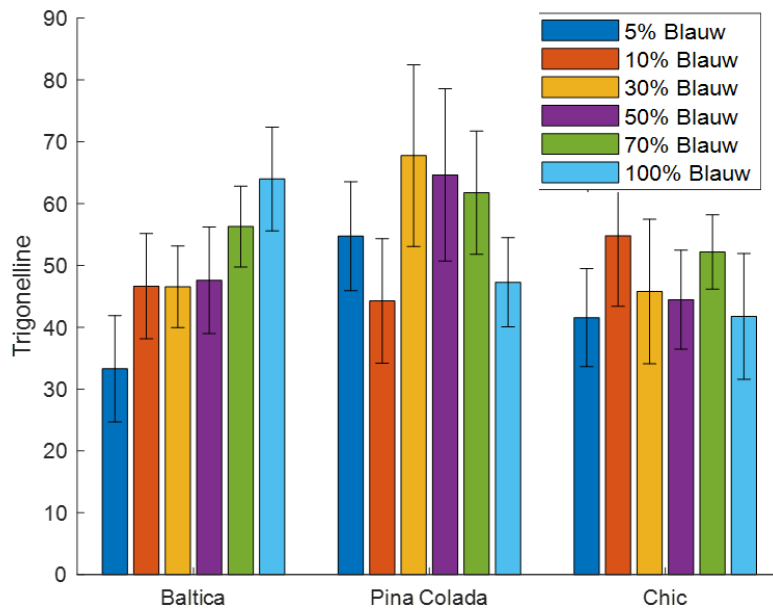
Bij analyse met PCA tussen de LED behandelingen waren geen uitgesproken verschillen in plantinhouddsstoffen waargenomen, zie Figuur 4.14. Alleen bij het ras Baltica leek bij 100% blauw licht zich meer te onderscheiden in metabooloom van de andere LED behandelingen, zie Figuur 4.15. Er was een sterkere verhoging te zien bij Baltica bij 100% blauw licht van de aminozuren histidine, isoleucine, valine, threonine en alanine dan bij Chic en Pina Colada. Ook was er een sterkere verhoging bij Baltica voor plantafweerkalkaloiden zoals trigonelline, zie Figuur 4.16. Tot slot was er een verhoging van sucrose te zien bij alle rassen voor 50% blauw licht. Gemiddeld gezien leek hier de *Botrytis* aantasting het hoogst te zijn.



**Figuur 4.14** Principle Component Analysis van de verschillende LED behandelingen van alle rassen samen.



**Figuur 4.15** Principle Component Analysis van de verschillende LED behandelingen voor het ras Baltica. 100% blauw licht lijkt zich te onderscheiden van de andere LED behandelingen.



**Figuur 4.16** Sterkere verhoging van de alkaloïde trigonelline bij 100% blauw licht voor Baltica dan bij Pina Colada of Chic.

---

## 4.4 Conclusies

In de derde proef met LED verlichting werd specifiek gekeken naar de optimale dosis blauw licht, omdat uit de tweede proef bleek dat dit voornamelijk een positief effect had op de bewortelingsfase en de weerbaarheid tegen *Pythium*. In deze proef werden onbewortelde chrysantenstekken twee weken belicht met een gradiënt aan blauw licht (met een range van 5% tot 100% blauw licht, aangevuld met rood licht). Direct na de twee weken LED behandeling werden hiervoor de biomassa en de wortellengte van de stekken gemeten en metabolomic en bodemactiviteit samples genomen. De bewortelde stekken zijn verder getoetst op weerbaarheid tegen trips, *Botrytis*, *Pythium* en *Meloidogyne*. De LED behandeling met 5% blauw licht verminderde infectie met *Botrytis*, ook de tripsschade was hier lager. Bij de LED behandeling met 30% blauw licht traden bij alle getoetste rassen minder *Pythium* symptomen op. In beide LED behandelingen was geen negatief effect op wortelontwikkeling en biomassa gevonden. Deze resultaten laten de potentie van sturen met blauwe LED verlichting zien voor de verhoging van weerbaarheid in bewortelde chrysantenstekken zonder negatieve gevolgen voor de plantontwikkeling. Plantenmateriaal was bemonsterd voor een bepaling van de aanwezige plantinhoudsstoffen. De rassen hadden sterke veranderingen ten opzichte van elkaar in het metabooloom. Zo had Pina Colada stekken hadden hogere concentraties van glucose, organische zuren, aminozuren en plantafweerstoffen. Dit kwam overeen met de hogere stekbiomassa en wortellengte. Ook bij de eerste metabooloomanalyse (beschreven in hoofdstuk 2) was er een verschil tussen de rassen waar te nemen. Tussen de LED behandelingen werden in dit experiment geen verschillen gevonden. Het is hierdoor nog lastig te verklaren waarom 30% blauw licht zich onderscheidde als mogelijke behandeling tegen *Pythium*. Alleen 100% blauw licht leek zich te onderscheiden bij Baltica. Tussen het referentielicht en 100% blauw licht zagen we dat vooral Baltica hogere concentraties had aan glucose, aminozuren en afweerstoffen. De suikers waren hier verhoogd voor alle rassen.

- Een gradiënt van 5% tot 100% blauw licht werd toegepast gedurende twee weken, waarbij 5% blauw licht tripsaantasting en infectie met *Botrytis* verminderde, echter niet significant ten opzichte van het referentielicht met 10% blauw.
- 30% blauw licht verminderde symptomen door *Pythium* over alle rassen.
- Deze LED behandelingen toonden geen negatieve effecten op wortelontwikkeling en biomassa, wat de potentie van blauw LED-licht benadrukt voor verhoogde weerbaarheid van chrysantenstekken zonder negatieve gevolgen.
- Sterke verschillen in metabooloom werden waargenomen tussen de rassen. Tussen de LED behandelingen was geen verschil in metabooloom waargenomen.

---

# 5 Perspotproef 1

## 5.1 Inleiding

Bodemgebonden ziekten en plagen als *Pythium*, *Verticillium* en wortelknobbelaaltjes (*Meloidogyne* spp.) spelen een belangrijke rol in de teelt van chrysanten onder glas en zijn een van de belangrijkste oorzaken dat er gestoomd wordt. Het optreden van ziekten in de chrysantenteelt wordt in verband gebracht met het stekken, de perspotten, de overgang naar de teeltkas, ongelijke watergift en met de wortelresten en perspotten die na de teelt achterblijven in de grond.

Het perspot materiaal sluit meestal niet goed aan bij de fysische en chemische eigenschappen van de bodem in de kas (Blok et al., 2021). Bij de overgang naar de teeltkas, moeten de wortels die in de perspot aanwezig zijn, gaan groeien in de bodem. Daarnaast kunnen wortels die in andere perspotten zijn gegroeid tijdens de opkweek beschadigd worden bij het uit elkaar halen van de perspotten. Daarom kan er bij het directe stekken van de stekken in de grond, minder last van zijn van bodem gebonden ziekten doordat er minder wortelbeschadigingen optreden en de wortels niet in een ander materiaal hoeven te gaan groeien.

Een alternatieve samenstelling van de perskluit die het bodemleven stimuleert zou kunnen bijdrage aan de weerbaarheid tegen ziekten (Blok et al., 2021). Hierbij moet rekening gehouden worden met de gekozen componenten en de eigenschappen van de perspot. Bij het zoeken naar alternatieve materialen voor de perspot moet ervoor gezorgd worden dat de verhouding zuurstof/water van de perspotmengsels 10-15% is om ervoor te zorgen dat ziekteverwekkers minder kans hebben. Daarnaast kan met toevoegingen als organische materialen, het microbiom gestimuleerd worden waardoor de weerbaarheid wordt vergroot.

Het doel van deze proef is om te toetsen wat de effecten zijn van de perspot samenstelling en een andere manier van stekken op de weerbaarheid van verschillende bodem-gebonden ziekten in chrysant (*Pythium*, *Verticillium* en wortelknobbelaaltjes).

## 5.2 Materialen en methoden

### 5.2.1 Opkweek pathogenen

*Verticillium dahliae* is opgekweekt in perliet met toevoeging van PD broth (Potato dextrose broth). Na vier weken in de opkweek werd *Verticillium microsclerotien* geogst. Voor het tellen van aantal geproduceerde microsclerotien is perliet gemengd met zilverzand. Het perliet/zilverzand mengsel is vervolgens met gestoomde praktijkgrond gemengd tot eindconcentratie van 50 *Verticillium microsclerotien*/mL grond. *Pythium ultimum* is opgekweekt in vloeibaar V8 medium. Na twee weken incubatie zijn oösporen geogst. Oösporen zijn aan de gestoomde praktijkgrond toegevoegd (tot eindconcentratie van 10<sup>3</sup> oösporen/mL grond).

*Meloidogyne incognita* is afkomstig van natuurlijke besmetting in de praktijkgrond. Grond is opgestuurd naar Eurofins BV ter bepaling van hoeveelheid juvenielen (J2) van *Meloidogyne* in de gestoomde en ongestoomde grond aan het begin van de proef. In gestoomde grond was er geen *Meloidogyne* aanwezig, in ongestoomde grond waren er 11400 J2 van *Meloidogyne*/100 mL grond aanwezig.

### 5.2.2 Bodem

De gestoomde en ongestoomde grond is bemonsterd op een praktijkbedrijf met een besmetting met *Meloidogyne*. De gestoomde bodem had een klei gehalte van 19%, een silt gehalte van 41% en een zand gehalte van 23%. Het organische stof gehalte was 10.9% en de pH 7.2. De ongestoomde bodem had een klei gehalte van 12%, een silt gehalte van 17% en een zand gehalte van 59%. Het organische stof gehalte was 7.8% en de pH 7.1.

### 5.2.3 Opzet kasproef

In augustus 2021 is er een kasproef uitgevoerd (144m<sup>2</sup> kas) met 14 tafels. De kas is in 4 blokken ingedeeld. In elk blok is er één bioassay uitgevoerd. Er zijn in totaal drie bioassays met pathogenen uitgevoerd (*Pythium*, *Verticillium* en wortelknobbelaaltjes) plus één controle bioassay (op gestoomde grond zonder toevoeging van pathogenen). Bioassays voor *Pythium* en *Verticillium* zijn uitgevoerd op gestoomde grond met toevoeging van pathogenen na het stomen. Bioassay voor wortelknobbelaaltjes is uitgevoerd in ongestoomde grond met natuurlijke inoculum van J2's van *Meloidogyne incognita*. Grond voor de proef is afkomstig uit praktijk (chrysantenteelt onder glas).

Bioassays zijn uitgevoerd in 800mL potten met grond. Per pot is er één chrysantstek geplaatst (met of zonder perspot). Elk bioassay is uitgevoerd met drie chrysantencultivars, behalve controle bioassay met vier chrysanten cultivars. Overzicht van gebruikte chrysantencultivars in verschillende bioassays is te vinden in Tabel 5.1.

**Tabel 5.1** Chrysantencultivars gebruikt in verschillende bioassays.

Bioassay	cultivar 1	cultivar 2	cultivar 3	cultivar 4
controle	Baltica	Pina Colada	Kennedy	Chic
Pythium	Baltica	Pina Colada	Chic	
Verticillium	Baltica	Pina Colada	Kennedy	
wortelknobbelaaltjes	Baltica	Pina Colada	Chic	

In alle bioassays zijn er vijf behandelingen met betrekking tot de perspotsemensteeling en de manier van stekken getest (Tabel 5.2). Elk behandeling is getest in combinatie met alle cultivars in bioassay (3 cultivars per bioassay met pathogenen; vier cultivars in controle bioassay). Standaard perspot en aangepaste perspotten 1 en 2 zijn machinaal geperst bij Deliflor Chrysanten B.V.



**Tabel 5.2** Behandelingen aan perspot/manier van stekken die in alle bioassays zijn getest.

No.	Behandeling	Toelichting
1	standaard perspot	standaard samenstelling gebruikt in de praktijk (beworteling in bakken)
2	aangepast 1	zwartveen 80%, witveen 10%, houtvezel 10% (beworteling in bakken)
3	aangepast 2	zwartveen 60%, witveen 10%, houtvezel 10%, compost 10% (beworteling in bakken)
4	direct stekken in grond	chrysantenstekken direct in de grond beworteld (zonder perspot)
5	direct stekken in perspot	chrysantenstekken direct beworteld in standaard perspot die op de grondpot geplaatst is

Per combinatie chrysant cultivar/behandeling/ziekte waren er 24 grondpotten in de kas. Potten waren random verdeeld over blok in 4 groepjes van 6 potten (4x6=24) (zie kasplattegrond in Bijlage 1).

Onbewortelde chrysantenstekken zijn voor de proef geleverd door Deliflor Chrysanten B.V. (cv Baltica en Pina Colada), Dekker Chrysanten BV (cv Kennedy) en Royal van Zanten BV (Cv Chic). Chrysantenstekken zijn voor behandelingen 1, 2 en 3 gedurende 10 dagen beworteld in bakken onder plastic (23-26°C) alvorens ze op de grond zijn geplaatst. Chrysantenstekken voor behandelingen 4 en 5 werden direct in de grondpotten onder folie beworteld (23-26°C).

#### 5.2.4 Beoordeling chrysantengroei en ziektesymptomen

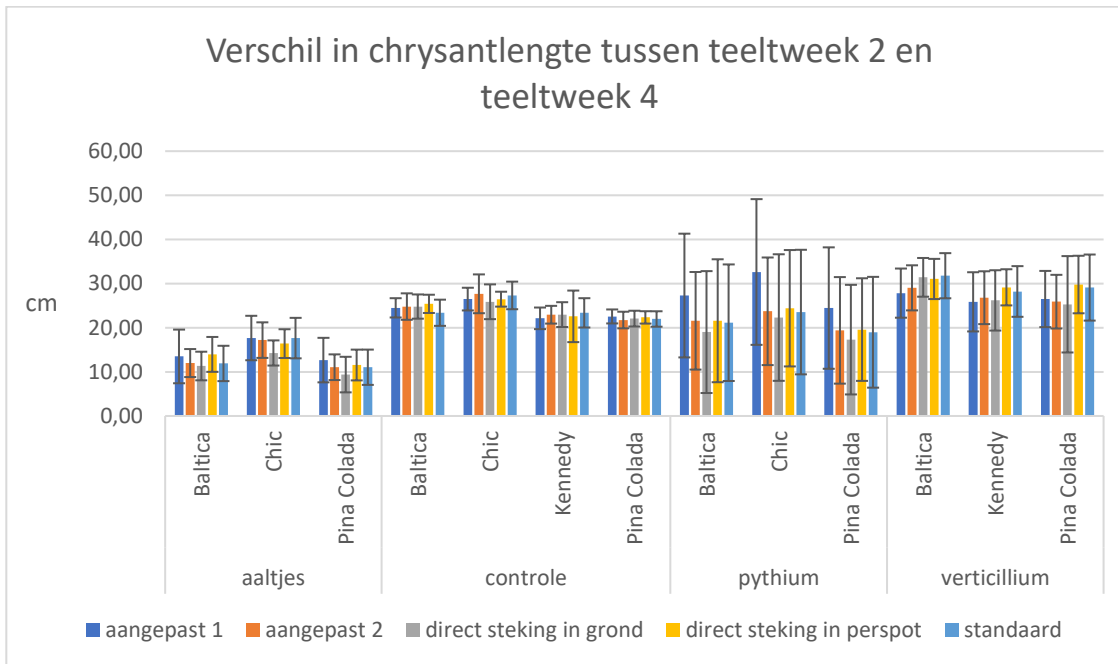
De lengte van de chrysanten is tijdens de teelt gemeten in week 2, week 4 en op het eind van de teelt (week 8 voor cv Pina Colada en Chic; week 9 voor cv Baltica en Kennedy). Het versgewicht van de planten is beoordeeld op het eind van de teelt.

Ontwikkeling van de ziektesymptomen is wekelijks beoordeeld in alle bioassays. In de *Pythium* bioassay zijn symptomen van *Pythium* infectie beoordeeld (o.a. plantuitval, fletsgroene verkleuring van de planten, verwelking). In de *Verticillium* bioassay zijn symptomen van *Verticillium* infectie beoordeeld (o.a. verkleuring van de blad/hele plant, necrose van blad, verwelking; met ziektescore van 0 t/m 4; 0- gezond, 4- volledig verwelkte plant). In de wortelknobbelaaltjes bioassay is er, tijdens de teelt, gekeken naar plantontwikkeling. Na afloop van de teelt zijn alle wortels gespoeld met water en infectie met wortelknobbelaaltjes is beoordeeld op basis van Wortelknobbel index (WKI; van 0-gezond tot 10-wortel afgestorven door wortelknobbels; voor uitleg zie Bijlage 2). Wortels van vier planten per behandeling zijn vervolgens grondig schoongemaakt en in de mistkamer geplaatst (20°C, incubatietijd 4 weken) om te bepalen of de behandelingen effect hebben gehad op aantal nakomelingen van *Meloidogyne incognita* (J2) die uit geïnfecteerde wortels uitkomen. Na vier weken incubatie in de mistkamer is de aantal van nakomelingen (J2) bepaald en omgerekend per g van de wortel.

## 5.3 Resultaten

### 5.3.1 Plantengroei

In het begin van de teelt groeiden de chrysanten geplant in ongestoomde grond minder hard dan de planten in gestoomde grond (Figuur 5.1). Dat heeft waarschijnlijk te maken gehad met aanwezigheid van verschillende wortelpathogenen in ongestoomde grond (o.a. wortelknobbelaaltjes). Infectie met *Pythium ultimum* zorgde voor ongelijk weggroei van de chrysanten, ten opzichte van controle planten zonder *Pythium* infectie, in alle cultivars (hoge variatie in de plantlengte; Figuur 5.1).



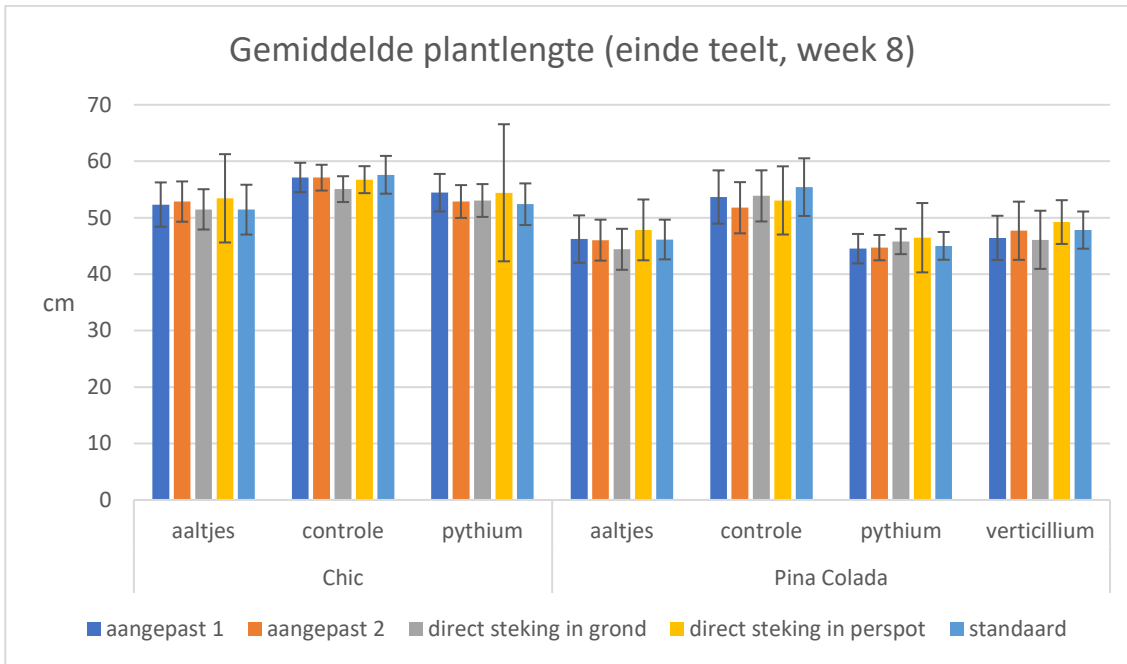
**Figuur 5.1** Verschil in de lengte van chrysanten tussen teeltweek 2 en teeltweek 4 in verschillende behandelingen. Foutbalken geven de standaarddeviatie van het gemiddelde aan (n=24).

Tijdens eindbeoordeling zijn de lengte en versgewicht van de chrysantenplanten bepaald, voor cv Chic en cv Pina Colada in teeltweek 8 en voor cv Baltica en cv Kennedy in teeltweek 9 (Figuur 5.2). Chrysanten van cv Chic, die geïnfecteerd waren met *Pythium* of wortelknobbelaaltjes, waren significant korter dan de planten, die in afwezigheid van pathogenen groeiden (controle, in gestoomde grond;  $p < 0.0001$ ) (Figuur 5.2). Aanwezigheid van de pathogenen (*Pythium*, *Verticillium* of wortelknobbelaaltjes) in de grond had ook significant negatief effect op de lengte van chrysanten van cv Pina Colada (Figuur 5.2;  $p < 0.0001$ ) (Figuur 5.2).

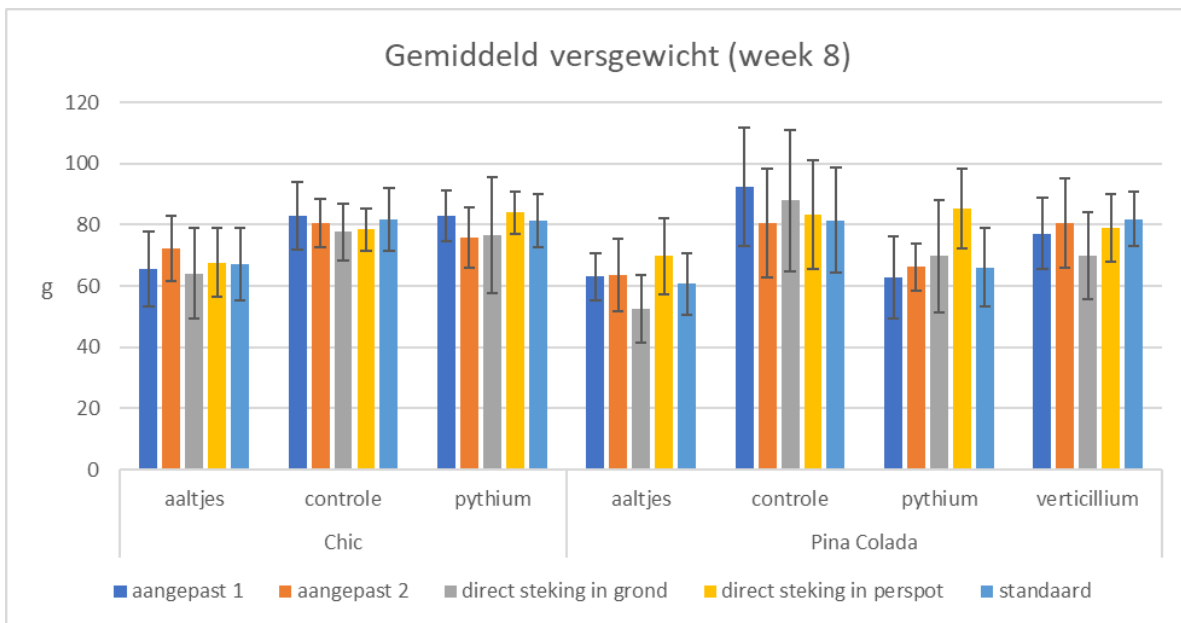
Einde teelt versgewicht van chrysanten cv Chic en cv Pina Colada, die groeiden in ongestoomde grond, was significant lager dan die van controle planten in gestoomde grond (Figuur 5.3;  $p < 0.0001$ ). Aanwezigheid van *Pythium* of *Verticillium* in de grond had ook negatief effect op versgewicht van chrysanten cv Pina Colada (Figuur 5.3).

Aanpassingen in de samenstelling van de perspotten (aangepast 1 en aangepast 2) en stekken direct in de grond/perspot in grond hadden geen significant effect op de lengte en versgewicht van de planten cv Chic en cv Pina Colada (ten opzichte van controle met standaard perspot) (Figuur 5.2 en Figuur 5.3).

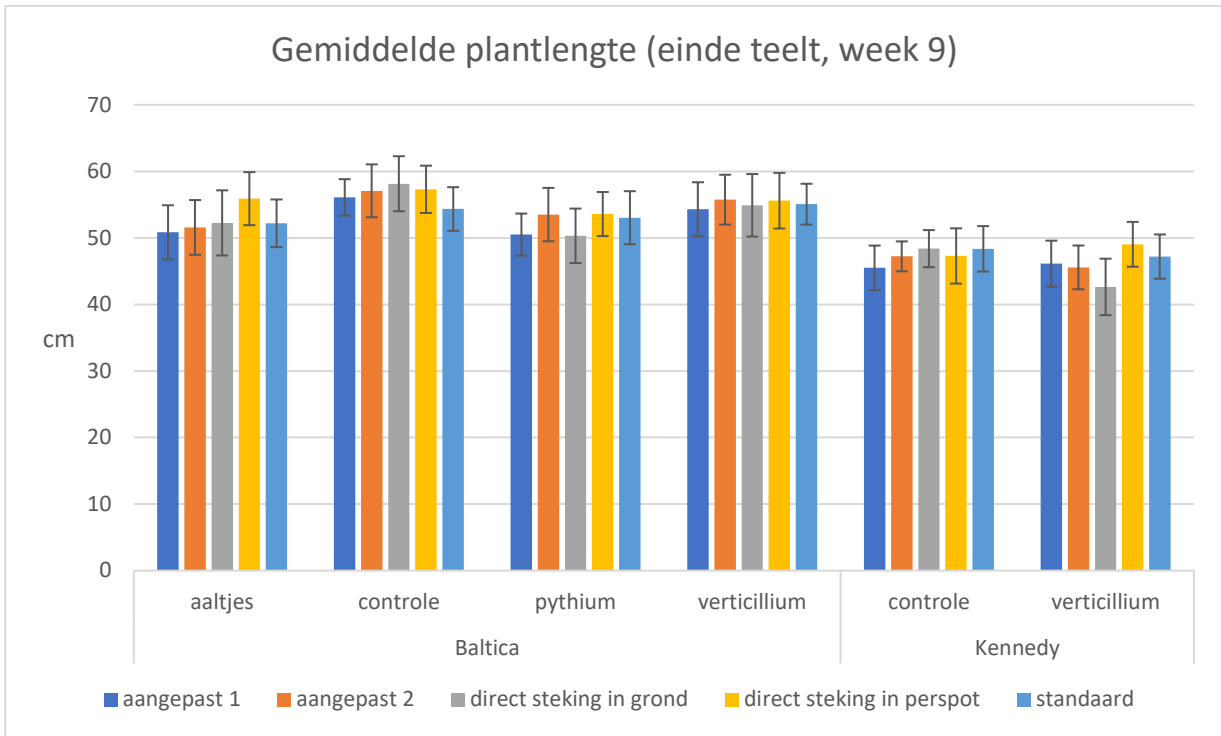
Vergelijkbare effecten van de aanwezigheid van plantpathogenen op plantlengte en versgewicht waren ook waargenomen tijdens eindbeoordeling van de groei van de andere twee chrysanten cultivars: cv Baltica en cv Kennedy (teeltweek 9) (Figuur 5.4 en Figuur 5.5;  $p < 0.0001$ ). Alle pathogenen (*Pythium*, *Verticillium* of wortelknobbelaaltjes) hadden significant, negatief effect op de lengte van cv Baltica (Figuur 5.5), terwijl *Verticillium* ook de lengte van cv Kennedy significant beïnvloedde (Figuur 5.5;  $p < 0.0001$ ). Direct stekken in de grond had negatief effect op de lengte en versgewicht van cv Kennedy en op versgewicht van cv Baltica (Figuur 5.4 en Figuur 5.5).



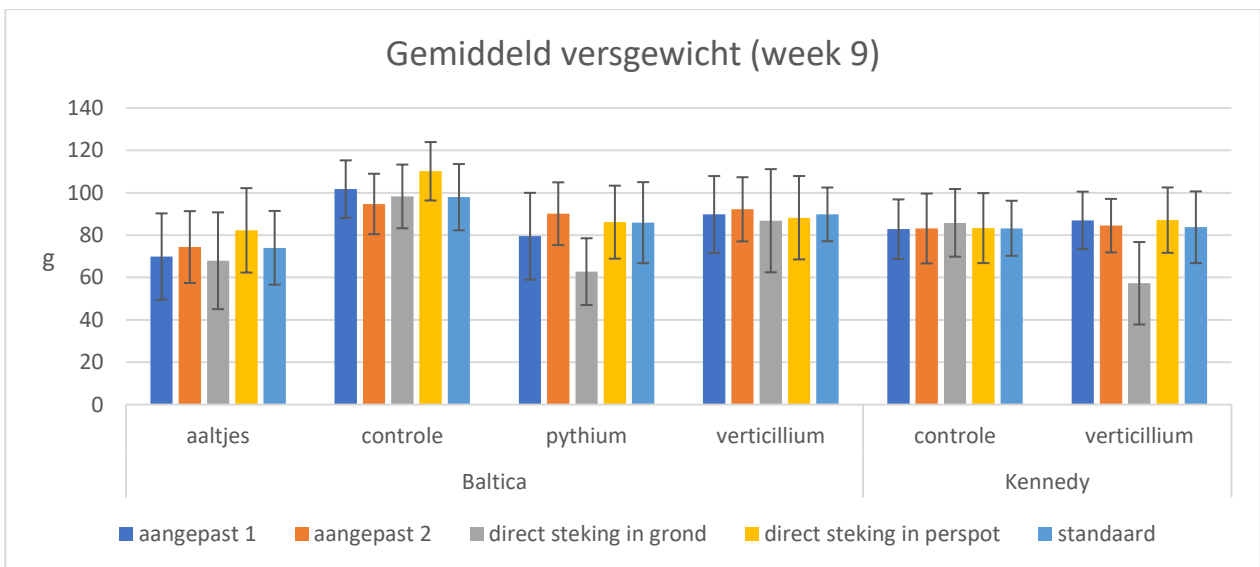
**Figuur 5.2** Gemiddelde lengte van chrysanten cv Chic en cv Pina Colada na 8 weken teelt in verschillende biotoetsen. Foutbalken geven de standaarddeviatie van het gemiddelde aan (n=24).



**Figuur 5.3** Gemiddelde versgewicht van chrysanten cv Chic en cv Pina Colada na 8 weken teelt in verschillende biotoetsen. Foutbalken geven de standaarddeviatie van het gemiddelde aan (n=24).



**Figuur 5.4** Gemiddelde lengte van chrysanten cv Baltica en cv Kennedy na 9 weken teelt in verschillende biotoetsen. Foutbalken geven de standaarddeviatie van het gemiddelde aan (n=24).

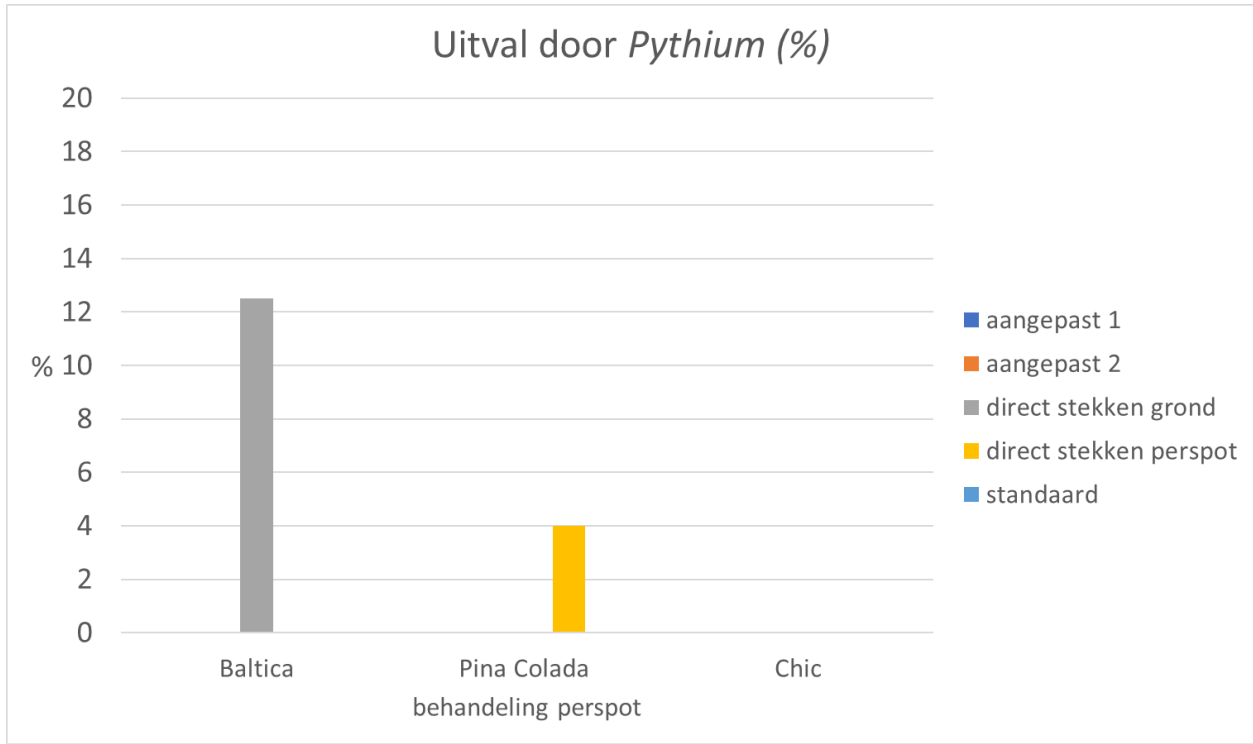


**Figuur 5.5** Gemiddelde versgewicht van chrysanten cv Baltica en cv Kennedy na 9 weken teelt in verschillende biotoetsen. Foutbalken geven de standaarddeviatie van het gemiddelde aan (n=24).

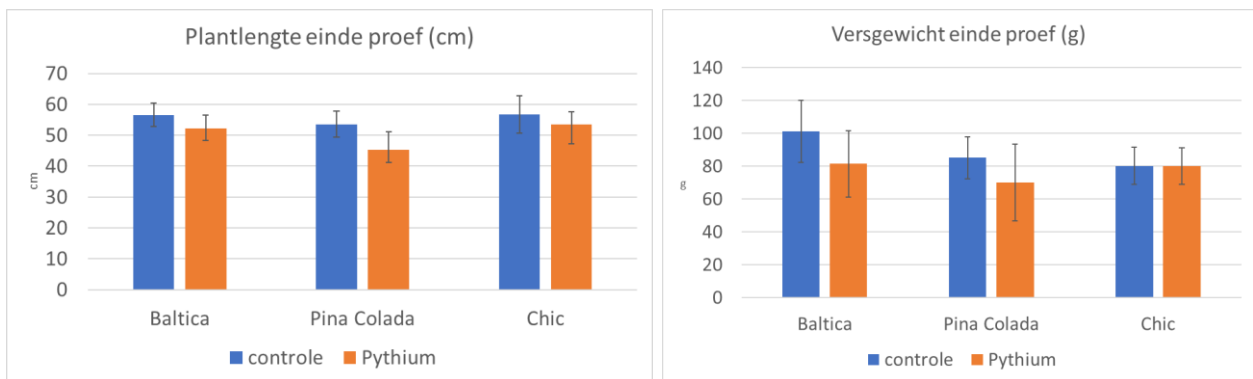
## 5.3.2 Ziekteontwikkeling

### 5.3.2.1 Pythium

Infectie met *Pythium* veroorzaakte weinig uitval van de chrysanten in de proef (alleen bij direct stekken in de grond bij cv Baltica en cv Pina Colada) (Figuur 5.6). Wel was invloed van de infectie waarneembaar tijdens de metingen van plantlengte en versgewicht (zie Figuur 5.1 en Figuur 5.7).



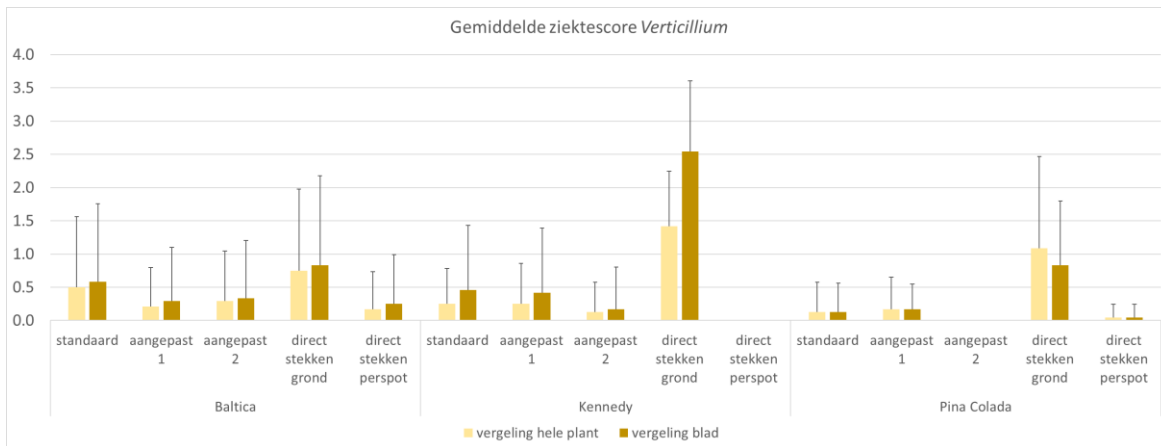
**Figuur 5.6** Percentage van uitval van verschillende cultivars chrysanten door infectie van *Pythium ultimum*.



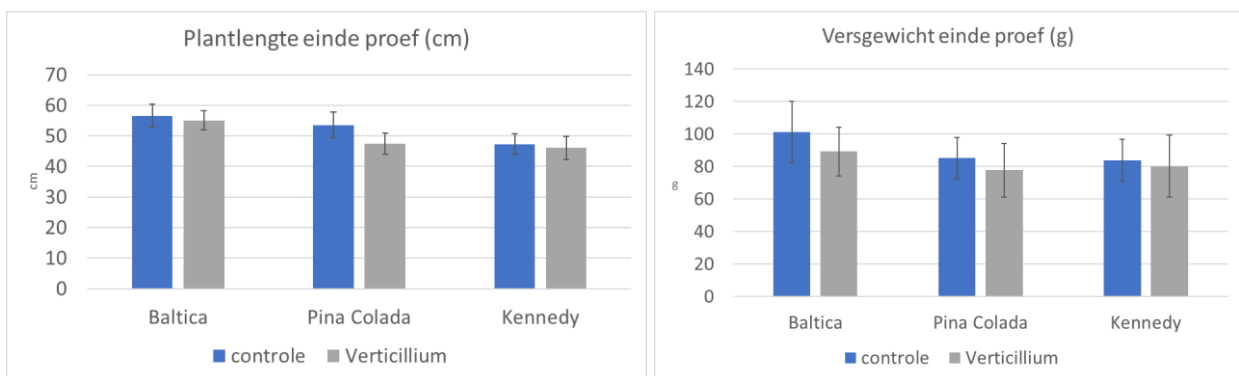
**Figuur 5.7** Gemiddelde plantlengte en versgewicht van drie cultivars chrysant: Baltica, Pina Colada en Chic met en zonder infectie van *Pythium ultimum*. Foutbalken geven de standaarddeviatie van het gemiddelde aan (n=120; alle perspotbehandelingen bij elkaar).

### 5.3.2.2 Verticillium

De eerste symptomen van *Verticillium* infectie in de planten (vergelijk blad) waren relatief laat in de teelt zichtbaar (week 7/8). Symptomen (vergeling blad, vergeling hele plant) waren het meest uitgesproken in cv Kennedy bij direct stekken in de grond (Figuur 5.8). Invloed van de infectie was ook waarneembaar tijdens de eindmetingen van plantlengte en versgewicht (zie Figuur 5.9). Voorbeelden van ziekte symptomen zijn weergegeven in Figuur 5.10.



**Figuur 5.8** Gemiddelde *Verticillium* ziektescore in verschillende chrysanten cultivars. Foutbalken geven de standaarddeviatie van het gemiddelde aan (n=24).



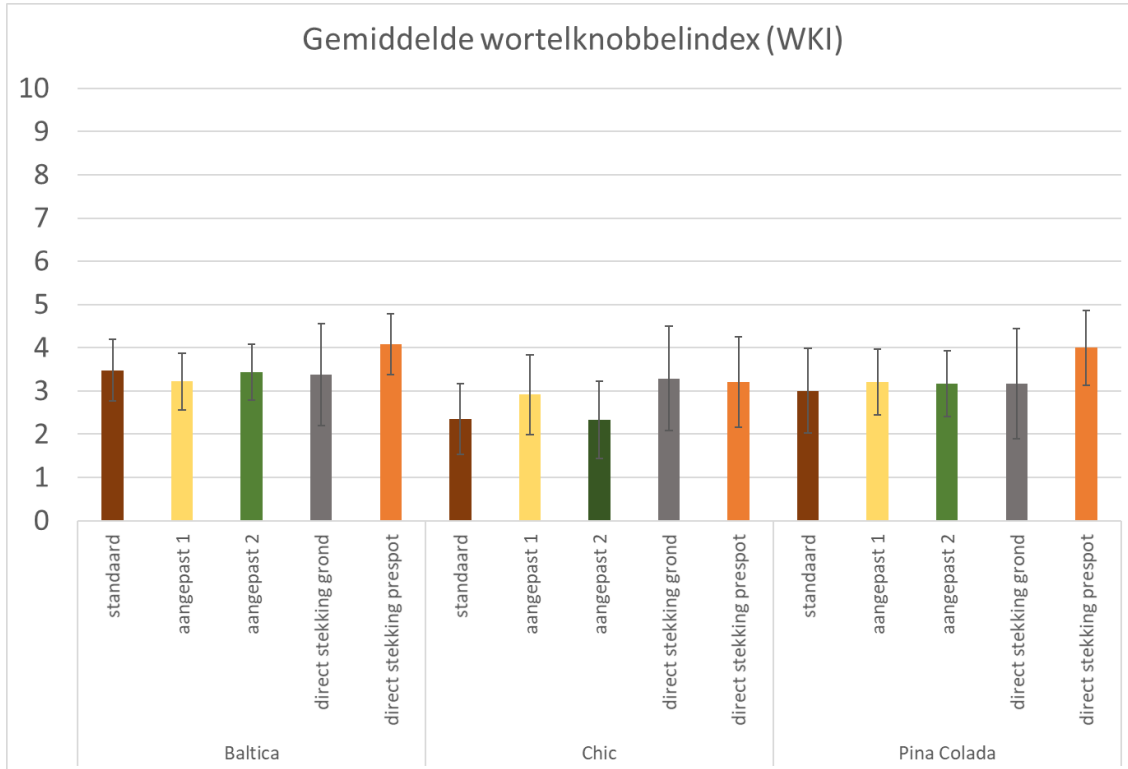
**Figuur 5.9** Gemiddelde plantlengte en versgewicht van drie cultivars chrysant: Baltica, Pina Colada en Kennedy met en zonder infectie van *Verticillium dahliae*. Foutbalken geven de standaarddeviatie van het gemiddelde aan (n=120; alle perspotbehandelingen bij elkaar).



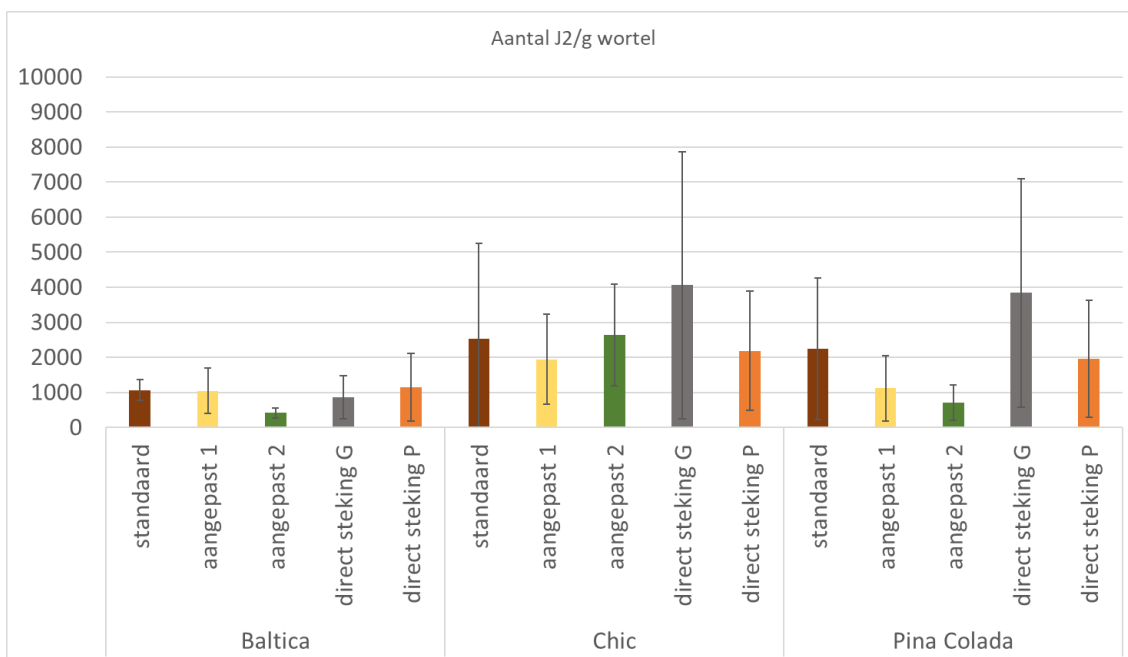
**Figuur 5.10** Voorbeelden van *Verticillium* ziektesymptomen in chrysant.

### 5.3.2.3 Wortelknobbelaaltjes

Perspotbehandelingen hadden geen significant effect op effect op de gemiddelde wortelknobbel index (WKI) in de proef, behalve direct stekken in perspot. Deze behandeling verhoogde juist de gemiddelde wortelknobbelindex ten opzichte van controle planten (beworteling in standaard perspot) ( $p < 0.001$ ) (Figuur 3.10). Gemiddelde WKI was het laagst in cv Chic (Figuur 5.10). Aantal *Meloidogyne* nakomelingen (J2)/g wortel was in cv Chic significant hoger dan in cv Baltica, maar verschilde niet significant met de aantallen J2's nakomelingen uit gram wortel van cv Pina Colada (Figuur 5.11).



**Figuur 5.10** Gemiddelde wortelknobbel index (WKI) in verschillende chrysanten cultivars. Foutbalken geven de standaarddeviatie van het gemiddelde aan ( $n=24$ ).



**Figuur 5.11** Gemiddeld aantal nakomelingen *Meloidogyne* (J2) per g wortel in verschillende chrysanten cultivars. Foutbalken geven de standaarddeviatie van het gemiddelde aan ( $n=4$ ).

---

## 5.4 Conclusies

Binnen de proef werd getoetst of een andere perspot samenstelling dan wel een andere manier van stekken op de ontwikkeling van ziektesymptomen van verschillende bodem-gebonden ziekten in chrysant (*Pythium*, *Verticillium* en wortelknobbelaaltjes) verminderd. Daarvoor werden de stekken gestoken in bodems en werden er drie perspotten meegenomen.

- Aanwezigheid van de pathogenen in de grond had significant, negatief effect op de lengte en vers gewicht van de chrysanten.
- Geen significant effect van de aanpassingen in perspotsamenstelling (aangepast 1 en aangepast 2) op ontwikkeling van de ziektesymptomen, veroorzaakt door *Pythium*, *Verticillium* of wortelknobbelaaltjes, in geteste chrysanten cultivars.
- Direct stekken in de grond verergerde de symptomen van *Verticillium* infectie.



---

## 6 Effect samenstelling perspot op weerbaarheid

### 6.1 Inleiding

Binnen het eerste perspot experiment werden al verschillende samenstellingen van de perspot meegenomen, maar deze hadden geen effect op de weerbaarheid tegen ondergrondse ziekten gevonden. Composten wisselen echter in hun weerbaarheid tegen ziekten doordat elke badge anders is, ander uitgangsmateriaal heeft en een andere rijpingsduur heeft (Neher et al., 2022). Mogelijk dat een ander type compost of een andere samenstelling kan bijdragen aan de weerbaarheid. Er werd een tweede experiment uitgevoerd om te toetsen of de samenstelling van de perskluit van invloed kan zijn op de weerbaarheid tegen ondergrondse ziekten.

#### 6.1.1 Vraagstelling

Hebben verschillende samenstelling van de perspot effect op ontwikkeling van Pythium infectie in chrysant?  
Kunnen veranderingen in de microbiom samenstelling de Pythium symptomen verklaren?

---

## 6.2 Materiaal en methode

### 6.2.1 Perskluiten

Er zijn drie mixen gebruikt om de perskluiten te persen: Standaard perspot, experimentele Mix A, perspot en experimentele Mix B. De samenstelling van de standaard perskluit mag niet gedeeld worden. De experimentele perskluit A bestond uit 25% houtvezel, 15% veenmosveen, 50% tuinturf, 10% compost. De samenstelling van de experimentele Mix B bestond uit 30% houtvezel, 40% veenmosveen, 20% tuinturf, 10% compost. Deze mixen werden gekozen omdat een pilot liet zien dat ze mogelijk de weerbaarheid verhogen tegen ziekten. De perspotten werden bij Deliflor Chrysanten B.V. geperst en de stekken werden bij Deliflor Chrysanten B.V. in de perskluiten gestoken en beworteld bij 23-26°C. Na 10 dagen werden de perskluiten op de potjes met bodems gezet (zie 6.2.2).

### 6.2.2 Behandelingen

In de proef werden drie behandelingen getoetst: gestoomde grond; gestoomde grond+*Pythium* en ongestoomde grond. Gestoomde (5% klei, 19% silt en 67% zand; 8.2% organische stof; pH 6.8) en ongestoomde grond (8% klei, 22% silt, 59% zand; organische stof 10.5%; pH 6.7) was in de praktijk bemonsterd. De bodems zijn geanalyseerd op pathogenen en nematoden. De gestoomde grond bevatte geen pathogenen terwijl de ongestoomde grond *Fusarium oxysporum*, *Pythium sylvaticum* en *Pythium ultimum* bevatte. De gestoomde en ongestoomde grond bevatte geen aaltjes. De bodem werd na bemonstering gemengd en in potten gedaan na bepaling droog-gewicht van de bodem om zo een zo gelijk mogelijk gewicht in de potten te krijgen. *Pythium ultimum* is opgekweekt in vloeibaar V8 medium. Na twee weken incubatie zijn oösporen geogst. Oösporen zijn aan de gestoomde praktijkgrond toegevoegd (tot eindconcentratie van 10<sup>6</sup> oösporen/pot van 0.8L) voor de behandeling gestoomde grond+*Pythium*.

### 6.2.3 Opzet kasproef

In de kas waren 14 tafels aanwezig. De kas werd ingedeeld in 4 blokken van 3 tafels (zij Bijlage X met kasplattegrond). Op elke tafel en in elk blok werd een bodembehandeling neergezet: gestoomde grond; gestoomde grond+*Pythium* en ongestoomde grond. Er werden 3 Chrysanten cultivars gebruikt: Baltica, Pina Colada en Chic. Deze werden op de drie perspotten gezet. De perspotten werden random over de behandelingen verdeeld. Er waren 27 behandelingen met 32 potten per combinatie cultivar/perkluit/bodem. Dit leverde in totaal 864 potjes op. De proef duurde 9 weken.

### 6.2.4 Beoordelingen Chrysantengroei, biomassa en ziektesymptomen

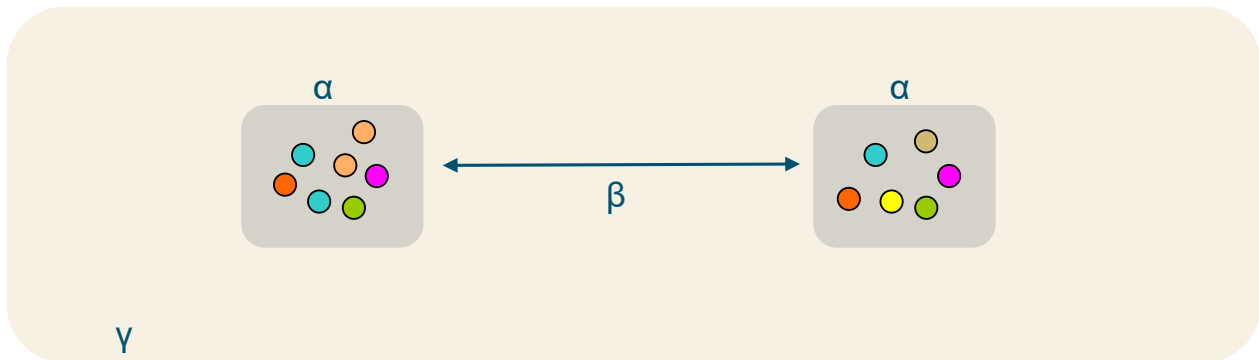
Gedurende de proef werden de ziektesymptomen wekelijks gescoord. De vergeling werd gemeten via een vergelingsscore: 1 gelig; 2 geel; 3 erg geel; 4 paar plekken wit; 5 wit. Er werd ook een score gegeven voor het aantal bladeren dat aangetast was: score 1, 1 blad aangetast; 2, 2-5 bladeren aangetast; 3, 6-10 bladeren aangetast; 4, 11-15 bladeren aangetast; 5, 16-20 bladeren aangetast en score 6, 21-25 bladeren aangetast.

Daarnaast werd er 2-wekelijks lengte gemeten. Er werd een relative growth rate uitgerekend (RGR) via de volgende formule: (lengte eind – lengte start) / (tijdstip eind – tijdstip start).

Aan het einde van de proef werd naast de ziektesymptomen en lengte, ook biomassa gemeten. Van alle planten werd het versgewicht gemeten en van 216 planten werd het drooggewicht gemeten door de planten op 80°C gedurende een week te laten drogen.

Een univariaat mixed model was gebruikt om te toetsen voor verschillen in hun reactie op ziektesymptomen, biomassa en lengte aan het einde van de proef. De data werd geanalyseerd in R version 4.0.2 (R Core Team (2020)). De ziekte-symptomen werden log-getransformeerd voor normalisatie van de data (Ives, 2015). Bodems, perspotten en cultivars werden als fixed effect behandeld en tafel als random. Voor het mixed model werd er gebruik gemaakt van de LmerTest en Lme4 packages (Kuznetsova et al., 2017; Bates et al., 2015). Bij een significante interactie werd een Tuckey posthoc test gedaan met behulp van de multcomp package in R (Hothorn et al., 2008).

## 6.2.5 Microbioom analyses



**Figuur 6.1** Diversiteit van het microbiom. *A-diversiteit* is de diversiteit binnen een bodemonster. *B-diversiteit* is het verschil in soorten tussen bodemonsters. *Gamma-diversiteit* is de totale diversiteit van het landschap.

Aan het einde van de proef werden er van 216 potten (8 potten per combinatie cultivar/perskluit/bodem) een bodem monster genomen om de samenstelling van het microbiom te analyseren. Er zijn verschillende manieren om de samenstelling van het microbiom te analyseren en visueel te laten zien (Figuur 6.1).

*alpha-diversiteit* is de diversiteit binnen een bodemonster. Er worden verschillende diversiteits-indices gebruikt om de diversiteit van een monster in een waarde weer te geven. Richness (of soortenrijkdom) geeft het aantal soorten in een bodem monster weer. De Shannon-wiener diversiteits index wordt gebruikt om de diversiteit aan soorten te beschrijven binnen een bodem monster. Voor de berekening van de index wordt de soortenrijkdom en de verdeling van de soorten in een waarde gecombineerd.

*Beta-diversiteit* geeft de mate van verschillen weer in soortensamenstelling tussen de bodem monsters. We gebruiken de Bray-Curtis om te kwantificeren wat het verschil is in samenstelling tussen de bodem monsters. Daarnaast maken we een plot met de relatieve abundantie van de verschillende bacteriële groepen op phylum niveau om te beschrijven welke microben er in de verschillende groepen zitten.

### 6.2.5.1 DNA extractie en PCR reacties

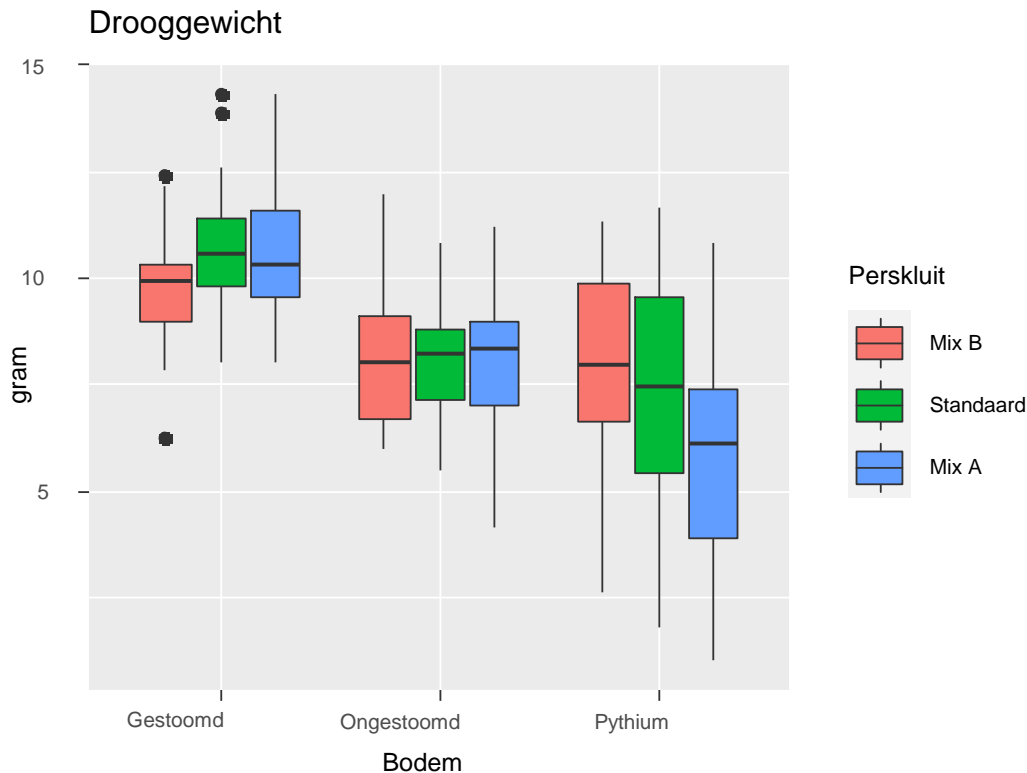
DNA werd geëxtraheerd met de DNeasy PowerLyzer PowerSoil Kit (Qiagen 12855) volgens de aanwijzingen in het protocol. In stap 10-11 van het standaard protocol werd iets minder Solution C4 toegevoegd. Na de DNA extractie, werd de DNA concentratie gemeten op een Nanodrop. DNA is 10X verdund om als template te gebruiken voor de PCR reactie. De primers E341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') en 805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') zijn gebruikt voor de bacteriële V3-V4 regio (Andreo-Jimenez et al., 2021). De primers gITS7 (5'-GTGARTCATCRARTYTTTG-3') en ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') zijn gebruikt voor de ITS2 regio (Ihrmark et al., 2012; White et al., 1990). Alle primers hadden universele illumina MiSeq adapters. De eerste PCR reactie bevatte 32 µl water, 10 µl 5xQ5 reaction buffer, 5 µl Q5® High-Fidelity DNA Polymerase (New England Biolabs Inc.), 2 µl 5mM dNTP mix, 0.25 µl van zowel de forward als reverse primers en 5 µl DNA template. De PCR condities voor 16S: 30 sec. 98°C, gevolgd door 25 cycli met 10 sec. 98°C, 10 sec. 75°C, 30 sec. 55°C en 30 sec. 72°C. daarna was er nog een final extension van 3 minuten bij 72°C. De PCR condities voor ITS: 30 sec. 98°C, gevolgd door 25 cycli met 10 sec. 98°C, 10 sec. 75°C, 30 sec. 55°C en 30 sec. 72°C. daarna was er nog een final extension van 3 minuten bij 72°C. De PCR producten werden opgestuurd naar Baseclear voor purification en sequencing op een Illumina MiSeq platform voor 300 bp pair end.

### 6.2.5.2 Annotatie en biostatistiek

Voor zowel de 16S als ITS regio werd de annotatie van de ruwe FastQ files gedaan met behulp van de DADA2 package in R om de amplicon sequence variants (ASV) tabellen te maken (<https://benjjneb.github.io/dada2/index.html>). De ASV tabellen werden geanalyseerd in R versie 4.0.2 (R Core Team (2020)) met behulp van de pakketten Phyloseq en Vegan. Voordat de shannon index en richness waren uitgerekend, zijn de monsters rarified tot gelijke sequentie diepte. Het niveau werd bepaald door het monster met het laagste aantal reads. De richness en shannon diversity index werden dezelfde statistische univariate modellen gebruikt als hierboven beschreven. De multivariate statistiek werd uitgevoerd op de ruwe data. Er is een multivariate permutatie gedaan op Bray-Curtis dissimilarity matrices om te toetsen of er effecten waren van bodem, perspot en cultivar (*adonis* functie, 10000 permutaties, strata=Tafel). Een NMDS-plot was gemaakt. Ook werden van de TOP20 meest abundante ASVs de relatieve abundantie plots gemaakt op phylum niveau.

## 6.3 Resultaten

### 6.3.1 Biomassa en plantengroei



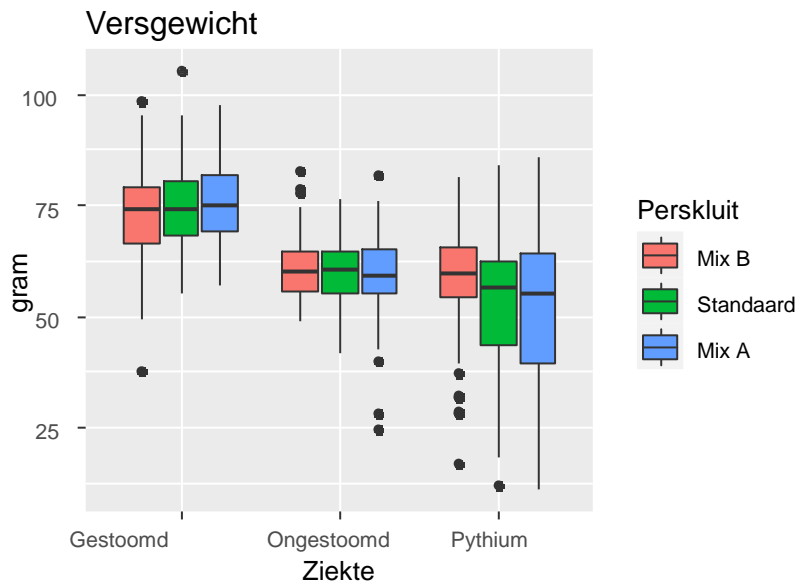
**Figuur 6.2** Boxplot met het totale drooggewicht aan het einde van de proef waarop de interactie ziekte en perspot is te zien. De letters geven de resultaten van de PostHoc Tuckey aan op  $P < 0.05$ .

De afname in biomassa in reactie op de Pythium infectie hangt af van de perskluit voor zowel het drooggewicht (Tabel 6.1; Figuur 6.2) als het versgewicht (Tabel 6.1; Figuur 6.2) van de planten. Voor het drooggewicht, is er geen significante afname in biomassa als de Chrysant groeit op een perspot met de experimentele Mix B perspotjes (Figuur 6.2). Terwijl er wel een afname in drooggewicht te zien als de Chrysant groeit op een perspot die de experimentele Mix A bevat (Figuur 6.2). Voor het versgewicht, is er minder afname in versgewicht als de chrysanten zijn worden geïnfecteerd met Pythium en groeien op de perspot Mix B dan op de andere perspotten (Figuur 6.3).

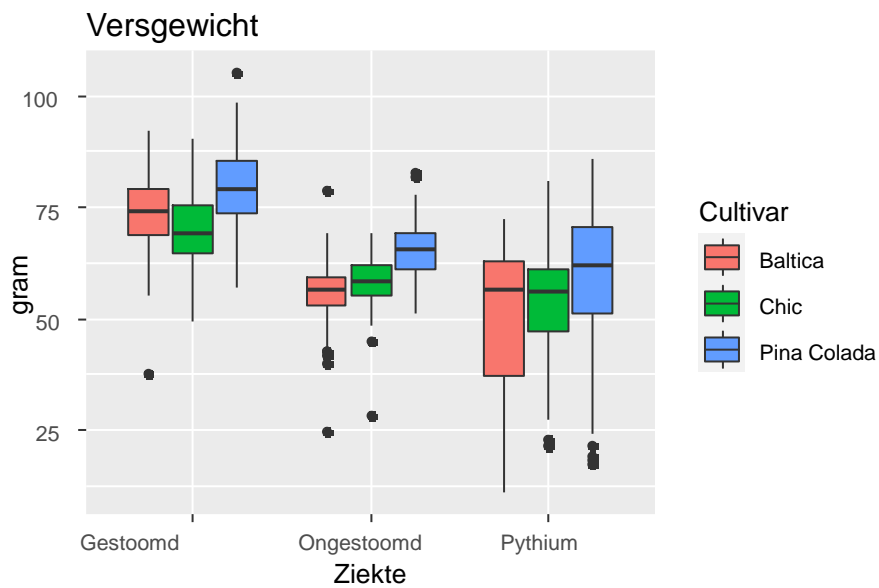
Het vers-gewicht van de drie cultivars reageren verschillend op de Pythium infectie (Figuur 6.4 Tabel 6.1). Pina Colada versgewicht is hoger dan de andere 2 cultivars op alle drie de bodems.

**Tabel 6.1** Mixed model uitkomsten. Vetgedrukte waarden is een indicatie dat  $P < 0.05$ .

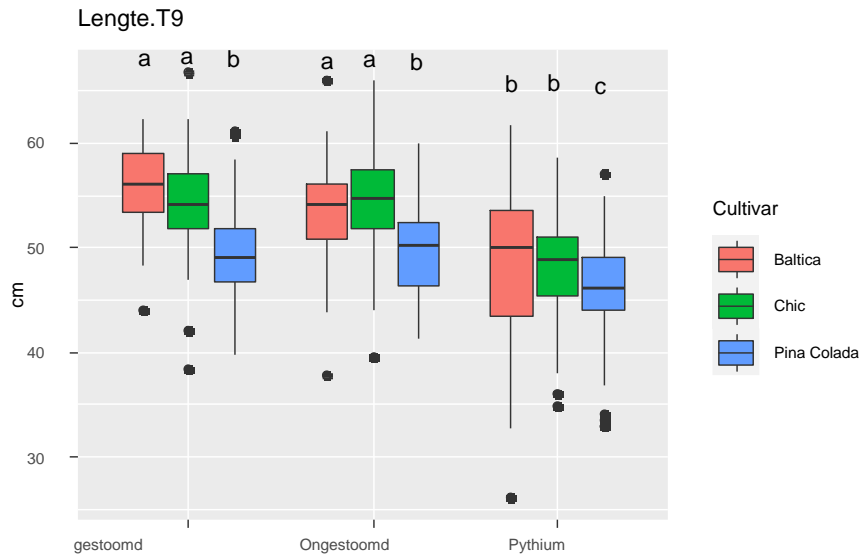
	<b>Drooggewicht (g?)</b>	<b>Vers-gewicht (g)</b>	<b>Lengte eind (cm?)</b>	<b>RGR (9/dag?)</b>
Cultivar	<b><math>F_{2,181} = 9.4</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>	<b><math>F_{2,827} = 52</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>	<b><math>F_{2,818} = 78</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>	<b><math>F_{2,819} = 366</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>
Perskluit	$F_{2,181} = 2.8$ ; $P = 0.06$	<b><math>F_{2,827} = 3.7</math>; <math>P = 0.03</math></b>	<b><math>F_{2,818} = 15</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>	<b><math>F_{2,819} = 32</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>
Ziekte	<b><math>F_{2,9} = 10</math>; <math>P = 0.005</math></b>	<b><math>F_{2,9} = 24</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>	<b><math>F_{2,9} = 18</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>	<b><math>F_{2,9} = 22</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>
Cultivar:Perskluit	$F_{4,181} = 0.29$ ; $P = 0.88$	$F_{4,827} = 0.17$ ; $P = 0.95$	$F_{4,819} = 1.03$ ; $P = 0.39$	<b><math>F_{4,819} = 14</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>
Cultivar:Ziekte	$F_{4,181} = 0.95$ ; $P = 0.43$	<b><math>F_{4,827} = 4.2</math>; <math>P = 0.002</math></b>	<b><math>F_{4,818} = 5.4</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>	$F_{4,819} = 0.71$ ; $P = 0.58$
Perskluit:Ziekte	<b><math>F_{4,181} = 5.3</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>	<b><math>F_{4,827} = 4.7</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>	$F_{4,819} = 1.4$ ; $P = 0.23$	$F_{4,819} = 0.53$ ; $P = 0.71$
Cultivar:Perskluit:Ziekte	$F_{8,181} = 0.25$ ; $P = 0.98$	$F_{8,827} = 0.35$ ; $P = 0.94$	$F_{8,819} = 0.73$ ; $P = 0.66$	$F_{8,819} = 0.60$ ; $P = 0.77$



**Figuur 6.3** Boxplot met vergewicht waarop de interactie ziekte en perspot is te zien. De letters geven de resultaten van de PostHoc Tuckey aan op  $P < 0.05$ .



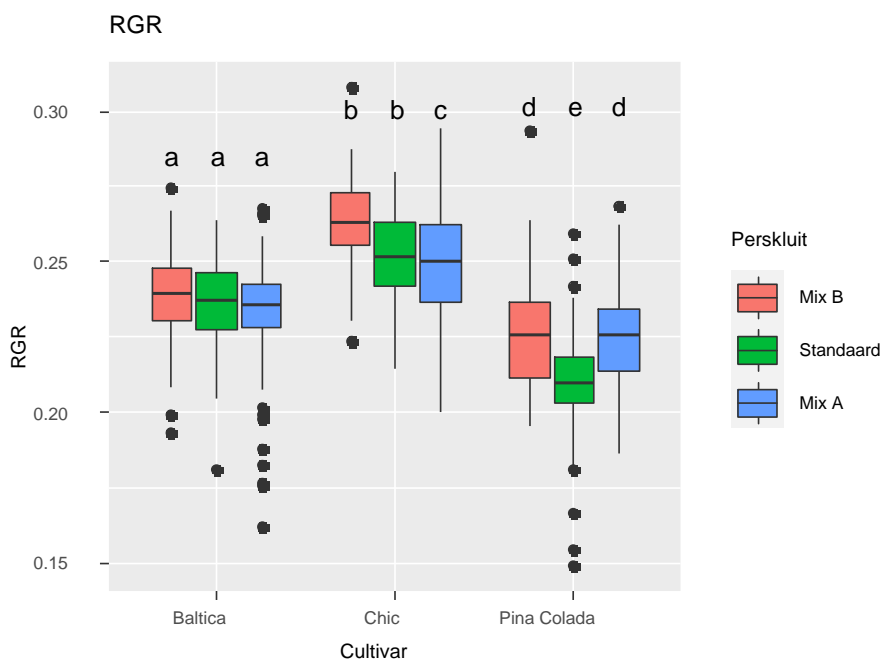
**Figuur 6.4** Boxplot met vergewicht waarop de interactie ziekte en Cultivar is te zien. De letters geven de resultaten van de PostHoc Tuckey aan op  $P < 0.05$ .



**Figuur 6.5** Boxplot van de lengte van de cultivars in reactie op de drie bodems.

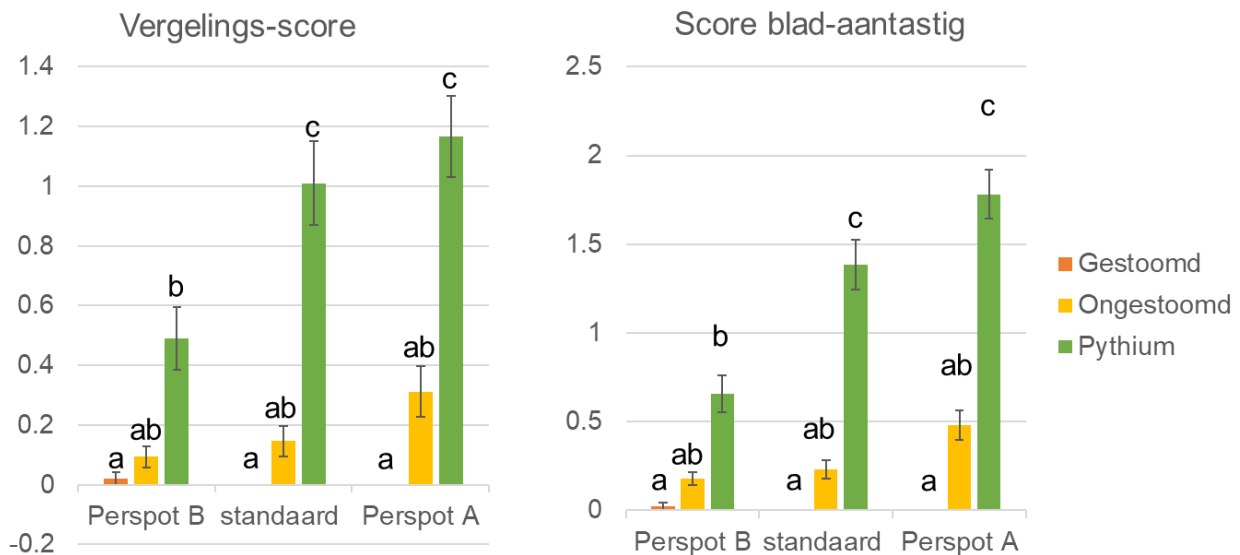
De lengte van de drie cultivars reageerde verschillend op de Pythium infectie (Figuur 6.5; Tabel 6.1). Pina Colada heeft de laagste lengte op gestoomde grond, ongestoomde grond en gestoomde grond met Pythium infectie. Alle cultivars hebben een geringere lengte op de grond met de Pythium infectie, maar Pina Colada heeft op alle bodems de kortste lengte.

De relatieve groeiratio (RGR) van de drie cultivars hangt af van de perskluit samenstelling (Figuur 6.6; Tabel 6.1). Voor Baltica is er geen verschil in RGR op de drie perskluiten. Chic heeft een lager RGR op in perskluit Mix A. Pina Colada heeft een laagste RGR op de standaard perskluit (Figuur 6.6).



**Figuur 6.6** Boxplot van de Relatieve Groei Ratio (RGR) van de cultivars in reactie op de drie perskluiten.

### 6.3.2 Ziekteontwikkeling



**Figuur 6.7** Bar-grafiek met ziektesymptomen voor vergeling en bladaantasting.

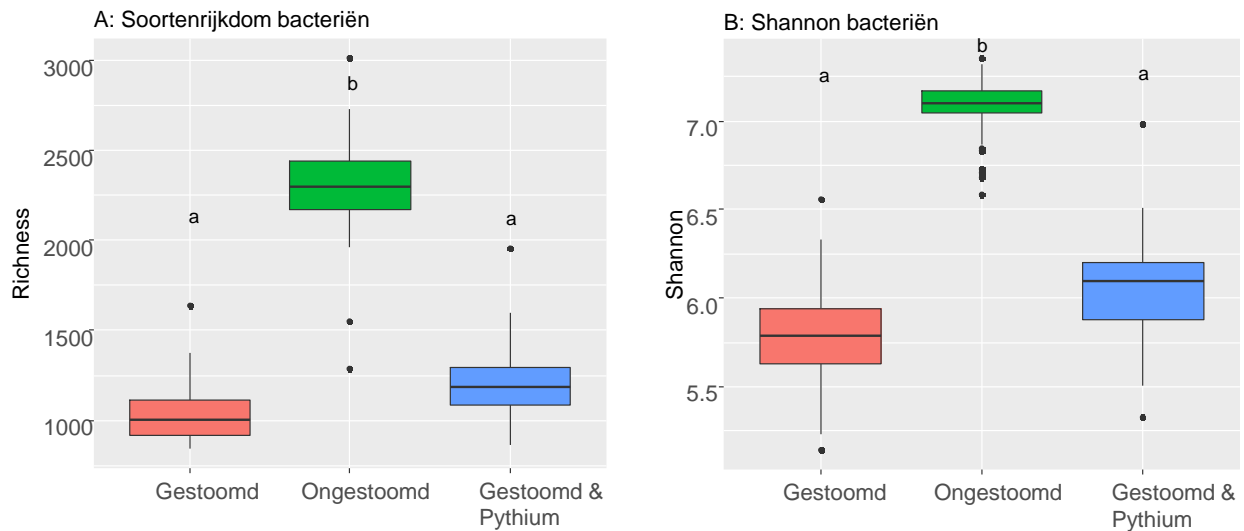
De ziektesymptomen vergeling en aantasting van het bladoppervlakte hangt af van de perspot samenstelling (Figuur 6.7; Tabel 6.2). In Perspot B was er minder vergeling en een lager % van het bladoppervlakte aangetast dan in de andere twee perspotten. Daarom lijkt het erop dat deze perspotten de weerbaarheid mogelijk kunnen verhogen tegen Pythium.

**Tabel 6.2** Statistiek uitkomsten van mixed model. Vetgedrukte waarden is een indicatie dat  $P < 0.05$ .

	Ziektesymptomen	
	Vergeling	Aantasting bladoppervlakte
Cultivar	<b><math>F_{2, 828} = 7.3; P &lt; 0.001</math></b>	<b><math>F_{2, 828} = 6.4; P = 0.002</math></b>
Perskluit	<b><math>F_{2, 818} = 9.3; P &lt; 0.001</math></b>	<b><math>F_{2, 818} = 9.4; P &lt; 0.001</math></b>
Ziekte	<b><math>F_{2, 9} = 39.2; P &lt; 0.001</math></b>	<b><math>F_{2, 9} = 40.2; P &lt; 0.001</math></b>
Cultivar:Perskluit	$F_{4, 828} = 0.28; P = 0.89$	$F_{4, 828} = 0.33; P = 0.86$
Cultivar:Ziekte	$F_{4, 828} = 1.93; P = 0.10$	$F_{4, 828} = 2.04; P = 0.09$
Perskluit:Ziekte	<b><math>F_{4, 828} = 5.72; P &lt; 0.001</math></b>	<b><math>F_{4, 828} = 5.87; P &lt; 0.001</math></b>
Cultivar:Perskluit:Ziekte	$F_{8, 828} = 0.38; P = 0.93$	$F_{8, 828} = 0.40; P = 0.93$

### 6.3.3 Microbioom analyse

#### 6.3.3.1 Microbiële soortenrijkdom en shannon diversiteits index



**Figuur 6.8** Bacteriële soortenrijkdom (A) en Shannon-Wiener diversiteits index (B) voor bacteriën in de bodem monsters.

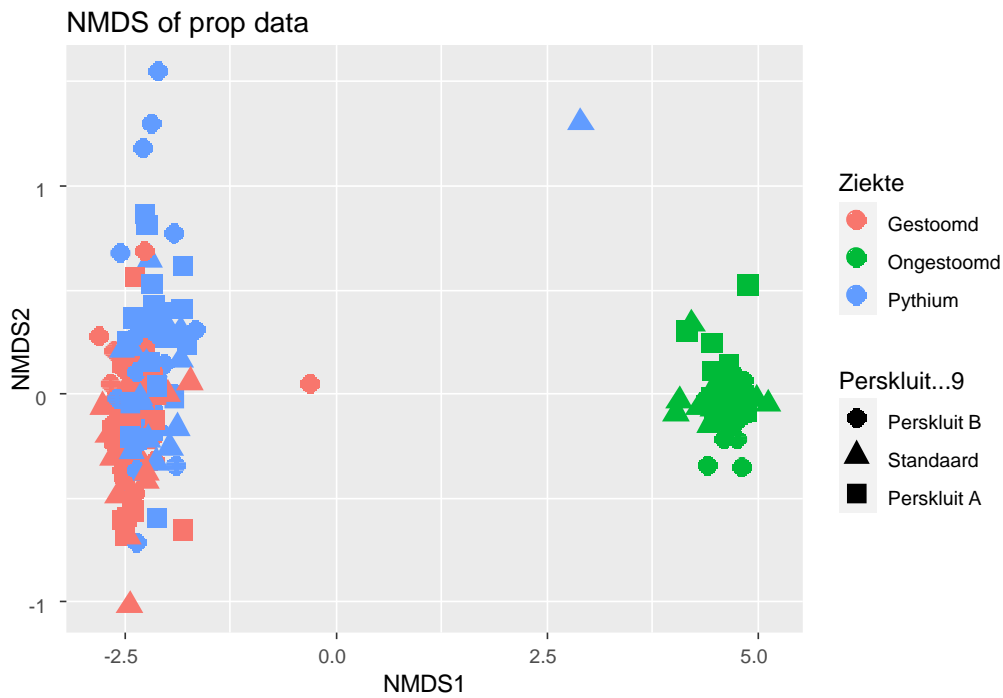
De ongestoomde bodem had een hogere bacterie-soortenrijkdom en een hogere bacteriële Shannon-Wiener diversiteits index dan de gestoomde bodems (Figuur 6.8; Tabel 6.3). Voor schimmels was er geen effect (Tabel 6.3).

**Tabel 6.3** Statistiek uitkomsten van mixed model. Vetgedrukte waarden is een indicatie dat  $P < 0.05$ .

	Bacteriële biodiversiteit	
	Soortenrijkdom	Shannon
Cultivar	<b><math>F_{2,175} = 1.24</math>; <math>P = 0.29</math></b>	$F_{2,174} = 1.21$ ; $P = 0.30$
Perskluit	$F_{2,175} = 0.27$ ; $P = 0.76$	$F_{2,174} = 0.44$ ; $P = 0.65$
Ziekte	<b><math>F_{2,9} = 440</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>	<b><math>F_{2,10} = 203</math>; <math>P &lt; 0.001</math></b>
Cultivar:Perskluit	$F_{4,175} = 0.49$ ; $P = 0.74$	$F_{4,174} = 0.99$ ; $P = 0.41$
Cultivar:Ziekte	$F_{4,175} = 0.45$ ; $P = 0.77$	$F_{4,174} = 0.16$ ; $P = 0.96$
Perskluit:Ziekte	$F_{4,175} = 1.18$ ; $P = 0.32$	$F_{4,174} = 1.31$ ; $P = 0.27$
Cultivar:Perskluit:Ziekte	$F_{8,175} = 1.09$ ; $P = 0.37$	$F_{8,174} = 1.22$ ; $P = 0.29$

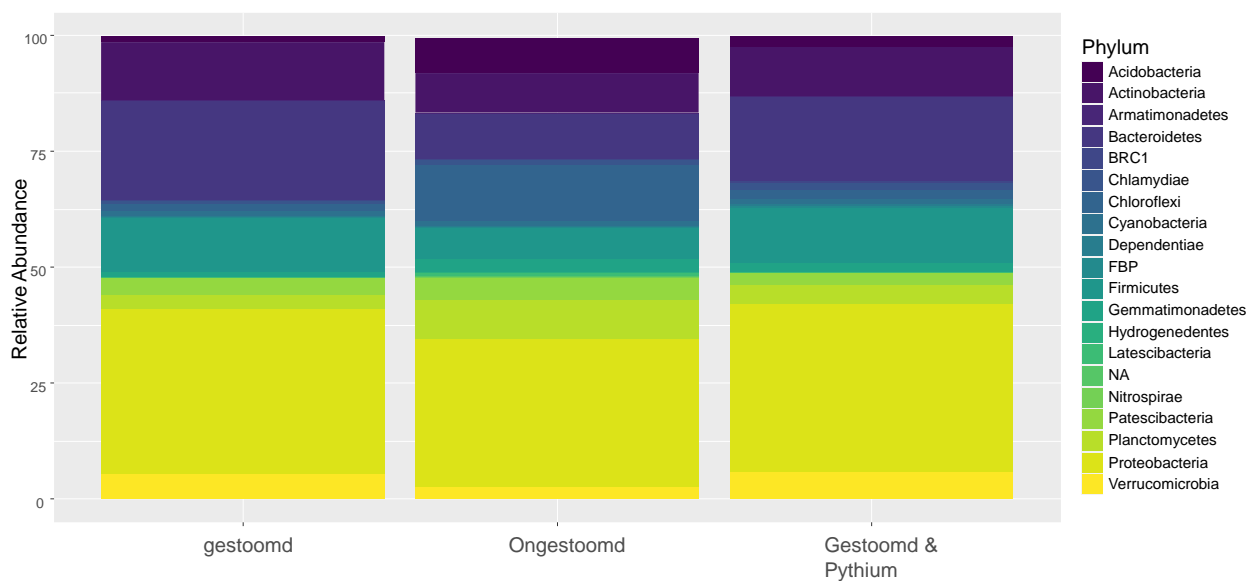


### 6.3.3.2 Beta-diversiteit



**Figuur 6.9** NMDS-ordinatie plot.

De bodemmonsters werden genomen nadat de planten er een teeltronde op hadden gegroeid (na 9 weken), maar de geschiedenis van stomen was nog duidelijk zichtbaar in de samenstelling van de bacteriën (Figuur 6.9;  $P < 0.001$ ). De monsters van de ongestoomde grond clusteren samen en verschillen van de gestoomde grond. Er is ook een trend dat de perspot de bacteriële samenstelling beïnvloed ( $P = 0.07$ ). In de ongestoomde grond lijken relatief meer acidobacteria, planctomycetes en chloroflexi te zitten en minder actinobacteria, bacterioidetes, firmicutes en proteobacteria te zitten (Figuur 6.10). De resultaten wijzen erop dat het stomen niet alleen effect heeft gehad op de pathogenen in de bodem, maar ook op de microorganismen die mogelijk goede functies hebben. De veranderingen in de microbiële gemeenschap a.g.v. stomen waren nog niet hersteld na een teeltronde in de kas.



**Figuur 6.10** Relative abundance plot van de bacteriële ASVs.

---

## 6.4 Conclusies

- Perspot Mix B geeft verminderde symptomen van de Pythium infectie en een minder afname in drooggewicht.
- De lengte neemt af door Pythium.
- Gestoomde bodem heeft een andere bacteriële samenstelling dan ongestoomde bodem.

---

# 7 Combinatie perspot en LED

## 7.1 Inleiding

Drie chrysantenrassen (Pina Colada, Baltica en Chic) zijn eerder getest op de inductie van plantweerbaarheid na behandeling met verschillende kleuren LED-belichting. Hieruit bleek blauw licht een positieve invloed te hebben op de weerbaarheid, specifiek tegen *Pythium*. Ook verschillende perspotsamenstellingen hadden invloed op de weerbaarheid van chrysanten in de teelt. Zo had experimentele perspot Mix B minder aantasting door *Pythium*. In de komende proef worden twee LED behandelingen (10% en 30% blauw) en twee perspotsamenstellingen (experimentele perspot Mix A en B) getest op de verhoging van weerbaarheid tegen trips, *Botrytis*, *Pythium* en nematoden. Na twee weken behandeling met de perspotten onder de LED verlichtingen zijn een aantal planten geoogst voor analyse. Hierbij zal als eerst het succes en ontwikkeling van de beworteling en stekken bepaald worden. Daarna zullen deze wortels en stekken gebruikt worden voor metabolomics (o.a.. het gehalte chlorogeenzuur in de planten zal worden bepaald). De resterende chrysantenstekken zijn gebruikt om de weerbaarheid te testen tegen trips, nematoden, *Pythium* en *Botrytis* te bepalen. De gehele proef duurde 10 weken. Door het gebruik van drie verschillende rassen streven we ernaar een zo generiek mogelijk beeld te krijgen van de effecten.

*Doel:*

Testen van de combinatie van perspot en LED-belichting op de weerbaarheid van drie chrysantenrassen tegen trips, *Botrytis*, *Pythium* en nematoden.

## 7.2 Methode

Deze proef werd tweemaal herhaald (zomer 2023 en winter 2023/2024). Bij de eerste uitvoering was de *Pythium* niet aangeslagen zoals later in alinea '7.3.2.3 *Pythium*' beschreven staat. De proef werd daarom herhaald vanwege het eerdere positieve effect van 30% blauw licht en de Mix B perspot op de reductie van *Pythium*. De nematoden biotoets was hierbij niet herhaald.

### 7.2.1 LED verlichting behandeling chrysanten

Drie nog onbewortelde chrysanten rassen (Baltica (Deliflor Chrysanten B.V.), Chic (Royal Van Zanten) en Pina Colada (Deliflor Chrysanten B.V.)), werden gestoken in 4,5 cm x 4,5 cm perskluitjes van experimentele Mix A of B, voor de samenstelling zie onderstaande Tabel 7.1. De perspotten werden met de hand op vocht gebracht en geperst bij Deliflor Chrysanten B.V.

**Tabel 7.1** Samenstelling perspotten experimentele Mix A en B.

	Perspot	Houtvezel	Veenmosveen	Tuinturf	Compost
1	Mix A	25%	15%	50%	10%
2	Mix B	30%	40%	20%	10%

De onbewortelde stekken werden gedurende twee weken behandeld met 10% (referentielicht) of 30% blauwe LED verlichting voor 20 uur per dag. De lichten werden aangevuld met rood licht tot 100% en additioneel verrood 10%. Zie onderstaande Tabel 7.2 voor de samenstelling van de spectra.

**Tabel 7.2** Samenstellingen van de LED verlichting behandelingen tijdens in de opkweekfase.

	Spectra	Blauw	Rood	Verrood	Intensiteit
1	10% Blauw	10%	90%	10%	50 µmol
2	30% Blauw	30%	70%	10%	50 µmol

De LED verlichtingen werden op een hoogte van 60 cm boven de stekken bevestigd en afgeschermd met niet-lichtdoorlatende zeilen. De stekken werden gebroesd wanneer de perskluiten droger werden en bij 23°C en 90% luchtvochtigheid geteeld.

Na twee weken behandeling werden de stekken gerandomiseerd verdeeld voor metabolomics onderzoek, wortel- en stekontwikkeling en weerbaarheidstoetsen tegen veelvoorkomende chrysantenziektes, specifiek tegen trips, *Botrytis*, *Pythium* en *Meloidogyne*.

### 7.2.2 Biomassa, wortelontwikkeling en metabolomics na beworteling

Per LED verlichting behandeling, perspot behandeling en chrysanten ras werden 20 planten gebruikt voor destructieve metingen en metabolomics analyses. De wortels in de perskluitjes werden schoongespoeld met water, drooggedept en gescheiden van de stek. Van de wortels en stekken, bestaande uit de stengel en bladeren, werd de lengte en biomassa gemeten.

### 7.2.3 Bodem

De bodems waren op twee tijdstippen bemonsterd bij twee verschillende bedrijven. Tijdens de eerste bemonstering in juli 2023 had de gestoomde bodem 13% klei, 24% silt en 38% zand. Het organische stof gehalte was 17.8% en de pH was 7.0. De ongestoomde bodem had 14% klei, 24% silt en 37% zand. Het organische stof gehalte was 17.6% en de pH was 7.0. Van de tweede bemonstering zijn geen analyses beschikbaar.

---

De perskluitjes met inmiddels bewortelde stekken werden op gestoomde en ongestoomde grond gezet in 0,8L potten. De klimaatomstandigheden waren als volgt: 800 ppm CO<sub>2</sub>, 75% luchtvochtigheid, 18°C stoken, 20°C luchten en lichtverhoging 3°C, daarbij standaard belichting van 00.00 uur tot 04.00 uur en een donkerdoek in korte dag van 18.00 uur tot 8.00 uur.

#### 7.2.4 Biotoetsen

Na twee weken LED behandelingen werden de planten op grond geteeld of ingezet voor biotoetsen, specifiek als controle planten of voor trips-, *Botrytis*-, *Pythium*- en *Meloidogyne* biotoetsen. De Ø13cm potjes waren gevuld met 0,8L gestoomde of ongestoomde praktijkgrond (ongestoomd in het geval van *Meloidogyne*). Wekelijks werden de chrysanten gecontroleerd op vertoning van ziektesymptomen. Voor de controle planten en de planten voor de *Pythium* en *Meloidogyne* biotoets werd na negen weken teelt de lengte gemeten en het vers- en drooggewicht bepaald. Voor het drooggewicht zijn per behandeling 5 planten gewogen. Verdere details over de biotoetsen staan hieronder beschreven per ziekte.

##### 7.2.4.1 Trips bladtoets

Per behandeling (LED verlichting, perspotsamenstelling en ras) werden 15 planten gebruikt voor de trips biotoets. Van de stekken werd het derde blad van onder geplukt. 10 van de 15 planten werden hierna ter controle gebruikt voor de andere ziekteontwikkelingen en geteeld op gestoomde grond. Het afgenomen blad werd op een laag 1% water agar gelegd in een 280 cc plastic bakje met het steeltje in de agar tegen uitdroging. Per bakje werden vijf volwassen Californische tripsen (*Frankliniella occidentalis*) op het blad geplaatst en het bakje werd afgesloten met een deksel met gaas. De bakjes werden voor 6 dagen bij 20°C geplaatst. Hierna werd de bladschade in mm<sup>2</sup> met het oog geteld.

##### 7.2.4.2 Botrytis bladtoets

Van 10 planten per LED verlichting, perspotsamenstelling en ras werd het derde blad van onder geplukt voor de *Botrytis* biotoets. De plant werd hierna gebruikt voor de *Pythium* biotoets en geteeld op gestoomde grond. Het afgenomen blad werd op een laag 1% water agar gelegd in een petrischaal met het steeltje in de agar tegen uitdroging. *Botrytis* werd voor 10 dagen op Potato Dextrose Agar (PDA) opgekweekt bij 22°C. De kweek werd hierna voor minstens 1 nacht geïncubeerd onder UV-licht om sporenvorming te stimuleren. 1\*10<sup>6</sup> sporen/mL werden gedurende 2 uur bij kamertemperatuur weggezet, hierna werden 2 druppels van 2 µL op de bladeren gepipetteerd (nerven vermijdend). De petrischalen werden bij 20°C geplaatst en na 3 en 6 dagen werden de ontstane laesies aan beide kanten op het blad gemeten in cm. Het gemiddelde van de twee laesies is hierna meegenomen voor verdere analyse.

##### 7.2.4.3 Pythium biotoets

35 planten per LED verlichting, perspotsamenstelling en ras werden op gestoomde grond geteeld voor de *Pythium* biotoets. *Pythium ultimum* werd van tevoren opgekweekt in standaard V8 groentesap medium op een schudmachine bij 90 rpm en 25°C. Na drie weken werd de concentratie bepaald. Aan de potjes met gestoomde grond was 1\*10<sup>6</sup> sporen *Pythium* toegevoegd alvorens de perskluitjes met stekken hierop werden gezet (10 mL inoculum per plant).

##### 7.2.4.4 Meloidogyne biotoets

Wortelknobbelaaltjes waren aanwezig in ongestoomde praktijkgrond. De concentratie van de aaltjes in de grond werd voor de start van de proef bepaald door Eurofins Analytico B.V. Perskluitjes van 25 planten per LED verlichting, perspotsamenstelling en ras werden op de ongestoomde grond gezet. Naast de lengtemeting en ziektesymptomen scoring werd na negen weken een score voor de wortelknobbindex bepaald voor ziekte met *Meloidogyne*. De score werd gegeven volgens Figuur 2.1.

##### 7.2.4.5 Statistische analyses

Statistische analyses werden uitgevoerd met behulp van IBM SPSS Statistics 25 software. Om verschillen tussen de rassen, ziekten-, LED- en perspotbehandelingen op de plantweerbaarheid te evalueren werden modellen gegenereerd voor alle plantmetingen en biotoetsen apart. De zogenoemde goodness-of-fit werd bepaald door de residuals te onderzoeken op eventuele schendingen van normaliteit. Voor elke analyse werden voor de vergelijkingen Analysis of Variance (ANOVA) uitgevoerd. Daaropvolgende Tukey post-hoc-tests werden op de modellen toegepast om eventueel aanwezige significante levels tussen de behandelingen te bepalen. Een significantieniveau van p≤0,05 werd gebruikt. In het geval de residuals niet normaal verdeeld waren, werd een niet-parametrische Kruskal-Wallis toets uitgevoerd.

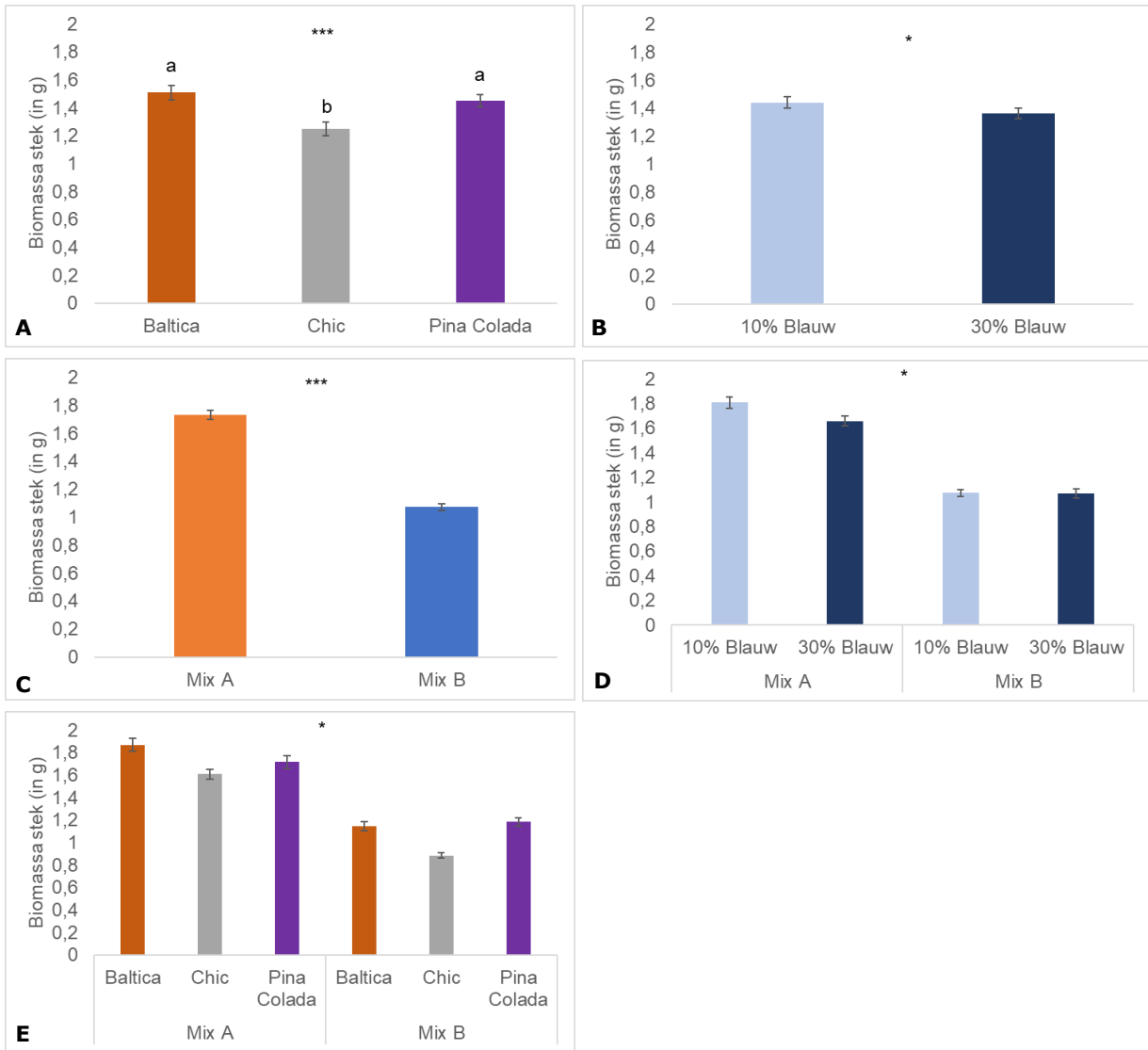
---

## 7.3 Resultaten proef zomer 2023

### 7.3.1 Ontwikkeling stek en wortel

#### 7.3.1.1 Biomassa stek

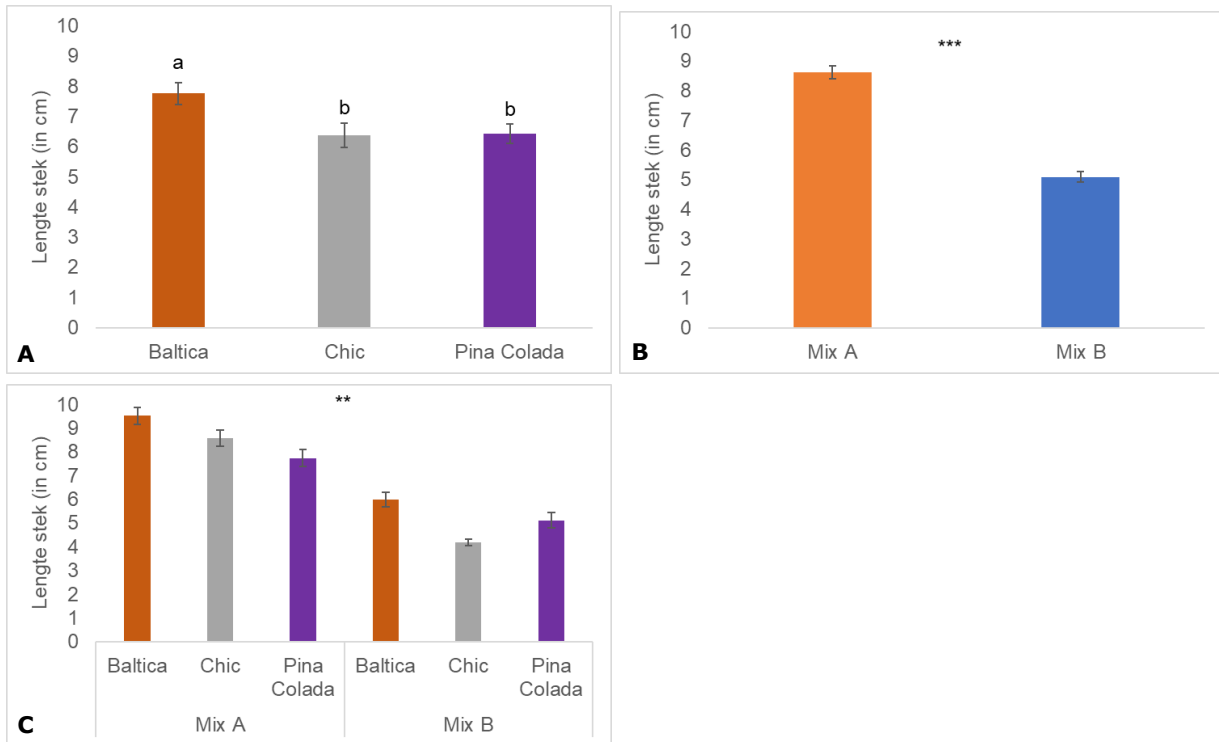
Het effect van de combinatie van verschillende LED behandelingen en perspotten op de biomassa van de bewortelde stekken werd direct na de twee weken LED behandeling gemeten. Onder biomassa werd het gewicht (in g) van de stekken (blad+stengel) verstaan. Uit de resultaten bleek een significant effect tussen de rassen aanwezig te zijn. In tegenstelling tot de vorige proef onder LED had Chic nu een significant lagere biomassa dan Baltica en Pina Colada (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.1A. Een klein significant verschil bleek aanwezig te zijn tussen 10% en 30% blauwe LED verlichting met 10% blauw een iets hogere biomassa (ANOVA,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 7.1B. Tussen de perspotten bleek Mix A een significant hogere biomassa te hebben dan de Mix B perspot (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.1C. Er was geen interactie tussen de LED behandelingen en de rassen waargenomen. Wel waren er kleine significante interacties tussen LED behandeling en perspotten en tussen de rassen en perspotten (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Waar bij Mix B de LED behandelingen in stekbiomassa gelijk waren aan elkaar had bij de Mix A perspot 10% blauw een hogere biomassa dan bij 30% blauw, zie Figuur 7.1D. Voor de combinatie rassen met perspotten gold dat bij Mix B Pina Colada de hoogste biomassa had en Chic het laagste terwijl bij Mix A Baltica de hoogste biomassa had, zie Figuur 7.1E. Er was geen significante interactie vastgesteld tussen de rassen, LED behandelingen en perspotten samenstelling.



**Figuur 7.1** Chic had een significant lagere stekbiomassa dan Baltica en Pina Colada (A). 10% blauw licht had significant een iets zwaardere biomassa stek dan 30% blauw licht (B). Stekken opgekweekt in de Mix A perspot waren significant zwaarder dan stekken in Mix B opgekweekt (C). Bij de Mix A perspot hadden stekken opgekweekt onder 30% blauw licht een significant lagere biomassa dan onder 10% blauw licht; bij Mix B was dit gelijk (D). Bij Mix A had Baltica significant de zwaarste stekbiomassa; bij Mix B had Pina Colada een zwaardere stekbiomassa (E). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters en met \* voor  $p \leq 0,05$  en \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 7.3.1.2 Lengte stek

Naast de biomassa van de stek werd ook de lengte van de stek gemeten. Tussen de rassen bleek Baltica significant langer te zijn dan Chic en Pina Colada (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.2A. Daarnaast hadden stekken in de Mix A perspot een significant langere steklengte vergeleken met Mix B (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.2B. Tussen de rassen en perspotten was ook een significant verschil. Waar bij Mix B Baltica de langste stek had, gevolgd door Pina Colada en Chic met de kleinste steklengte, had bij Mix A Baltica de langste steklengte gevolgd door Chic en Pina Colada met de kleinste steklengte (ANOVA,  $p < 0,01$ ), zie Figuur 7.2C. Geen significant verschil tussen de LED behandelingen op steklengte of interactie tussen de rassen, LED behandelingen en perspotten samen was waargenomen.

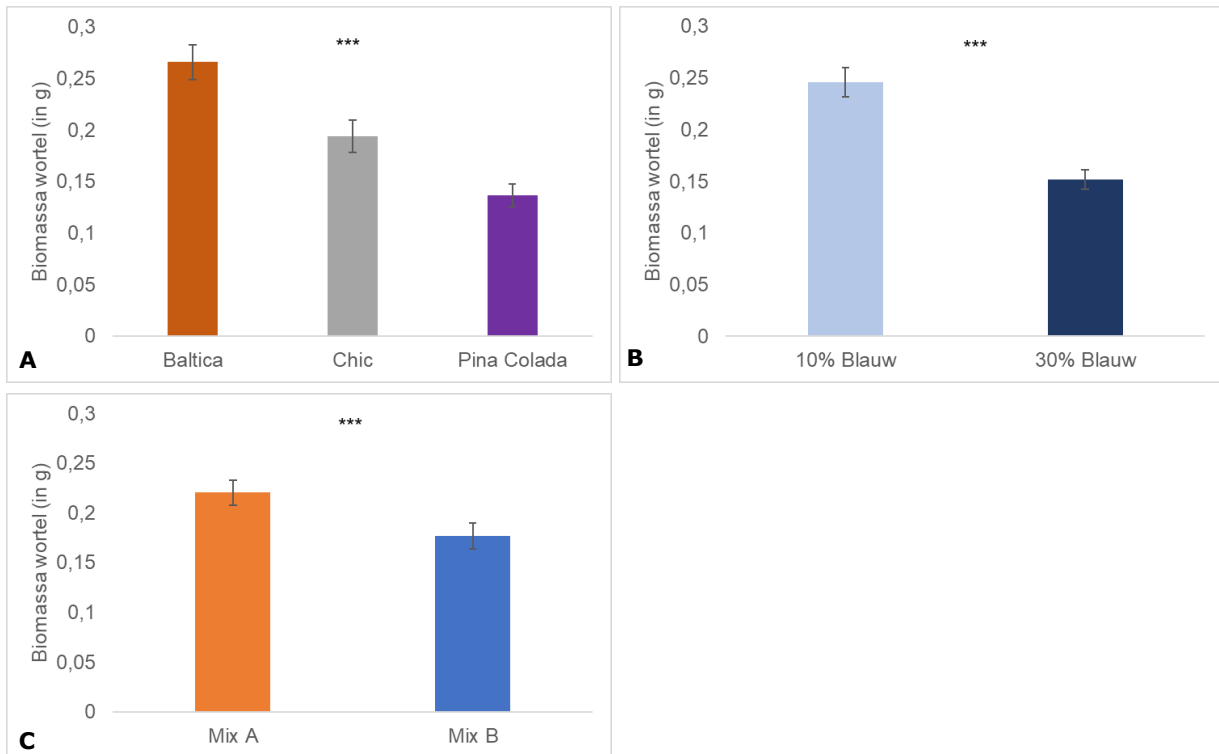


**Figuur 7.2** Baltica had een significant langere steklengte dan Chic en Pina Colada (A). Stekken opgekweekt in de Mix A perspot waren significant langer dan stekken in Mix B opgekweekt (B). Bij Mix A had Baltica significant de langste steklengte gevolgd door Chic en dan Pina Colada. Bij Mix B had Baltica significant de langste steklengte gevolgd door Pina Colada en dan Chic. (C). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters met \*\* voor  $p \leq 0,01$  en \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.



### 7.3.1.3 Biomassa wortel

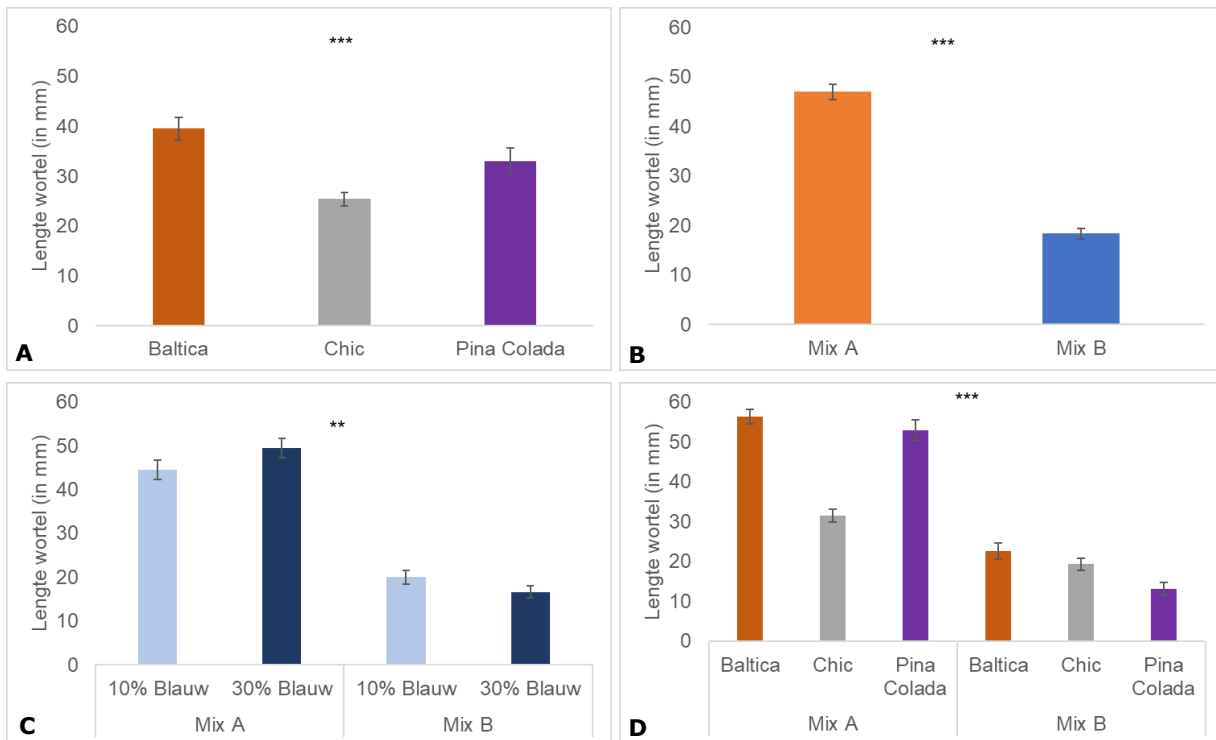
De wortelontwikkeling van de stekken onder invloed van de LED behandelingen en verschillende perspotten was ook onderzocht op biomassa en lengte. Een vergelijkbaar beeld als de stekontwikkeling kwam hieruit naar voren bij de biomassa. Baltica had significant de grootste wortelbiomassa, gevolgd door Chic en Pina Colada met het laagste wortelgewicht (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.3A. Uit vergelijking van de LED behandeling bleek 10% blauw significant meer wortelbiomassa op te leveren (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.3B. Tot slot resulteerde opkweek in Mix A in meer wortelmasa dan opkweek in Mix B perspotten (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.3C.



**Figuur 7.3** Baltica had significant de hoogste wortelbiomassa gevolgd door Chic en dan Pina Colada (A). Stekken hadden een significant zwaarder wortelgewicht opgekweekt onder 10% blauw licht dan onder 30% blauw licht (B). De wortels van stekken opgekweekt in de Mix A perspot waren significant zwaarder dan die in Mix B opgekweekt (C). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 7.3.1.4 Wortellengte

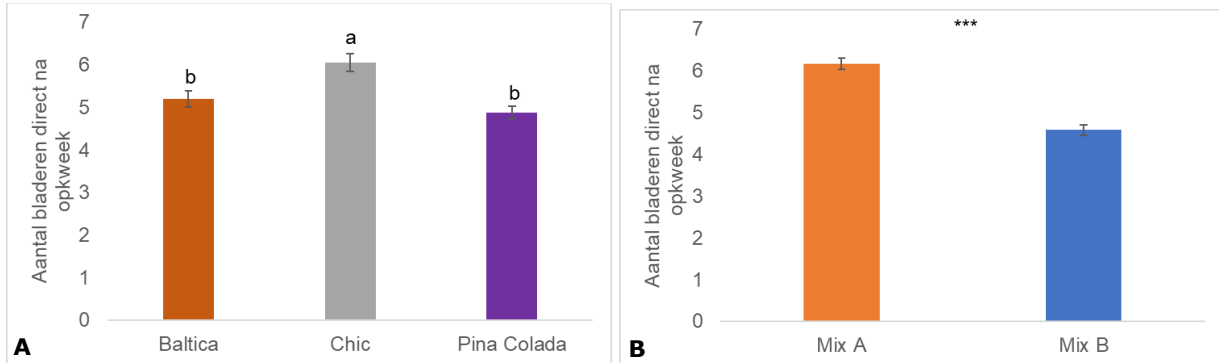
Baltica bleek naast de hoogste wortelbiomassa ook significant de langste wortels te hebben. Echter bleek Chic nu significant de kortste wortels te hebben en valt Pina Colada ertussen in tegenstelling tot de biomassa (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.4A. Opkweek in de Mix A perspot resulteerde in significant langere wortels dan Mix B (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.4B. Er was geen significant verschil in wortellengte voor de LED behandelingen waargenomen. Wel was er een significante interactie tussen LED behandeling en perspot. Opgekweekte stekken in Mix B hadden iets kortere wortels onder 30% blauw terwijl opgekweekte stekken in Mix A juist iets langere wortels hadden onder 30% blauwe LED verlichting (ANOVA,  $p < 0,01$ ), zie Figuur 7.4C. Een significante interactie bleek ook tussen de rassen en perspotten: bij Mix B had Baltica de langste wortels gevolgd door Chic en dan Pina Colada, terwijl bij Mix A Baltica de langste wortels had gevolgd door Pina Colada en dan Chic met de kleinste wortels (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.4D.



**Figuur 7.4** Baltica had een significant langere wortellengte gevolgd door Pina Colada en dan Chic (A). Wortels van stekken opgekweekt in de Mix A perspot waren significant langer dan stekken in Mix B opgekweekt (B). Bij Mix A hadden stekken langere wortels onder 30% blauw licht; bij Mix B hadden stekken onder 10% blauw licht significant langere wortels dan onder 30% blauw licht (C). Bij Mix A had Baltica significant de langste wortellengte gevolgd door Pina Colada en dan Chic; Bij Mix B had Baltica significant de langste wortellengte gevolgd door Chic en dan Pina Colada (D). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters met \*\* voor  $p \leq 0,01$  en \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 7.3.1.5 Aantal bladeren

Tijdens het meten van de lengte van de stek en wortel en de biomassa leek er op het oog een effect te zijn op het aantal bladeren dat de stekken hadden gevormd. Deze zijn per stek daarom ook geteld. Er bleek een significant effect te zijn van de rassen en de perspotten. Waar Chic vaker een lagere biomassa of lengte had, had Chic wel significant meer bladeren aan de stek dan Baltica en Pina Colada, gemiddeld 1 blad meer (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.5A. Daarnaast hadden stekken opgekweekt in Mix A significant meer bladeren gevormd dan stekken opgekweekt in Mix B (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.5B.

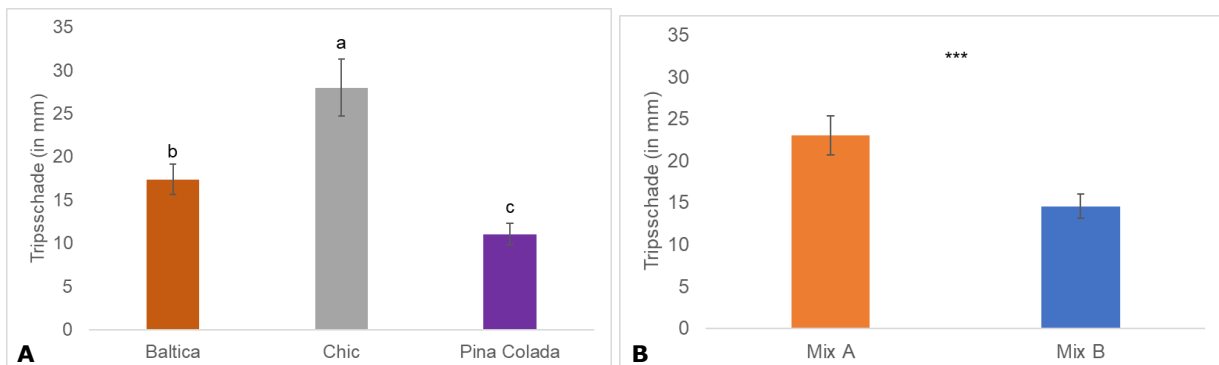


**Figuur 7.5** Chic had significant meer bladeren na opkweek dan Baltica en Pina Colada (A). Stekken opgekweekt in Mix A perspot hadden significant meer bladeren dan stekken opgekweekt in Mix B (B). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters en met \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

## 7.3.2 Weerbaarheid chrysanten

### 7.3.2.1 Trips

Na twee weken opkweek onder twee verschillende LED behandelingen en twee verschillende perspotten werden bladtoetsen ingezet om de weerbaarheid tegen trips te beoordelen. Zoals bij eerdere proeven met trips bleek Chic opnieuw significant meer tripsschade te hebben dan Baltica en Pina Colada; Pina Colada had de laagste hoeveelheid tripsschade (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.6A. Tussen de LED behandelingen was geen significant verschil waargenomen. Stekken die opgekweekt waren in Mix B perspotten hadden significant minder tripsschade dan stekken die opgekweekt waren in Mix A (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.6B. Er waren geen significante interacties.

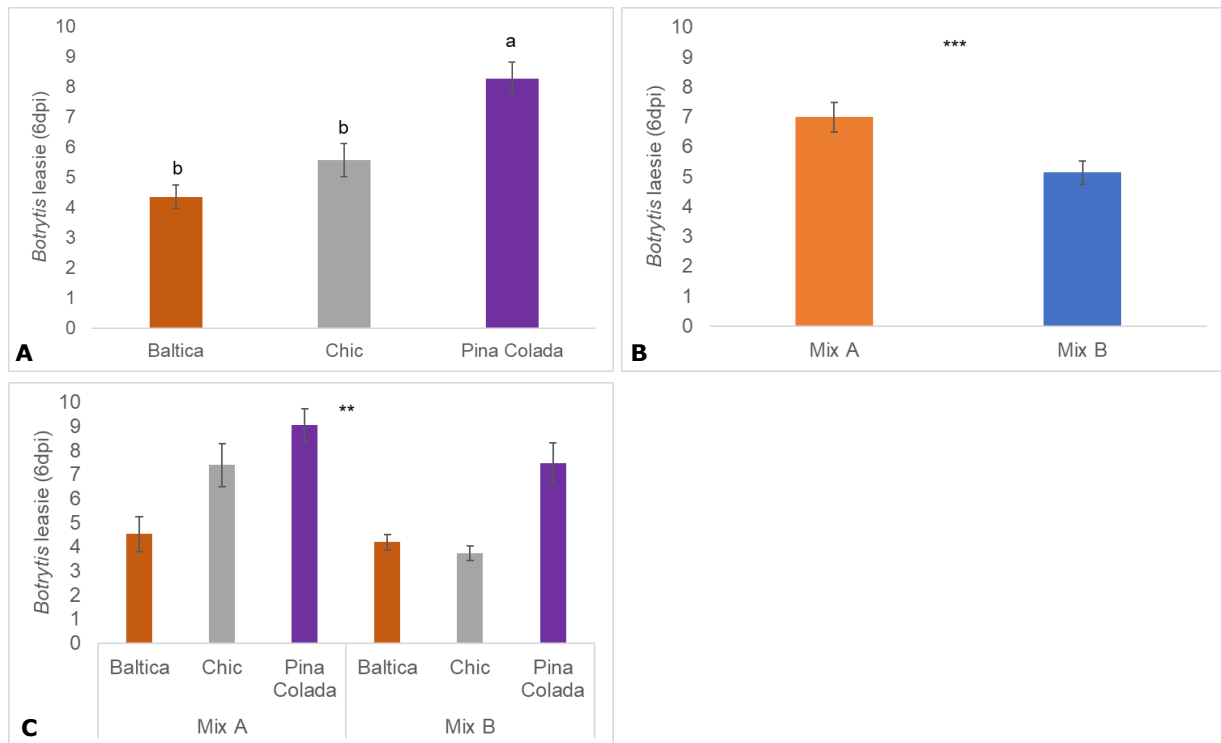


**Figuur 7.6** Significant de meeste tripsschade (in  $\text{mm}^2$ ) bij Chic, gevolgd door Baltica en dan Pina Colada (A). Mix A had significant meer tripsschade dan Mix B (B). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters en met \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 7.3.2.2 Botrytis

De plantweerbaarheid van de bewortelde chrysantenstekken is ook getest tegen *Botrytis*. Het resultaat is hieronder weergegeven voor 6 dagen postinfectie (dpi) aangezien de effecten hier het grootst waren.

Pina Colada had significant grotere *Botrytis* laesies dan Baltica en Chic (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.7A. Dit verschil tussen de rassen bij *Botrytis* was bij eerdere proeven ook geobserveerd. Er bleek geen significant verschil tussen de LED behandelingen 10% en 30% blauw licht op *Botrytis* laesies te zijn. Ook dit was eerder waargenomen. Tussen de perspotten werd wel een verschil waargenomen waarbij Mix B significant kleinere laesies door *Botrytis* had dan Mix A (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.7B. Tussen de rassen en perspotten was een significant verschil. Bij Mix B had het ras Chic kleine *Botrytis* laesies vergelijkbaar met Baltica terwijl bij Mix A Chic veel grotere laesies had die in de buurt kwamen van de grootte bij Pina Colada (ANOVA,  $p < 0,01$ ), zie Figuur 7.7C.



**Figuur 7.7** Baltica en Chic hadden significant de kleinste *Botrytis* laesies (A). Mix B had significant kleinere *Botrytis* laesies dan Mix A (B). Bij Mix B had Pina Colada significant de grootste *Botrytis* laesies en Chic de kleinste laesies; bij Mix A had Baltica de kleinste laesies (C). dpi= dagen postinfectie. Significantie is aangetoond met verschillende letters en met \*\* voor  $p \leq 0,01$  en \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 7.3.2.3 *Pythium*

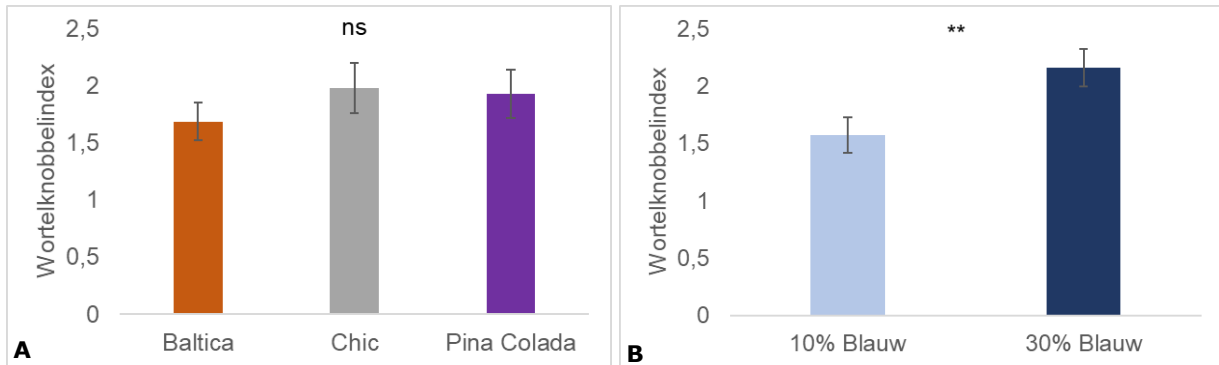
Bij de proef waren tijdens de teelt de chrysanten op potten in trays gezet, zie Figuur 7.8 en 7.9 hieronder. Deze trays hielden de onderkant van de potten van de tafel af zodat infectie tussen potten via uitspoeling van de grond niet mogelijk was en plastic bamibakjes overbodig waren. Bij eerdere proeven stonden chrysanten op bamibakjes. Planten die te vochtig waren zakten in de bamibakjes waardoor ze nog meer vocht vasthielden. Een cirkel die mogelijk infecties verder stimuleerden. Deze trays moesten dit voorkomen. Echter stroomde water in deze proef te snel weg waardoor de chrysanten sneller droog werden en waarschijnlijk *Pythium* niet goed heeft kunnen aanslaan, ondanks het vaker water geven. Het alsnog op bamibakjes plaatsen en herintroduceren van *Pythium* 5 weken later in de teelt mocht niet meer baten om de planten ziek te krijgen. Er kunnen dus geen conclusies getrokken worden over het effect van de rassen, LED behandelingen en perspotten op de weerbaarheid tegen *Pythium* in deze uitvoering van de proef. De proef is daarom een tweede keer herhaald. Resultaten hiervan staan beschreven vanaf alinea 7.3.4.



**Figuur 7.8** (links) en **Figuur 7.9** (rechts). Chrysanten stonden op opgestapelde trays waardoor ziekteverspreiding tussen potten niet mogelijk was.

### 7.3.2.4 Nematoden

Weerbaarheid tegen nematoden werd beoordeeld door middel van een wortelknobbeldindex bepaling: een hoge wortelknobbeldindex betekent meer aantasting van de wortel door de nematoden. Lagere waarden geven een indicatie voor een versterkte plantweerbaarheid. Baltica had een iets lagere gemiddelde wortelknobbeldindex, maar de standaard error was hoog en het verschil relatief klein. Een significant verschil tussen de rassen werd niet teruggevonden, zie Figuur 7.10A. Ten opzichte van een eerdere proef met LED behandelingen was nu wel een significant verschil waargenomen waarbij 10% blauw in een lagere wortelknobbeldindex resulteerde dan 30% blauw (Kruskal-Wallis,  $p < 0,01$ ), zie Figuur 7.10B. Er was geen significant verschil van de perspotten op de wortelknobbeldindex.



**Figuur 7.10** Geen significant verschil in wortelknobbeldindex tussen de rassen (A). 10% blauw licht had een significant lagere wortelknobbeldindex dan chrysanten die onder 30% blauw licht waren opgekweekt (B). Significantie is aangetoond met \*\* voor  $p \leq 0,01$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

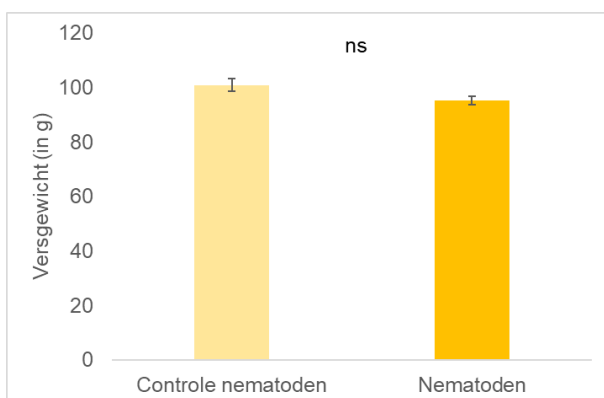
### 7.3.3 Vers- en drooggewicht en lengte bij einde van de teelt

Bij het einde van de teelt werd de lengte van de plant gemeten en het vers- en drooggewicht bepaald. Gezien de planten die geïnfecteerd waren met *Pythium* later natter werden geteeld om de *Pythium* te laten aanslaan, was er een aparte controle groep voor *Pythium* en nematoden. De controle groep voor *Pythium* was ook natter geteeld, gelijkwaardig met de *Pythium* geïnfecteerde planten, in vergelijking met de controle planten voor de nematoden.

#### 7.3.3.1 Nematoden

##### Versgewicht

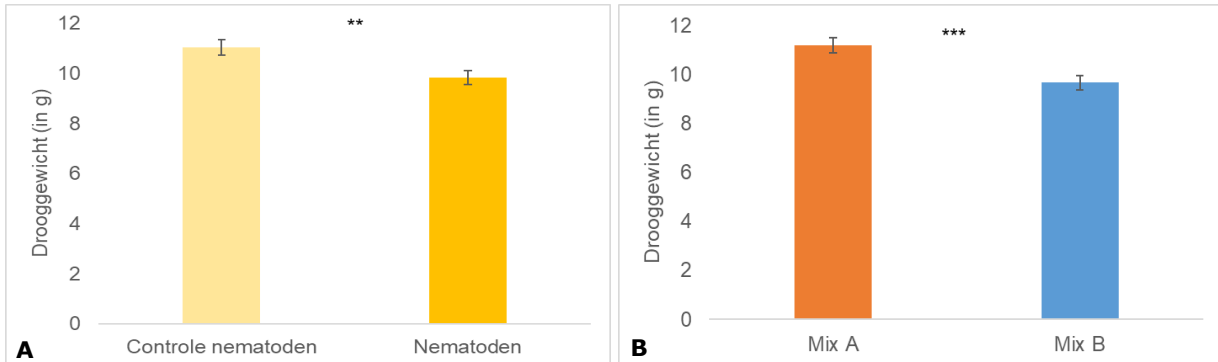
Het versgewicht van de controle planten en de planten met de nematoden behandeling verschilden niet significant van elkaar in versgewicht. Ook de verschillende rassen, perspotten en LED behandelingen hadden geen significant effect op versgewicht. Het gemiddelde versgewicht per plant lag rond de 100 gram, zie Figuur 7.11.



**Figuur 7.11** Geen significant verschil in versgewicht tussen controle planten en planten geteeld op nematoden bevattende grond.

### Drooggewicht

Er was een significant verschil in drooggewicht waarbij controle planten significant zwaarder waren dan planten die nematoden aan de pot toegediend hadden gekregen (ANOVA,  $p < 0,01$ ), zie Figuur 7.12A. Chrysanten opgekweekt in Mix A hadden een significant zwaarder drooggewicht dan chrysanten opgekweekt in Mix B perspotten (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.12B. Er was geen effect van de rassen en de LED behandelingen op het drooggewicht.



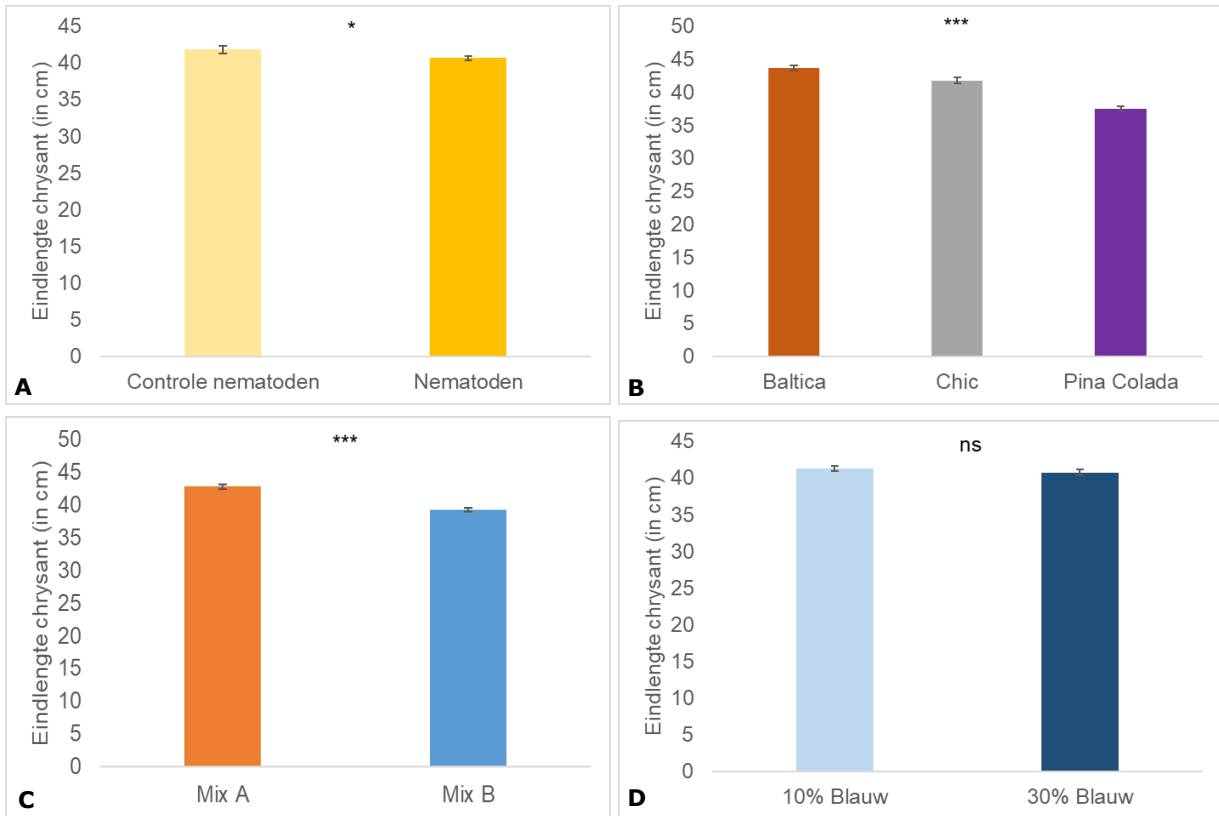
**Figuur 7.11** Controle planten hadden een significant hoger drooggewicht dan planten geteeld op nematoden bevattende grond (A). Chrysanten opgekweekt op Mix A perspotten hadden een significant hoger drooggewicht dan Mix B (B). Significantie is aangetoond met \*\* voor  $p \leq 0,01$  en \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### Droge stof percentage

Er waren geen effecten meetbaar tussen de controle en nematoden behandelingsgroep, de rassen, de perspotten of de LED behandelingen op het droge stof percentage van deze groep chrysanten.

### Lengte chrysant

De planten waar nematoden aan de grond waren toegediend tijdens de teelt waren significant iets kleiner dan de controle planten (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 7.12A. Tussen de rassen bleek Baltica het langst te zijn en Pina Colada significant het kleinst (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.12B. Verder bleken chrysanten opgekweekt in perspotten van Mix A significant langer te zijn dan chrysanten opgekweekt in Mix B perspotten (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.12C. De LED behandelingen 10% en 30% blauw hadden geen invloed op de lengte van de planten, zie Figuur 7.12D.



**Figuur 7.12** Controle planten waren significant langer dan planten geteeld op nematoden bevattende grond (A). Baltica was significant het langst na de teelt en Pina Colada het kleinst (B). Planten opgekweekt op Mix A perspotten waren significant langer dan Mix B planten (C). Geen significant verschil tussen LED behandelingen op plantlengte (D). Significantie is aangetoond met \* voor  $p \leq 0,05$  en \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

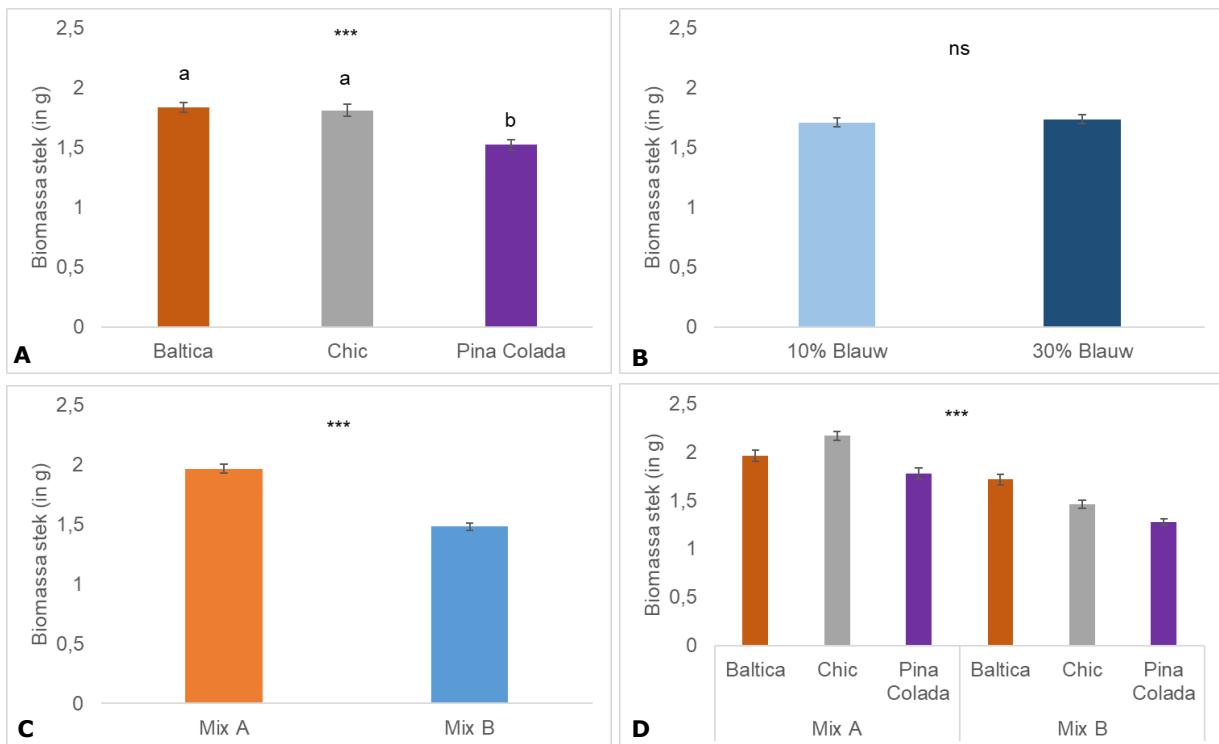


## 7.4 Resultaten winter 2023/2024

### 7.4.1 Ontwikkeling stek en wortel

#### 7.4.1.1 Biomassa stek

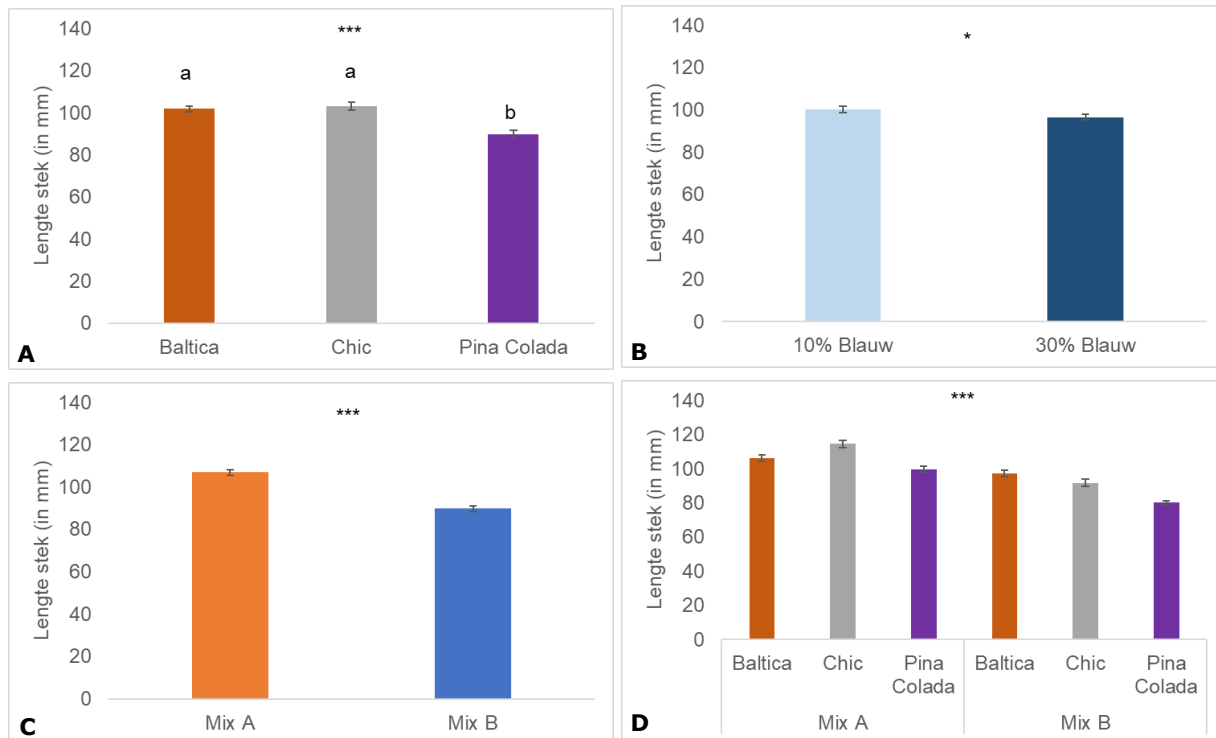
Bij de tweede uitvoering bleek een significant effect in stek biomassa tussen de rassen aanwezig te zijn. Pina Colada had significant de laagste biomassa (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.13A. De LED behandelingen hadden geen significant effect op stek biomassa, zie Figuur 7.13B. Tussen de perspotten bleek Mix A opnieuw een significant hogere biomassa te hebben (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.13C. Voor de combinatie rassen met perspotten gold, in tegenstelling tot de eerste herhaling, dat bij Mix B Pina Colada de lichtste biomassa had en Baltica het zwaarste terwijl bij Mix A Chic de zwaarste biomassa had (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.13D.



**Figuur 7.13** Pina Colada had een significant lagere stekbiomassa dan Baltica en Chic (A). Geen significant verschil in stekbiomassa tussen de LED behandelingen (B). Stekken opgekweekt in de Mix A perspot waren significant zwaarder dan stekken in Mix B opgekweekt (C). Bij Mix A had Chic de zwaarste stekbiomassa en Pina Colada de lichtste stekbiomassa; bij Mix B had Baltica significant de zwaarste stekbiomassa en Pina Colada de lichtste stekbiomassa (D) Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met letters en \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 7.4.1.2 Lengte stek

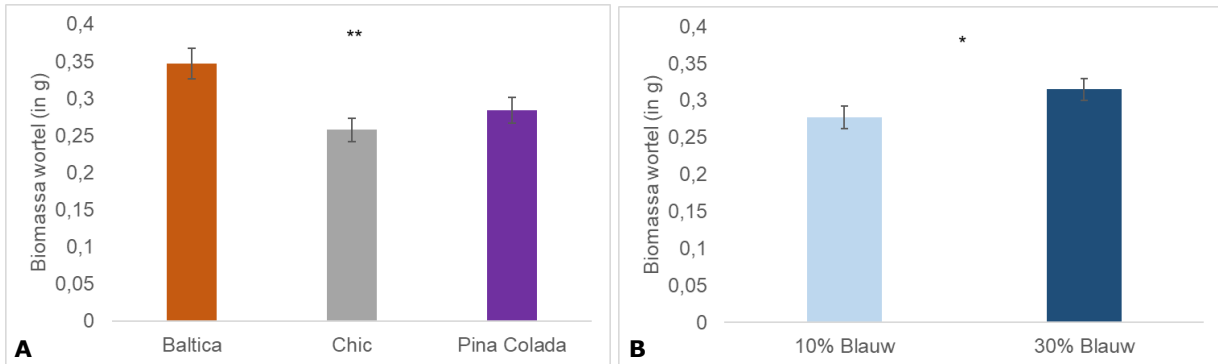
Voor de lengte van de stekken gold dat Baltica en Chic significant langer waren dan Pina Colada (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.14A. Daarnaast was er een licht significant verschil met 10% blauw langere stekken dan 30% blauwe LED verlichting (ANOVA,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 7.14B. Stekken opgekweekt in Mix A perspotten hadden een significant langere steklengte vergeleken met Mix B (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.14C. Tussen de rassen en perspotten was ook een significant verschil. Waar bij Mix B Baltica de langste stek had, gevolgd door Chic en Pina Colada met de kleinste steklengte, had bij Mix A Chic de langste steklengte gevolgd door Baltica en Pina Colada met de kleinste steklengte (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.14D.



**Figuur 7.14** Baltica en Chic hadden een significant langere steklengte dan Pina Colada (A). Stekken opgekweekt onder 10% blauw licht waren significant langer dan onder 30% blauw licht (B). Stekken in de Mix A perspot waren significant langer dan stekken in Mix B opgekweekt (C). Bij Mix A had Chic significant de langste steklengte gevolgd door Baltica en dan Pina Colada. Bij Mix B had Baltica significant de langste steklengte gevolgd door Chic en dan Pina Colada (D). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met verschillende letters en met letters en \* voor  $p \leq 0,05$  en \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

### 7.4.1.3 Biomassa wortel

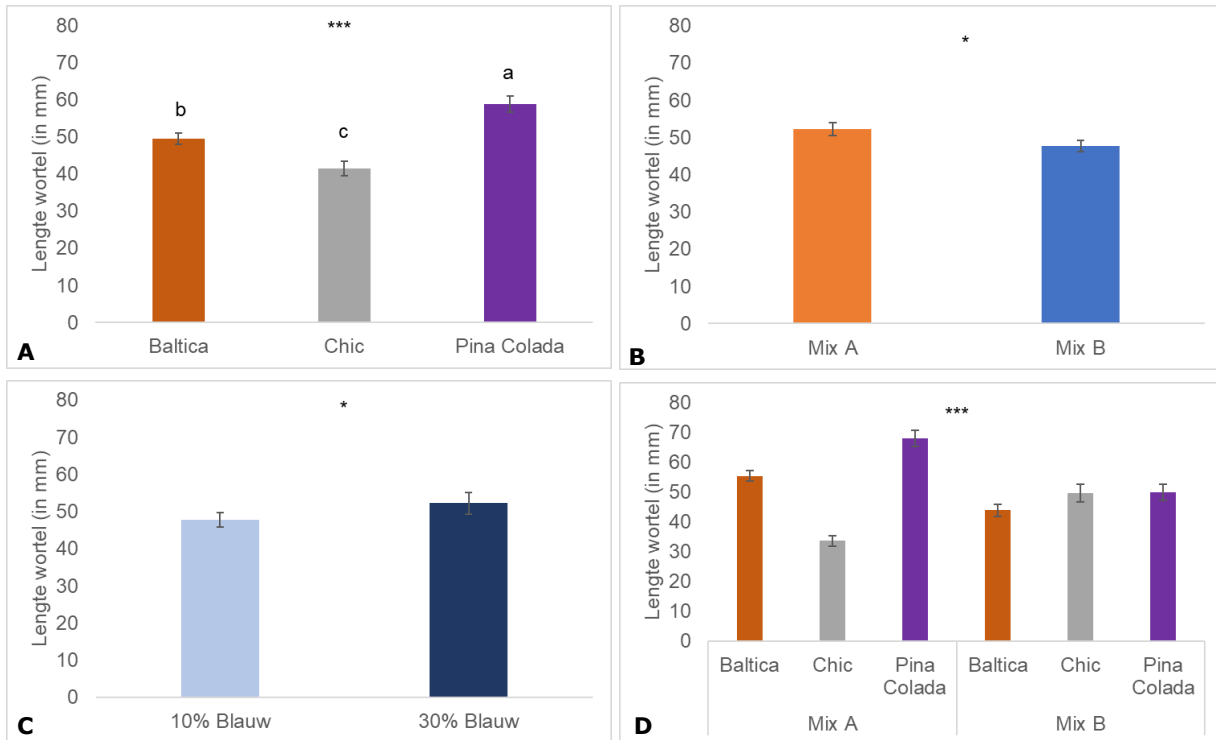
De wortelontwikkeling van de stekken onder invloed van de LED behandelingen en verschillende perspotten was ook onderzocht op biomassa en lengte. Baltica had significant de zwaarste biomassa wortels en Chic had de lichtste biomassa wortels (Kruskal-Wallis,  $p < 0,01$ ), zie Figuur 7.15A. Uit vergelijking van de LED behandeling bleek 30% blauw licht significant zwaardere wortels op te leveren (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 7.15B. Er was geen significant verschil waargenomen voor de verschillende perspotten.



**Figuur 7.15** Baltica had significant de zwaarste biomassa wortels en Chic de lichtste wortels (A). Stekken hadden een significant zwaarder wortelgewicht opgekweekt onder 30% blauw licht dan onder 10% blauw licht (B). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met \* voor  $p \leq 0,05$  en \*\* voor  $p \leq 0,01$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

#### 7.4.1.4 Wortellengte

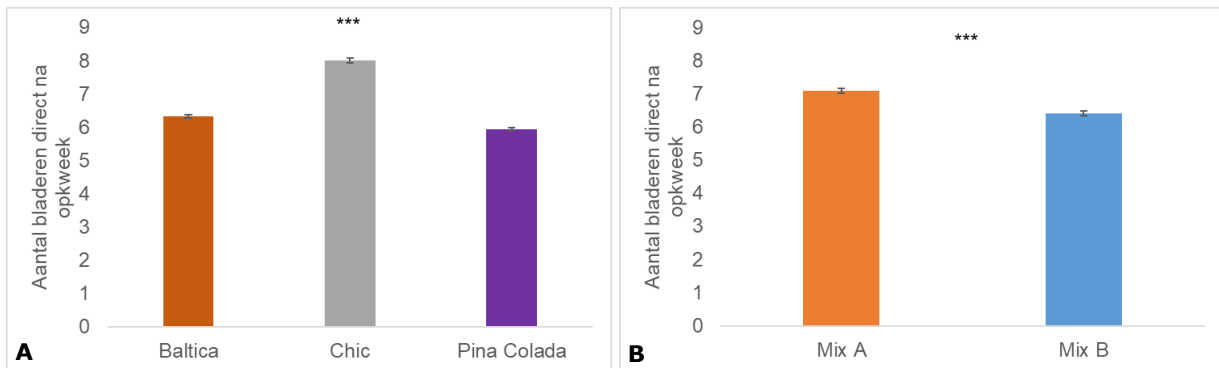
Pina Colada stekken hadden significant de langste wortels, gevolgd door Baltica en dan door Chic met de kleinste wortels (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.16A. Alhoewel er geen significant verschil was tussen de verschillende perspotten in biomassa van de wortels van de stek, bleek er wel een significant verschil te zijn in wortellengte. Stekken in Mix A hadden langere wortels dan in Mix B (ANOVA,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 7.16B. Daarnaast had de 30% blauw licht behandeling een langere wortellengte had dan 10% blauw licht (ANOVA,  $p < 0,05$ ), zie Figuur 7.16C. Tot slot was Baltica significant korter in wortellengte ten opzichte van Chic en Pina Colada bij Mix B. Bij Mix A was juist Chic significant korter en hadden Pina Colada stekken de langste wortels (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.16D.



**Figuur 7.16** Pina Colada stekken hadden significant de langste wortels en Chic de kleinste (A). Stekken hadden significant langere wortels opgekweekt in de Mix A perspot (B). 30% blauw licht had significant langere wortels dan onder 10% blauw licht (C). Bij Mix B had Baltica significant de kortste wortels; bij Mix A had Chic de kortste wortels en Pina Colada de langste wortels (D). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met letters en \* voor  $p \leq 0,05$  en \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

#### 7.4.1.5 Aantal bladeren

Bij het analyseren van het aantal bladeren aan de stekken bleek dat Chic significant meer bladeren heeft dan Baltica en Pina Colada (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.17A. Bij de perspotten bleek dat stekken opgekweekt in de Mix A perspot significant meer bladeren had (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.17B.

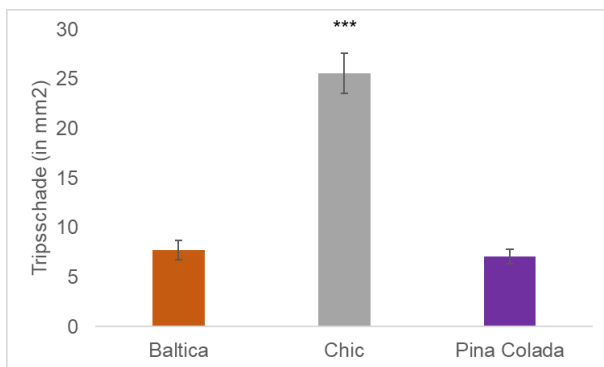


**Figuur 7.17** Chic heeft significant meer bladeren dan Baltica en Pina Colada direct na de opkweek (A). Stekken opgekweekt in Mix A hadden significant meer bladeren dan stekken uit Mix B (B). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

#### 7.4.2 Weerbaarheid chrysanten

##### 7.4.2.1 Trips

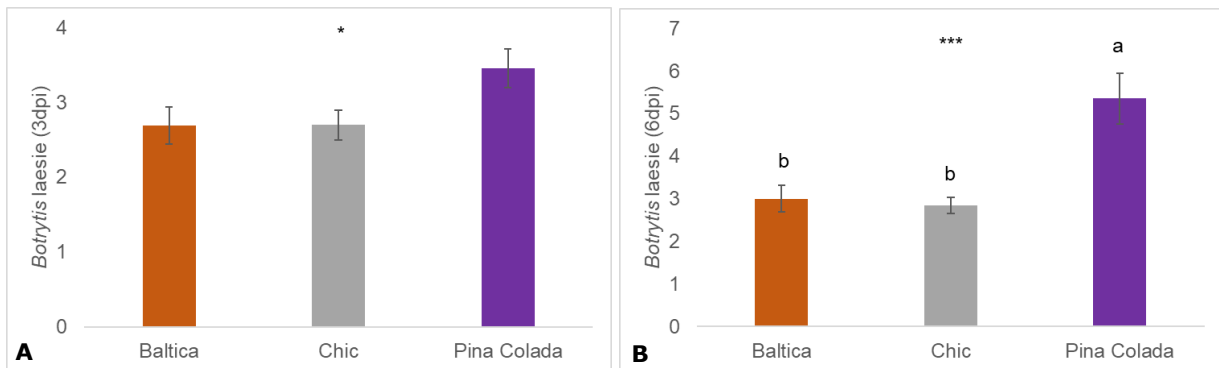
De tripsschade was laag. Vermoedelijk komt dit door de winterperiode. Chic had significant de meeste tripsschade, zie Figuur 7.18. Pina Colada had significant de minste tripsschade, nauw gevolgd door Baltica. Er was geen significant verschil in tripsschade tussen de perspotsamenstellingen en LED behandelingen.



**Figuur 7.18** Chic had significant de meeste tripsschade (in mm<sup>2</sup>); Pina Colada had de laagste hoeveelheid tripsschade. Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

#### 7.4.2.2 Botrytis

Zowel na drie als na zes dagen postinfectie bleek Pina Colada de grootste *Botrytis* laesies te hebben, zie Figuur 7.19A en 7.19B. Baltica en Chic hadden kleinere laesies. Er waren geen significante verschillen in laesies tussen de perspotsamenstellingen en LED behandelingen.



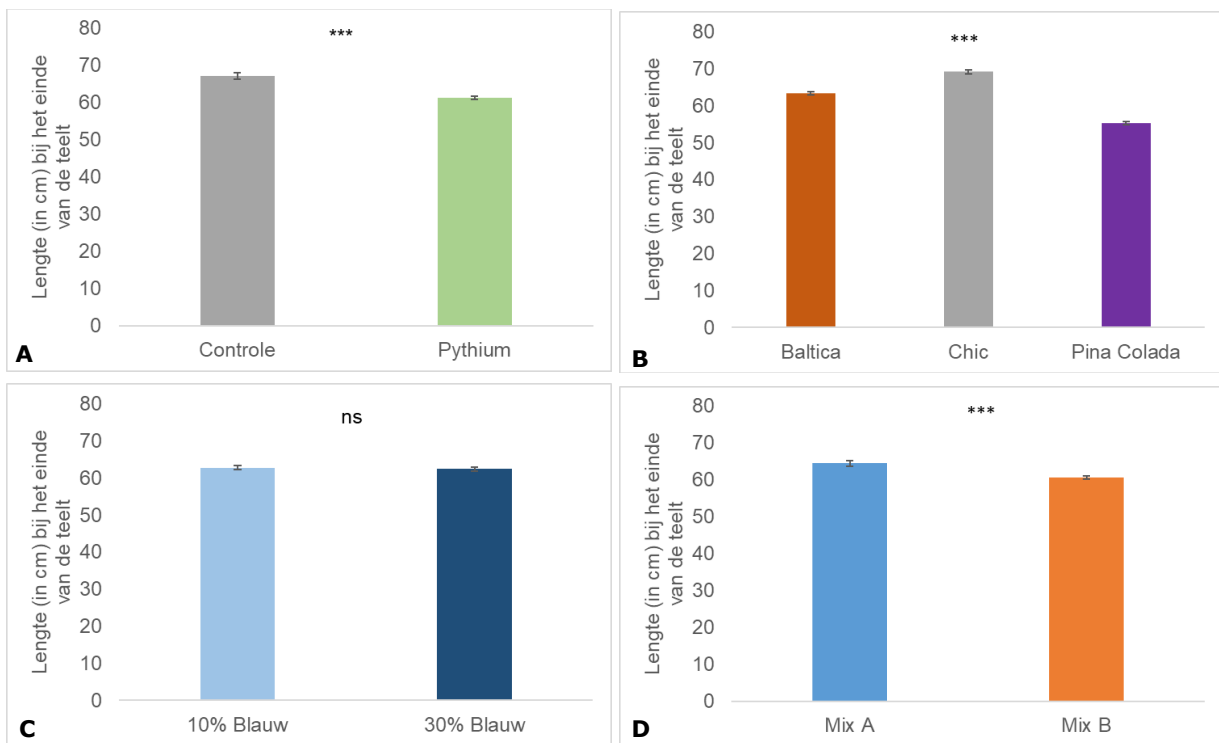
**Figuur 7.19** Pina Colada had significant de grootste *Botrytis* laesies na 3dpi (A) en 6dpi (B) (in cm). Baltica en Chic hadden de kleinste *Botrytis* laesies. dpi= dagen postinfectie. Significantie is aangetoond met verschillende letters en met \* voor  $p \leq 0,05$  en \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

#### 7.4.2.3 *Pythium* en plantontwikkeling

Aan het einde van de teelt werden de controle planten vergeleken met de *Pythium* groep. Om tekenen van *Pythium* te vergelijken tussen de groepen werd gekeken naar bladvergeling, maar ook verschillende plantontwikkeling parameters zoals lengte, biomassa en aantal gevormde bloemknoppen. Bij het beoordelen van de bladvergeling bleek maar een klein gedeelte van de *Pythium* planten daadwerkelijk bladvergeling te hebben. Van de 420 planten hadden maar 37 planten bladvergeling welke varieerden tussen scores van 10% tot 70% van het totaal aantal bladeren dat vergeeld was, ongeacht de mate van vergeling. Controle planten hadden geen bladvergeling. Bladvergeling is de ergste mate van *Pythium* symptomen. *Pythium* kan zich ook uiten in een verlaging van lengte, gewicht of vorming van bloemknoppen, zie onderstaande alinea's.

#### 7.4.2.4 Eindlengte teelt

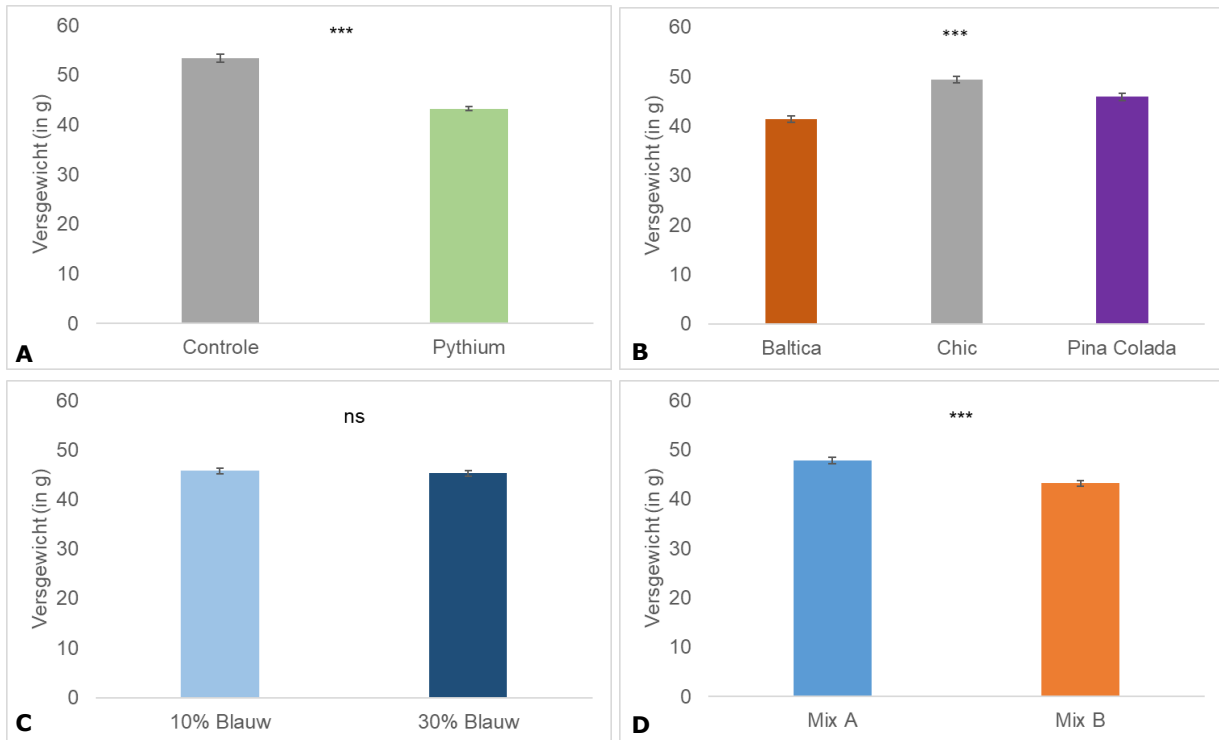
Bij het opmeten van de lengte aan het einde van de teelt bleken de planten uit de *Pythium* groep significant kleiner te zijn dan de controle groep (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.20A. Chic bleek significant de langste planten te hebben, gevolgd door Baltica en dan door Pina Colada met de kleinste planten (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.20B. Er was geen significant verschil tussen de LED behandelingen, zie Figuur 7.20C. Wel was er een significant verschil in lengte tussen de planten op basis van de perspot. Mix A resulteerde in significant langere planten dan planten die in Mix B perspotten waren opgegroeid (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.20D. Een significante interactie kon niet worden vastgesteld vanwege niet-normaal verdeelde data, maar deze leken afwezig te zijn. Tussentijds was bij vier weken teelt de lengte van de planten ook gemeten. Dezelfde trend als na 8 weken kwam hieruit naar voren.



**Figuur 7.20** Bij de eindteelt waren controle planten significant langer dan *Pythium* planten (A). Chic was significant het langste, gevolgd door Baltica en dan door Pina Colada (B). Geen significant verschil tussen de LED behandelingen op de lengte (C). Planten opgegroeid in Mix B waren significant kleiner dan planten opgegroeid in Mix A (D). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

#### 7.4.2.5 Versgewicht

Het versgewicht van de chrysanten werd aan het einde van de teelt gewogen. Hieruit bleken de *Pythium* planten significant lichter te zijn dan de controle planten (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.21A. Chic had het hoogste versgewicht, gevolgd door Pina Colada en dan door Baltica met het laagste versgewicht (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.21B. Er was geen significant verschil in versgewicht tussen de LED behandelingen (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.21C. Chrysanten stekken opgekweekt in de Mix A perspotten hadden een significant zwaarder versgewicht dan chrysanten opgekweekt in de Mix B perspotten (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.21D. Een significante interactie kon niet worden vastgesteld vanwege niet-normaal verdeelde data, maar deze leken afwezig te zijn.

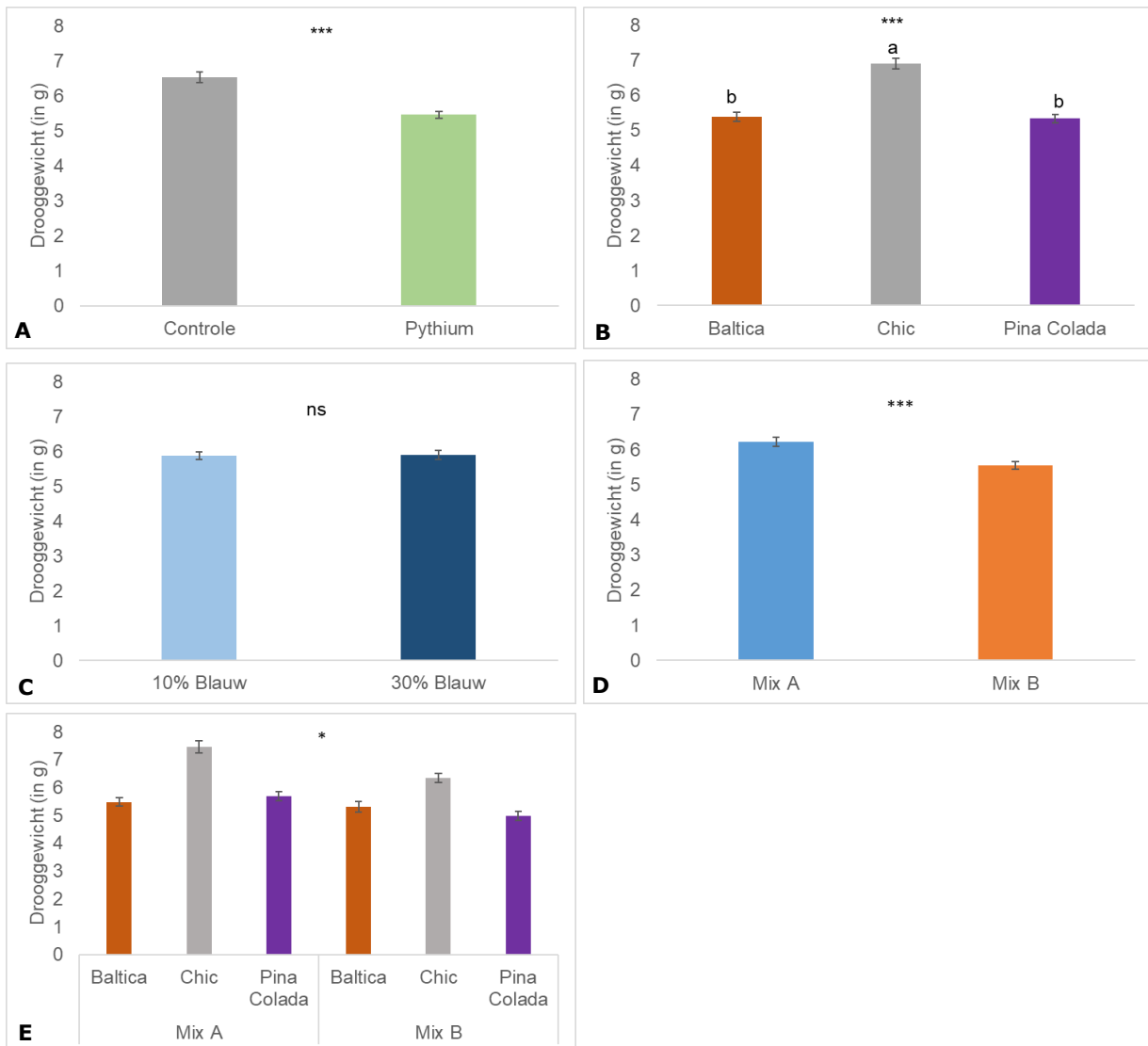


**Figuur 7.21** Controle planten waren significant zwaarder in versgewicht dan de planten behandeld met *Pythium* (A). Chic had significant het zwaarste versgewicht, gevolgd door Pina Colada en dan door Baltica (B). Geen significant verschil in LED behandelingen op versgewicht. Chrysanten stekken opgekweekt in Mix A resulteerde in een hoger versgewicht dan Mix B (D). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.



#### 7.4.2.6 Drooggewicht einde teelt

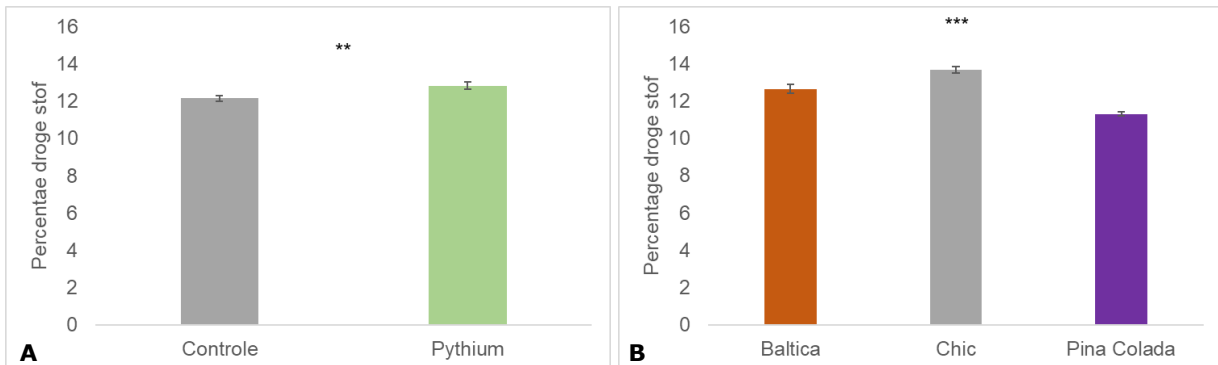
Er was een selectie van vijf planten per ziekte/ras/LED behandeling/perspot behandeling gemaakt voor het wegen van het drooggewicht. Opnieuw bleken de met *Pythium* behandelde planten te resulteren in een lichter gewicht dan de onbehandelde controle planten (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.22A. Chic had significant een zwaarder drooggewicht dan Baltica en Pina Colada (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.22B. Er was geen significant verschil op het drooggewicht tussen de LED behandelingen. De chrysanten opgekweekt in Mix A perspotten hadden een significant zwaarder drooggewicht dan chrysanten opgekweekt in de Mix B perspotten (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.22D. Er was een kleine significante interactie tussen de rassen met perspotten, maar bij beiden was Chic het zwaarst in drooggewicht. Bij Mix B was Pina Colada lager in drooggewicht dan Baltica; bij Mix A was Pina Colada zwaarder in drooggewicht dan Baltica (ANOVA,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.22E.



**Figuur 7.22** Controle planten waren significant zwaarder in drooggewicht dan de planten behandeld met *Pythium* (A). Chic was significant zwaarder in drooggewicht dan Baltica en Pina Colada (B). Geen significant verschil in LED behandelingen op drooggewicht. Chrysanten stekken opgekweekt in Mix B resulteerde in een lager drooggewicht dan Mix A (D). Bij Mix A was Chic het zwaarst in drooggewicht, gevolgd door Pina Colada en dan door Baltica; bij Mix B was Chic het zwaarst in drooggewicht, gevolgd door Baltica en dan door Pina Colada (E). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met \*\*\* voor  $p \leq 0,001$  en \* voor  $p \leq 0,05$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

#### 7.4.2.7 Percentage droge stof

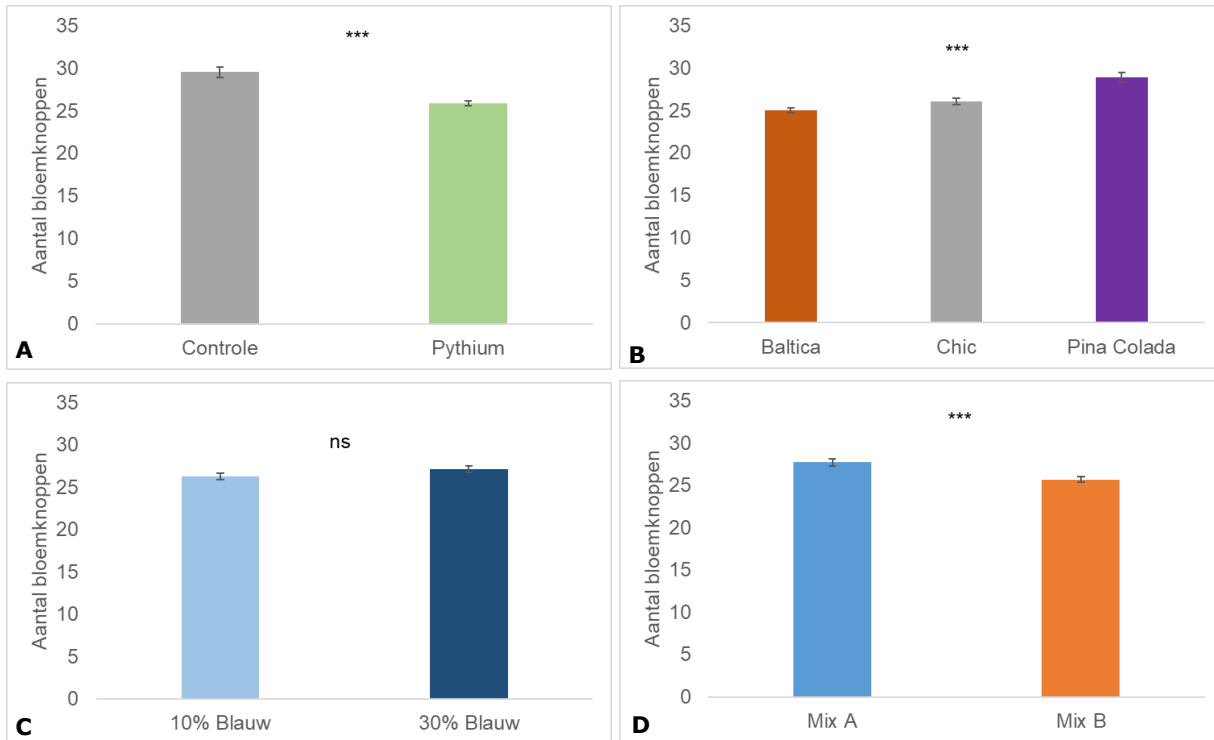
Opvallend bleek bij het berekenen van het percentage droge stof dat de met *Pythium* behandelde planten een hoger percentage droge stof hadden dan de controle planten (Kruskal-Wallis,  $p < 0,01$ ), zie Figuur 7.23A. Chic had significant de hoogste percentage droge stof, gevolgd door Baltica en dan door Pina Colada met het laagste percentage (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.23B.



**Figuur 7.23** Controle planten hadden een significant lager percentage droge stof dan de planten behandeld met *Pythium* (A). Chic had het hoogste percentage droge stof gevolgd door Baltica en dan Pina Colada met het laagste percentage (B). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met \*\* voor  $p \leq 0,01$  en \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

#### 7.4.2.8 Bloemknoppen

Tot slot was voor de plantontwikkeling het aantal gevormde bloemknoppen geteld. De met *Pythium* behandelde groep had een lagere hoeveelheid gevormde bloemknoppen dan de controle groep (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.24A. Pina Colada had van de rassen het meest gevormde bloemknoppen; Baltica had een net lagere hoeveelheid gevormde bloemknoppen dan Chic (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.24B. Er was geen effect tussen de LED behandelingen op het aantal gevormde bloemknoppen (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.24C. Tot slot bleek Mix A meer gevormde bloemknoppen te hebben dan Mix B (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ), zie Figuur 7.24D. Een significante interactie kon niet worden vastgesteld vanwege niet-normaal verdeelde data, maar deze leken afwezig te zijn.



**Figuur 7.24** Controle planten hadden significant meer gevormde bloemknoppen dan de planten behandeld met *Pythium* (A). Pina Colada had significant de meeste bloemknoppen, gevolgd door Chic en dan door Baltica (B). Geen significant verschil in LED behandelingen op aantal bloemknoppen. Chrysanten stekken opgekweekt in Mix A hadden een hoger aantal gevormde bloemknoppen dan in Mix B (D). Significantie tussen de behandelingen is aangetoond met \*\*\* voor  $p \leq 0,001$ . Data zijn gemiddelden met standaardfout.

#### 7.4.2.9 Isolatie van *Pythium* uit de planten

Omdat er weinig vergeling optrad in de met *Pythium* behandelde planten is een qPCR uitgevoerd om te kunnen bevestigen of de *Pythium* daadwerkelijk de planten was ingetrokken. DNA was geëxtraheerd uit de bodem (middels DNeasy PowerLyzer PowerSoil kit) en uit de stengels (middels de Plant Pro Kit). Ter controle werden van vijf controle planten bodemonsters en stengelmonsters genomen. Deze hadden allen, zoals verwacht, een afwezigheid van *Pythium* in de grond of stengel. Van de planten uit de *Pythium* groep waren vijf bodem- en stengelmonsters genomen van planten die daadwerkelijk bladvergeling vertoonden en vijf monsters van planten die wel *Pythium* toegediend hadden gekregen, maar geen bladvergeling vertoonden. Uit de qPCR analyse van de met *Pythium* behandelde planten bleek dat als de plant bladvergeling had, de *Pythium* in zowel bodem als plantstengel terug te vinden was. Als de plant geen bladvergeling vertoonde, dan bleek de *Pythium* zich wel in de bodem te bevinden, maar niet in de plantstengel. Het zou kunnen dat de *Pythium* nog wel de wortels was binnengedrongen, maar niet verder de plant in. Planten zonder vergeling hadden dus geen *Pythium* in de stengel.

---

## 7.5 Conclusies

Eerste uitvoering: De eerste resultaten van deze proef lijken te duiden op wisselende resultaten. Voor trips en *Botrytis* leek de samenstelling van de perspot belangrijk te zijn, maar hier zien we weinig effect van de LED behandeling. Voor nematoden werd een omgekeerd effect gezien en werd wel een positief effect van LED verlichting te zien. Voor LED zagen we bij een eerder experiment de sterkste effecten op *Pythium*. In deze afsluitende proef met *Pythium* sloeg de besmetting niet aan, waardoor er geen uitspraak gedaan kon worden over het gecombineerde effect van LED en perspotsamenstelling. Wegens de eerdere resultaten werd verwacht dat deze behandelingen veelbelovende resultaten zouden hebben voor het stoomvrij telen van chrysanten met verhoogde weerbaarheid. De proef is daardoor herhaald voor trips, *Botrytis* en *Pythium*. Tweede uitvoering: Voor zowel trips als *Botrytis* waren geen significante verschillen gevonden tussen de LED behandelingen en perspotsamenstellingen. Voor *Pythium* waren maar weinig planten die bladvergeling vertoonden, wat erop duidde dat de *Pythium* niet vaak de plantstengel was ingetrokken. We zagen wel een sterk effect op de plantontwikkeling, wat mogelijk kan bijdragen aan plantweerbaarheid. Zo bleken planten opgekweekt in de perspot Mix A te resulteren in zwaardere en langere planten dan chrysanten opgekweekt in de perspot van Mix B. Ook liep de ontwikkeling van planten in de Mix A perspot wat voorop en waren er meer bloemknoppen ontwikkeld.

- Resultaten suggereren in de eerste uitvoering wisselende effecten van de perspotsamenstellingen en LED behandelingen op weerbaarheid. LED-behandeling had weinig impact op trips en *Botrytis*, maar vertoonde een positief effect op nematoden. Voor de perspotsamenstelling was dit andersom.
- Gebrek aan *Pythium* besmetting maakte evaluatie van gecombineerd effect van LED en perspotsamenstelling op deze ziekte onmogelijk waardoor de proef werd herhaald.
- In de tweede uitvoering werden geen significante verschillen tussen LED-behandelingen en perspotsamenstellingen gevonden op trips en *Botrytis* aantasting.
- *Pythium* besmetting was laag, wat wijst op beperkte penetratie in plantstengels, maar LED behandelingen hadden wel effect op plantontwikkeling, mogelijk bijdragend aan plantweerbaarheid.
- Chrysanten opgekweekt in Mix A perspotten vertoonden zwaardere, langere planten en hadden meer bloemknoppen ontwikkeld in vergelijking met planten opgekweekt in Mix B-perspotten.

---

## 8 Discussie

Het doel van dit project was om een energiezuinige teeltstrategie te ontwikkelen door chrysanten te telen zonder gebruik te maken van stomen om ziekten en plagen in de teeltbodem te onderdrukken. Binnen dit project lag de focus op het toetsen van maatregelen tegen ziekten en plagen in de bewortelingsfase via een andere LED licht receptuur, via een andere perspotstelling of via het direct steken in de grond. Aan de ene kant zijn er indicaties dat een verhoging van het percentage blauw LED licht tijdens de bewortelingsfase de weerbaarheid tegen *Pythium* verhoogd door een verhoogde wortel lengte. Maar er is geen consistent effect dat trips of *Botrytis* of aaltjes daar ook op reageren. Het was vrij duidelijk dat direct steken in de grond een verhoging geeft van *Verticillium* infectie en daarom afgeraden wordt. Daarnaast is er indicatie dat een andere perspot samenstelling kan bijdragen aan de weerbaarheid tegen *Pythium*. De meeste getoetste maatregelen geven niet altijd een eenduidig beeld en konden in de laatste proef waarin LED beworteling en perspot samenstelling werd gecombineerd niet altijd worden herhaald.

### Implicaties resultaten voor Chrysant

De resultaten van verscheidene proeven laten zien dat blauw LED licht een potentieel positief effect heeft op beworteling van stekken door de formatie van langere wortels als ook op minder gevoeligheid tegen *Pythium*. Metabolietenanalyse toonde verhoogde niveaus van primaire en secundaire metabolieten na behandeling met blauw licht, vooral bij *Baltica*, wat de hypothese kan ondersteunen dat blauw LED-licht wortellexudaten kan veranderen en plantweerbaarheid kan beïnvloeden. Vooral de concentratie van chloroogeenzuur en afgeleide stoffen was toegenomen. Dit komt overeen met resultaten uit de literatuur, waarbij blauw LED de concentratie van chlooroogeenzuur in aardbei verhoogde (Chen et al., 2020). Chloroogeenzuur is bekend als plantafweerstof tegen insecten en schimmels in chrysant (Leiss et al. 2009) en andere gewassen (Mascellani et al. 2024). Wellicht is in onze proeven geen negatieve invloed van verhoogde chloroogeenzuur concentraties op trips gevonden zoals eerder gevonden (Leiss et al. 2009). In ons onderzoek zijn voor de trips toetsen net gewortelde stekken gebruikt, in tegenstelling tot oudere vegetatieve planten. Deze stekken hebben veel energie voor groei nodig en de eenmalige LED behandeling tijdens de beworteling zou niet toereikend kunnen zijn om tot chloroogeenzuur concentraties te komen welke wel tegen trips effectief zijn. In dit zicht zou het voor vervolg onderzoek belangrijk zijn om te kijken wat het effect van (langer) blauw LED belichting op vegetatieve en bloeiende planten in relatie tot plantenafweer zou zijn. Door de variatie tussen de resultaten waren geen duidelijk consistente verschillen in metabolieten teruggevonden tussen de behandelingen.

Helaas zijn de resultaten tussen de experimenten nog sterk wisselend. Er zijn verschillende redenen waarom ziekten in de ene proef wel aanslaan en in andere proeven niet. Dit zou te verklaren zijn door een variërende voorbehandeling van de stekken gebruikt voor de experimenten. Mogelijk waren bij sommige partijen residuen van stekpoeder of chemische gewasbescherming van de moederplant op de stekken aanwezig. Ook is het materiaal van verschillende herkomst geweest en zou dus ook de teelt van de moederplanten op verschillende locaties van invloed kunnen zijn. Het is uit eerder onderzoek aan weerbaarheid aan chrysanten stekken gebleken dat deze invloeden tot relatief grote variatie in het uitgangsmateriaal kan leiden wat meer uniforme resultaten kan bemoeilijken (Mouden et al., 2020) en mogelijk de toegevoegde ziekten bij biotoetsen kunnen remmen. De onbewortelde stekken zijn in geconditioneerde kassen beworteld en opgekweekt waardoor klimaatomstandigheden geen invloed op de resultaten kunnen hebben gehad. Wel zouden de verschillende jaargetijden tijdens de uitvoeringen van de teelten zelf, de klimaatomstandigheden hebben beïnvloed en daardoor mogelijk voor variatie in de biotoetsen hebben gezorgd.

---

De bodems die zijn bemonsterd voor de verschillende experimenten verschillen. Er zijn bodems gebruikt met een hoog zandpercentage en laag klei percentage. Daarnaast zijn er bodems gebruikt met een hoog klei percentage en laag zandpercentage. De bodems verschillen ook in organische stof gehalte van 4.9% in tot 25.2%. Het hoge organische stof gehalte in chrysanten teelt is het gevolg van het gebruik van perspotten met een hoog veen gehalte die na een teeltronde in de bodem achterblijft en wordt gemengd met de toplaag via het frezen van de bodem. Veen heeft een lage microbiële activiteit en een lage weerbaarheid tegen ziekten (Bonami et al 2007; Hoitink 1986). De verschillen in bodem karakteristieken hebben gevolgen voor de chemische en biologische eigenschappen van een bodem (e.g. Villalobos and Fereres 2017). Daarom is het essentieel om voor vervolg onderzoek dezelfde bodems te gebruiken voor proeven binnen een project of verschillende bodems mee te nemen in de proefopzet.

Verschillende perspotten met eenzelfde samenstelling hadden niet hetzelfde effect op *Pythium* infectie in de verschillende experimenten. Mogelijk dat de gebruikte composten verschillen tussen de mixen die gebruikt waren in de verschillende experimenten. Van compost is bekend dat zij de weerbaarheid tegen bodemziekten kunnen verhogen, maar dat dit afhangt van de gebruikte batch. De weerbaarheid van composten is afhankelijk van de duur van het composteerproces, het gebruikte materiaal, het composteerproces zelf (Neher et al 2022). Daarom is het nuttig als vervolgonderzoek zich richt op het vinden van indicatoren die de weerbaarheid van composten kan voorspellen dan wel het composteerproces zo kan sturen dat het de weerbaarheid verhoogt.

De verschillen in pathogeniciteit van *Pythium ultimum* wisselde tussen studies. Dit kan het gevolg zijn van residuen van gebruikte gewasbeschermingsmiddelen op de moederplanten, de verschillen tussen de experimenten qua het behandelen van stekken, de gebruikte bodems en verschillen in klimaatcondities tijdens de teelt. Maar het kan ook zijn dat de pathogeniciteit is verminderd bij het bewaren van *Pythium* isolaat onder labcondities.

---

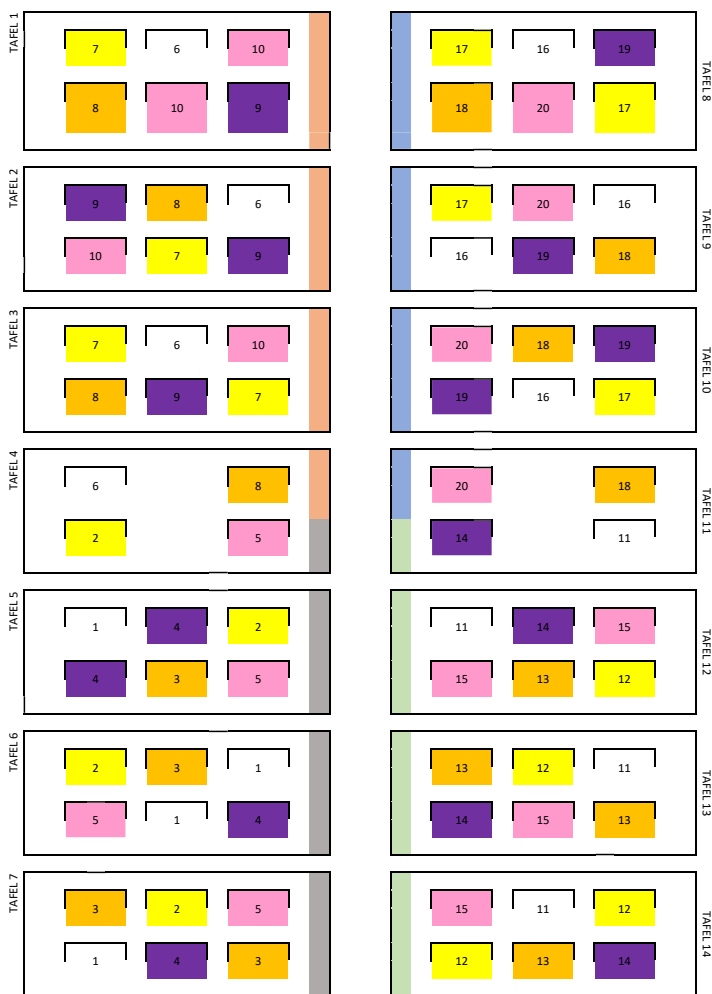
# Literatuur

- Andreo-Jimenez B, Schilder MT, Nijhuis EH, te Beest DE, Bloem J, Visser JHM, van Os G, Brolsma K, de Boer W, Postma J. 2021. Chitin- and keratin-rich soil amendments suppress *Rhizoctonia solani* disease via changes to the soil microbial community. *Appl Environ Microbiol* 87:e00318-21. <https://doi.org/10.1128/AEM.00318-21>.
- Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J Stat Softw.* 2015;67:1–48
- Blok, C., Eveleens, B., de Long, J. R., Raaphorst, M., Messelink, G., Streminska, M., Voogt, W., Kruidhof, M., Fradin, M., Leiss, K. A., & van der Salm, C. (2021). *Literatuuronderzoek chrysantenteelt zonder stomen: Kan een monocultuur in een stabiel microbiële evenwicht blijven?* (Rapport Wageningen Plant Research; No. WPR-999). Wageningen Plant Research. <https://doi.org/10.18174/538472>.
- Bonanomi, G., V. Antignani, C. Pane, and F. Scala. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. *Journal of Plant Pathology* 89, no. 3 (2007): 311–24. <http://www.jstor.org/stable/41998409>.
- Bridge, J., and Page, S. L. (1980). Estimation of Root-knot Nematode Infestation Levels on Roots Using a Rating Chart. *International journal of pest management*, 26(3), 296–298. <https://doi.org/10.1080/09670878009414416>
- Chen, X., Cai, W., Xia, J., Yu, H., Wang, Q., Pang, F., et al. (2020). Metabolomic and Transcriptomic Analyses Reveal that Blue Light Promotes Chlorogenic Acid Synthesis in Strawberry. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(4), 12485–12492. doi:10.1021/acs.jafc.0c05020.
- Dieleman, A. (2022). Strecking chrysant te sturen met "end of day" verrood licht. Link: [Strekking chrysant te sturen met "end of day" verrood licht - WUR](#)
- Escobar-Bravo, R., Nederpel, C., Naranjo, S., Kim, H. K., Rodríguez-López, M. J., Chen, G., et al. (2021). Ultraviolet radiation modulates both constitutive and inducible plant defenses against thrips but is dose and plant genotype dependent. *J. Pest Sci.* (2004). 94, 69–81. doi:10.1007/s10340-019-01166-w.
- Hoitink, H. A. J., and G. A. Kuter. 1986. Effects of composts in growth media on soilborne pathogens, p. 289-306. In Y. Chen and Y. Avnimelech (ed.), *The role of organic matter in modern agriculture*. Martinus Nijhoff, Dordrecht, The Netherlands.
- Hothorn T., F. Bretz and P. Westfall (2008). Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical Journal* 50(3), 346--363.
- Ihrmark K, Bödeker ITM, Cruz-Martinez K, Friberg H, Kubartova A, Schenck J, et al. New primers to amplify the fungal *its2* region – evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. *FEMS Microbiol Ecol.* 2012; 82 (3): 666-77.
- Ives, A.R. (2015), For testing the significance of regression coefficients, go ahead and log-transform count data. *Methods Ecol Evol*, 6: 828-835. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12386>
- Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB. lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *J Stat Softw.* 2017;82:1–26.
- Leiss, KA, Maltese F, Choi, YH, Verpoorte R, Klinkhamer PGL (2009) Identification of chlorogenic acid as a resistance factor for thrips in chrysanthemum. *Plant Physiology* 150: 1567-1575.
- Mascellani Bergo A, Leiss KA, Havlik J (2024) Twenty years of 1H NMR plant metabolomics: a way forward toward assessment of plant metabolites for constitutive and inducible defenses to biotic stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 72: 8332-8346.
- Mouden SA, Leiss KA, Uthe H, Klinkhamer PGL (2020) Water dipping of auxine coated chrysanthemum cuttings confers protection against insect herbivores. *Insects* 11, 790, <https://doi.org/10.3390/insects11110790>
- Neher, D.A., Hoitink, H. A., Biala, J., Rynk, R., and Black, G. (2022) Chapter 17 - Compost use for plant disease suppression. In: *The Composting Handbook*, edited by R. Rynk.
- Raaphorst, M.G.M. en van Tuyl van Serooskerken, A.R. (2023) *Kwantitatieve Informatie voor de Glastuinbouw 2023: Kengetallen voor groenten-, Snijbloemen-, Pot- en perkplanten teelten*. Editie 27. (Rapport Wageningen Plant Research; No. WPR-1251). Wageningen Plant Research.

- 
- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Staalduinen (2022). Sturen op compacte groei met blauw licht zou remstoffen kunnen vervangen. Zoektocht naar lichtrecepten voor compacte groei gaat door., Vakblad Onder Glas. Link: Zoektocht naar lichtrecepten voor compacte groei gaat door - Vakblad Onder Glas.
- Villalobos, F.J., Fereres, E., (2017). Principles of Agronomy for Sustainable Agriculture. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-46116-8>
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 38 - amplification and direct sequencing of fungal ribosomal rna genes for phylogenetics. Pcr protocols. San Diego: Academic Press; 1990. p. 315-22.
- Yang, Y.-X., Wang, M.-M., Ren, Y., Onac, E., Zhou, G., Peng, S., et al. (2015). Light-induced systemic resistance in tomato plants against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Plant Growth Regul. 76, 167–175. doi:10.1007/s10725-014-9986-9.

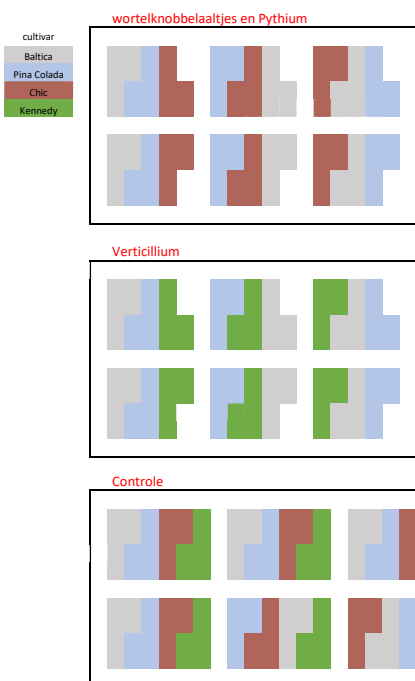


# Bijlage 1 Kasplattegrond Perspot 1



kleur	ziekte	beh nr
Controleren	geen ziekte	1-5
Verticillium		6-10
Pythium		11-15
wortelknobbelaaltjes		16-20

Behandeling nr.	Perskluut	kleur	ziekte
1	standaard	wit	controle geen ziekte
2	aangepast 1	geel	controle geen ziekte
3	aangepast 2	oranje	controle geen ziekte
4	direct steking in grond	paars	controle geen ziekte
5	direct steking in perspot	roze	controle geen ziekte
6	standaard	wit	Verticillium
7	aangepast 1	geel	Verticillium
8	aangepast 2	oranje	Verticillium
9	direct steking in grond	paars	Verticillium
10	direct steking in perspot	roze	Verticillium
11	standaard	wit	Pythium
12	aangepast 1	geel	Pythium
13	aangepast 2	oranje	Pythium
14	direct steking in grond	paars	Pythium
15	direct steking in perspot	roze	Pythium
16	standaard	wit	wortelknobbelaaltjes
17	aangepast 1	geel	wortelknobbelaaltjes
18	aangepast 2	oranje	wortelknobbelaaltjes
19	direct steking in grond	paars	wortelknobbelaaltjes
20	direct steking in perspot	roze	wortelknobbelaaltjes



## Bijlage 2 Wortelknobbel index (WKI)



0. Geen knobfels.



1. Weinig & kleine knobfeltjes, moeilijk te vinden



2. Alleen kleine knobfeltjes; duidelijk zichtbaar. De hoofdwortels zijn schoon.



3. Een paar grotere knobfels zichtbaar. De hoofdwortels zijn schoon.



4. Overwegend grotere knobfels zichtbaar. De hoofdwortels zijn schoon.



5. Knobfels op 25% van de wortels. Een gedeelte van de hoofdwortels heeft knobfels. Het wortelstelsel is verkleind.



6. Knobfels op 50% van de wortels. Een groot gedeelte van de hoofdwortels heeft knobfels.



7. Knobfels op 75% van de wortels. Het grootste gedeelte van de hoofdwortels heeft knobfels.



8. Knobfels op 90% van de wortels. Alle hoofdwortels hebben knobfels. Weinig schone wortels zichtbaar.



9. Knobfels op 100% van de wortels. De plant is aan het afsterven.

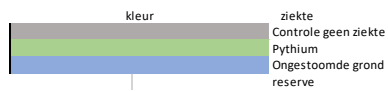
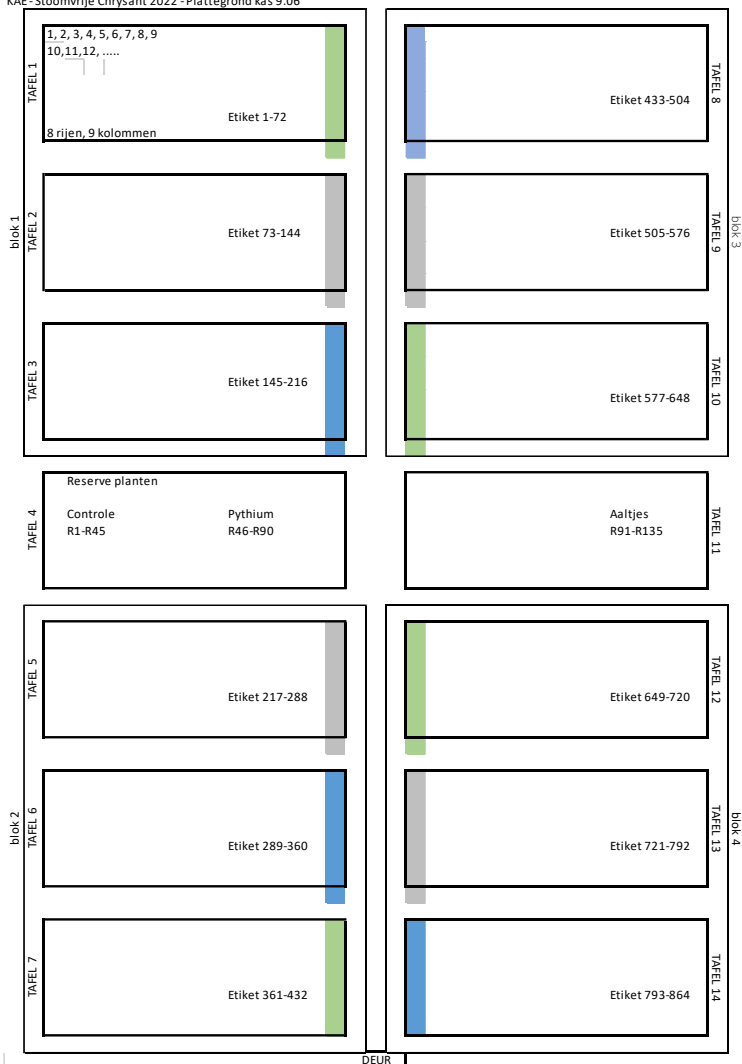


10. Alle wortels hebben knobfels. Er is nauwelijks een wortelstelsel meer. De plant is dood.

**Bron:** W. Cuijpers, L. Jaanmaat (2012) *Biowisselkaas: bredere vruchtwisseling voor gezonde bodem.*

# Bijlage 3 Kasplattegrond Perspot 2

KAE-Stoomvrije Chrysant 2022 - Plattegrond kas 9.06



Behandeling nr.	Perskult	kleur	ziekte
1	Klasmann	wit	controle geen ziekte
2	Deliflor standaard	oranje	controle geen ziekte
3	BVB Kekkila mix 2	roze	controle geen ziekte
4	Klasmann	wit	Pythium
5	Deliflor standaard	oranje	Pythium
6	BVB Kekkila mix 2	roze	Pythium
7	Klasmann	wit	Ongestoomd
8	Deliflor standaard	oranje	Ongestoomd
9	BVB Kekkila mix 2	roze	Ongestoomd







To explore  
the potential  
of nature to  
improve the  
quality of life



Wageningen University & Research,  
BU Glastuinbouw  
Postbus 20  
2665 ZG Bleiswijk  
Violierenweg 1  
2665 MV Bleiswijk  
T +31 (0)317 48 56 06  
[www.wur.nl/glastuinbouw](http://www.wur.nl/glastuinbouw)

Rapport WPR-1347

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 7.700 medewerkers (7.000 fte), 2.500 PhD- en EngD-kandidaten, 13.100 studenten en ruim 150.000 Leven Lang Leren-deelnemers behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.