



# Green Challenges: Plant en bodemweerbaarheid tegen ondergrondse ziekten

Marta Streminska, Suzanne Breeuwsma, Huei Ming Huisman, Ric de Vos, Henriette van Eekelen, Luc Stevens en Caroline van der Salm

Rapport WPR-943

## Referaat

Zowel grondgebonden als substraatteelten onder glas zijn gevoelig voor de verschillende ondergrondse ziekten, zoals voet- en wortelrot en verwelking, veroorzaakt door o.a. *Fusarium* en *Pythium*. Het project Green Challenges heeft als doel om het gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen te reduceren, en nieuwe beheersmaatregelen te ontwikkelen via een systeemaanpak. In dit project werd onderzocht met welke maatregelen kan de bodem- en plantweerbaarheid tegen ondergrondse ziekten (*Fusarium* en *Pythium*) bevorderd worden in grondgebonden (lisanthus) en substraatteelt (tomaat en komkommer).

## Abstract

Crops in soil-based and soilless greenhouse cultivation systems are susceptible to various soilborne diseases, such as foot and root rot and wilting, caused by pathogens as *Fusarium* and *Pythium*. The Green Challenges project aims to reduce the use of chemical plant protection products and to develop new measures and strategies for disease and pest control through a system approach. This project investigated which measures can be taken to promote soil disease suppression and induced plant resistance against soilborne pathogens (*Fusarium* and *Pythium*) in different horticultural crops: vegetable crops (tomato and cucumber) and ornamental crop (lisanthus).

## Rapportgegevens

Rapport WPR-943

Projectnummer: 3742201103

DOI nummer: 10.18174/522048

Thema: Gewasbescherming

## Disclaimer

© 2020 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 veelevoudigd, 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

# Inhoud

<b>1</b>	<b>Samenvatting</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Inleiding</b>	<b>7</b>
2.1	Plantweerbaarheid	7
2.1.1	Geïnduceerde resistentie	7
2.1.2	Weerbaarheid vergroten	8
2.1.3	Weerbaarheid meten	8
2.2	Bodem- en substraatweerbaarheid	8
2.2.1	Mechanismen van bodemweerbaarheid	9
2.2.2	Bodemweerbaarheid meten	9
<b>3</b>	<b>Materialen &amp; methoden</b>	<b>11</b>
3.1	Plantpathogenen en voorproeven	11
3.2	Kasproef met biologische bestrijding van <i>Fusarium</i> in lisianthus en tomaat	11
3.3	Kasproef met biologische bestrijding van <i>Pythium</i> in komkommer	15
<b>4</b>	<b>Resultaten</b>	<b>17</b>
4.1	Tomaat	17
4.1.1	Tomaat (steenwol substraat)	17
4.1.1.1	Plantengroei	17
4.1.1.2	Ziekteontwikkeling	18
4.1.2	Tomaat (kokos substraat)	18
4.1.2.1	Plantengroei	18
4.1.2.2	Ziekteontwikkeling	19
4.1.3	Analyse van nutriënten in plantsap en droge stof van tomaat	20
4.1.3.1	Tomaat (steenwol)	20
4.1.3.2	Tomaat (kokos)	23
4.2	Lisianthus	26
4.2.1	Plantengroei	26
4.2.2	Ziekteontwikkeling in Lisianthus	28
4.2.3	Analyse van nutriënten in substraat, plantsap en droge stof	29
4.2.4	Analyse van metabolieten in lisianthus	33
4.2.5	Analyse van glucanase activiteit in lisianthus bladeren	35
4.3	Komkommer	36

<b>5</b>	<b>Discussie en conclusies</b>	<b>39</b>
<b>6</b>	<b>Literatuur</b>	<b>41</b>
	<b>Bijlage 1 Plattegrond kasproef lisianthus en tomaat</b>	<b>43</b>
	<b>Bijlage 2 Productinformatie proef lisianthus en tomaat</b>	<b>45</b>
	<b>Bijlage 3 Plattegrond kasproef komkommer</b>	<b>47</b>
	<b>Bijlage 4 Productinformatie proef komkommer</b>	<b>49</b>
	<b>Bijlage 5 Foto's van de proeven</b>	<b>51</b>
	<b>Bijlage 6 Substraat analyse lisianthus</b>	<b>55</b>
	<b>Bijlage 7 Plantsapanalyse micro-elementen en fosfor (P) in tomaat</b>	<b>59</b>

# 1 Samenvatting

Planten worden tijdens de teelt regelmatig blootgesteld aan stressfactoren waarbij ze een verhoogd risico lopen op infecties door ondergrondse ziekten. Het project Green Challenge heeft als doel om het gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen te reduceren en nieuwe beheersmaatregelen voor ondergrondse plantpathogenen te ontwikkelen via een systeemaanpak. In dit onderdeel werd onderzocht hoe de bodem- en plantweerbaarheid tegen ondergrondse ziekten bevorderd kan worden.

Tijdens dit onderzoek zijn een aantal maatregelen/middelen onderzocht op hun potentie voor inductie van natuurlijke plantweerbaarheid en/of bevordering van substraatweerbaarheid tegen ondergrondse ziekten. Hierbij werd gekeken naar het effect van deze maatregelen op ontwikkeling van: a) de verwelkingsziekte, veroorzaakt door plantpathogene *Fusarium* schimmels, in lisianthus en tomaat onder kasomstandigheden (kas 144m<sup>2</sup>, met 24 tafels) en b) *Pythium* infectie in komkommer (kas 90m<sup>2</sup>, met goten).

In de teelt van lisianthus (in potgrond) zijn de effecten van verschillende behandelingen op verwelkingsziekte, veroorzaakt door *Fusarium oxysporum*, vergeleken. Er zijn drie toevoegingen aan groeisubstraat toegepast, twee producten op basis van micro-organismen en twee producten die plantweerbaarheid kunnen induceren. Uit de proef bleek dat twee van de geteste behandelingen een significant effect hebben op ontwikkeling van verwelkingssymptomen. Bijmengen van champost (10% v/v) in groeisubstraat heeft geresulteerd in meer dan 60% reductie van *Fusarium* infectie. Terwijl toepassing van *Bacillus subtilis* QST713 leidde tot een 40% reductie van *Fusarium* infectie in lisianthus op het moment van beoordelen, acht weken na het planten, die gelijk is aan einde teelt in het praktijk. Champost toepassing had geen nadelige effecten op Lisianthus groei (tijdens 8 weken teelt), ongeacht de verhoging van EC en gehalten van een aantal macroelementen in het substraat.

De proef met tomaat is uitgevoerd op twee substraten (steenwol en kokos) met zes behandelingen in elk substraat. In het steenwol substraat zijn er vier behandelingen met micro-organismen en twee behandelingen met plantweerbaarheid verhogende producten toegepast. In kokos substraat zijn drie behandelingen op basis van micro-organismen, één toevoeging aan het substraat en twee behandelingen met plantweerbaarheid verhogende producten getest. In tomaten teelt (op kokos) bleek toepassing van *Bacillus subtilis* QST713 significant effect te hebben op infectie van *Fusarium*. Planten die behandeld waren met dit product hadden een significant lagere ziekte index dan planten zonder behandeling.

In de biotoets met komkommer zijn verschillende behandelingen, vier biocontrole micro-organismen, één substraatbehandeling en drie plantweerbaarheid verhogende producten, beoordeeld op de effectiviteit als preventieve behandeling tegen ontwikkeling van *Pythium* aantasting. In die proef zijn twee behandelingen (kaliummetasilicaat) en *Trichoderma asperellum* T34 effectief geweest tegen *Pythium* aantasting in komkommer.





## 2 Inleiding

Zowel grondgebonden als substraatteelten onder glas zijn gevoelig voor de verschillende ondergrondse ziekten, zoals voet- en wortelrot en verwelking, die veroorzaakt worden door o.a. *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Pythium* en *Phytophthora*. Deze ondergrondse ziekten kunnen leiden tot grote uitval tijdens de teelt (Katan, 2017).

Het project Green Challenge heeft als doel om het gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen te reduceren, en nieuwe beheersmaatregelen te ontwikkelen via een systeemaanpak. In deze aanpak onderzoeken we hoe we de bodem- en plantweerbaarheid kunnen meten en bevorderen.

### 2.1 Plantweerbaarheid

Door het wegvallen van steeds meer chemische middelen en maatschappelijke druk op duurzaamheid speelt het vermogen van de plant om zich te verweren tegen ziekten en plagen (plantweerbaarheid) een steeds belangrijkere rol in een duurzame gewasbescherming. Het is één van Green Challenges om de plantweerbaarheid optimaal te kunnen inzetten als verdedigingsmechanisme tijdens de teelt als onderdeel van Integrated Pest Management (IPM).

De plantweerbaarheid wordt bepaald door verdedigingsbarrières waarvan 1) de expressie permanent actief is (constitutieve resistentie, vaak genetisch bepaald en typisch voor het gewas), zoals de vorming van klierhaartjes en schors, en 2) verdedigingsvormen die tijdelijk geactiveerd worden in reactie op een belager of alarmstof (geïnduceerde/verkrege resistentie). Vooral deze laatste staat onder invloed van omgevingscondities (o.a. licht, watervoorziening, nutriënten, bodemecosysteem). Geïnduceerde resistentie kan tijdens de teelt bijgestuurd worden.

#### 2.1.1 Geïnduceerde resistentie

Nadat de plant het gevaar opmerkt (receptoren herkennen de moleculaire structuur van alarmerende stoffen), wordt in de plant een signaal doorgegeven dat uiteindelijk de desbetreffende weerbaarheidsmachinerie in de gehele plant gecontroleerd in werking stelt. Diverse stoffen vormen onderdeel van deze signaaltransductieketens, waaronder bekende weerbaarheidshormonen als salicylzuur, jasmonzuur en ethyleen. Het in werking stellen van de weerbaarheidsmachinerie komt neer op het tot expressie brengen van de relevante genetische informatie in de vorm van eiwitten die zelf effectief tegen de belager zijn of op hun beurt kunnen zorgen voor de aanmaak van allerlei effectormoleculen (zoals bijvoorbeeld gifstoffen).

Productie van eiwitten en effectormoleculen kost energie en leidt dus tot enig opbrengstverlies ('cost of tolerance'). Aantrekkelijk in dit opzicht is daarom het fenomeen priming, waarbij de plant door een alarmsignaal 'slechts' in parate staat wordt gebracht, om pas versneld en verhoogd tot productie van het wapentuig overgaat wanneer de belager zich daadwerkelijk aandient.

Op basis van de in de literatuur beschikbare kennis kunnen verschillende vormen van geïnduceerde/verkrege resistentie onderscheiden worden:

- Systemic Acquired Resistance (SAR): door het hormoon salicylzuur (SA) gecontroleerd weerbaarheidssysteem dat na locale infectie of toediening van specifieke signaalstoffen ('elicitors') in de gehele plant aangeschakeld wordt, en met name geassocieerd wordt met bescherming tegen pathogene bacteriën, biotrofe schimmels (groeien op levende cellen), en virussen. Kenmerkend bij deze resistentievorm is de expressie van zogenoemde PR-eiwitten (pathogene gerelateerde eiwitten, zoals glucanases en chitinases).
- Induced Systemic Resistance (ISR): door het hormoon jasmonzuur (JA) gecontroleerd weerbaarheidssysteem dat in verhoogde staat van paraatheid gebracht wordt ('priming') door goedaardig microbiom (met name bodemgebonden bacteriën) zodat de plant sneller en heviger kan reageren op belagers.

### 2.1.2 Weerbaarheid vergroten

De plant kan door elicitors in verhoogde staat van paraatheid gebracht worden. Dat betekent dat de plant in een dergelijke gealarmeerde staat veel sneller en sterker met een afweerreactie zal reageren wanneer deze wordt aangevallen door een belager. Het toedienen van elicitors om plant in verhoogde staat van paraatheid te brengen noemen we priming.

De weerbaarheid van een plant kan in principe verhoogd worden door priming, dus door het toedienen van een elicitor. Pas als de afweerreactie wordt geïnduceerd, door aantasting van een belager (of als in plaats daarvan SA wordt toegediend, soms mogelijk bij SAR) worden de afweereiwitten geproduceerd. Hoe sneller en hoe meer afweereiwitten worden geproduceerd, hoe weerbaarder de plant.

Daarnaast kan de natuurlijke weerbaarheid van de plant verhoogd worden door stoffen die de plant opneemt. Silicium is een voorbeeld; het hoopt op in de celwanden, waardoor harde lagen ontstaan en een fysieke barrière vormen voor infectie door schimmelpathogenen

### 2.1.3 Weerbaarheid meten

Het meten van plantweerbaarheid is niet eenvoudig aangezien de merkers voor weerbaarheid vaak pas meetbaar zijn als de plant door de belager aangevallen wordt. De volgende merkers kunnen gebruikt worden om te bepalen of plantweerbaarheid is geïnduceerd: (a) de interne signaalstoffen, zoals de relevante hormonen en transcriptiefactoren, (b) de expressie-niveaus van de RNA-moleculen die coderen voor de betrokken eiwitten, (c) de betrokken eiwitten zelf, (d) de effectormoleculen, en (e) de mate van aantasting door de belager. Specifieke merkers voor weerbaarheid in verschillende gewassen met verschillende ziektes zijn vaak nog onbekend. Naast deze hormonen is het goed om met zogenaamde "metaboliet-profilering", ook wel untargeted metabolomics genoemd, te kijken naar een zo breed mogelijk scala aan secundaire plantenstoffen, inclusief phytoalexines en andere natuurlijke afweerstoffen in de plant. Hierbij wordt op een uitgebreide en diepgrondige manier gekeken naar de specifieke effecten van verschillende plantbehandelingen, zoals controle met en zonder priming en voor en na infectie, op het metabolietprofiel van de planten. Op deze manier kan bepaald worden welke secundaire metabolieten het sterkst worden beïnvloed door de behandeling, of welke metabolieten gerelateerd zijn aan de mate van priming of aantasting door de belager. Deze metabolieten kunnen daardoor mogelijk als merkers dienen voor mate van weerbaarheid in toekomstige experimenten. Het gebruik van expressie-niveaus van genen als merkers voor plantweerbaarheid is ook mogelijk, en wordt al onderzocht in een ander project (cv100 Weerbare Plant).

## 2.2 Bodem- en substraatweerbaarheid

Biotische factoren, in de bodem of in het substraat, leveren een belangrijke bijdrage aan bodemweerbaarheid. Deze bijdrage is in de meeste gevallen gerelateerd aan het microbiële leven dat aanwezig is. Nutriënten in de bodem kunnen direct of indirect van invloed zijn op de weerbaarheid van het gewas tegen verschillende ziekteverwekkers. De kwaliteit en de hoeveelheid van organische stof in de bodem is zeer bepalend voor de samenstelling van het microbiële bodemleven en daarmee ook de weerbaarheid die als gevolg hiervan verkregen wordt. Door organische toevoegingen, bijvoorbeeld in de vorm van compost of compostthee, is de samenstelling van het microbiële bodemleven stuurbaar. Los van deze toevoegingen heeft het substraattype ook een belangrijk effect op de samenstelling van het microbiële bodemleven. Kokos is in het algemeen rijk aan bacteriën, schimmels en protozoën, terwijl in steenwol vooral bacteriën aanwezig zijn en schimmels en protozoën in aantallen achterblijven. Het substraattype is bepalend voor de samenstelling van het micro-leven en het lijkt daarom waarschijnlijk dat niet alle substraattypen dezelfde potentie hebben qua weerbaarheid (van der Wurff *et al.* 2011).



### 2.2.1 Mechanismen van bodemweerbaarheid

Mechanismen van bodemweerbaarheid zijn vooral onderzocht in de vollegrond, maar vergelijkbare mechanismen kunnen ook optreden in potgrond, steenwol en andere substraten. Hieronder staan de belangrijkste mechanismen die een rol kunnen spelen in bodem- en substraatweerbaarheid en hoe die beïnvloed kunnen worden:

1. Directe ziekte-onderdrukking door het toevoegen van antagonistische bacteriën en/of schimmels. Deze micro-organismen produceren enzymen, toxische vluchtige stoffen of antibiotica die de groei van pathogenen kunnen onderdrukken (Raaijmakers *et al.* 2009; Kavroulakis *et al.* 2010; Adam *et al.* 2014; Bubici, 2018; Fira *et al.* 2018; Panth *et al.* 2020). Het is echter soms een uitdaging om deze bacteriën in een nieuw substraat te laten koloniseren (Gómez Expósito *et al.* 2017). Competitie tussen de toegevoegde bacteriën en de al aanwezige microbiële gemeenschappen voor voeding en ruimte kan het kolonisatieproces en de activiteit van het biocontrole inoculum tegenwerken (Poedel *et al.* 2016). Middelen gebaseerd op biocontrole microorganismen maken gebruik van specifieke stammen van o.a: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Trichoderma* en *Clonostachys* (van Lenteren *et al.* 2018).
2. Verhogen van de competitie tussen bacteriën en schimmels in de rhizosfeer (omgeving rond de plantenwortels) door toevoeging van organische materialen zoals champost, composten of compostthee (Hoitink, 1997; Montanari *et al.* 2004; Bonanomi *et al.* 2007; Antoniou *et al.* 2017). Groei van bacteriën met antischimmel eigenschappen, zoals productie van chitinase, kan toenemen door het verhoging van de groei van saprotrofe schimmels (schimmels die dood organisch materiaal afbreken) (de Boer, 2017). De neveneffect van deze interacties is dat de groei van schimmelpathogenen afneemt. Het voordeel van dit mechanisme is dat de al aanwezige micro-organismen gestimuleerd worden, en we niet afhankelijk zijn van microbiële inocula.
3. Verhogen van de natuurlijke weerbaarheid van de plant. Systemisch verworven resistentie eng. Systemic Acquired Resistance (SAR) en geïnduceerde systemisch resistentie eng. Induced Systemic Resistance (ISR) kunnen geïnduceerd worden door niet-pathogene micro-organismen, zoals *Pseudomonas fluorescens* en *Trichoderma*, maar ook door stoffen die de planten opnemen (silicium) of stoffen die op het blad gespoten worden (bijvoorbeeld chitosan hydrochloride) (Pieterse *et al.* 2014; Burketova *et al.* 2015).

### 2.2.2 Bodemweerbaarheid meten

Bodemweerbaarheid wordt vaak bepaald aan de hand van de ziekteontwikkeling van bepaalde bodemziekten op gewassen in verschillende type bodems (biotoetsen). Bij deze benadering is het dus niet duidelijk welk mechanisme verantwoordelijk is voor de ziekte-onderdrukking. Totale microbiële activiteit en schimmelbiomassa metingen kunnen wel gerelateerd worden aan de ziektescores, om zo te bepalen of daar een verband is (algemene competitie tussen micro-organismen). Directe ziekte-onderdrukking kan eventueel op plaat getest worden, waarbij de ziekteverwekker tegen de antagonist getest wordt, maar dat is geen garantie dat het in de bodem net zo werkt. Door microbiële interacties in de bodem, kunnen sommige interacties omslaan van negatief naar positief of neutraal, en vice versa (Tyc *et al.* 2014).



## 3 Materialen & methoden

### 3.1 Plantpathogenen en voorproeven

Verschillende plantpathogene schimmels en oömyceten zijn geïsoleerd uit ziek plantmateriaal van Nederlandse glastuinbouwbedrijven of verkregen uit schimmelcollectie van Westerdijk Instituut in Utrecht. Er zijn verschillende voorproeven uitgevoerd om vast te stellen of de pathogenen planten kunnen infecteren en gebruikt kunnen worden in grotere biotoetsen met biologische bestrijding van ondergrondse ziekten. Er zijn voorproeven uitgevoerd met: *Phytophthora infestans* in tomaat (cv Snacker), *Phytophthora nicotianae* in Kalanchoë (cv Shadow), *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in tomaat (cv Snacker en cv Moneymaker), *Fusarium solani* in tomaat (cv Snacker en cv Swettelle) en *Fusarium oxysporum* f.sp. *eustomae* in lisianthus (cv Arena Champagne). Op basis van resultaten is er gekozen om de biotoetsen in de kas te uitvoeren met *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in tomaat (cv Moneymaker), *Fusarium oxysporum* f.sp. *eustomae* in lisianthus (cv Arena Champagne) en *Pythium aphanidermatum* in komkommer (cv Proloog eerste teelt en cv Hi-Power in tweede teelt).

### 3.2 Kasproef met biologische bestrijding van *Fusarium* in lisianthus en tomaat

De Kasproef is uitgevoerd in januari t/m april 2018 in 144m<sup>2</sup> kas met 24 tafels, elk met een afzonderlijk watergeefstelsel, bij Wageningen University & Research (WUR) Glastuinbouw in Bleiswijk. De plattegrond van de kas is weergegeven in Bijlage 1. Kasruimte is verdeeld in tweeën en 12 tafels zijn gebruikt voor de teelt van tomaat (duur: 9 weken; in steenwol of potgrondsubstraat) en 12 voor de teelt van lisianthus (duur: 8 weken; in potgrond).

Tomaat (*Solanum lycopersicum*) cv 'Moneymaker' werd gebruikt in de proef. In totaal zijn er 28 behandelingen aangelegd voor tomaat in een gerandomiseerde blokkenproef (met zes herhalingen; drie planten per herhaling) (Tabel 1). Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) cv 'Arena Champagne' werd gebruikt in de proef. In totaal zijn 16 behandelingen aangelegd voor lisianthus in een gerandomiseerde blokkenproef (met zes herhalingen vijf planten per herhaling) (Tabel 2).

Planten zijn gepot in 800mL potten (Æ 12 cm) gevuld met het groeimedium. In het geval van tomaat was dat kokospotgrond of steenwolblokjes. Lisianthus planten werden geteeld in potgrond mix. Elke pot is geplaatst in een plastic container om contaminatie tussen verschillende behandelingen te voorkomen. Plantenvoeding werd gegeven via druppelsysteem.

Middelen zijn toegediend bij oppotten (champost; schimmeldominante mulch, houtkweekfractie+ *Trichoderma afroharzianum* T22) of direct na het planten (overige behandelingen). Informatie over de producten zoals de werking, toepassingstechniek en dosering, staat weergegeven in Bijlage 2.

Plantpathogene isolaten van *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (pathogeen van tomaat) en *Fusarium oxysporum* f.sp. *eustomae* (pathogeen van lisianthus) zijn opgekweekt in vloeibare Czapek Dox medium. Vervolgens zijn sporen geoogst en toegevoegd aan het groeisubstraat in de potten. De toevoeging van *Fusarium* sporen aan groeisubstraat in de kas heeft twee weken na het planten plaatsgevonden. Eindconcentratie *Fusarium* sporen in substraat was 10<sup>6</sup>/mL substraat.

Planten zijn wekelijks beoordeeld op ontwikkeling van symptomen van *Fusarium* infectie (verwelking en of vergeling). Ziektescore index van 0 t/m 5 is gebruikt tijdens scores van symptomen van *Fusarium* infectie in lisianthus (Figuur 1).



**Figuur 1** Ziekte index voor beoordeling van *Fusarium* infectie in *Lisianthus*. 0-gezonden plant; 1-lichte verwelking van de onderste bladeren; 2,3 en 4 verschillende mate van verwelking; 5-dode plant)

Tabel 1

Overzicht van de behandelingen in tomaat.

Behandeling nr.	Gewas	Pathogeen	Substraat	Middel
1	tomaat	Geen	Steenwol	geen
2	tomaat	Geen	Steenwol	compostthee
3	tomaat	Geen	Steenwol	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> QST713
4	tomaat	Geen	Steenwol	<i>Trichoderma asperellum</i> T34
5	tomaat	Geen	Steenwol	orthokieselzuur
6	tomaat	Geen	Steenwol	<i>P. fluorescens</i> WCS417
7	tomaat	Geen	Steenwol	COS-OGA
8	tomaat	Geen	Kokos potgrond	geen
9	tomaat	Geen	Kokos potgrond	schimmeldominante mulch
10	tomaat	Geen	Kokos potgrond	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> QST713
11	tomaat	Geen	Kokos potgrond	<i>Trichoderma asperellum</i> T34
12	tomaat	Geen	Kokos potgrond	orthokieselzuur
13	tomaat	Geen	Kokos potgrond	<i>P. fluorescens</i> WCS417
14	tomaat	Geen	Kokos potgrond	COS-OGA
15	tomaat	FOL	Steenwol	geen
16	tomaat	FOL	Steenwol	compostthee
17	tomaat	FOL	Steenwol	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> QST713
18	tomaat	FOL	Steenwol	<i>Trichoderma asperellum</i> T34
19	tomaat	FOL	Steenwol	orthokieselzuur
20	tomaat	FOL	Steenwol	<i>P. fluorescens</i> WCS417
21	tomaat	FOL	Steenwol	COS-OGA
22	tomaat	FOL	Kokos potgrond	geen
23	tomaat	FOL	Kokos potgrond	schimmeldominante mulch
24	tomaat	FOL	Kokos potgrond	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> QST713
25	tomaat	FOL	Kokos potgrond	<i>Trichoderma asperellum</i> T34
26	tomaat	FOL	Kokos potgrond	orthokieselzuur
27	tomaat	FOL	Kokos potgrond	<i>P. fluorescens</i> WCS417
28	tomaat	FOL	Kokos potgrond	COS-OGA

FOL- *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

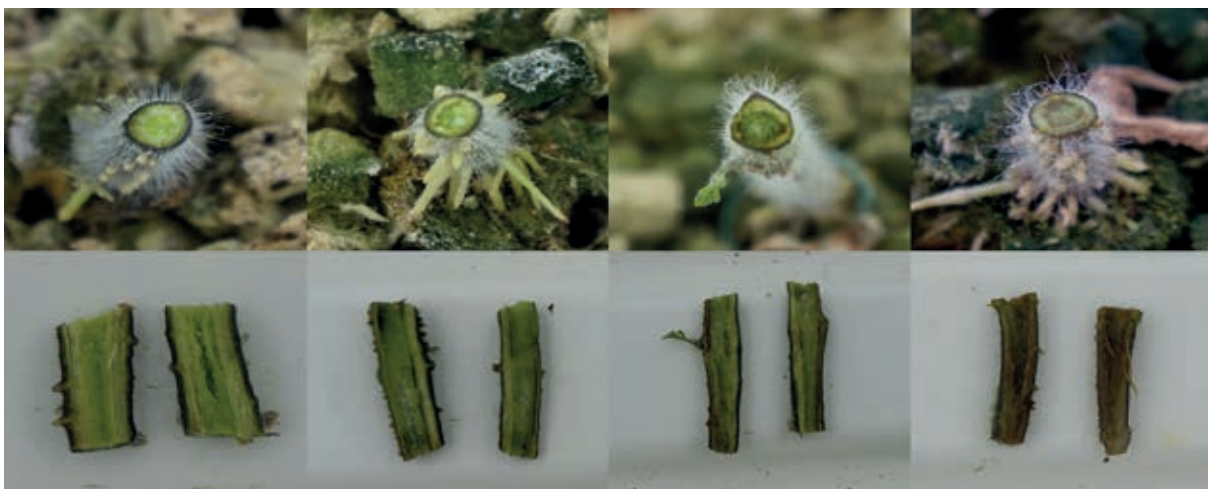
Tabel 2

Overzicht van de behandelingen in lisianthus.

Behandeling nr.	Gewas	Pathogeen	Substraat	Middel
29	lisianthus	Geen	potgrond	geen
30	lisianthus	Geen	potgrond	schimmeldominante mulch
31	lisianthus	Geen	potgrond	champost
32	lisianthus	Geen	potgrond	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> QST713
33	lisianthus	Geen	potgrond	houtkweekfractie+ <i>T. afroharzianum</i> T22
34	lisianthus	Geen	potgrond	<i>orthokieselzuur</i>
35	lisianthus	Geen	potgrond	COS-OGA
36	lisianthus	Geen	potgrond	<i>P. fluorescens</i> WCS 417
37	lisianthus	FOE	potgrond	geen
38	lisianthus	FOE	potgrond	schimmeldominante mulch
39	lisianthus	FOE	potgrond	champost
40	lisianthus	FOE	potgrond	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> QST713
41	lisianthus	FOE	potgrond	houtkweekfractie+ <i>T. afroharzianum</i> T22
42	lisianthus	FOE	potgrond	<i>orthokieselzuur</i>
43	lisianthus	FOE	potgrond	COS-OGA
44	lisianthus	FOE	potgrond	<i>P. fluorescens</i> WCS 417

FOE- *F. oxysporum* f.sp. *eustomae*

Bij de beoordeling van ziekteontwikkeling in tomaat was het noodzakelijk om aanwezigheid van *Fusarium* te bepalen in de stengel (tijdens eindbeoordeling) omdat geen verwelking van de planten is geconstateerd. Vaatverbruining in de stengel duidde wel op infectie met *Fusarium*. Ziektescore index van 0 t/m 3 is gebruikt tijdens scoren van symptomen van *Fusarium* infectie in tomaat (Figuur 2). Vervolgens werd een extra controle uitgevoerd op *Fusarium* aanwezigheid door de monsters van geïnfecteerde vaatbundels uit te platen op PDA medium (syntetisch groeimedum voor schimmels o.a. *Fusarium*) .



**Figuur 2** Mate van vaatverbruining door *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* bij tomaat. Een index score van 0–3 is gegeven, waarbij 0 is geen vaatverbruining en 3 is volledige vaatverbruining.

Behalve de ontwikkeling van de ziektesymptomen zijn ook verschillende plantmetingen uitgevoerd. Planthoogte in tomaat is beoordeeld aan het begin van de teelt en in week 2 en week 4 van de teelt. In verband met de inrichting van de proef zijn tomaten in week 5 getopt.

De plantenhoogte van lisianthus is bepaald bij begin van de proef, in week 2, week 4, week 6 en in week 8 van de teelt. Verder zijn ook planten beoordeeld op aantal bladeren.

Twee weken na inoculatie van plantpathogene *Fusarium* zijn in de teelt van tomaat en lisianthus bladmonsters genomen voor de analyse van het metabolietenprofiel en voor de activiteit van glucanase eiwit in beide gewassen (per behandeling). Deze monsters zijn direct in vloeibare stikstof ingevroren en opgeslagen bij -80°C. Vervolgens is een subset van de monsters gekozen, op basis van resultaten van de kasproef, deze zijn verder geanalyseerd. In het kort, metabolieten zijn geëxtraheerd uit 200mg van het monster (fijn gemalen in vloeibare stikstof) met aangezuurde methanol (met drie stappen: sonicatie, centrifugatie en filtratie). Extracten zijn onderzocht met behulp van vloeistofchromatografie gekoppeld met massaspectrofotometer (eng. LC-MS). Vloeistofchromatografie maakt het mogelijk om metabolieten met verschillende polariteit uit elkaar te scheiden. Met behulp van massaspectrofotometer kan een metaboliet geïdentificeerd worden op basis van zijn moleculaire massa. Glucanase eiwit is een van de plantenzymen (PR eiwit) die belangrijk is voor de verworven systemisch resistentie van de plant (eng. Systemic Acquired Resistance, SAR).

Uiteindelijk is alleen een subset van lisianthus geanalyseerd. Deze keuze is gemaakt op basis van de resultaten in de kasproef met biologische bestrijding van *Fusarium* pathogenen in tomaat en lisianthus.

Omdat er relatief weinig bekend is over metabolieten van lisianthus was het niet mogelijk om gericht te gaan zoeken naar metabolieten markers. Er is dus een totale analyse uitgevoerd waarin alle detecteerbare pieken uit LC-MS analyse zijn meegenomen. WUR Bioscience beschikt over een software workflow (Metalign-MSClust) en het was mogelijk dankzij deze software alle individuele LC-MS signalen te groeperen tot metabolieten. LC-MS pieken zijn meegenomen in analyse als zij in minimaal 5 lisianthus monsters gemeten zijn. Op basis van metingen is er een excel file opgesteld met alle metabolieten en hun relatieve hoeveelheid in elk monster. Vervolgens is multivariate analyse uitgevoerd om verschillen en overeenkomsten tussen monsters te bekijken (Principal Component Analyse, PCA).

Bij de eindbeoordeling zijn, bij gezonde lisianthus en tomatenplanten, bladeren bemonsterd en opgestuurd voor de analyse van het plantsap naar NovaCropControl. Er zijn ook monsters genomen voor analyse van het nutriëntengehalte in droge stof (Koch Laboratorium). Analyse van macro- en micronutriënten in de groeisubstraten, die beschikbaar zijn voor de plantopname, is uitgevoerd in water oplossing (1:1.5) door Groen Agro Control.

### 3.3 Kasproef met biologische bestrijding van *Pythium* in komkommer

De kasproef is uitgevoerd in twee hoge-draad kascompartimenten met niet recirculerend druppelsysteem met standaard komkommervoeding en met standaard klimaatinstellingen voor komkommerteelt (temp.; licht/donker: 16 uur/8uur). Voor de eerste teelt zijn twee typen groeisubstraat gebruikt: steenwol en kokossubstraat. In de tweede teelt is alleen steenwol substraat gebruikt. Komkommerplanten (cv Proloog) zijn gebruikt in de eerste teelt. In de tweede teelt, op hergebruikte matten, is komkommer cv Hi-Power geplant. In deze proef zijn 10 verschillende behandelingen preventief ingezet tegen *Pythium* infectie (zie Tabel 3). Bij de start van de proef waren de komkommerplanten drie weken oud. Informatie over de behandelingen, toepassingstechnieken en aantal herhaalde toepassingen is opgesomd in Bijlage 4.

De kas bevat 12 goten. De 10 binnenste goten waren verdeeld in 4 blokken (zie kasplattegrond in Bijlage 3). Per rij zijn 8 librabakken met daarin één steenwolmat geplaatst. Per mat zijn 2 steenwolblokken met een komkommerplant geplaatst. Librabakken zijn gebruikt om de contaminatie tussen de behandelingen te voorkomen. Per blok zijn 2 librabakken per behandeling geplaatst zodat er in totaal 16 planten (8 steenwol matten) per behandeling zijn ingezet.

Drie dagen na de laatste preventieve toepassing is per steenwolblok een *Pythium* oösporen suspensie toegevoegd ( $5 \cdot 10^4$  sp/ plant). Ontwikkeling van ziekte symptomen zijn gemonitord gedurende 11 weken teelt.



Aangezien er in de eerste teelt nauwelijks planten aangetast waren door *Pythium* is er besloten om de proef voort te zetten op de gebruikte steenwolmatten met nieuwe planten. Nieuwe komkommerplanten (cultivar Hi-Power) zijn op de hergebruikte steenwolmatten gezet. De nieuwe plantblokken zijn naast de oude blokken geplaatst (conform praktijk). Dezelfde kas indeling, behandelingsschema en frequentie van toepassing is aangehouden m.u.v. de biochar behandeling. Bij het opkweekbedrijf is geen Carbon Gold biochar aan het steenwol blok toegevoegd. (zie Tabel 3), wel op het moment van planten in de kas. Ook is er een additionele inoculatie met *Pythium* oosporen geweest, twee weken na het planten op de mat.

Gedurende 12 weken is de ontwikkeling van ziekte symptomen, veroorzaakt door *Pythium*, gevolgd. Aan het eind van de proef is het gewas bovengronds beoordeeld op vergeling/verwelking van de bladeren. Na verwijderen van het gewas is de stengelvoet beoordeeld op aanwezigheid van *Pythium* aantasting. Daarnaast is de bruinverkleuring van de wortels veroorzaakt door *Pythium* beoordeeld.

Tabel 3

Overzicht van de behandelingen in komkommer.

Behandeling nr.	Gewas	Pathogeen	Substraat	Middel
Steenwol substraat				
1	komkommer	Geen	steenwol	geen
2	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	geen
3	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	<i>Trichoderma afroharzianum</i> T22
4	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	Biochar
5	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	chitosan hydrochloride
6	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> QST713
7	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	<i>Streptomyces</i> k61
8	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	<i>Trichoderma asperellum</i> T34
9	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	kaliummetasilicaat
10	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	COS-OGA
kokossubstraat				
11	komkommer	Geen	steenwol	geen
12	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	geen
13	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	<i>Trichoderma afroharzianum</i> T22
14	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	Biochar
15	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	champost
16	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> QST713
17	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	<i>Streptomyces</i> k61
18	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	<i>Trichoderma asperellum</i> T34
19	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	kaliummetasilicaat
20	komkommer	<i>Pythium</i>	steenwol	COS-OGA



## 4 Resultaten

### 4.1 Tomaat

#### 4.1.1 Tomaat (steenwol substraat)

##### 4.1.1.1 Plantengroei

Geïnfecteerde tomatenplanten waren significant korter dan niet geïnfecteerde controle planten (meting in de vierde week van de teelt). Er waren geen significante verschillen in de planthoogte waargenomen in de gezonde planten (Tabel 4) met de verschillende behandelingen.

Tabel 4

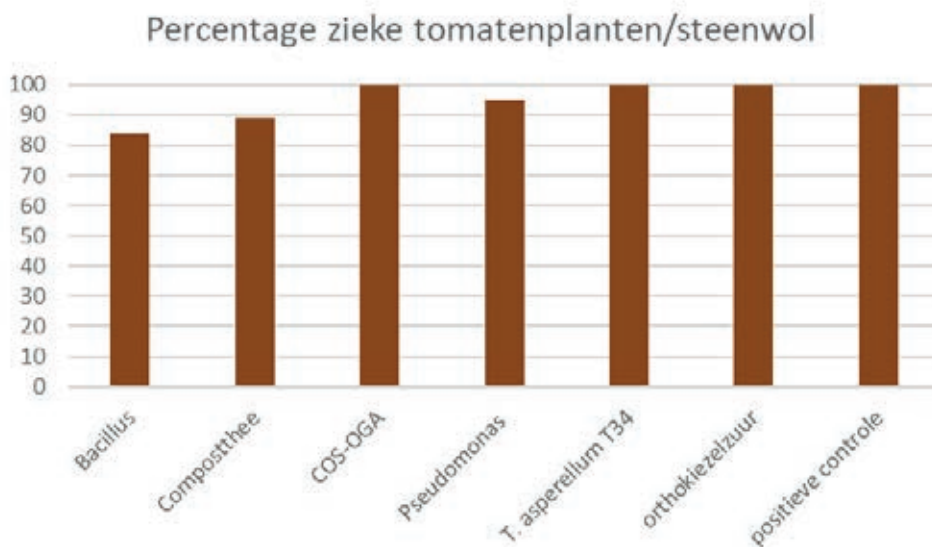
Planthoogte van tomaat (steenwol) in week 2 en week 4.

Behandeling	Planthoogte (cm)			
	week 2		week 4	
	Gemiddelde	SD	Gemiddelde	SD
Controle	14.72ab	1.32	28.17c	3.22
compostthee	15.04b	1.50	26.76bc	2.54
Bacillus	13.23 ab	1.57	25.12abc	2.60
T. asperellum T34	13.94 ab	1.15	25.45bc	2.82
Silicium	13.71 ab	1.79	25.52bc	2.68
P. fluorescens	13.94 ab	1.78	26.37bc	2.49
COS-OGA	15.64b	1.75	26.38bc	2.85
Controle +Fol	14.34ab	1.61	23.83ab	3.47
compostthee+Fol	14.78b	1.39	24.44ab	2.84
Bacillus+Fol	12.71 a	1.28	24.30ab	2.46
T. asperellum T34+Fol	12.78 ab	1.46	23.56ab	3.17
Silicium+Fol	12.97 ab	1.56	23.60ab	2.71
P. fluorescens+Fol	14.06 ab	1.77	24.72ab	2.85
COS-OGA+Fol	14.29 ab	1.68	22.06a	2.27

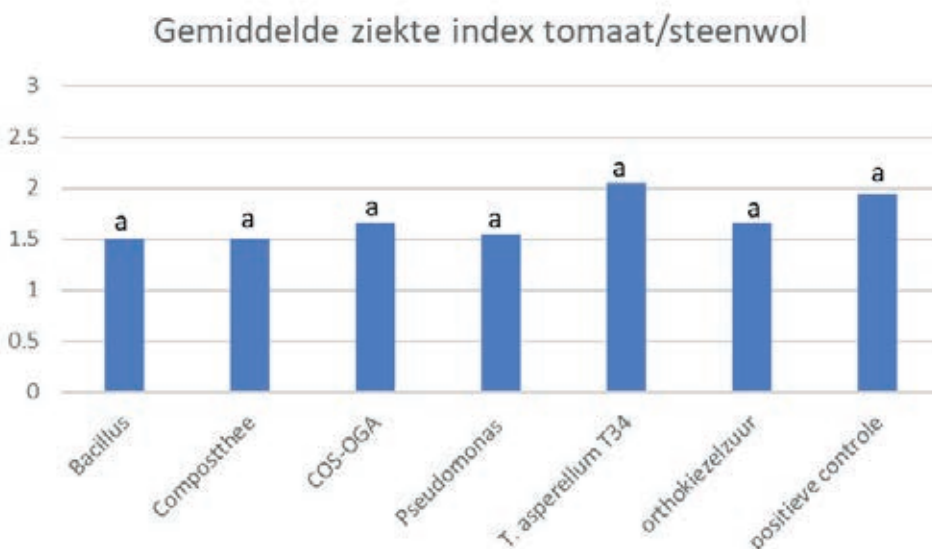
**Noot:** Verschillende letters geven significante verschillen tussen de behandelingen weer ( $P < 0,05$ , Kruskal-Wallis test). Fol- *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*; SD- standaarddeviatie van gemiddelde

#### 4.1.1.2 Ziekteontwikkeling

De meerderheid van de geïnfecteerde planten (in alle behandelingen) had symptomen van vaatverbruining (Figuur 3). Er zijn geen significante verschillen in de gemiddelde ziekte index waargenomen tussen de behandelingen (Figuur 4). Foto's van tomaten proef zijn te vinden in Bijlage 5.



**Figuur 3** Percentage van tomatenplanten (steenwol) met symptomen van vaatbundel verbruining door *Fusarium* na 9 weken teelt (7 weken na inoculatie met FOL). Waarden met verschillende letters verschillen significant van elkaar ( $\alpha=0.05$ ).



**Figuur 4** Gemiddelde ziekte index in tomaat (steenwol) na 9 weken teelt (7 weken na inoculatie met FOL). Waarden met verschillende letters verschillen significant van elkaar ( $\alpha=0.05$ ).

#### 4.1.2 Tomaat (kokos substraat)

##### 4.1.2.1 Plantengroei

Geïnfecteerde tomatenplanten waren korter dan niet geïnfecteerde controle planten na vier weken teelt. Het verschil was niet altijd statistisch significant (Tabel 6). Er waren geen significante effecten van de behandelingen op planthoogte in gezonde planten (Tabel 6).

Tabel 6

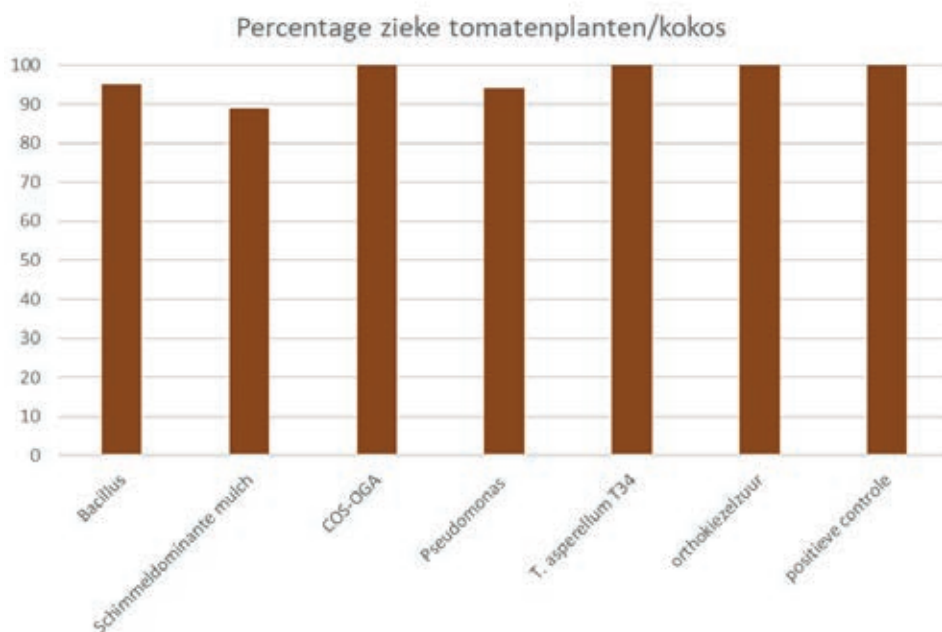
Planthoogte van tomaat (kokos) in week 2 en week 4.

Behandeling	Planthoogte (cm)			
	week 2		week 4	
	Gemiddelde	SD	Gemiddelde	SD
Controle	11.69ab	1.42	28.22cd	4.44
Schimmeldominante mulch	11.20a	1.29	30.22cd	3.77
Bacillus	12.82b	1.02	30.71d	3.62
T. asperellum T34	12.39ab	1.31	29.57cd	4.98
Silicium	11.52 ab	0.78	29.21cd	3.78
P. fluorescens	11.43 ab	1.32	27.92bcd	4.21
COS-OGA	11.34 ab	1.19	28.98cd	3.73
Controle +Fol	11.44 ab	1.26	25.57abc	3.13
Schimmeldominante mulch+Fol	11.08a	1.13	23.34a	3.64
Bacillus+Fol	11.81 ab	1.54	28.03bcd	3.34
T. asperellum T34 +Fol	11.41 ab	1.31	23.58ab	6.45
Silicium+Fol	12.15 ab	1.65	28.27cd	3.87
P. fluorescens+Fol	11.03a	2.03	26.62abcd	5.13
COS-OGA+Fol	11.33 ab	1.15	25.49abc	3.05

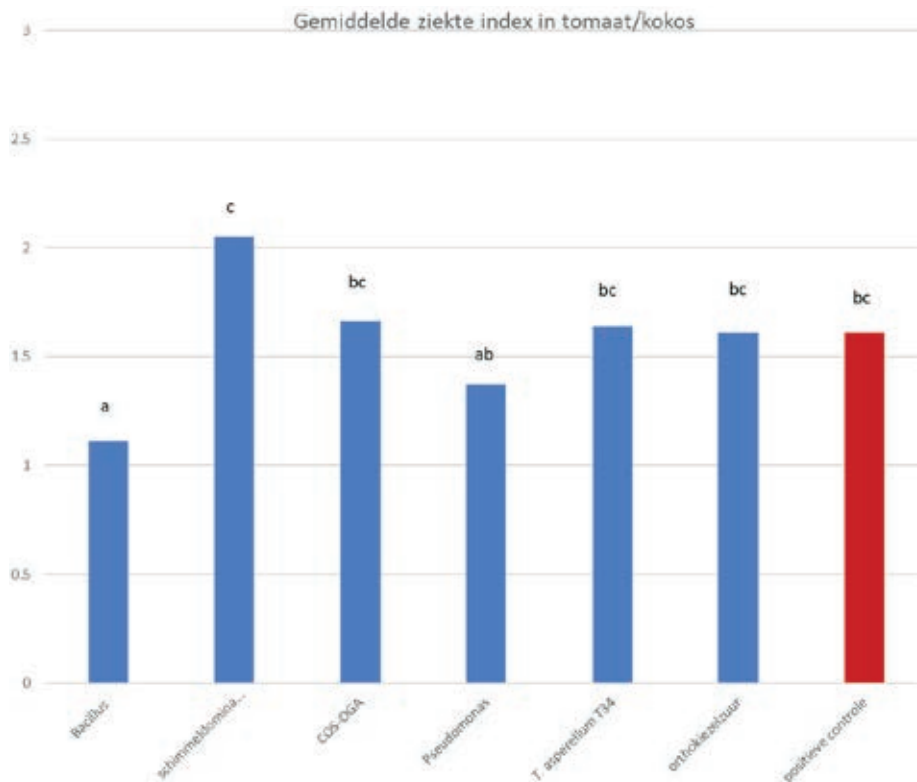
**Noot:** Verschillende letters geven significante verschillen tussen de behandelingen weer ( $P < 0,05$ , Kruskal-Wallis test). Fol- *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*

#### 4.1.2.2 Ziekteontwikkeling

Meerderheid van de met *Fusarium* geïnfecteerde planten (in alle behandelingen) had symptomen van vaatverbruining (Figuur 5). Ziekte index was significant lager in de planten die behandeld waren met Bacillus (ten opzichte van positieve controle) (Figuur 6).



**Figuur 5** Percentage van tomatenplanten (kokos substraat) met symptomen van vaatbundel verbruining door *Fusarium* na 9 weken teelt (7 weken na inoculatie met Fol). Waarden met verschillende letters verschillen significant van elkaar ( $\alpha = 0.05$ ).



**Figuur 6** Gemiddelde ziekte index in tomaat (kokos substraat) na 9 weken teelt (7 weken na inoculatie met *Fol*). Waarden met verschillende letters verschillen significant van elkaar ( $\alpha=0.05$ ).

#### 4.1.3 Analyse van nutriënten in plantsap en droge stof van tomaat

##### 4.1.3.1 Tomaat (steenwol)

Resultaten van plantsapanalyse (macroelementen) zijn weergegeven in Tabel 7.

Plantsapanalyse van micro-elementen en fosfor (P) is te vinden in Bijlage 5. Suikers gehalte en concentratie van kalium (K) in plantsap van de geïnfecteerde planten was hoger dan in de niet geïnfecteerde planten.

Informatie over significante correlaties tussen ziekte index en nutriënten in het plantsap is weergegeven in Tabel 8. Er was een sterke negatieve correlatie gevonden tussen EC en kalium (K) in plantsap en ziekte index. Planten met hoger EC en kalium concentratie in plantsap hadden een lagere ziekte index.



Tabel 7

Plantsap analyse (macroelementen) van de tomaten (steenwol)

	suikers (%)	EC mS/cm	K ppm	Ca ppm	Mg ppm	Na ppm	N totaal ppm	Zwavel S ppm
controle	3.0	10.4	3481.2	523.2	409.8	31.6	982.3	917.5
COS-OGA	3.3	10.3	3583.5	421.5	399.1	31.8	1057.2	887.3
Silicium	2.5	10.2	3450.6	501.4	382.8	27.8	1032.6	887.3
Compostthee	3.2	10.2	3515.9	426.1	363.6	28.0	1126.0	836.1
T. asperellum	3.1	9.6	3162.9	390.3	350.9	26.6	1021.2	825.6
Bacillus	3.1	10.1	3384.8	547.6	416.2	26.9	1035.4	951.8
Pseudomonas	3.2	10.3	3459.1	538.2	422.2	29.4	955.2	1000.0
controle+Fol	3.8	11.0	4051.0	411.8	383.4	30.6	1156.9	917.1
COS-OGA+Fol	3.9	11.0	3971.3	470.3	428.3	38.3	1111.3	1024.4
Silicium+Fol	3.9	11.3	4222.0	412.9	456.4	41.7	1144.9	996.5
Compostthee+Fol	4.0	11.4	4166.4	384.8	451.0	44.3	1157.8	980.1
T. asperellum+Fol	4.1	10.4	3833.0	318.7	371.1	38.8	1024.7	958.8
Bacillus+Fol	3.9	11.7	4259.0	401.5	529.2	44.0	1075.8	1155.5
Pseudomonas+Fol	3.7	10.9	4003.6	317.5	392.9	36.0	1066.2	901.6

+Fol met inoculatie van *F. oxysporum f.sp. lycopersici*; waarden zijn gemiddelde van 5 monsters

Tabel 8

Significante correlaties tussen nutriënten en ziekte index in tomaat in steenwol (planten geïnoculeerd met *Fusarium*).

	EC	K (ppm)	Mg (ppm)	ziekte index
EC	1.000			
K (ppm)	0.957**	1.000		
Mg (ppm)	0.927**	0.846*	1.000	
ziekte index	-0.802*	-0.764*	-0.732*	1.000

\*\* Correlatie is significant bij  $p < 0.01$  (2-zijdig).\* Correlatie is significant bij  $p < 0.05$  (2-zijdig).

Uit droge stof analyse blijkt dat niet geïnoculeerde planten een hoger percentage (%)kalium en calcium hadden in droge stof dan planten die zijn geïnoculeerd met *Fusarium* (Tabel 9 en Tabel 10), terwijl gehalte van magnesium en koper juist hoger waren in droge stof van geïnoculeerde planten.

Tabel 9

*Droge stof analyse van gezonde tomaten in steenwol (zonder inoculatie met Fusarium).*

Tomaat/steenwol Zonder Fusarium		Controle	COS-OGA	Silicium	Compost- thee	T. asperellum	Bacillus	Pseudo
Droge stofgehalte	gew%	12	12	10	11	12	12	12
Stikstof	% N	4	3.7	4.4	4	3.9	4.1	4.1
Fosfaat	% P	0.53	0.46	0.63	0.62	0.68	0.54	0.39
Kalium	% K	4.6	4.3	4.3	4.8	4.8	3.7	3.1
Calcium	% Ca	1.1	1.1	1.2	1.5	1.4	1	0.81
Magnesium	% Mg	0.49	0.54	0.47	0.6	0.56	0.47	0.66
Zwavel	% S	0.6	0.67	0.65	0.77	0.7	0.6	0.64
Natrium	% Na	0.04	0.05	0.04	0.05	0.04	0.04	0.04
Borium	mg B /kg	41	56	54	45	42	38	33
Mangaan	mg Mn /kg	31	32	36	43	38	31	32
IJzer	mg Fe /kg	106	84	108	123	100	92	89
Koper	mg Cu /kg	9.3	8.9	12	11	11	11	10
Zink	mg Zn /kg	32	33	33	38	34	32	30
Molybdeen	mg Mo /kg	3.3	3.4	3.5	3.7	3.6	3.8	3.3
Chroom	mg Cr /kg	3.2	0.13	0.12	0.56	< 0.1	< 0.1	0.11
Kobalt	mg Co /kg	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.11	< 0.1	0.11	< 0.1
Nikkel	mg Ni /kg	0.39	0.31	0.14	0.58	0.3	0.39	0.36
Seleen	mg Se /kg	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
Silicium	mg Si /kg	78	84	80	152	91	85	91
Vanadium	mg V /kg	0.18	0.11	0.17	0.22	0.2	0.13	0.17
Aluminium	mg Al /kg	11	17	12	49	10	14	13

Tabel 10

*Droge stof analyse van tomaten in steenwol (met inoculatie van Fusarium).*

Tomaat/steenwol Met Fusarium		controle	COS-OGA	Silicium	Compost- thee	T. asperellum	Bacillus	Pseudo
Droge stofgehalte	gew%	18	12	13	13	14	12	13
Stikstof	% N	3.9	3.8	3.9	3.8	3.6	3.8	3.7
Fosfaat	% P	0.41	0.4	0.4	0.31	0.45	0.42	0.48
Kalium	% K	3.7	3.5	3.1	2.9	3.5	3.5	3.6
Calcium	% Ca	0.61	0.7	0.56	0.42	0.67	0.6	0.69
Magnesium	% Mg	0.76	0.45	0.69	0.6	0.58	0.78	0.73
Zwavel	% S	0.68	0.61	0.73	0.62	0.7	0.73	0.73
Natrium	% Na	0.04	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04
Borium	mg B /kg	35	34	33	44	55	34	44
Mangaan	mg Mn /kg	35	29	36	27	31	35	33
IJzer	mg Fe /kg	103	67	101	94	88	90	115
Koper	mg Cu /kg	14	10	15	13	13	13	13
Zink	mg Zn /kg	38	27	35	31	33	36	33
Molybdeen	mg Mo /kg	4	3.1	4.3	4.2	4	4.2	4.1
Chroom	mg Cr /kg	3	0.19	0.6	17	5.6	1.7	0.92
Kobalt	mg Co /kg	0.2	< 0.1	0.12	0.18	0.17	0.16	0.12
Nikkel	mg Ni /kg	12	0.76	0.61	7	1.5	0.81	0.96
Seleen	mg Se /kg	0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.12	0.11
Silicium	mg Si /kg	114	60	110	76	91	96	150
Vanadium	mg V /kg	0.18	0.12	0.15	0.11	0.12	0.13	0.18
Aluminium	mg Al /kg	24	8.8	14	10	17	14	48

#### 4.1.3.2 Tomaat (kokos)

Resultaten van plantsap analyse (macroelementen) zijn weergegeven in Tabel 11.

Plantsap analyse van micro-elementen en fosfor (P) is te vinden in Bijlage 5.

Informatie over significante correlaties tussen ziekte index en nutriënten in het plantsap is weergegeven in Tabel 12. Er was een sterke negatieve correlatie gevonden tussen het suikergehalte in het plantsap en de ziekte index. Sterke positieve correlaties werden gevonden voor pH, fosfor gehalte, mangaan en ziekte index.

Tabel 11

Plantsap analyse (macroelementen) van tomaten in kokossubstraat.

	Suikers (%)	EC (ms/cm)	K ppm	Ca ppm	Mg ppm	Na ppm	N totaal ppm	Zwavel S ppm
Controle zonder Fol	2.5	13.5	4790.5	1372.5	682.5	43.9	1590.2	1972.0
COS-OGA zonder Fol	2.4	12.3	4553.1	855.7	572.3	34.6	1469.5	1574.4
silicium zonder Fol	2.2	11.9	4320.1	865.4	549.0	35.7	1379.8	1670.7
Mulch zonder Fol	2.9	12.7	4802.9	979.2	507.6	56.4	1587.2	1504.6
T. asperellum zonder Fol	2.5	12.2	4589.6	902.5	599.9	36.4	1465.6	1705.1
Bacillus zonder Fol	2.7	12.9	4674.3	1173.5	628.6	45.1	1428.8	1884.4
Pseudomonas zonder Fol	2.6	12.3	4500.2	1038.6	666.6	33.6	1507.1	1851.8
Controle +Fol	4.4	11.3	4972.0	1138.2	668.3	56.5	978.1	1518.1
COS-OGA +Fol	3.8	13.0	5533.3	1200.6	647.6	61.0	1121.9	1652.1
Silicium +Fol	4.1	12.2	4748.1	1097.0	624.4	47.7	1051.1	1552.8
Mulch +Fol	4.0	11.3	5354.3	907.9	381.5	53.5	1272.4	1190.1
T. asperellum +Fol	4.1	12.6	5090.8	1258.0	614.4	56.3	1042.3	1831.6
Bacillus +Fol	4.7	12.6	5313.2	1145.0	696.8	55.7	1078.4	1491.9
Pseudomonas +Fol	4.2	11.5	4710.1	772.7	496.3	45.1	1066.6	1264.0

+Fol met inoculatie van *F. oxysporum f.sp. lycopersici*

Tabel 12

Significante correlaties tussen nutriënten en ziekte index in tomaat in kokossubstraat (planten geïnoculeerd met *Fusarium*).

	Suikers (%)	pH	P (ppm)	Mn (ppm)	ziekte index
Suikers (%)	1.000				
pH	-0.594	1.000			
P (ppm)	-0.505	0.471	1.000		
Mn (ppm)	-0.384	0.554	0.871	1.000	
ziekte index	-0.723*	0.861*	0.776*	0.831*	1.000

\*\* Correlatie is significant bij  $p < 0.01$  (2-zijdig).

\* Correlatie is significant bij  $p < 0.05$  (2-zijdig).

Uit droge stof analyse blijkt dat niet geïnoculeerde planten een hoger percentage (%) stikstof, fosfor, calcium, ijzer, borium en mangaan hadden in droge stof dan planten die zijn geïnoculeerd met *Fusarium* (Tabel 13 en Tabel 14).

Tabel 13

*Droge stof analyse van gezonde tomaten in kokos (zonder inoculatie met Fusarium).*

Tomaat/kokos								
Zonder Fusarium		controle	COS-OGA	Silicium	Mulch	T. asperellum	Bacillus	Pseudo
Droge stofgehalte	gew%	13	12	12	13	12	14	11
Stikstof	% N	4.3	4.6	4.5	4.9	4.6	4.7	4.7
Fosfaat	% P	0.71	0.68	0.59	0.6	1.2	0.68	0.7
Kalium	% K	4.1	4.6	3.8	4	5	4.9	4.7
Calcium	% Ca	2.1	1.5	1.2	1.2	2.6	1.4	1.5
Magnesium	% Mg	0.75	0.64	0.65	0.57	0.62	0.63	0.71
Zwavel	% S	1.1	1	1.1	0.82	0.95	0.92	0.94
Natrium	% Na	0.04	0.04	0.05	0.05	0.11	0.04	0.05
Borium	mg B /kg	40	43	36	40	36	37	54
Mangaan	mg Mn /kg	78	71	81	76	75	70	68
IJzer	mg Fe /kg	116	116	262	109	242	115	107
Koper	mg Cu /kg	14	14	16	8.7	15	12	13
Zink	mg Zn /kg	26	32	28	28	30	27	28
Molybdeen	mg Mo /kg	0.43	0.49	0.97	0.39	0.46	0.48	0.56
Chroom	mg Cr /kg	0.56	0.23	51	1.1	1.8	0.21	0.15
Kobalt	mg Co /kg	0.14	0.13	0.43	0.13	0.26	0.13	0.13
Nikkel	mg Ni /kg	0.43	0.33	22	0.55	0.71	0.4	0.22
Seleen	mg Se /kg	0.16	0.2	0.25	0.24	0.41	0.27	0.32
Silicium	mg Si /kg	164	141	143	73	241	145	134
Vanadium	mg V /kg	0.25	0.24	0.42	0.19	1.3	0.22	0.25
Aluminium	mg Al /kg	11	12	14	11	90	17	13

Tabel 14

Droge stof analyse van tomaten in kokos (met inoculatie van *Fusarium*).

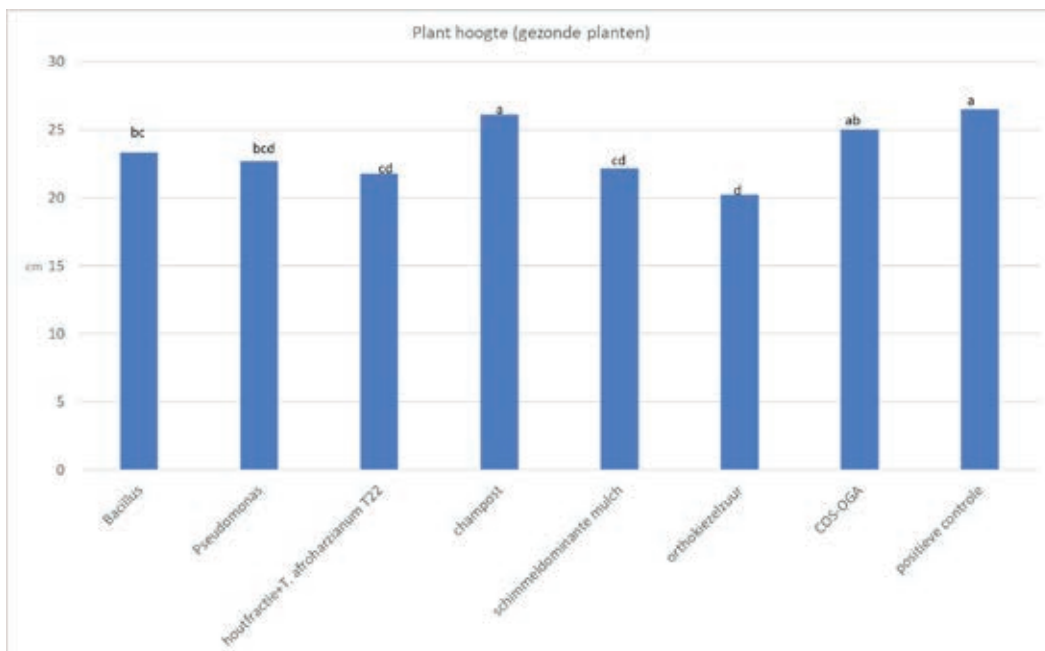
Tomaat/kokos met <i>Fusarium</i>		controle	COS-OGA	Silicium	Mulch	<i>T. asperellum</i>	<i>Bacillus</i>	Pseudo
Droge stofgehalte	gew%	14	15	15	15	11	14	16
Stikstof	% N	3.5	3.7	3.6	4.1	3.5	3.5	3.6
Fosfaat	% P	0.58	0.52	0.47	0.71	0.73	0.41	0.46
Kalium	% K	4.1	4.1	3.5	4.6	4.8	3.3	3.2
Calcium	% Ca	1.3	1	1.1	1.4	1.9	1	1
Magnesium	% Mg	0.6	0.52	0.62	0.51	0.63	0.61	0.66
Zwavel	% S	0.87	0.77	0.82	0.65	1	0.74	0.85
Natrium	% Na	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.03	0.04
Borium	mg B /kg	32	25	29	27	40	34	37
Mangaan	mg Mn /kg	38	46	39	70	40	33	41
IJzer	mg Fe /kg	80	75	71	82	82	71	81
Koper	mg Cu /kg	10	11	9.8	7.8	11	8.8	11
Zink	mg Zn /kg	20	22	20	22	20	20	22
Molybdeen	mg Mo /kg	0.36	0.42	0.35	0.29	0.34	0.4	0.42
Chroom	mg Cr /kg	0.13	< 0.1	0.14	< 0.1	0.11	0.33	0.17
Kobalt	mg Co /kg	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
Nikkel	mg Ni /kg	0.22	0.15	0.14	0.24	0.38	0.33	0.25
Seleen	mg Se /kg	0.2	0.2	0.18	0.23	0.23	0.18	0.23
Silicium	mg Si /kg	137	108	143	85	122	128	135
Vanadium	mg V /kg	0.13	< 0.1	0.11	0.13	0.15	0.11	0.15
Aluminium	mg Al /kg	8.5	6.4	5.5	7.2	7.2	5.7	8.6

## 4.2 Lisianthus

### 4.2.1 Plantengroei

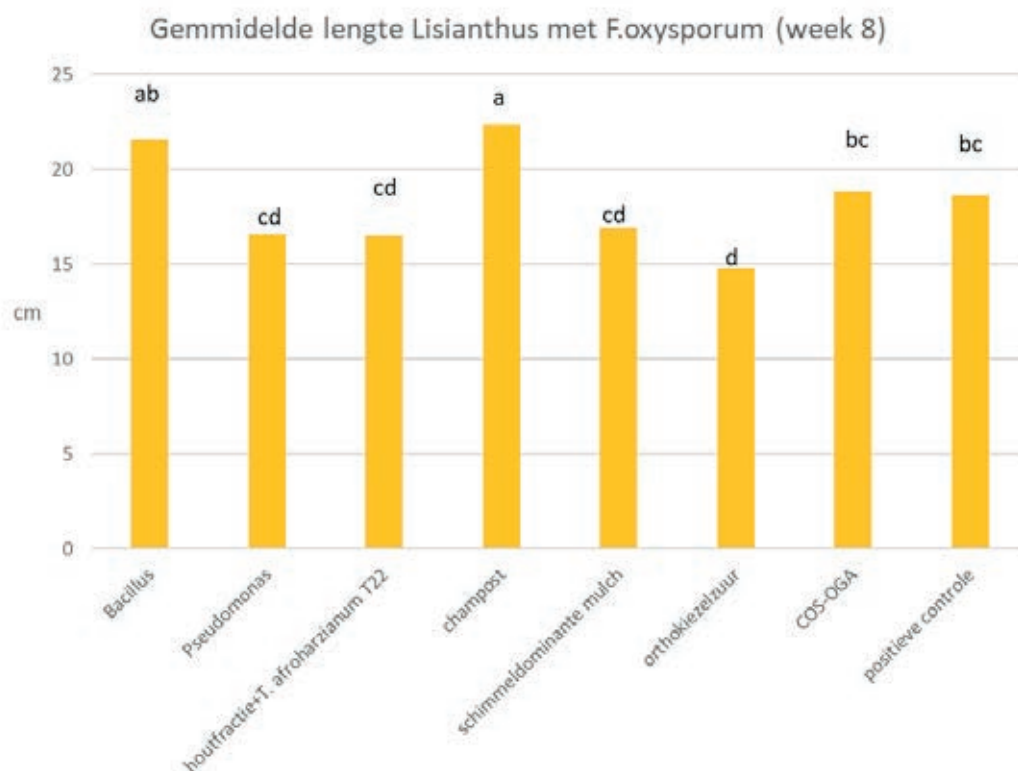
Gezonde Lisianthus planten waren significant korter (ten opzichte van onbehandeld controle) in behandeling met *Bacillus*, *Pseudomonas*, houtfractie+ *T. afroharzianum* T22, schimmeldominante mulch en orthokiezelszuur (Figuur 7).





**Figuur 7** Gemiddelde lengte van gezonde Lisianthus planten uit verschillende behandelingen (in cm) (n=30). Waarden met verschillende letters verschillen significant van elkaar ( $\alpha=0.05$ ).

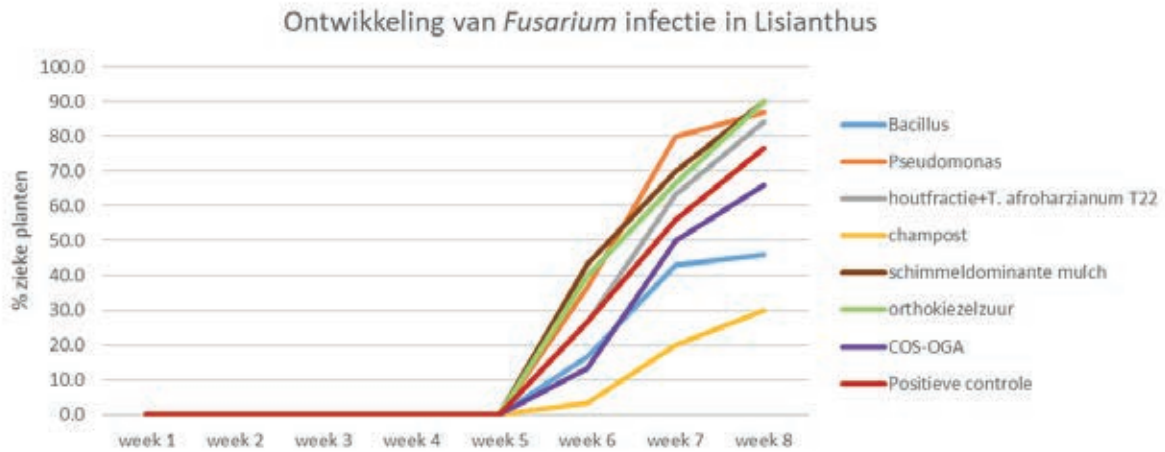
Geïnfecteerde Lisianthus planten uit champost behandeling, waren significant langer ten opzichte van onbehandelde controle en andere behandelingen (Figuur 8).



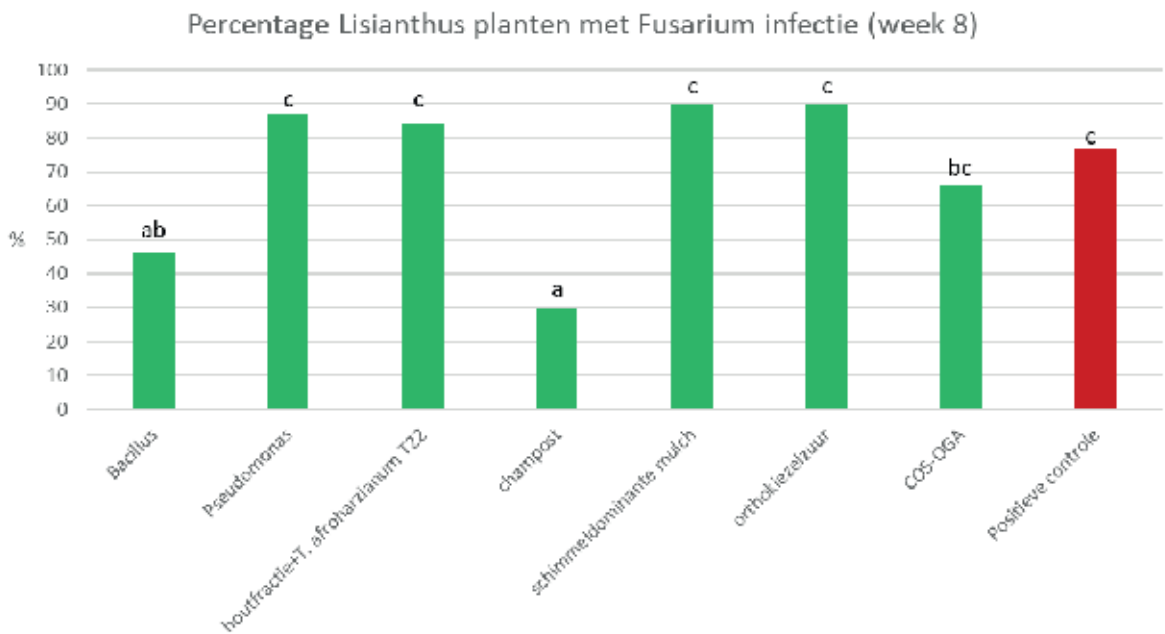
**Figuur 8** Gemiddelde lengte van Lisianthus planten, die geïnfecteerd zijn met Fusarium, uit verschillende behandelingen (in cm) na 8 weken teelt (n=30). Waarden met verschillende letters verschillen significant van elkaar ( $\alpha=0.05$ ).

#### 4.2.2 Ziekteontwikkeling in Lisianthus

De eerste ziektesymptomen in Lisianthus zijn vier weken na inoculatie met *Fusarium* waargenomen. Verloop van de infectie in Lisianthus (% zieke planten) is weergegeven in Figuur 9. Na 8 weken teelt (6 weken na inoculatie met *Fusarium*) is 76% van de Lisianthus planten zonder behandeling ziek geworden, ten opzichte van 30% in champost behandeling en 46% in de behandeling met Bacillus (Figuur 10). Foto's van Lisianthus proef zijn te vinden in Bijlage 5.

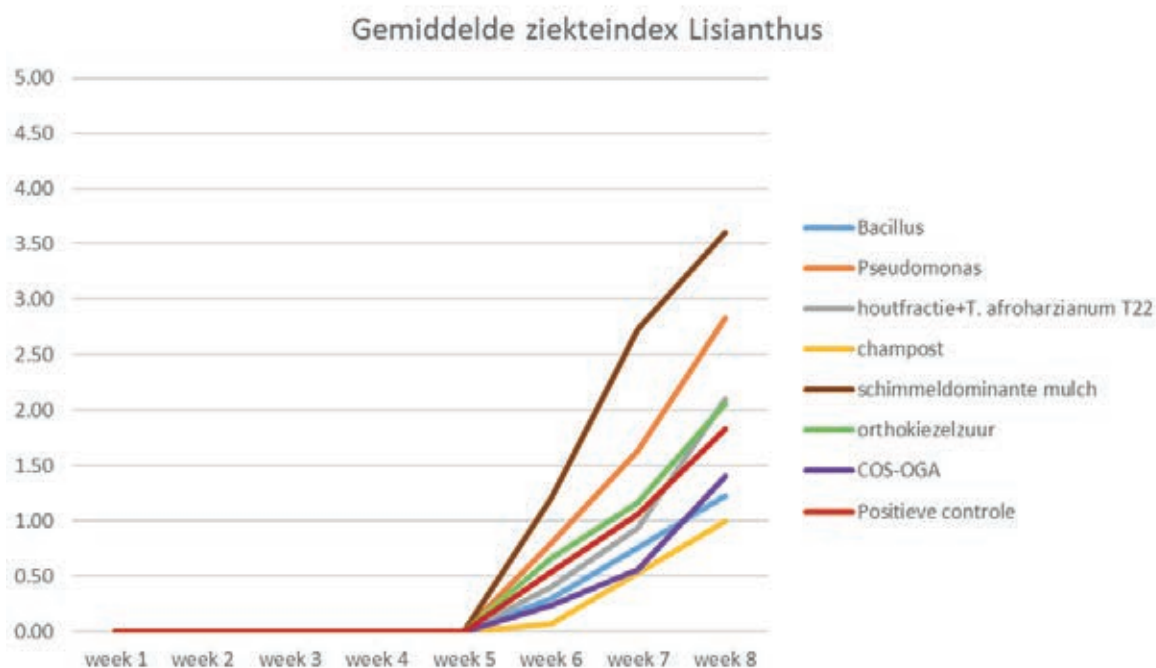


**Figuur 9** Ontwikkeling van *Fusarium* infectie in Lisianthus planten in de tijd (weergegeven als percentage van planten met symptomen van *Fusarium* infectie in week 1 t/m 8 van de teelt). Inoculatie met *Fusarium oxysporum f.sp. eustomae* is uitgevoerd in week 2.

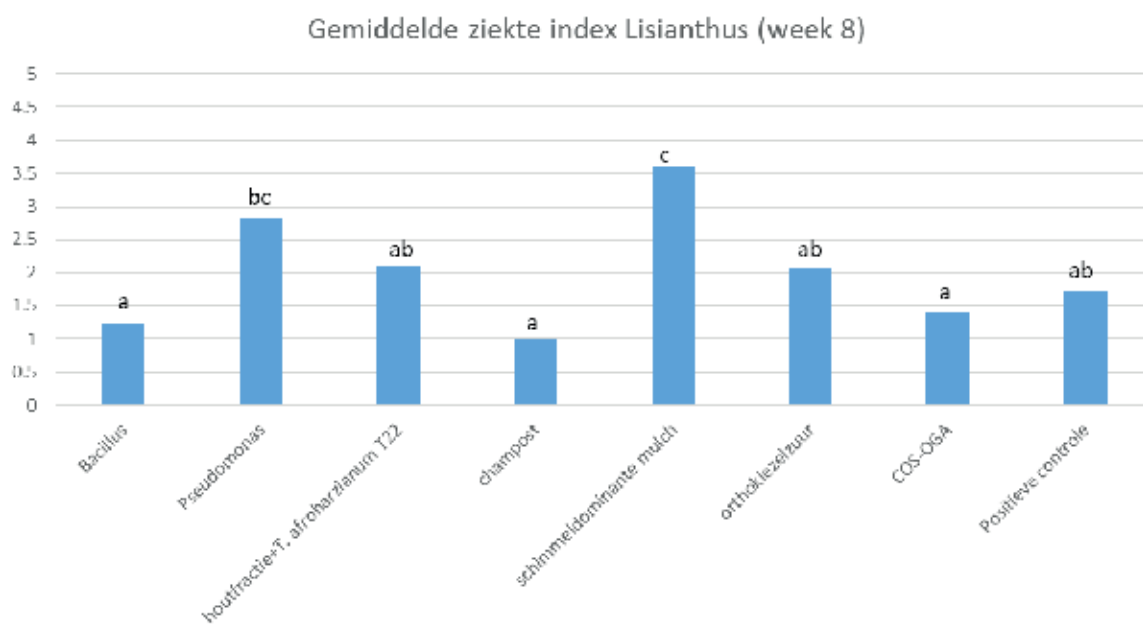


**Figuur 10** Percentage van zieke Lisianthus planten uit verschillende behandelingen (na 8 weken teelt). Waarden met verschillende letters verschillen significant van elkaar ( $\alpha=0.05$ ).

Verloop van de infectie in de tijd (als gemiddelde ziekte index) is weergegeven in Figuur 11. In de behandelingen met COS-OGA, Bacillus en champost was de gemiddelde ziekte index lager dan in onbehandelde Lisianthus planten (positieve controle) gedurende 8 weken teelt (Figuur 11 en Figuur 12). Het verschil was niet statistisch significant.



**Figuur 11** Ontwikkeling van Fusarium infectie in Lisianthus planten in de tijd (weergegeven als gemiddelde ziekte index (0 t/m 5). Inoculatie met *Fusarium oxysporum f.sp. eustomae* is uitgevoerd in week 2.



**Figuur 12** Gemiddelde ziekte index in Lisianthus na 8 weken teelt. Waarden met verschillende letters verschillen significant van elkaar ( $\alpha=0.05$ ).

#### 4.2.3 Analyse van nutriënten in substraat, plantsap en droge stof

Gehalte van macro- en micronutriënten in substraat Lisianthus (1:2 water extract) is geanalyseerd aan het begin en na 8 weken teelt. Gedetailleerde informatie over nutriëntengehaltes is te vinden in Bijlage 6.

Toevoegingen van Bacillus, Pseudomonas, houtfractie+T. afroharzianum T22 en orthokieselzuur hadden geen significant effect op beschikbaarheid van plantnutriënten in het substraat. Ook was er geen significant effect waargenomen op EC en pH van substraat in deze behandelingen.

Toevoegingen van champost en schimmeldominante mulch hadden een significant effect op pH van het groeisubstraat. Toevoeging van champost resulteerde in verhoging van pH (van pH 5.6-6.1 in controle naar pH 6.1-6.9 in champost behandeling), terwijl toevoeging van schimmeldominante mulch resulteerde in significante verlaging van pH na 8 weken teelt (van pH 5.6-6.1 in controle naar pH 4.2 in behandeling met schimmeldominante mulch).

Champost en schimmeldominante mulch behandelingen hadden ook significant effect op verhoging van de EC in substraat (van 0.65 mS/cm in controle naar 1.9 mS/cm in champost behandeling en 3.1 mS/cm in behandeling met mulch). Verhoging van EC waarde in mulch behandeling was een resultaat van nitraat en ammonium toevoeging. Champost behandeling resulteerde bovendien in hogere concentraties van K, Ca, Mg, Na en  $\text{SO}_4$  in substraat (Bijlage 4). Beschikbaarheid van wateroplossbare ijzer (Fe) was significant lager in champost behandeling ten opzichte van onbehandeld controle (6.8 mM in controle en 3.3 mM in champost behandeling).

Nutriënten metingen in plantsap van gezonde Lisianthus planten zijn weergegeven in Tabel 15. Plantsap uit behandelingen met COS-OGA, schimmeldominante mulch en champost bevatte minder suikers (%) dan plantsap van onbehandelde planten. Champost behandeling resulteerde in hogere EC van het plantsap (EC van 13.09 ms/cm) ten opzichte van onbehandelde planten (EC van 10.73 ms/cm). Concentraties van de volgende nutriënten waren significant hoger in het plantsap uit champost behandeling dan in onbehandelde controle planten: K (4481 ppm in controle, 5216 ppm in champost behandeling), Cl (1328 ppm in controle, 2409 ppm in champost behandeling) en Na (207 ppm in controle, 289 ppm in champost behandeling).

Hogere EC en nutriënten concentraties in substraat met champost hebben niet geresulteerd in significante verschillen in macronutriënten (N, P, K, Ca, Mg, S) concentraties in droge stof van Lisianthus planten uit champost behandeling ten opzichte van controle behandeling (Tabel 16).

Bijna alle behandelingen (behalve COS-OGA) lijken effect te hebben op ijzer concentratie in droge stof Lisianthus. Ijzer concentratie is significant hoger in controle behandeling (531 mg Fe/kg droge stof) ten opzichte van andere behandelingen (128-262 mg Fe/kg droge stof).

Tabel 15

Plantsap analyses *Lisianthus* (eind experiment; gezonde planten- niet geïnoculeerd met *Fusarium*).

	Bacillus	Pseudomonas	Kernmix	Champost	Mulch	Silicium	Fado	Onbehandeld
Suikers (%)	4.80b	5.50	4.64	3.50	3.74	5.54	3.96	4.60bc
EC (mS/cm)	11.32	10.85	11.25	13.09	11.08	11.03	11.25b	10.73b
K - Kalium (ppm)	4468.96	4249.76	4248.33	5216.80	4471.20	4060.83	4583.60	4481.47
Ca - Calcium (ppm)	877.74	928.18	950.46	505.76	1096.74	1004.88	630.65	573.95
K / Ca	6.20	4.63	4.55	10.43	4.12	4.06	7.84	8.48
Mg - Magnesium (ppm)	615.83	572.09	576.46	530.85	594.35	586.70	603.27	590.58
Na - Natrium (ppm)	291.96	288.17	296.47	289.73	132.80	304.19	227.73	207.89
NH4 - Ammonium (ppm)	31.32	25.08	22.08	35.25	78.48	24.38	39.23	41.90
NO3 - Nitraat (ppm)	23.87	8.80	0.72	0.36	2238.33	34.20	20.29	20.32
N uit Nitraat (ppm)	5.20	2.00	0.20	0.00	505.40	7.60	4.40	4.60
N - Stikstof totaal (ppm)	685.52	513.21	462.11	723.38	2184.91	481.16	842.75	776.75
Cl - Chloride (ppm)	1815.82	2166.21	2278.26	2409.71	830.93	2442.09	1432.71	1328.87
S - Zwavel (ppm)	679.62	474.30	422.14	952.96	434.63	363.61	882.78	805.45
P - Fosfaat (ppm)	426.74	329.08	333.35	243.75	530.89	308.79	465.40	437.82
Si - Silicium (ppm)	6.26	4.29	1.63	8.02	13.11	4.11	5.23	4.42
Fe - Ijzer (ppm)	2.96	0.71	0.70	0.70	1.77	0.85	0.78	0.84
Mn - Mangaan (ppm)	2.94	2.91	1.86	4.87	9.18	2.16	2.93	2.70
Zn - Zink (ppm)	3.82	3.53	3.71	7.90	6.76	4.01	4.17	4.62
B - Borium (ppm)	4.03	3.17	3.18	4.01	2.15	2.67	4.67	4.52
Cu - Koper (ppm)	0.16	0.13	0.15	0.45	0.26	0.17	0.16	0.16
Mo - Molybdeen (ppm)	0.05	0.04	0.02	0.04	0.02	0.03	0.04	0.04
Al - Aluminium (ppm)	0.09	0.12	0.11	0.06	0.13	0.12	0.05	0.06

Waarden zijn gemiddelde van 5 metingen

Tabel 16

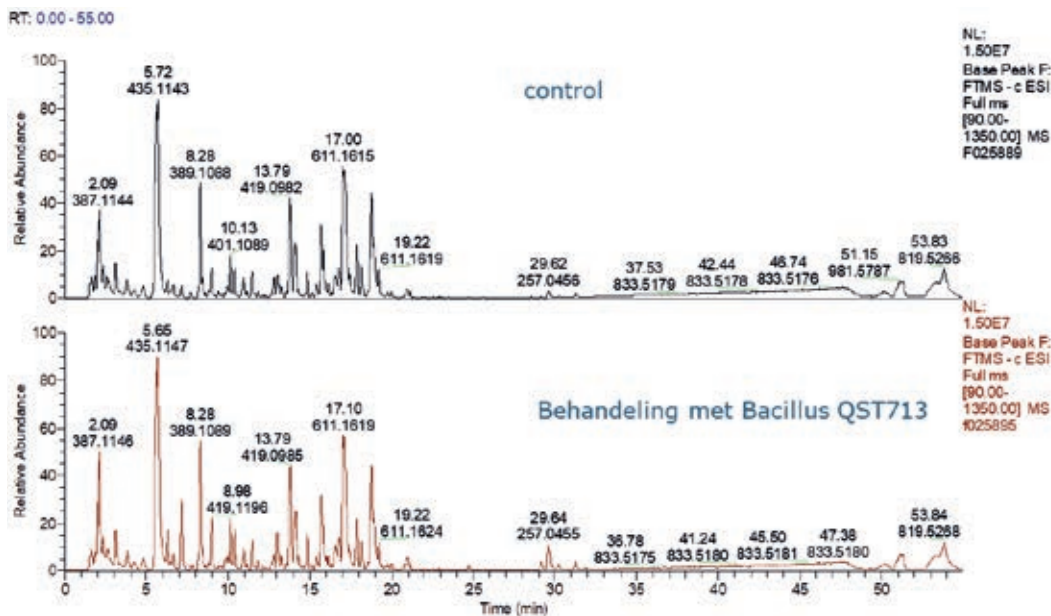
Droge stof analyse *Lisianthus*.

		Bacillus	Pseudomonas	Kernmix	Champost	Mulch	Silicium	Fado	onbehandeld
Droge stofgehalte	gew%	15	16	16	14	14	17	14	15
Stikstof	% N	2.4	1.8	2	2.6	4.1	1.8	2.7	2.5
Fosfaat	% P	0.62	0.21	0.36	0.57	0.87	0.4	0.82	0.79
Kalium	% K	5.1	2	4	5.8	5.1	3.5	5.6	6.1
Calcium	% Ca	1.2	0.67	0.98	0.73	1.9	1.4	0.92	0.96
Magnesium	% Mg	0.92	0.39	0.61	0.81	1.1	0.73	1	1
Zwavel	% S	0.87	0.30	0.50	1.07	0.70	0.57	1.17	1.20
Natrium	% Na	0.47	0.19	0.37	0.4	0.27	0.41	0.41	0.41
Borium	mg B /kg	65	27	54	58	55	42	69	60
Mangaan	mg Mn /kg	57	38	37	73	162	52	69	75
IJzer	mg Fe /kg	234	128	262	172	148	220	537	531
Koper	mg Cu /kg	5.7	2.9	4.9	9.6	8.4	5.2	7.2	9
Zink	mg Zn /kg	86	39	72	136	126	65	101	113
Molybdeen	mg Mo /kg	0.89	0.94	1.2	0.89	0.57	1	1.7	1.7
Chroom	mg Cr /kg	0.61	0.62	0.54	0.45	0.51	0.83	2.9	0.93
Kobalt	mg Co /kg	0.14	0.11	0.12	0.11	0.11	0.12	0.23	0.21
Nikkel	mg Ni /kg	0.96	3.9	0.91	0.85	1.1	1	2.1	1.1
Seleen	mg Se /kg	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
Silicium	mg Si /kg	612	213	549	317	495	413	542	614
Vanadium	mg V /kg	0.48	0.17	0.51	0.28	0.43	0.43	1	1.2
Aluminium	mg Al /kg	224	112	319	151	89	230	524	584
Arseen	mg As /kg	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1

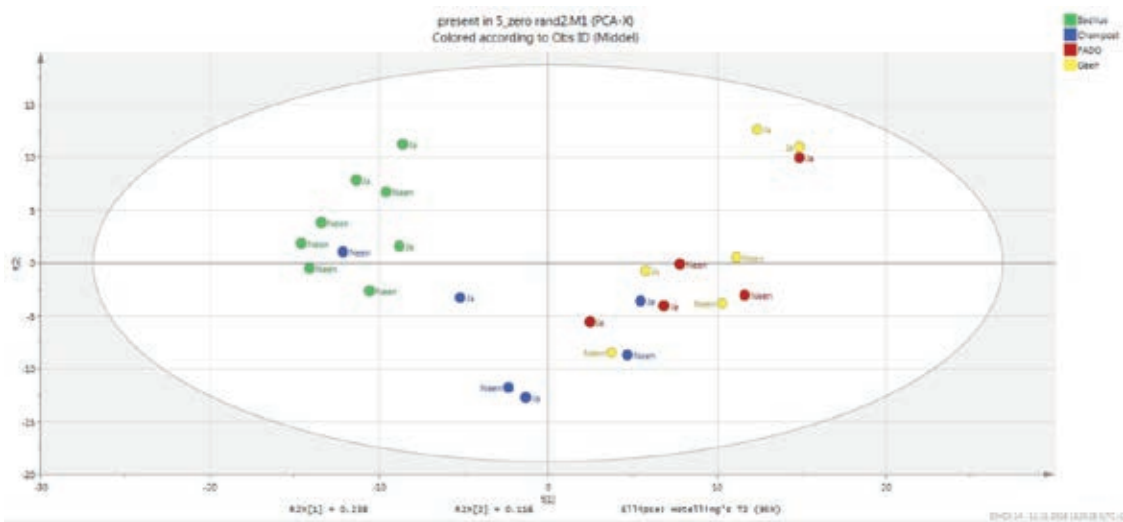
#### 4.2.4 Analyse van metabolieten in lisianthus

Gezien het feit dan niet alle behandelingen, die uitgevoerd zijn op lisianthus in de kasproef, effect hadden op ontwikkeling van *Fusarium* infectie, zijn niet alle monsters voor metabolomics analyse onderzocht.

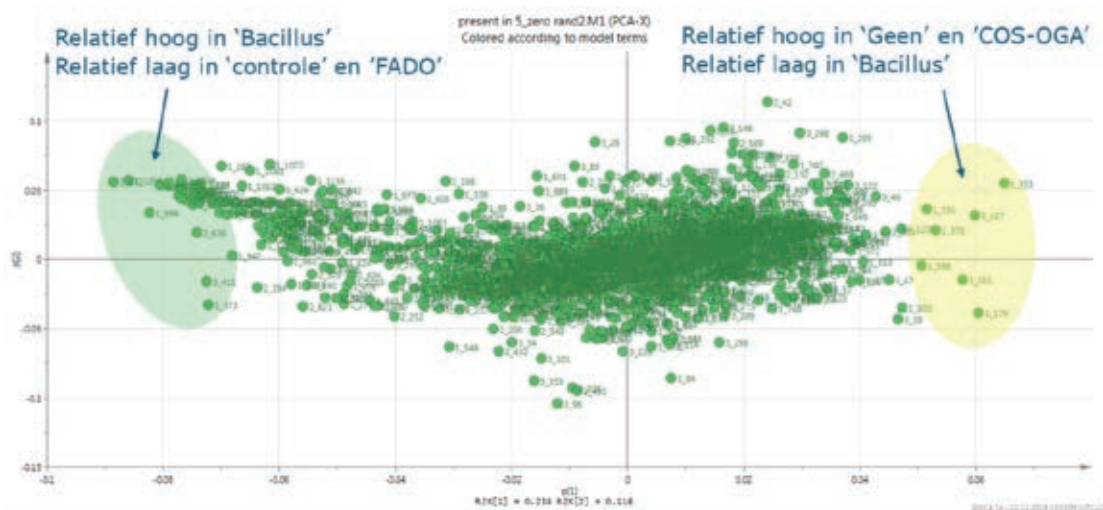
Voor die analyse zijn monsters van vier behandelingen gekozen: controle, champost, *B. amyloliquefaciens* QST713 en COS-OGA. In totaal zijn 24 monsters geanalyseerd. Voorbeeld van de LC-MS analyse van de lisianthus monsters is te zien in Figuur 12. Totale analyse van LC-MS pieken leverde 16131 individuele LC-MS signalen op die vervolgens zijn gegroepeerd tot 1554 metabolieten. Uit multivariate analyse van alle monsters (Figuur 13) blijkt dat totale metabolieten profiel van lisianthus planten die behandeld zijn met *Bacillus amyloliquefaciens* QST713 significant verschilt met het metabolietenprofiel van onbehandelde planten en planten die groeiden in behandeling met champost of zijn behandeld met COS-OGA. Teelt met toevoeging van champost in groeisubstraat of met behandeling met COS-OGA had geen significant effect op het algemene metabolietenprofiel van lisianthus. In Fig 14 zijn verschillende metabolieten van lisianthus gegroepeerd op basis van hun relatieve aanwezigheid in het metabolietenprofiel van verschillend behandelde lisianthus. Er zijn dus een aantal metabolieten die alleen waargenomen zijn in *Bacillus amyloliquefaciens* QST713 behandelde lisianthus. En er zijn ook metabolieten die juist aanwezig zijn alleen in anders voorbehandelde lisianthus en niet in planten die behandeld zijn met *Bacillus amyloliquefaciens* QST713.



**Figuur 12** Voorbeeld van metabolieten profiel in lisianthus bladeren in controle (onbehandeld) en met *Bacillus amyloliquefaciens* QST713 behandelde planten.

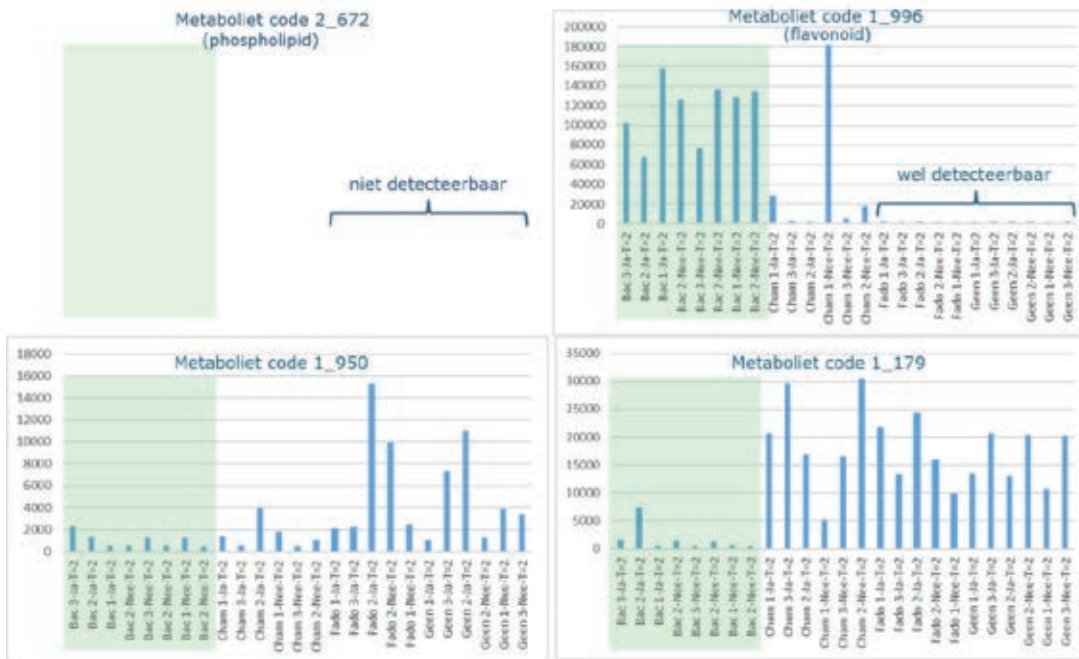


**Figuur 13** Principal component analyse (PCA) van verschillen in het algemene metabolietenprofiel van lisanthus planten die op verschillende manieren voorbehandeld zijn; Behandelingen: geen-onbehandeld, Bacillus- behandeling met *Bacillus amyloliquefaciens* QST713; champost- teelt met 10% (v/v) van champost in groeimedium, FADO- behandeling met COS-OGA.



**Figuur 14** Analyse van relatieve aanwezigheid van de verschillende metabolieten in de monsters van lisanthus die afkomstig zijn uit op verschillende manier voorbehandelde planten.

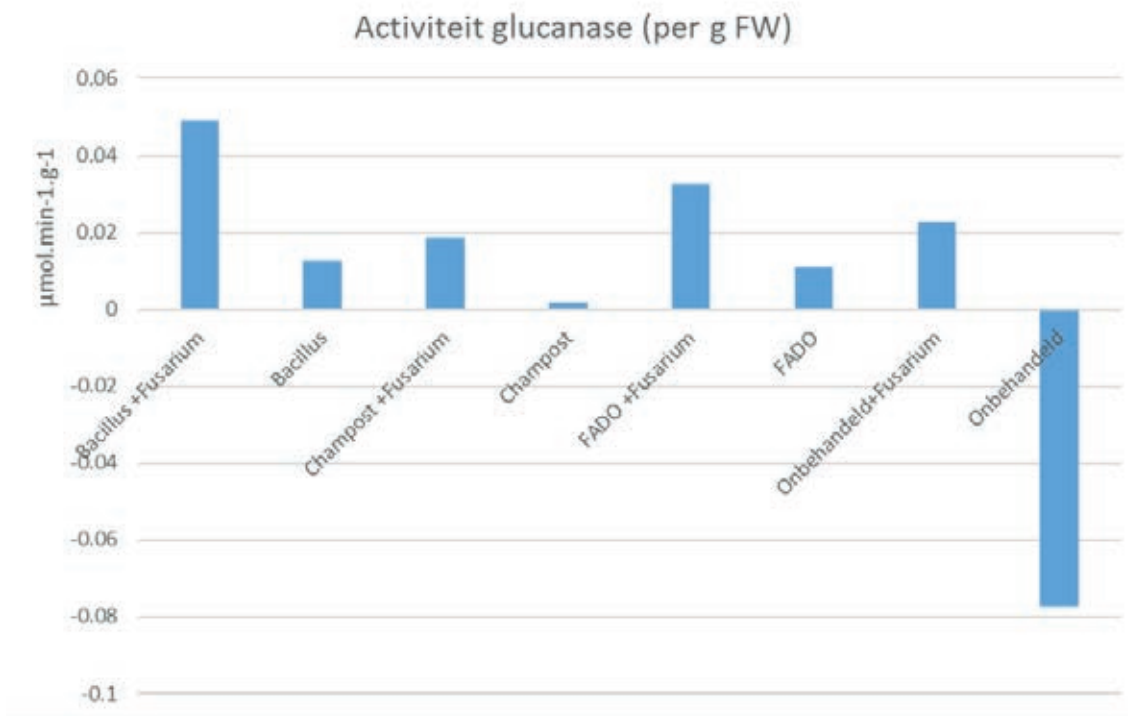




**Figuur 15** Voorbeeld van de mogelijke indicator metabolieten met verschillende relatieve aanwezigheid in lisianthus planten die op verschillende manieren voorbehandeld zijn.

#### 4.2.5 Analyse van glucanase activiteit in lisianthus bladeren

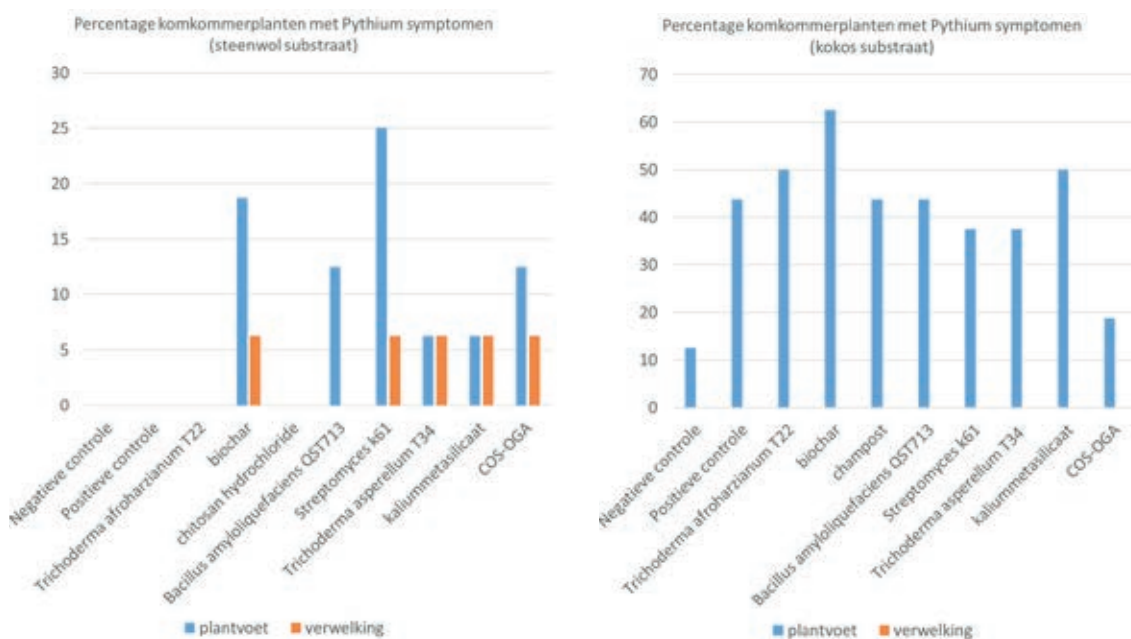
Glucanase is één van PR eiwitten (belangrijk in verworven systemisch resistentie, eng. Systemic Acquired Resistance- SAR). Monsters van lisianthus bladeren waren genomen twee weken na inoculatie met plantpathogene *Fusarium*. In alle monsters is een zeer lage activiteit van glucanase gemeten (Figuur 16). Aanwezigheid van *Fusarium* pathogeen lijkt een effect te hebben op verhoging van glucanase activiteit in lisianthus bladeren, maar in verband met de lage glucanase activiteit is het niet mogelijk om conclusies te trekken over het effect van de behandelingen op inductie van verworven systemisch resistentie (eng. SAR). Glucanase activiteit in onbehandelde controle is onder de detectie niveau (Fig 16).



**Figuur 16** Activiteit glucanase in bladeren van lisanthus planten die op verschillende manieren voorbehandeld zijn; Behandelingen: onbehandeld, Bacillus- behandeling met *Bacillus amyloliquefaciens* QST713; champost- teelt met 10% (v/v) van champost in groeimedium, FADO- behandeling met COS-OGA.

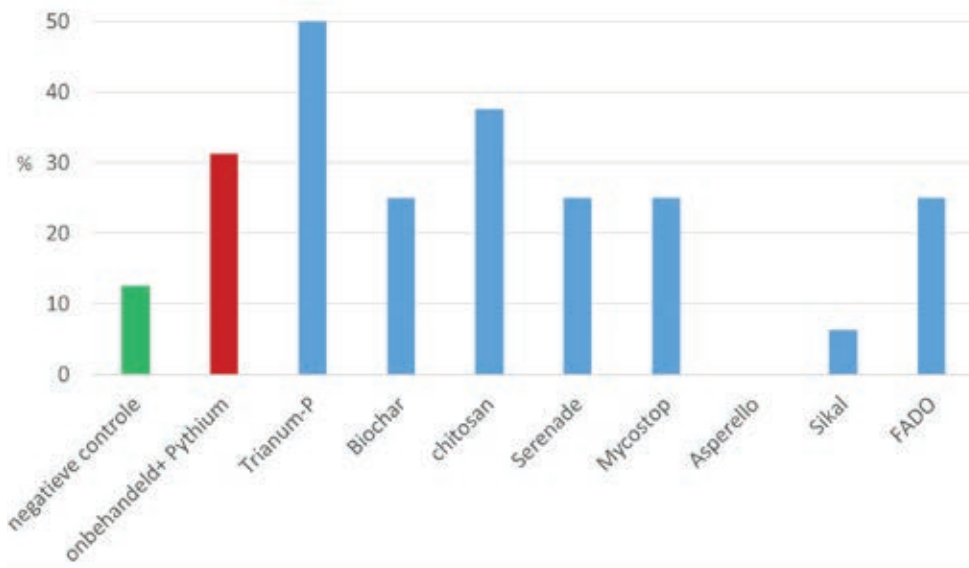
### 4.3 Komkommer

De *Pythium* aantasting heeft zich niet goed ontwikkeld in de eerste teelt van komkommer (Figuur 17). Zelfs bij hoge percentage van gedeeltelijk aangetaste stengelvoet zette de infectie niet door en leidde die niet tot verwelking.



**Figuur 17** Percentage met *Pythium* aangetaste komkommers in de eerste teelt op nieuwe steenwol en kokosmatten (na 11 weken teelt; *Pythium* inoculatie 2 weken na het planten).

De tweede teelt is doorgezet op hergebruikte steenwolmatten. Na 11 weken teelt (tweede teelt op hergebruikte matten) zijn bovengrondse en ondergrondse symptomen van *Pythium* aantasting beoordeeld. In de onbehandelde, met *Pythium* geïnoculeerde, positieve controle behandeling is ongeveer 31% van de planten ziek geworden (met stengelbasis rot en verwelking). Planten behandeld met *Trichoderma asperellum* T34 of kaliummetasilicaat hebben significant minder symptomen van *Pythium* aantasting zowel bovengronds en ondergronds (Figuur 18 en Figuur 19).

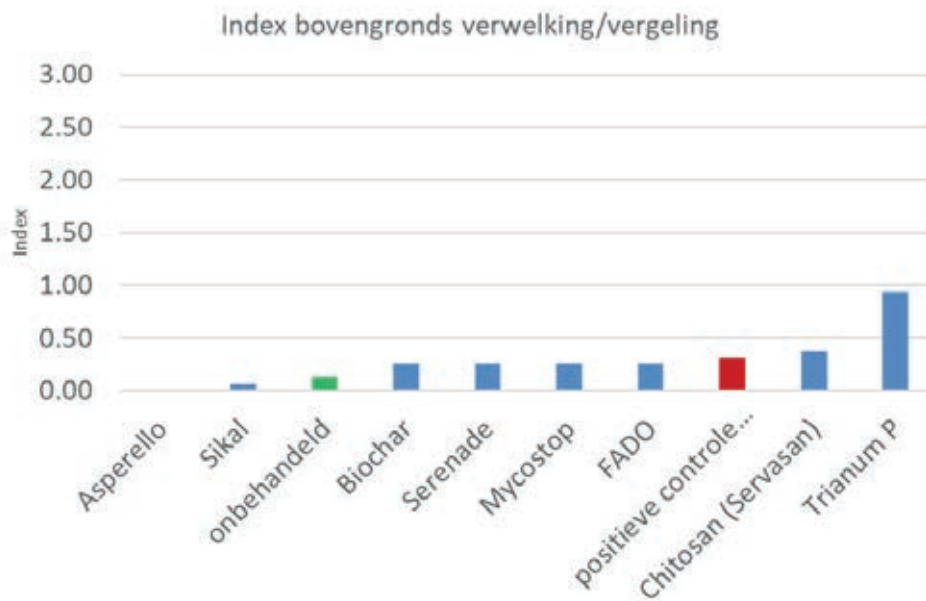


**Figuur 18** Percentage met *Pythium* aangetaste komkommers in de tweede teelt op hergebruikte steenwol matten (na 11 weken teelt; *Pythium* inoculatie in eerste en tweede teelt, 2 weken na het planten).



**Figuur 19** Voorbeelden van *Pythium* aantasting in komkommer wortels en plantvoet (oranje steekhout- chitosan hydrochloride; groen steekhout- *Streptomyces* k61; geel steekhout- kalium metasilicaat).

De gemiddelde ziekte index (voor bovengronds verwelking en/of vergeling) was het hoogst in behandeling met *Trichoderma afroharzianum* T22 (Figuur 20). In de behandeling met *Trichoderma afroharzianum* T22 is 15% van de planten totaal verwelkt (ziekte index 3).



**Figuur 20** Gemiddelde ziekteindex van bovengronds verwelking/vergeling in komkommer (n=20) (na 11 weken teelt op hergebruikte matten; *Pythium* inoculatie in eerste en tweede teelt); Index 0= gezond, Index 1= enkel geel/verwelkte blad; Index 2= rond 50% geel/verwelkt blad; 3= gehele plant verwelkt/dood.

Natuurlijke besmetting met meeldauw heeft plaatsgevonden tegen het eind van de tweede teelt (cv Hi-Power). Deze is op biologische manier bestreden met kalium waterstof carbonaat.

## 5 Discussie en conclusies

Voor de kasproeven binnen PPS Green Challenges zijn verschillende behandelingen geselecteerd, waarvan een aantal die plantweerbaarheid tegen ziekte aanschakelen, algemene substraat weerbaarheid tegen ziekte verhogen of gebruik maken van antagonistische micro-organismen tegen ondergrondse pathogenen zoals *Fusarium* en *Pythium*.

De proeven leverden helaas beperkte informatie op over de effectiviteit van de verschillende behandelingen tegen *Fusarium* (in lisianthus en tomaat) en *Pythium* (in komkommer) infecties in substraatteelt.

De effectiviteit van antagonistische micro-organismen lijkt sterk afhankelijk te zijn van een specifieke pathosysteem, bijvoorbeeld *B. amyloliquefaciens* QST713 was effectief tegen *Fusarium oxysporum* f.sp. *eustomae* in lisianthus geteeld in organisch substraat, maar had geen effect op *Pythium* infectie in komkommer geteeld in steenwol. Het gebruikte groeisubstraat is belangrijk voor het verhogen van de kans op vestiging van micro-organismen. Onderzoeken hebben aangetoond dat de gemeenschappen van micro-organismen (microbiomen) van verschillende substraten, bijvoorbeeld steenwol vs organisch, of veen vs kokos, significant van elkaar kunnen verschillen (Grunert *et al.* 2016; Montagne *et al.* 2016).

Effectiviteit van de toegevoegde, antagonistische micro-organismen tegen ondergrondse pathogenen *in planta* lijkt heel variabel te zijn. Sommige onderzoekers rapporteren goede effectiviteit tegen ondergrondse pathogenen (Chowdhury *et al.* 2013; Gilardi *et al.* 2018) terwijl andere geen positief effect van antagonistische micro-organismen waarnemen (Fuchs *et al.* 2016). Er is veel wetenschappelijke literatuur beschikbaar over verschillende biocontrole micro-organismen, echter alleen voor een kleine percentage daarvan is effectiviteit in kas- of veldproeven aangetoond (Mazzola en Freilich, 2016). De meerderheid van de commerciële producten wordt gemaakt op basis van micro-organismen die overlevingssporen produceren, o.a. endosporen, zoals *Bacillus*, *Streptomyces* of *Trichoderma*, omdat die makkelijker te formuleren zijn in het product met een langere houdbaarheid (Köberl *et al.* 2013). Bovendien, alleen bacteriën of schimmels die kweekbaar zijn op (synthetische) mediums, worden gebruikt in biocontrole producten. Meer dan 99% van micro-organismen aanwezig in groeisubstraten en bodem zijn niet kweekbaar in het laboratorium, daardoor kunnen wij ze niet formuleren tot producten, terwijl hun rol in ziekteonderdrukking heel belangrijk kan zijn, zoals aangetoond bij onderzoeken naar het microbioom van weerbare bodems met moleculaire technieken (Schlatter *et al.* 2017; Gómez Expósito *et al.* 2017).

Omdat de effecten van toevoeging van antagonistische micro-organismen in de bodem en groeisubstraat sterk variabel blijken te zijn, pleiten sommige onderzoekers voor meer onderzoek naar de mogelijkheden voor sturing van het natuurlijke microbioom, zodat de nuttige micro-organismen, die al in substraat of grond aanwezig zijn, geactiveerd worden (Mazzola en Freilich, 2016). Substraatweerbaarheid en bodemweerbaarheid tegen ondergrondse ziekten kan beïnvloedt worden door toevoegen van organisch stof in verschillende vormen, zoals compost of champost (Hoitink *et al.* 1997; Montanari *et al.* 2004; Antoniou *et al.* 2017). Toevoegen van champost aan groeisubstraat (10% v/v) was ook effectief tegen *Fusarium* in de proef met lisianthus. Champost is hoogst waarschijnlijk een bron van nuttige micro-organismen, die specifieke functies vervullen, zoals chitine afbraak, die belangrijk zijn voor weerbaarheid tegen ziekten (Kavroulakis *et al.* 2010; Antoniou *et al.* 2017).

De andere vorm van organisch stof, die toegevoegd kan worden aan groeimedium om substraatweerbaarheid tegen ondergrondse ziekten te verhogen, is biochar (Graber *et al.* 2014). Ook de effecten van verschillende biochars lijken echter variabel te zijn. Onder andere de grondstoffen die gebruikt worden in pyrolyse en de temperatuur tijdens pyrolyse lijken effect te hebben op eigenschappen van biochar en hun rol in substraatweerbaarheid (Jaiswal *et al.* 2014). Biochar pre-conditioning met micro-organismen zal de effectiviteit tegen plantpathogenen kunnen verhogen (Ribera *et al.* 2017; Jaiswal *et al.* 2018).

Uit de proeven blijkt dat ook de gebruikte plantweerbaarheid verhogende producten, zoals COS-OGA, variabele effecten hebben gehad op ontwikkeling van ondergrondse ziekten in substraatteelten, van significant effect tegen *Fusarium* in lisianthus tot geen effect tegen *Pythium* in komkommer. Een andere elicitor van geïnduceerde resistentie in planten, chitosan hydrochloride, had geen effect op ontwikkeling van *Pythium* infectie, terwijl resultaten van andere onderzoeken wijzen op het feit dat die mogelijk effectief kan zijn (in combinatie met antagonistische micro-organismen) (Postma *et al.* 2009). Terwijl toevoegen van kalium metasilicaat de komkommerplant beter lijkt te beschermen tegen *Pythium* aantasting. Effecten van silicium op onderdrukking van ziekten zijn al eerder aangetoond (Wang *et al.* 2017). Silicium speelt waarschijnlijk een rol in versterking van celwanden in de wortelcellen, zodat de pathogeen niet naar binnen kan dringen, maar er is steeds meer informatie over de mogelijke rol van silicium in geïnduceerde resistentie van planten (Cherif *et al.* 1992; Coskun *et al.* 2019).

In het algemeen blijkt de biologische controle gebaseerd te zijn op een specifieke interactie tussen plant-nuttige micro-organismen- groeisubstraat (bodem) en pathogeen (Raaijmakers *et al.* 2009). Daarom blijft het moeilijk om de effecten van bijvoorbeeld biocontrolestammen volledig te voorspellen, omdat wat effectief is in het ene pathosysteem, geen effect kan hebben op ziekten in een andere plantensoort (Panth *et al.* 2020).

Ziekten, veroorzaakt door ondergrondse pathogenen, blijven lastig te bestrijden met biopesticiden of elicitors van geïnduceerde resistentie in planten. Biopesticiden zijn producten op basis van micro-organismen die niet in alle bodems/groeisubstraten voorkomen. Effectiviteit van biopesticiden wordt daarom sterk beïnvloedt door de eigenschappen van groeisubstraat waarin ze moeten overleven. Als de omstandigheden in groeisubstraat niet optimaal zijn voor snelle kolonisatie van de wortels of er is veel concurrentie van andere micro-organismen, kunnen zij zich niet goed vestigen in het systeem (Mazzola en Freilich, 2016). Geïnduceerde resistentie is belangrijk in bescherming van planten tegen bodempathogenen. Het is helaas vaak niet genoeg als de ziektedruk hoog is. Vermindering van de ziektedruk, door pathogeen af te doden en hygiene maatregelen, lijkt het meeste belangrijk factor te zijn als het gaat over bestrijding van ondergrondse ziekten. Sommige behandelingen, die als doel verhoging van natuurlijke bodemweerbaarheid door bijvoorbeeld toevoeging van organische stof hadden, lijken effectief te zijn in bestrijding van ondergrondse ziekten (Bonanomi *et al.* 2007). Met deze behandelingen worden specifieke groepen micro-organismen geactiveerd in groeisubstraat, die door antagonistische werking en concurrentie om voedsel en plek plantpathogenen kunnen onderdrukken. Binnen dit project is beperkt aantal van dit soort toevoegingen getoetst. Organische toevoegingen kunnen aanzienlijk van elkaar verschillen. Er is daarom meer kennis nodig over chemisch-fysisch en biologisch samenstelling van dit soort toevoegingen zodat het makkelijker zou zijn om de effecten van een specifieke organische toevoeging op bepaalde ondergrondse ziekte te voorspellen.



## 6 Literatuur

- Adam, M., Heuer, H., Hallmann, J. 2014.  
Bacterial Antagonists of Fungal Pathogens Also Control Root-Knot Nematodes by Induced Systemic Resistance of Tomato Plants. *PLoS ONE* 9(2): e90402. doi:10.1371/journal.pone.0090402
- Antoniou, A., Tsolakidou, M.D., Stringlis, I.A., Pantelides, I.S. 2017.  
Rhizosphere Microbiome Recruited from a Suppressive Compost Improves Plant Fitness and Increases Protection against Vascular Wilt Pathogens of Tomato. *Front Plant Sci.* 29:2022
- de Boer, W. 2017.  
Upscaling of fungal–bacterial interactions: from the lab to the field. *Current Opinion in Microbiology*, 37, 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.03.007>
- Bonanomi, G., Antignani, V., Pane, C., Scala, F. 2007.  
Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. *Journal of Plant Pathology*. 89: 325-340
- Bubici, G. 2018.  
*Streptomyces* spp. as biocontrol agents against *Fusarium* species. *CAB Reviews Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources*. 13. 10.1079/PAVSNR201813050.
- Burketova, L., Trda, L., Ott, P. G., Valentova, O. 2015.  
Bio-based resistance inducers for sustainable plant protection against pathogens. *Biotechnology Advances*, Volume 33, Issue 6, Part 2
- Chérif, M., Benhamou, N., Menzies, J.G., Bélanger, R.R. 1992.  
Silicon induced resistance in cucumber plants against *Pythium ultimum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 41:411-425
- Chowdhury, S.P., Dietel, K., Rändler, M., Schmid, M., Junge, H, *et al.* 2013.  
Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 on Lettuce Growth and Health under Pathogen Pressure and Its Impact on the Rhizosphere Bacterial Community. *PLoS ONE* 8(7): e68818.
- Coskun, D., Deshmukh, R., Sonah, H., Menzies, J.G., Reynolds, O., Ma, J.F., Kronzucker, H. J., Bélanger, R.R. 2019.  
The controversies of silicon's role in plant biology. *New Phytol.* 221:67-85
- Fira, D., Dimkić, I., Berić, T., Lozo, J., Stanković, S. 2018.  
Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. *Journal of Biotechnology*. 285. 44–55. 10.1016/j.jbiotec.2018.07.044.
- Fuchs, J.G., Hedrich, T., Hofer, V., Koller, M., Oberhaensli, T., Ribera Regal, J., Tamm, L., Thuerig, B., Schwarze, F.W.M.R. and Herforth-Rahmé, J. 2017.  
Development of disease-suppressive organic growing media. *Acta Hort.* 1164, 181-188
- Gilardi, G., Pugliese, M., Gullino, M., Garibaldi, A. 2018.  
Nursery treatments with resistant inducers, soil amendments and biocontrol agents for the management of the *Fusarium* wilt of lettuce under glasshouse and field conditions. *Journal of Phytopathology*. 167. 10.1111/jph.12778.
- Gómez Expósito, R., de Bruijn, I., Postma, J., Raaijmakers, J. M. 2017.  
Current Insights into the Role of Rhizosphere Bacteria in Disease Suppressive Soils. *Frontiers in microbiology*, 8, 2529. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02529>
- Graber, E.R., Frenkel, O., Jaiswal, A.K., Elad Y. 2014.  
How may biochar influence severity of diseases caused by soilborne pathogens? *Carbon Management*, 5:2, 169-183
- Grunert, O., Hernandez-Sanabria, E., Vilchez-Vargas, R. *et al.* 2016.  
Mineral and organic growing media have distinct community structure, stability and functionality in soilless culture systems. *Sci Rep* 6, 18837
- Hoitink, H.A.J., Stone, A.G., Han, D.Y. 1997.  
Suppression of diseases by composts. *HortScience* 32, 184–187.
- Jaiswal, A. K.; Elad, Y.; Graber, E. R.; Frenkel, O. 2014.  
*Rhizoctonia solani* suppression and plant growth promotion in cucumber as affected by biochar pyrolysis temperature, feedstock and concentration, *Soil Biology & Biochemistry* 69: 110–118.
- Jaiswal, A., Elad, Y., Cytryn, E., Graber, E., Frenkel, O. 2018.  
Activating biochar by manipulating the bacterial and fungal microbiome through pre-conditioning. *New Phytologist*. 219. 10.1111/nph.15042.

- Katan, J. 2017.  
Diseases caused by soilborne pathogens: Biology, management and challenges. *Journal of Plant Pathology*. 99. 305-315. 10.4454/jpp.v99i2.3862.
- Kavroulakis, N., Ntougias, S., Besi, M.I., Katsou, P., Damaskinou, A., Ehaliotis, C., Zervakis, G.I., Papadopoulou, K.K. 2010.  
Antagonistic bacteria of composted agro-industrial residues exhibit antibiosis against soil-borne fungal plant pathogens and protection of tomato plants from *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* *Plant Soil* 333: 233. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0338-x>
- Köberl, M., Ramadan, E.M., Adam, M., Cardinale, M., Hallmann, J., Heuer, H., 2013.  
Bacillus and Streptomyces were selected as broad-spectrum antagonists against soilborne pathogens from arid areas in Egypt. *FEMS Microbiol Lett.* 342(2):168–78.
- Mazzola, M., Freilich, S. 2016.  
Prospects for Biological Soilborne Disease Control: Application of Indigenous Versus Synthetic Microbiomes. *Phytopathology*. 107. 10.1094/PHYTO-09-16-0330-RVW.
- Montagne, V., Charpentier, S., Cannavo, P., Capiiaux, H., Grosbellet, C., Lebeau, T. 2015.  
Structure and activity of spontaneous fungal communities in organic substrates used for soilless crops, *Scientia Horticulturae*, Volume 192: 148-157
- Montanari, M., Ventura, M., Innocenti, G. 2004.  
Exploitation of spent mushroom compost in biological control against Fusarium wilt disease. *IOBC/WPRS Bull.* 27: 247-250.
- Panth, M., Hassler, S.C., Baysal-Gurel, F. 2020.  
Methods for Management of Soilborne Diseases in Crop Production. *Agriculture* 2020, 10, 16.
- Pieterse, C., Zamioudis, C., Berendsen, R., Weller, D., van Wees, S., Bakker, P. 2014.  
Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes. *Annual review of phytopathology*. 52. 347-375.
- Postma, J., Nijhuis, E. 2019.  
Pseudomonas chlororaphis and organic amendments controlling Pythium infection in tomato. *European Journal of Plant Pathology*. 10.1007/s10658-019-01743-w.
- Postma, J., Stevens, L. H., Wieggers, G. L., Davelaar, E., Nijhuis, E.H. 2009.  
Biological control of Pythium aphanidermatum in cucumber with a combined application of Lysobacter enzymogenes strain 3.1T8 and chitosan. *Biological Control*, 48: 301-309
- Poudel, R., Jumpponen, A., Schlatter, D. C., Paulitz, T. C., McSpadden, Gardener, B. B., Kinkel, L. L., Garrett, K. A. 2016.  
Microbiome networks: A systems framework for identifying candidate microbial assemblages for disease management. *Phytopathology* 106:1083-1096.
- Raaijmakers, J.M., Paulitz, T.C., Steinberg, C., Alabouvette, C., Moëgne-Loccoz, Y. 2009.  
The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant Soil* 321: 341–36
- Ribera, J., Gandía, M., Marcos, J. F., Bas, M., Fink, S., & Schwarze, F. 2017.  
Effect of Trichoderma-enriched organic charcoal in the integrated wood protection strategy. *PLoS one*, 12(8), e0183004. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183004>
- Schlatter, D., Kinkel, L., Thomashow, L., Weller, D., Paulitz, T. 2017.  
Disease Suppressive Soils: New Insights from the Soil Microbiome. *Phytopathology* 107: 1284-1297
- Tyc, O., van den Berg, M., Gerards, S., van Veen, J. A., Raaijmakers, J. M., de Boer, W., & Garbeva, P. 2014.  
Impact of interspecific interactions on antimicrobial activity among soil bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 5, 567.
- van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J., and Urbaneja, A. 2018.  
Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl* 63, 39–59. doi: 10.1007/s10526-017-9801-4
- Wang, M., Gao, L., Dong, S., Sun, Y., Shen, Q., & Guo, S. 2017.  
Role of silicon on plant–pathogen interactions. *Frontiers in Plant Science*, 8(5), 1–14.
- Wurff, A.W.G. van der, Streminska, M.A., Slooten, M.A. van, Eveleens-Clark, B.A., Blok, C., Messelink, G.J., Ludeking, D.J.W., Hofland-Zijlstra, J.D., Helm, F.P.M. van der, Janse, J., Wubben, J., Vaate, J. Bij de, Holtman, W., Oppedijk, B. 2013.  
Weerbaar substraat: praktijkproeven : ontwikkeling toets methodiek en eerste toetsing op gewasschade van tien concepten bij tomaat, komkommer en gerbera. Rapport / Wageningen UR Glastuinbouw : 1285



# Bijlage 1 Plattegrond kasproef lisanthus en tomaat

Tafel 24	Beh. 37-44	Lisianthus	Foeyoporum	Potgrond	Tafel 18	Beh. 29-36	Lisianthus	geen	Potgrond	Tafel 12	Beh. 37-44	Lisianthus	Foeyoporum	Potgrond	Tafel 6	Beh. 29-36	Lisianthus	geen	Potgrond
481	482	483	484	485	881	882	883	884	885	721	722	723	724	725	521	522	523	524	525
486	487	488	489	490	886	887	888	889	890	726	727	728	729	730	526	527	528	529	530
491	492	493	494	495	891	892	893	894	895	731	732	733	734	735	531	532	533	534	535
496	497	498	499	500	896	897	898	899	900	736	737	738	739	740	536	537	538	539	540
501	502	503	504	505	901	902	903	904	905	741	742	743	744	745	541	542	543	544	545
506	507	508	509	510	906	907	908	909	910	746	747	748	749	750	546	547	548	549	550
511	512	513	514	515	911	912	913	914	915	751	752	753	754	755	551	552	553	554	555
516	517	518	519	520	916	917	918	919	920	756	757	758	759	760	556	557	558	559	560
521	522	523	524	525	921	922	923	924	925	761	762	763	764	765	561	562	563	564	565
526	527	528	529	530	926	927	928	929	930	766	767	768	769	770	566	567	568	569	570
531	532	533	534	535	931	932	933	934	935	771	772	773	774	775	571	572	573	574	575
536	537	538	539	540	936	937	938	939	940	776	777	778	779	780	576	577	578	579	580
541	542	543	544	545	941	942	943	944	945	781	782	783	784	785	581	582	583	584	585
546	547	548	549	550	946	947	948	949	950	786	787	788	789	790	586	587	588	589	590
551	552	553	554	555	951	952	953	954	955	791	792	793	794	795	591	592	593	594	595
556	557	558	559	560	956	957	958	959	960	796	797	798	799	800	596	597	598	599	600
561	562	563	564	565	961	962	963	964	965	801	802	803	804	805	601	602	603	604	605
566	567	568	569	570	966	967	968	969	970	806	807	808	809	810	606	607	608	609	610
571	572	573	574	575	971	972	973	974	975	811	812	813	814	815	611	612	613	614	615
576	577	578	579	580	976	977	978	979	980	816	817	818	819	820	616	617	618	619	620
581	582	583	584	585	981	982	983	984	985	821	822	823	824	825	621	622	623	624	625
586	587	588	589	590	986	987	988	989	990	826	827	828	829	830	626	627	628	629	630
591	592	593	594	595	991	992	993	994	995	831	832	833	834	835	631	632	633	634	635
596	597	598	599	600	996	997	998	999	1000	836	837	838	839	840	636	637	638	639	640
601	602	603	604	605	1001	1002	1003	1004	1005	841	842	843	844	845	641	642	643	644	645
606	607	608	609	610	1006	1007	1008	1009	1010	846	847	848	849	850	646	647	648	649	650
611	612	613	614	615	1011	1012	1013	1014	1015	851	852	853	854	855	651	652	653	654	655
616	617	618	619	620	1016	1017	1018	1019	1020	856	857	858	859	860	656	657	658	659	660
621	622	623	624	625	1021	1022	1023	1024	1025	861	862	863	864	865	661	662	663	664	665
626	627	628	629	630	1026	1027	1028	1029	1030	866	867	868	869	870	666	667	668	669	670
631	632	633	634	635	1031	1032	1033	1034	1035	871	872	873	874	875	671	672	673	674	675
636	637	638	639	640	1036	1037	1038	1039	1040	876	877	878	879	880	676	677	678	679	680
641	642	643	644	645	1041	1042	1043	1044	1045	881	882	883	884	885	681	682	683	684	685
646	647	648	649	650	1046	1047	1048	1049	1050	886	887	888	889	890	686	687	688	689	690
651	652	653	654	655	1051	1052	1053	1054	1055	891	892	893	894	895	691	692	693	694	695
656	657	658	659	660	1056	1057	1058	1059	1060	896	897	898	899	900	696	697	698	699	700
661	662	663	664	665	1061	1062	1063	1064	1065	901	902	903	904	905	701	702	703	704	705
666	667	668	669	670	1066	1067	1068	1069	1070	906	907	908	909	910	706	707	708	709	710
671	672	673	674	675	1071	1072	1073	1074	1075	911	912	913	914	915	711	712	713	714	715
676	677	678	679	680	1076	1077	1078	1079	1080	916	917	918	919	920	716	717	718	719	720
681	682	683	684	685	1081	1082	1083	1084	1085	921	922	923	924	925	721	722	723	724	725
686	687	688	689	690	1086	1087	1088	1089	1090	926	927	928	929	930	726	727	728	729	730
691	692	693	694	695	1091	1092	1093	1094	1095	931	932	933	934	935	731	732	733	734	735
696	697	698	699	700	1096	1097	1098	1099	1100	936	937	938	939	940	736	737	738	739	740
701	702	703	704	705	1101	1102	1103	1104	1105	941	942	943	944	945	741	742	743	744	745
706	707	708	709	710	1106	1107	1108	1109	1110	946	947	948	949	950	746	747	748	749	750
711	712	713	714	715	1111	1112	1113	1114	1115	951	952	953	954	955	751	752	753	754	755
716	717	718	719	720	1116	1117	1118	1119	1120	956	957	958	959	960	756	757	758	759	760
721	722	723	724	725	1121	1122	1123	1124	1125	961	962	963	964	965	761	762	763	764	765
726	727	728	729	730	1126	1127	1128	1129	1130	966	967	968	969	970	766	767	768	769	770
731	732	733	734	735	1131	1132	1133	1134	1135	971	972	973	974	975	771	772	773	774	775
736	737	738	739	740	1136	1137	1138	1139	1140	976	977	978	979	980	776	777	778	779	780
741	742	743	744	745	1141	1142	1143	1144	1145	981	982	983	984	985	781	782	783	784	785
746	747	748	749	750	1146	1147	1148	1149	1150	986	987	988	989	990	786	787	788	789	790
751	752	753	754	755	1151	1152	1153	1154	1155	991	992	993	994	995	791	792	793	794	795
756	757	758	759	760	1156	1157	1158	1159	1160	996	997	998	999	1000	796	797	798	799	800
761	762	763	764	765	1161	1162	1163	1164	1165	1001	1002	1003	1004	1005	801	802	803	804	805
766	767	768	769	770	1166	1167	1168	1169	1170	1006	1007	1008	1009	1010	806	807	808	809	810
771	772	773	774	775	1171	1172	1173	1174	1175	1011	1012	1013	1014	1015	811	812	813	814	815
776	777	778	779	780	1176	1177	1178	1179	1180	1016	1017	1018	1019	1020	816	817	818	819	820
781	782	783	784	785	1181	1182	1183	1184	1185	1021	1022	1023	1024	1025	821	822	823	824	825
786	787	788	789	790	1186	1187	1188	1189	1190	1026	1027	1028	1029	1030	826	827	828	829	830
791	792	793	794	795	1191	1192	1193	1194	1195	1031	1032	1033	1034	1035	831	832	833	834	835
796	797	798	799	800	1196	1197	1198	1199	1200	1036	1037	1038	1039	1040	836	837	838	839	840
801	802	803	804	805	1201	1202	1203	1204	1205	1041	1042	1043	1044	1045	841	842	843	844	845
806	807	808	809	810	1206	1207	1208	1209	1210	1046	1047	1048	1049	1050	846	847	848	849	850
811	812	813	814	815	1211	1212	1213	1214	1215	1051	1052	1053	1054	1055	851	852	853	854	855
816	817	818	819	820	1216	1217	1218	1219	1220	1056	1057	1058	1059	1060	856	857	858	859	860
821	822	823	824	825	1221	1222	1223	1224	1225	1061	1062	1063	1064	1065	861	862	863	864	



# Bijlage 2 Productinformatie proef lisianthus en tomaat

## Compostthee

<b>Werkzame stof</b>	Mengsel van positieve micro-organismen
<b>Beschrijving</b>	Mix van natuurlijke voedingsstoffen en een geconcentreerd mengsel van positieve micro-organismen die onder natuurlijke omstandigheden in de bodem voorkomen.
<b>Dosering</b>	0,089% (v/v)
<b>Toediening</b>	Toevoegen aan steenwol
<b>Frequentie</b>	Bij inzet proef en wekelijks vers extract

## *Bacillus amyloliquefaciens* QST713

<b>Werkzame stof</b>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> stam QST 713 (10 <sup>9</sup> KVE/g)
<b>Beschrijving</b>	Een van nature in de bodem voorkomende bacterie en heeft een brede werking tegen schimmels.
<b>Dosering</b>	10 <sup>5</sup> KVE/g substraat
<b>Toediening</b>	Toevoegen aan steenwol, kokos of potgrond
<b>Frequentie</b>	2x: bij inzet proef en week daarna

## *Trichoderma asperellum* T34

<b>Werkzame stof</b>	<i>Trichoderma asperellum</i> stam T34 (10 <sup>9</sup> KVE/g)
<b>Beschrijving</b>	<i>T. asperellum</i> stam T34 koloniseert de wortels en vormt een barrière tegen ziekteverwekkende schimmels en activeert het afweermechanisme van de plant.
<b>Dosering</b>	Steenwol: 0,005 g/L substraat; kokos: 0,01 g/L substraat
<b>Toediening</b>	Toevoegen aan steenwol of kokos
<b>Frequentie</b>	Eenmalig bij inzet proef

## Orthokieselzuur (3%)

<b>Werkzame stof</b>	Silicium
<b>Beschrijving</b>	Versterkt de plantcelwand waardoor schimmels minder makkelijk kunnen infecteren en waarschijnlijk ook een rol in inductie van geïnduceerde resistentie van de plant
<b>Dosering</b>	0,3 mL van 100x verdunning per pot
<b>Toediening</b>	Toevoegen aan steenwol, kokos of potgrond
<b>Frequentie</b>	bij inzet proef en 2x wekelijks (lisianthus); bij inzet proef en 4x wekelijks (tomaat);

## *P. fluorescens* WCS 417

<b>Werkzame stof</b>	<i>P. fluorescens</i> stam WCS 417
<b>Beschrijving</b>	Rhizobacterium die systemische resistentie induceert en heeft antagonistische eigenschappen tegen (plantpathogene) bodemorganismen.
<b>Dosering</b>	10 <sup>6</sup> KVE/mL substraat
<b>Toediening</b>	Toevoegen aan steenwol, kokos of potgrond
<b>Frequentie</b>	Eenmalig bij inzet proef

## COS-OGA

<b>Werkzame stof</b>	COS-OGA
<b>Beschrijving</b>	Elicitor van cationic chitosan oligomeren (COS) met anionic pectin oligomeren (OGA) die immuunsysteem van de plant activeert
<b>Dosering</b>	2 L/ha (750-1000 L spuitvloeistof)
<b>Toediening</b>	Bespuiting
<b>Frequentie</b>	Bij inzet proef en 7-10 dagen tussen 2 behandelingen, totaal: 3 toepassingen

### **Schimmeldominante mulch**

<b>Werkzame stof</b>	Gecomposteerd hout
<b>Beschrijving</b>	Houtsnippers bevatten lignine wat saprotrofe schimmels kunnen gebruiken als voeding. Hierdoor wordt concurrentie voor wortel-exudaten verhoogd.
<b>Dosering</b>	10% (v/v); C:N ratio van 15 door toevoegen ammonium-nitraat
<b>Toediening</b>	Toevoegen aan kokos of potgrond
<b>Frequentie</b>	Eenmalig bij inzet proef (samen met ammonium-nitraat)

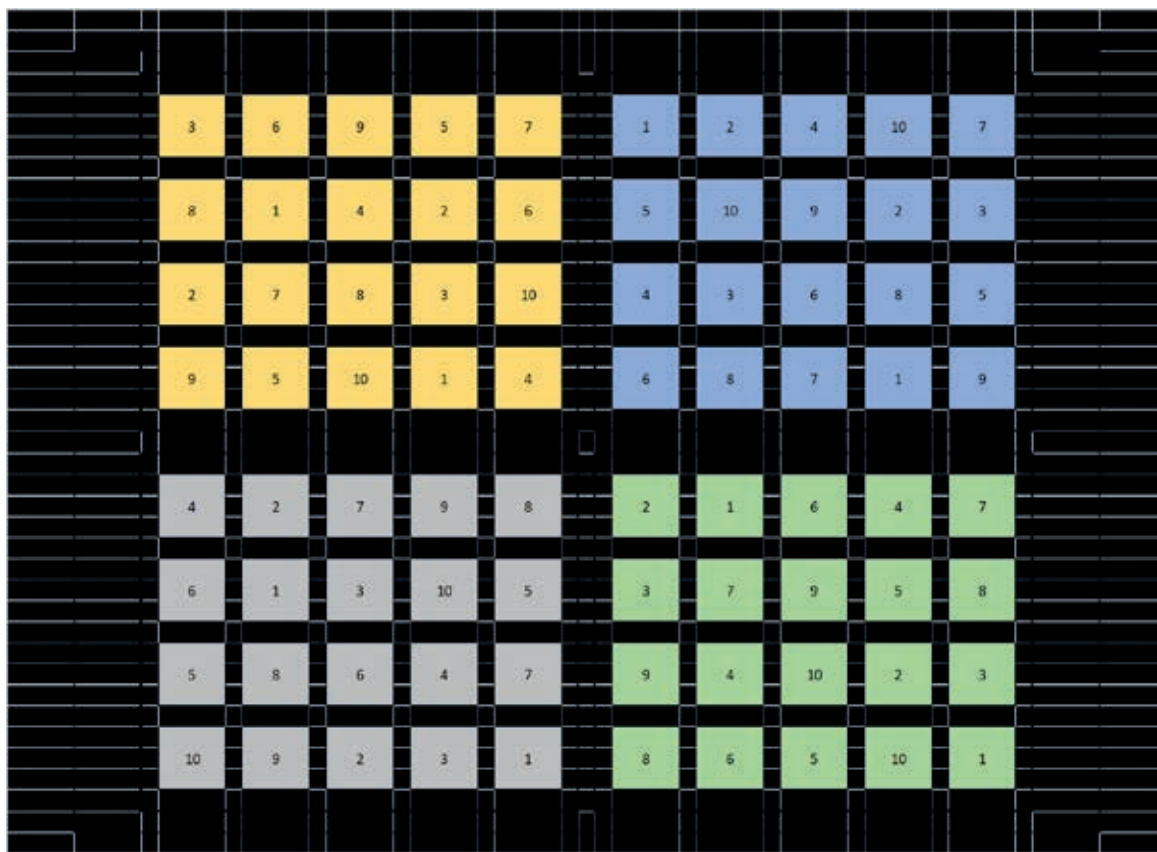
### **Champost**

<b>Werkzame stof</b>	onbekend (waarschijnlijk chitine en antagonistische micro-organismen)
<b>Beschrijving</b>	Bevat een hoog organisch stofgehalte wat bodemorganismen voedt en activeert
<b>Dosering</b>	10% (v/v)
<b>Toediening</b>	Toevoegen aan potgrond
<b>Frequentie</b>	Eenmalig bij inzet proef

### **Houtfractie + *Trichoderma afroharzianum* T22**

<b>Werkzame stof</b>	<i>Trichoderma afroharzianum</i> stam T22
<b>Beschrijving</b>	Verhoogt de plantweerbaarheid en verkleint de kans op kolonisatie door pathogenen
<b>Dosering</b>	1% (v/v)
<b>Toediening</b>	Toevoegen aan potgrond
<b>Frequentie</b>	Eenmalig bij inzet proef

# Bijlage 3 Plattegrond kasproef komkommer



	Blok 1
	Blok 2
	Blok 3
	Blok 4

steenwol substraat		kokos substraat	
nr	Behandeling	nr	Behandeling
1	Negatieve controle	1	Negatieve controle
2	Positieve controle	2	Positieve controle
3	Trichoderma afroharzianum T22	3	Trichoderma afroharzianum T22
4	biochar	4	biochar
5	chitosan hydrochloride	5	champost
6	Bacillus amyloliquefaciens QST713	6	Bacillus amyloliquefaciens QST713
7	Streptomyces k61	7	Streptomyces k61
8	Trichoderma asperellum T34 T22	8	Trichoderma asperellum T34 T22
9	kaliumpetasilicaat	9	kaliumpetasilicaat
10	COS-OGA	10	COS-OGA



## Bijlage 4 Productinformatie proef komkommer

### ***Trichoderma asperellum* T34**

<b>Werkzame stof</b>	<i>Trichoderma asperellum</i> stam T34 (10 <sup>9</sup> KVE/g)
<b>Beschrijving</b>	<i>T. asperellum</i> stam T34 koloniseert de wortels en vormt een barrière tegen ziekteverwekkende schimmels en activeert het afweermechanisme van de plant.
<b>Dosering</b>	10 <sup>4</sup> kve/mL substraat
<b>Toediening</b>	Toevoegen aan steenwol
<b>Frequentie</b>	Eenmalig bij inzet proef

### ***Trichoderma afroharzianum* T22**

<b>Werkzame stof</b>	<i>Trichoderma afroharzianum</i> stam T22 (10 <sup>9</sup> kve/g)
<b>Beschrijving</b>	Verhoogt de plantweerbaarheid en verkleint de kans op kolonisatie door pathogenen
<b>Dosering</b>	10 <sup>4</sup> kve/mL substraat
<b>Toediening</b>	Toevoegen aan steenwol
<b>Frequentie</b>	Eenmalig bij inzet proef

### ***Bacillus amyloliquefaciens* QST713**

<b>Werkzame stof</b>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> stam QST 713 (10 <sup>9</sup> KVE/g)
<b>Beschrijving</b>	Een van nature in de bodem voorkomende bacterie en heeft een brede werking tegen schimmels.
<b>Dosering</b>	10 <sup>5</sup> KVE/g substraat
<b>Toediening</b>	Toevoegen aan steenwol
<b>Frequentie</b>	2x: bij inzet proef en week daarna

### ***Streptomyces k61***

<b>Werkzame stof</b>	<i>Streptomyces k61</i> (10 <sup>8</sup> KVE/g)
<b>Beschrijving</b>	Een van nature in de bodem voorkomende bacterie en heeft een brede werking tegen schimmels.
<b>Dosering</b>	10 <sup>5</sup> KVE/g substraat
<b>Toediening</b>	Toevoegen aan steenwol
<b>Frequentie</b>	2x: bij inzet proef en week daarna

### **COS-OGA**

<b>Werkzame stof</b>	COS-OGA
<b>Beschrijving</b>	Elicitor van cationic chitosan oligomeren (COS) met anionic pectin oligomeren (OGA) die immuunsysteem van de plant activeert
<b>Dosering</b>	2 L/ha (750-1000 L spuitvloeistof)
<b>Toediening</b>	Bespuiting
<b>Frequentie</b>	Bij inzet proef en 7-10 dagen tussen 2 behandelingen, totaal: 3 toepassingen

### **Chitosan hydrochloride (2.5%)**

<b>Werkzame stof</b>	chitosan hydrochloride
<b>Beschrijving</b>	Elicitor van geïnduceerde resistentie in planten, mogelijk direct effect op plantpathogene schimmels en oömyceten
<b>Dosering</b>	0.01% eindconcentratie in blok
<b>Toediening</b>	aangieten
<b>Frequentie</b>	wekelijks

**Kaliummetasilicaat**

<b>Werkzame stof</b>	kalium metasilicaat
<b>Beschrijving</b>	Elicitor van geïnduceerde resistentie in planten, versteviging van celwand
<b>Dosering</b>	0.5 mmol eindconcentratie in blok
<b>Toediening</b>	aangieten
<b>Frequentie</b>	wekelijks

**Champost**

<b>Werkzame stof</b>	onbekend (waarschijnlijk chitine en antagonistische micro-organismen)
<b>Beschrijving</b>	Bevat een hoog organisch stofgehalte wat bodemorganismen voedt en activeert
<b>Dosering</b>	8g
<b>Toediening</b>	strooien op plantgat
<b>Frequentie</b>	Eenmalig bij inzet proef

**Biochar**

<b>Werkzame stof</b>	onbekend
<b>Beschrijving</b>	product van pyrolyse van houtachtig organisch materiaal
<b>Dosering</b>	4.5 g onder blok
<b>Toediening</b>	strooien op plantgat
<b>Frequentie</b>	Eenmalig bij inzet proef



# Bijlage 5 Foto's van de proeven

Proef Lisianthus en *Fusarium*

**Begin van de proef**



**Voorbeeld van ziekte symptomen**



## Proef Tomaat en *Fusarium*

### Teelt (week 4)



### Voorbeeld van ziekte symptomen





# Proef komkommer en *Pythium*

## Aangetaste planten



verwelking



voetrot





## Bijlage 6 Substraat analyse lisianthus

*Substraat analyse (1:2, wateroplossbare, plantbeschikbare nutriënten) Begin experiment.*

Begin experiment	Bacillus	Pseudo- monas	Kernmix	Champost	Mulch	Silicium	Onbe- handeld
pH	5.5	5.7	5.6	6.1	5.6	5.5	5.4
EC (ms/cm)	0.65	0.61	0.62	1.9	3.1	0.65	0.5
NH <sub>4</sub> (mmol/l)	0.4	0.6	0.3	< 0.1	16	0.5	0.9
K (mmol/l)	1	1	1.1	4.9	1.8	1	0.8
Na (mmol/l)	0.8	0.7	0.7	1.8	0.9	0.8	0.5
Ca (mmol/l)	1.3	1	1.2	5.7	2.7	1.2	0.8
Mg (mmol/l)	0.6	0.5	0.6	1.9	1.3	0.6	0.4
Si (mmol/l)	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	< 0.1
NO <sub>3</sub> (mmol/l)	2.5	2	2.3	3.8	22.8	2.3	1.3
Cl (mmol/l)	0.4	0.5	0.4	1.8	0.6	0.4	0.2
SO <sub>4</sub> (mmol/l)	1.1	1	1	6.8	1.3	1.1	1
HCO <sub>3</sub> (mmol/l)	0.3	0.2	0.2	0.6	0.2	0.3	0.3
P (mmol/l)	0.45	0.45	0.45	0.95	0.35	0.5	0.55
Fe (µmol/l)	7.3	7	6.9	3.3	6.7	7.2	6.8
Mn (µmol/l)	2.5	2.1	2.5	8.5	7	2.4	1.6
Zn (µmol/l)	0.5	0.7	0.7	3	1.1	0.6	0.6
B (µmol/l)	< 4	< 4	4	< 4	4	< 4	< 4
Cu (µmol/l)	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Mo (µmol/l)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.14	< 0.1	< 0.1	< 0.1

Substraat analyse (1:2, wateroplossbare; plantbeschikbare nutriënten) Einde experiment + *F. oxysporum* inoculatie.

Eind experiment	Bacillus met FO	Pseudo-monas met FO	Kernmix met FO	Champost met FO	Mulch met FO	Silicium met FO	FADO met FO	Onbehandeld met FO
pH	6.1	6.2	6.3	6.9	4.2	6.2	6.1	6
EC (ms/cm)	1.2	1.3	0.94	2.4	2.7	0.94	1.1	1.1
NH4 (mmol/l)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
K (mmol/l)	4	4.3	3.7	7.6	4.6	3.5	4.2	4.1
Na (mmol/l)	1.2	1	0.8	2.1	1.1	0.9	1	0.9
Ca (mmol/l)	2.1	2.1	1.3	5.4	6.8	1.3	1.7	1.7
Mg (mmol/l)	1.3	1.3	0.8	2.2	2.9	0.8	1	1
Si (mmol/l)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.2	0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
NO3 (mmol/l)	5.1	5.1	3.4	5.5	19.8	3.7	4.7	4.7
Cl (mmol/l)	0.5	0.5	0.4	1.3	0.5	0.5	0.5	0.4
SO4 (mmol/l)	2.3	2.3	1.5	7.8	1.9	1.4	2	1.9
HCO <sub>3</sub> (mmol/l)	0.3	0.3	0.3	0.9	< 0.1	0.3	0.3	0.3
P (mmol/l)	0.85	0.9	0.6	0.8	0.85	0.55	0.75	0.75
Fe (µmol/l)	5.9	7.6	3.5	3.1	15.6	4.2	4.8	4.8
Mn (µmol/l)	0.4	0.6	0.2	0.4	28.9	0.4	0.6	0.4
Zn (µmol/l)	1.5	2.4	1.2	1.5	3.5	1.6	2.2	1.9
B (µmol/l)	9	10	8	5	17	9	9	10
Cu (µmol/l)	0.3	0.3	0.2	0.3	0.3	0.2	0.3	0.3
Mo (µmol/l)	< 0.1	0.14	0.14	0.24	< 0.1	0.13	0.11	< 0.1

Substraat analyse (1:2, wateroplossbare; plantbeschikbare nutriënten) Einde experiment zonder inoculatie met *F. oxysporum*.

Eind experiment	Bacillus - FO	Pseudo- monas - FO	Kernmix - FO	Champost - FO	Mulch - FO	Silicium - FO	FADO - FO	Onbe- handeld - FO
pH	6.1	6.2	6.3	6.4	4.2	6	5.9	6.1
EC (ms/cm)	1.1	1.1	1.1	2.8	3.1	1	1.4	1
NH4 (mmol/l)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	1.9	< 0.1	< 0.1	< 0.1
K (mmol/l)	3.8	4	4.5	8.6	4.6	3.7	4.2	3.8
Na (mmol/l)	0.9	0.8	0.8	2.2	1	0.7	1.1	0.8
Ca (mmol/l)	1.9	1.6	1.7	7.2	7.8	1.6	2.6	1.5
Mg (mmol/l)	1.1	1	1.1	3	3.3	1	1.6	0.9
Si (mmol/l)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.1	0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
NO3 (mmol/l)	4.5	4.5	4.4	7.9	23.1	4.3	5.7	3.7
Cl (mmol/l)	0.3	0.3	0.3	1.5	0.5	0.4	0.4	0.3
SO4 (mmol/l)	2.2	1.8	2	9.2	2.2	1.7	2.7	1.9
HCO <sub>3</sub> (mmol/l)	0.3	0.3	0.5	0.6	< 0.1	0.3	0.3	0.2
P (mmol/l)	0.75	0.65	0.8	1.2	0.85	0.65	0.95	0.65
Fe (µmol/l)	6.4	4.8	6.1	3.3	15.5	5.1	9.2	5.8
Mn (µmol/l)	0.4	0.2	0.2	0.7	34.7	0.2	0.8	0.2
Zn (µmol/l)	1.6	1.3	1.5	1.7	3.4	1.2	2.3	1.5
B (µmol/l)	8	8	9	7	16	8	9	8
Cu (µmol/l)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.4	0.3
Mo (µmol/l)	0.13	0.13	0.18	0.14	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.12





# Bijlage 7 Plantsapanalyse micro-elementen en fosfor (P) in tomaat

*Plantsap analyse micro-elementen en P in tomaat (steenwol).*

	P ppm	Si ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm	B ppm	Cu ppm	Mo ppm
controle	406.83	9.17	1.02	2.10	5.11	3.17	1.21	0.12
FADO	432.40	8.29	1.08	2.10	5.27	3.01	1.57	0.10
Silicium	455.94	9.49	0.88	2.31	3.52	2.94	1.31	0.10
Compostthee	476.82	9.05	0.96	2.11	4.46	2.95	1.57	0.09
T. asperellum	409.63	8.33	0.90	1.80	3.92	2.66	1.30	0.15
Bacillus	435.50	9.08	0.99	2.52	4.48	3.04	1.54	0.10
Pseudomonas	405.18	9.36	0.86	2.41	3.81	3.12	1.34	0.09
controle+ Fol	504.27	8.96	0.91	2.24	4.73	2.61	1.89	0.09
FADO+ Fol	458.73	7.40	1.00	2.52	5.15	3.05	1.72	0.09
Silicium+ Fol	471.67	8.39	0.96	2.42	4.77	2.81	1.90	0.17
Compostthee+ Fol	445.43	7.65	0.89	2.03	5.12	3.07	1.78	0.12
T. asperellum+ Fol	486.13	7.95	0.81	1.85	4.62	2.96	1.67	0.10
Bacillus+ Fol	478.24	8.89	1.07	2.38	6.33	2.91	1.96	0.10
Pseudomonas+ Fol	461.52	7.72	0.84	2.00	5.18	2.34	1.81	0.09

*Plantsap analyse micro-elementen en P in tomaat (kokos).*

	P ppm	Si ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm	B ppm	Cu ppm	Mo ppm
Controle	869.63	21.35	1.14	7.63	2.51	3.23	1.87	0.07
FADO	892.89	20.31	6.18	6.16	2.21	2.50	1.97	0.02
Silicium	868.49	20.97	3.74	6.40	2.08	2.35	2.14	0.01
Mulch	944.56	13.01	3.64	7.10	2.93	3.51	1.43	0.01
T. asperellum	913.56	20.33	3.92	6.62	2.20	2.19	2.13	0.04
Bacillus	851.39	20.65	2.99	7.97	2.16	2.20	2.09	0.02
Pseudomonas	959.28	19.87	4.00	6.45	2.23	2.72	2.32	0.01
Controle+ Fol	552.19	14.21	3.93	4.06	2.99	3.53	1.95	0.02
FADO+ Fol	592.95	14.35	2.89	4.33	2.38	3.37	1.60	0.01
Silicium+ Fol	494.81	12.85	3.08	3.89	2.51	3.01	1.82	0.01
Mulch+ Fol	745.76	11.07	3.11	6.76	2.69	3.73	1.28	0.01
T. asperellum+ Fol	610.03	16.29	2.26	4.35	1.95	3.73	1.77	0.01
Bacillus+ Fol	508.40	12.42	3.02	3.74	2.31	3.46	1.46	0.01
Pseudomonas+ Fol	577.02	12.32	3.06	3.24	2.33	2.32	1.56	0.00









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-943

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, 5.000 medewerkers en 12.000 studenten 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.