



Green Challenges

Bestrijding van *Meloidogyne* spp. (wortelknobbelaaltjes) in chrysant met biologische bestrijdingsmiddelen en biostimulanten

Jonathan R. De Long, Marta Streminska, Ariyati Persijn,
Ming Huisman en Caroline van der Salm

Rapport WPR-944

Referaat

Wortelknobbelaaltjes (WKA; *Meloidogyne* spp.) zijn een wereldwijd probleem in de teelt van verschillende gewassen en veroorzaken problemen in de grondgebonden teelt van o.a. chrysanten in de kassen in Nederland. Om WKA te bestrijden wordt gewoonlijk de grond elke 5-6 teeltcycli gestoomd. Maar deze methode is duur, kost veel energie en verlaagd de weerbaarheid van de bodem tegen andere ziekten en plagen. In deze proef hebben we biologische middelen en biostimulanten afzonderlijk en in combinaties toegepast om te bepalen of er een interactie of een additief effect is tegen WKA en de schade die ze in de gewas chrysant veroorzaakt. Het gebruik van de biologische bestrijdingsmiddelen van knoflook extracten en de basisstof chitosan HCl en ook de biostimulanten: zeeminerale en plantenolie hebben mogelijk positieve effecten tegen WKA. Een aantal van de behandelingen veroorzaakte een daling van het plantengewicht, b.v. de reststroom insectkweek (ook interacties tussen de reststroom insectkweek + de chitosan HCl), oxamyl, en ook oxamyl interacties met een paar van de biostimulanten interactie behandelingen, maar deze daling was gering.

Abstract

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are a worldwide problem in many crops. These nematodes are a particular problem in glasshouse-grown chrysanthemums. In order to combat root-knot nematodes in the glasshouse, the soil is typically steamed every 5-6 growth cycles. However, this method is expensive, environmentally unfriendly and reduces the resistance and resilience of the soil against other pathogens and pests. In this experiment we added different biological pesticides and basic substances and biostimulants both individually and in combination in order to determine if there is an interactive or additive effect against damage caused by root-knot nematodes in chrysanthemums. We found that the use of the biological pesticide derived from garlic extract and the basic substance chitosan HCl and biostimulants comprised of sea minerals and plant oils reduced the damage to chrysanthemum caused by root-knot nematodes. A number of the treatments caused a reduction in plant biomass (e.g., soldier fly waste products and their interaction with chitosan HCl and interactions between the chemical nematicide oxamyl and several of the biostimulants). However, this reduction was minimal.

Rapportgegevens

Rapport WPR-944

Projectnummer: 3742201103

PT nummer: KV1406 082- PT 15137

DOI nummer: 10.18174/522558

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.

Kamer van Koophandel nr.: 09098104

BTW nr.: NL 8113.83.696.B07

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

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

Adresgegevens

Wageningen University & Research, BU Glastuinbouw

Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk

Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk

T +31 (0)317 48 56 06

Inhoud

	Woord vooraf	5
	Samenvatting	7
1	Inleiding	9
2	Methodiek	11
3	Resultaten	15
4	Conclusies en vervolg	21
	Literatuur	23
	Bijlage 1 De wortelknobbel-index	27
	Bijlage 2 Biovin product informatie	29

Woord vooraf

Dit onderzoek is uitgevoerd als onderdeel van de PPS Green Challenges (1406-082). We danken ook het praktijk chrysant bedrijf voor het leveren van de potgrond voor onze proef en alle verschillende bedrijven die de bestrijdingsmiddelen en biostimulanten hebben geleverd. We willen ook graag de collega's Kees Scheffers en John Trompert bedanken voor het verzorgen van de teelt. Eindelijk we willen graag bedankt Ruben Sturkenboom, Anna Huisman, Anna Okula, Ilaria Giola en Martijn Verkuilen voor hun hulp met de oogst.

Samenvatting

Wortelknobbelaaltjes (WKA; *Meloidogyne* spp.) zijn een wereldwijd probleem in de teelt van verschillende gewassen en veroorzaken problemen in de grondgebonden teelt van o.a. chrysanten in de kassen in Nederland. Om WKA te bestrijden wordt gewoonlijk de grond elke 5-6 teeltcycli gestoomd. Maar deze methode is duur, kost veel energie en verlaagd de weerbaarheid van de bodem tegen andere ziekten en plagen. In deze proef hebben we biologische middelen en biostimulanten afzonderlijk en in combinaties toegepast om te bepalen of er een interactie of een additief effect is tegen WKA en de schade die ze in de gewas chrysant veroorzaakt.

Het gebruik van de biologische bestrijdingsmiddelen van knoflook extracten en de basisstof chitosan HCl en ook de biostimulanten: zeeminerale en plantenolie hebben mogelijk positieve effecten tegen WKA. Deze effecten zijn mogelijk veroorzaakt door direct effecten tegen de aaltjes of door indirect effecten zoals verbetering van de weerbaarheid van de planten. Een aantal van de behandelingen veroorzaakte een daling van de plantengewicht, de reststroom insectkweek (ook interacties tussen de reststroom insectkweek + de chitosan HCl), oxamyl, en ook oxamyl interacties met een paar van de biostimulanten behandelingen maar deze daling was gering. Over het algemeen hebben de biostimulanten de aantallen in bodem levende nematoden verhoogd met de mogelijkheid dat dit leidt tot een snellere nutriëntenkringloop want nematoden hebben een groot effect op nutriënten in de bodem door hun uitwerpselen. De volgende stap is om te bepalen of deze middelen een sterker effect hebben als zij gedurende een aantal teeltcycli gebruikt worden. Het is ook belangrijk om te bepalen of deze middelen hetzelfde effecten hebben op andere cultivars van chrysant.

1 Inleiding

Wortelknobbelaaltjes (WKA; *Meloidogyne* spp.) zijn een wereldwijd probleem in de teelt van verschillende gewassen (Jones, Haegeman *et al.* 2013). Er zijn circa 100 soorten van *Meloidogyne* spp. in de wereld bekend (Jones, Haegeman *et al.* 2013) en vaak is elke (sub)soort een specifiek plaag voor een bepaalde plantensoort (Moens, Perry *et al.* 2009). In Europa hebben we circa 20 geïdentificeerde soorten. In Nederland zijn WKA op dit moment een van de grote problemen in de teelt van chrysant in de kas (Amsing 2003, Amsing 2004). Om WKA te bestrijden wordt gewoonlijk de grond elke 5-6 teeltcycli gestoomd om WKA te beheersen. Maar deze methode kost veel energie: 3,5 m³/m² gas per keer dat de grond wordt gestoomd (van der Wurff, Blok *et al.* 2009). Deze methode is hierdoor duur, kost veel energie en verlaagd de weerbaarheid van de bodem tegen andere ziekten en plagen. Het gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen staat onder druk (d.w.z. ze worden afgebouwd) (Wesemael, Viaene *et al.* 2011, Donley 2019) en ook daarom is het belangrijk om andere oplossingen te vinden.

De levenscyclus van WKA bedraagt ongeveer 30 dagen (Ploeg and Maris 1999). Reproductie is meestal parthenogenetisch (ongeslachtelijk). Elke vrouwtje zet 200-500 eieren op het oppervlak van de wortels of binnen het galweefsel. De eieren kunnen onder extreme condities overleven (zelfs voor jaren) door hun fysiologische aanpassingen (van der Wurff 2010). Binnen de eieren ontwikkelt het nageslacht van de eerste stage juveniele tot de infectieve stage 2 (J2) juveniele en daarna komen de eieren uit (Jones, Haegeman *et al.* 2013). Het uitkomen hangt af van temperatuur en vochtigheid van de bodem. Alleen stage J2 kan planten infecteren. Het is belangrijk dat de J2 *Meloidogyne* spp. spoedig (binnen 14 dagen) een geschikte gastplant vinden (Moens, Perry *et al.* 2009). Als een gastplant is gevonden dringen de J2 juveniele de wortel binnen en induceren de aanmaak van zo genoemde "reuzencellen". Door de reuzencellen krijgen de nematoden koolhydraten van de plant en deze voederplaatsen leiden dan tot de vorming van wortelknobbels of gallen door hyperverveling van de cellen. Vanaf de begin van voeding van de wortels zijn de nematoden sedentair. Na ongeveer 14-16 meer dagen en na het doorlopen van de stadia van vervelling zijn de *Meloidogyne* spp. volwassen en begint de cyclus opnieuw (Moens, Perry *et al.* 2009).

Er zijn meerdere strategieën in ontwikkeling om WKA in de kas te bestrijden zonder stomen en/of chemische middelen. Biologische bestrijding door de toevoeging van antagonistische schimmels (b.v. *Purpureocillium lilacinum* strain 251) was succesvol in tomaten (Kiewnick and Sikora 2006, Dahlin, Eder *et al.* 2019) en een paar producten zijn al op de markt (b.v. BioAct Prime van Bayer). Maar deze middelen met schimmels zijn niet altijd effectief in chrysant (van der Wurff 2010). Verder liet het gebruik van knoflookextracten gunstige effecten zien tegen WKA in komkommer. De behandelingen leidde tot een reductie in wortelgallen en *Meloidogyne* stadium 2 juvenielen (J2) in de bodem (Al-Shalaby 2009). De toevoeging van chitine kan ook WKA bestrijden door een verhoging van het ammoniak gehalte in de bodem tot een niveau dat toxisch is voor nematoden (Spiegel, Chet *et al.* 1987) en ook door het stimuleren van micro-organismen die chitinase enzymen produceren die de eierschalen van nematoden oplossen en vervelling remmen (Akhtar and Alam 1993, Chen and Peng 2019).

Er is ook vooruitgang geboekt in de ontwikkeling van zogenoemde "groene producten" o.a. a) plantweerbaarheid verhogende stoffen, die natuurlijke resistentie van de plant tegen ziekten kunnen stimuleren (elicitors), b) basisstoffen, zoals chitosan HCl en c) bodemverbeteraars, die invloed hebben op aanwezigheid van de nuttige micro-organismen in de bodem. Plantenoliën hebben een veelbelovend effect laten zien tegen WKA in tomaten (Laquale, Candido *et al.* 2015). Reststromen van insectenweek kunnen ook de weerbaarheid van bodems verhogen door de chitinase activiteit te stimuleren via chitine afkomstig uit exoskeletten van de insecten (Pichyangkura and Chadchawan 2015). Bovendien lieten de eerdere proeven van WUR (vertrouwelijk rapport) en andere proeven zien dat toevoeging van zowel nematiciden als biostimulanten een grotere effect tegen WKA in tomaten kan creëren (Dahlin, Eder *et al.* 2019). Hoewel het bekend is dat biologische bestrijdingsmiddelen effecten op WKA in tomaten kunnen hebben en er mogelijk een interacties bestaan tussen beide middelen (Liu, Sun *et al.* 2014), is er veel minder bekend over hun effecten in andere gewassen zoals chrysant. Bovendien weten we niet of de interacties tussen biologische bestrijdingsmiddelen en biostimulanten ook nog andere voordelen voor chrysanten kunnen hebben.

In deze proef hebben we biologische middelen en biostimulanten afzonderlijk en gecombineerd toegepast om te bepalen of er een interactie is of een additief effect is tegen WKA en de schade die ze in de gewas chrysant veroorzaakt. Het doel van deze proef is te bepalen welke biologische bestrijdingsmiddelen en biostimulanten het meest effectief zijn om WKA te bestrijden. Om het effect van deze middelen te bepalen meten we het gewicht van de planten, de wortelknobbel index (WKI; details zie Methodiek en Bijlage 1) en het aantal van stadium 2 juvenielen (J2) *Meloidogyne* spp. in de bodem en de wortels van de chrysanten. We zullen ook het aantal en de voedingsgroepen van de andere vrij levende nematoden in de bodem vaststellen om te bepalen of de middelen (in het bijzonder de biostimulanten) een positieve invloed hebben op de hele nematodegemeenschap. De resultaten van deze experiment kunnen ons helpen om chrysanttelers te informeren, welke middelen kunnen worden gebruikt als alternatief voor chemische nematiciden en stomen.

2 Methodiek

In de uitgevoerde proef is onderzocht wat het effect is van verschillende biologische nematoden bestrijdingsmiddelen en biostimulanten op de schade door WKA in chrysant. We hebben drie nematiciden/ bestrijdingsmiddelen/basisstoffen gebruikt: een chemische (oxamyl), een biologische (knoflook extract) en een zogenoemde basisstof (d.w.z. een stof die al voor een ander doel op de markt is (bijvoorbeeld als voedingsmiddel), maar die ook als gewasbeschermingsmiddel werkt en gebruikt mag worden). We hebben ook vijf biostimulanten gebruikt: plantenoliën en extracten, reststromen van insectkweek, micro-organismen en zeemineralen. Als controle is een situatie zonder behandeling en ook een gesteriliseerd behandeling (d.w.z. het bodemleven was gedood, door een behandeling van 4 uur bij 70 graden in de autoclaaf) meegenomen. Elk chemisch en biologisch nematode bestrijdingsmiddel, de basisstof en elke biostimulant werden afzonderlijk gebruikt en ook elke chemische en biologische nematode bestrijdingsmiddel en basisstof werd samen met elke biostimulant gebruikt (totaal aantal behandelingen: 25; Tabel 1). Elke behandeling werd 40 keer herhaald. In totaal hadden we: 1 gesteriliseerd + 1 controle + 1 chemische bestrijdingsmiddel + 2 biologische bestrijdingsmiddelen + 5 biostimulanten + 15 combinatie behandelingen (d.w.z. elke nematicide samen met elke biostimulant) = 1.000 experimentele eenheden.

Tabel 1

De verschillende behandeling die in de proef werden gebruikt. Elke chemische en biologische nematode bestrijdingsmiddel en de basisstof en elke biostimulant worden afzonderlijk gebruikt en ook elke chemische en biologische nematode bestrijdingsmiddel en de basisstof worden samen met elke biostimulant gebruikt (totaal aantal behandelingen: 25). In de combinatie behandelingen was de toepassing van de middelen (d.w.z. het aantal van de middelen) dezelfde als in elke afzonderlijke behandeling.

Behandelingen (product naam)	Fabriek	Actief ingrediënt(en)	Beschrijving/ toepassing	Toepassing instructies
Gesteriliseerd	NA	NA	Gesteriliseerd met een autoclave werden	NA
Controle	NA	NA	Geen behandeling (besmet met WKA)	NA
Oxamyl (Vydate)	Corteva	Oxamyl (C ₇ H ₁₃ N ₃ O ₃ S)	commerciële chemische nematicide	0.04 g/ litre bodem/ pot/plant; bovenste laag
Knoflookextractie§	Anoniem	<i>Allium sativum</i> extractie	Biologische nematicide	0.04 g/ litre bodem/ pot/plant; bovenste laag
Chitosan HCl (DB Chitosan HCl)	De Broers	Chitin hydrochloride	Basisstof	50 ml/litre; 4 ml per plant
Micro-organismen (Biovin*)	Plant Health Cure	Micro-organismen (schimmels, bacteriën) en micronutriënten	Biostimulant/meststof	40 g/10 l soil; 1 litre bodem/ pot/plant
Plantaardige oliën	Anoniem	Verschillende plant oliën	Biostimulant	4 ml/litre; 4 ml per plant
Zeemineralen^	Anoniem	Ongezuiverd zeemineralen, zout	Biostimulant/meststof	0.5 g/litre; 4 ml per plant; elk 3 weken

Behandelingen (product naam)	Fabriek	Actief ingrediënt(en)	Beschrijving/ toepassing	Toepassing instructies
Plantenextracten (Nemater)	Pireco	Verschillende plantenextracten	Biostimulant	5 ml/litre; 5 ml per plant
Reststroom insectkweek (Flytilizer X)	Protix	Insecten huid, frass en voedingsvezels	Biostimulant	2 g/litre bodem/pot/ plant

§ Het knoflookextract bevat Allicin wat instabiel is en getransformeerd naar polysulfides is.

* Meer informatie over de actieve ingrediënten van Biovin staat in Bijlage 2.

^ Bevat: magnesium, calcium, zwavel, kalium, fosfor, stikstof, IJzer, borium, natrium, chloride en zoutkorrels.

De grond voor de proef is in November 2019 bemonsterd op een praktijkbedrijf . De telers gaven aan dat zij schade in de chrysanten hadden die door WKA veroorzaakt werd. Het aantal WKA in de bodem werd vast gesteld door extracties. Hiervoor werden op 12 November 2019 tien gehomogeniseerde monsters van 50 grams van de verse grond genomen en de nematoden werden met behulp van de Baermann trechter methode aan de grond onttrokken (European and Mediterranean Plant Protection Organization 2013). Vijf extra monsters werden genomen om het drooggewicht te bepalen zodat we de hoeveel nematoden per gram drooggewicht konden bepalen. Na de extracties is het aantal WKA in elk bodemmonster met een microscoop geteld. Het gemiddelde aantal WKA in de 10 monsters was: 3.7 ± 0.2 *Meloidogyne* spp. per gram droge grond.

Voor de kasproef werden potten van 1L gevuld met de onbehandeld grond van de teler en/of met de gesteriliseerd grond. Tussen 19 en 21 november werden in elke pot één chrysant van de cultivar 'Baltica' gezet (Figuur 1). De bestrijdingsmiddelen, biostimulanten en combinatie behandeling werden aan elke pot toegediend volgens de aanbeveling van de fabrikanten (Tabel 1). De proef was in een gerandomiseerd block design opgezet (elke tafel een blok en drie herhalingen per tafel). We hebben de planten 8 weken gekweekt onder de volgende condities: 12 uur licht/12 uur donker, gemiddelde 402 PAR $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$, met een gemiddelde temperatuur van 18 °C. De planten kregen elke dag water.

Tussen 15 en 17 januari werd de proef geoogst. Het bovengrondse deel van elke plant werd afgeknipt en gewogen. Daarna werd het ondergrondse deel van elke plant vrij van gronddeeltjes gemaakt door de grond uit te wassen en de wortels werden vervolgens gedroogd en gewogen. Alle boven- en ondergronds delen van de planten zijn in papieren zakken gedaan en in de stoof gezet bij 60 °C voor ten minste 72 uur om het droog gewicht te bepalen. Voordat de ondergrondse delen van de planten zijn gedroogd hebben we de wortelknobbeldindex voor elke plant bepaald (Bijlage 1). De wortelknobbeld-index toont de ernst van de knobbels veroorzaakt door WKA (*Meloidogyne* spp.) in de wortels (0 = geen knobbels, 10 = wortels helemaal bedekt met knobbels en de plant is dood).



Figuur 1 De chrysant cultivar "Baltica" die in de proef werd gebruikt.

Van een subset van de planten (d.w.z. vijf herhalingen van elke behandeling = 120 monsters) werden alle vrij levende nematoden in de grond in de potten door de Baermann trechter methode gewonnen op basis van 50 g verse grond (zie tekst boven voor details). We hebben dit gedaan om te bepalen hoeveel stage 2 juveniele (J2) van WKA aanwezig waren en ook wat het aandeel andere soorten nematoden van de verschillende voedingsgroepen in de bodem was: plantparasieten, bacteriëneters, schimmeleeters, en carnivore-omnivore nematoden (Yeates, Bongers *et al.* 1993). Een gezonde bodemnematodengemeenschap is belangrijk om de gezondheid, weerbaarheid en de nutriënten kringlopen in de bodem te ondersteunen (Griffiths 1994, Kulmatiski, Anderson-Smith *et al.* 2014). Het aantal stage 2 WKA in de bodem geeft een indicatie van het potentiële infectierisico voor de volgende teelt in die grond want alleen tijdens deze fase kan de WKA de wortels binnen dringen (van der Wurff 2010). Van dezelfde subset hebben we in een mistkamer de aaltjes van de wortels geëxtraheerd (Teklu, Been *et al.* 2013). Wortels werden in stukjes van 1 cm gesneden, het gewicht werd bepaald en de wortels werden in zeven met een diameter van 150 μm gedaan. De zeven met de wortels werden boven een opvangbakje gezet in een zogenoemde mistkamer. De mistkamer spoot warm water (circa 20-25 °C) over de wortels gedurende 15 minuten gevolgd door 15 minuten pauze. De wortels bleven in de mistkamer gedurende 4 weken (gecheckt elk week) en daarna werd het water met de nematoden uit de opvangbakjes gehaald en door een 20 μm zeef gespoeld. De verzamelde stage 2 *Meloidogyne* spp. juvenielen werden daarna geteld. Het aantal WKA is per gram droge grond bepaald.

Elke respons variabele (boven- en ondergronds vers- en drooggewicht, WKI, aantal *Meloidogyne* spp. die van de bodem en wortels werden gewonnen en het totaal aantal en het aandeel plantparasieten, bacteriëneters, schimmelseters, en carnivore-omnivore nematoden) werden met een general linear mixed model geanalyseerd. Behandeling (d.w.z. de 25 verschillende nematiciden, biostimulanten en/of combinaties daarvan) werd als een fixed factor meegenomen en blok (d.w.z. de tafel waaruit elk monster afkomstig was) werd als een random factor meegenomen. De data werden in R (R Core Team 2019) met de packages lme4/lmerTest (Bates, Mächler *et al.* 2015, Kuznetsova, Brockhoff *et al.* 2017) geanalyseerd en alle data werden getransformeerd indien nodig. Indien significante effecten werden gevonden, werden post-hoc toetsen gedaan met de emmeans/multcomp packages in R (Hothorn, Bretz *et al.* 2008, Lenth 2019) met Tukey HSD adjustment (voor multipale vergelijkingen).



Figuur 2 Een Stage 2 juveniel *Meloidogyne* spp. dat uit de grond van een pot met een chrysant werd gewonnen.

3 Resultaten

Kort samengevat laten de experimenten zien dat:

- Stomen leidt altijd tot groter planten.
- De reststroom insectkweek, oxamyl, en ook oxamyl interacties met biostimulanten behandelingen veroorzaakte een kleine daling van het plantgewicht.
- Knoflook extracten, chitosan HCl, zeemineralen en plantenolie hadden effecten tegen WKA.
- De biostimulanten (meestal) verhogen het aantal in de bodem levende nematoden. Dit effect is positief voor de nutriëntencyclus en de weerbaarheid van de bodem.

NB: In de Figuren, worden de controle (d.w.z. geen behandeling maar wel besmetting met WKA) en de gesteriliseerd behandelingen met witte balken weergegeven, het chemische bestrijdingsmiddel, het biologische bestrijdingsmiddel en de basisstof met gele balken, de individuele biostimulanten met groene balken en de combinaties met blauwe balken.

De behandelingen hadden invloed op zowel het bovengronds vers- en droog gewicht als de wortelknobbel-index. Alle behandelingen leiden tot een lager versgewicht dan bij stomen (Figuur 3a).Vergeleken met de controle (geen behandeling) was het **bovengronds versgewicht** 24% hoger in de gesteriliseerd behandeling en het versgewicht was respectievelijk 16%, 24%, 18% en 15% lager in de reststroom insectenkweek, oxamyl + micro-organismen, oxamyl + reststroom insectkweek en Chitosan HCl + reststroom insectkweek behandelingen (Figuur 3a).

Bovengronds drooggewicht was 140% hoger in de gesteriliseerd behandeling en respectievelijk 22% en 13% lager in de oxamyl + micro-organismen en oxamyl + reststroom insectkweek behandelingen (Figuur 3b).

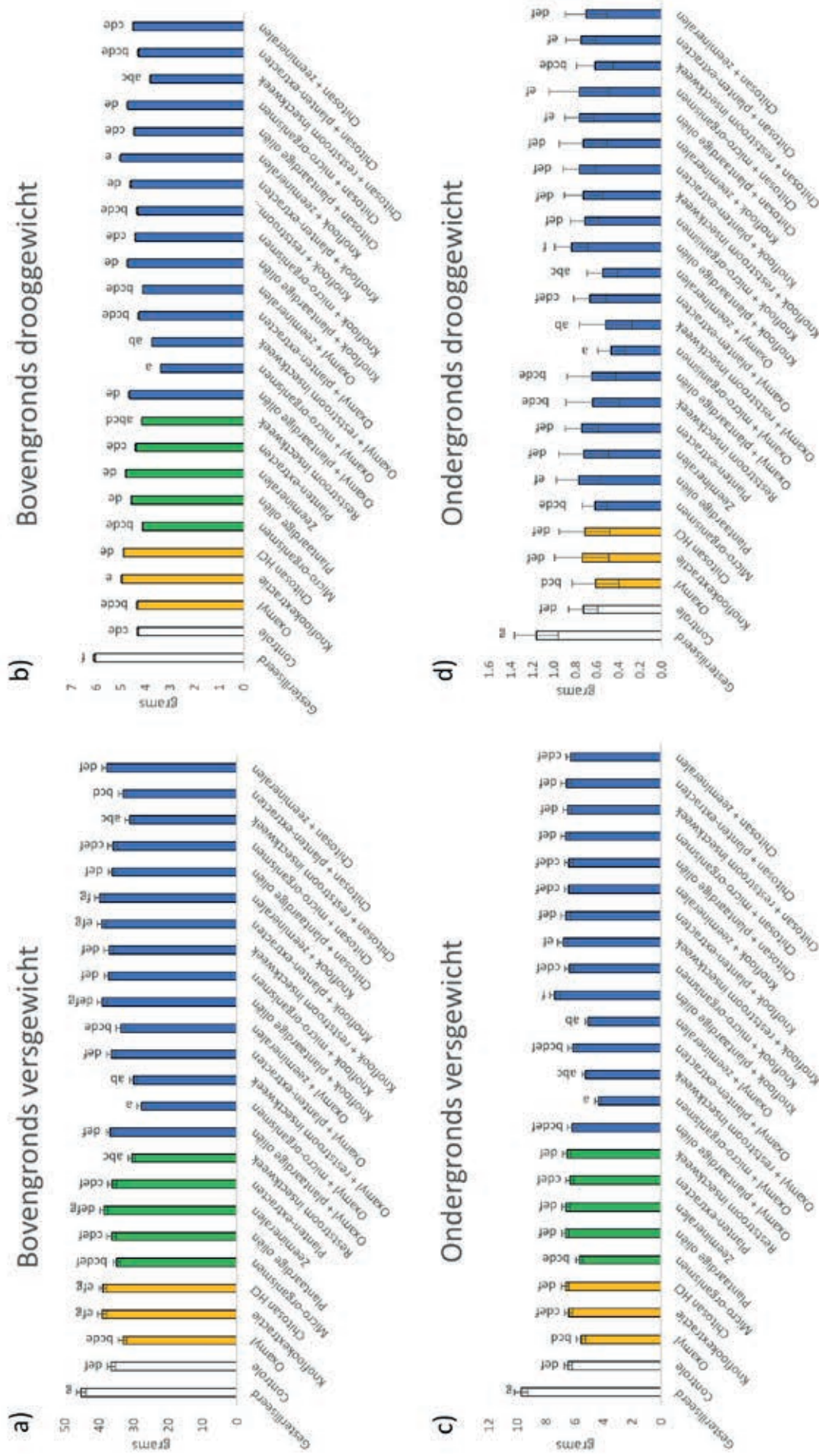
Ondergronds versgewicht was 51% hoger in de gesteriliseerd behandeling en respectievelijk 32% en 22% lager in de oxamyl + micro-organismen en oxamyl + zeemineralen behandelingen, ten opzichte van de controle (Figuur 3c).

Ondergronds drooggewicht was 60% hoger in de gesteriliseerd behandeling en respectievelijk 36%, 29% en 8% lager in de oxamyl + micro-organismen, oxamyl + reststroom insectkweek en oxamyl + zeemineralen behandelingen (Figuur 3d).

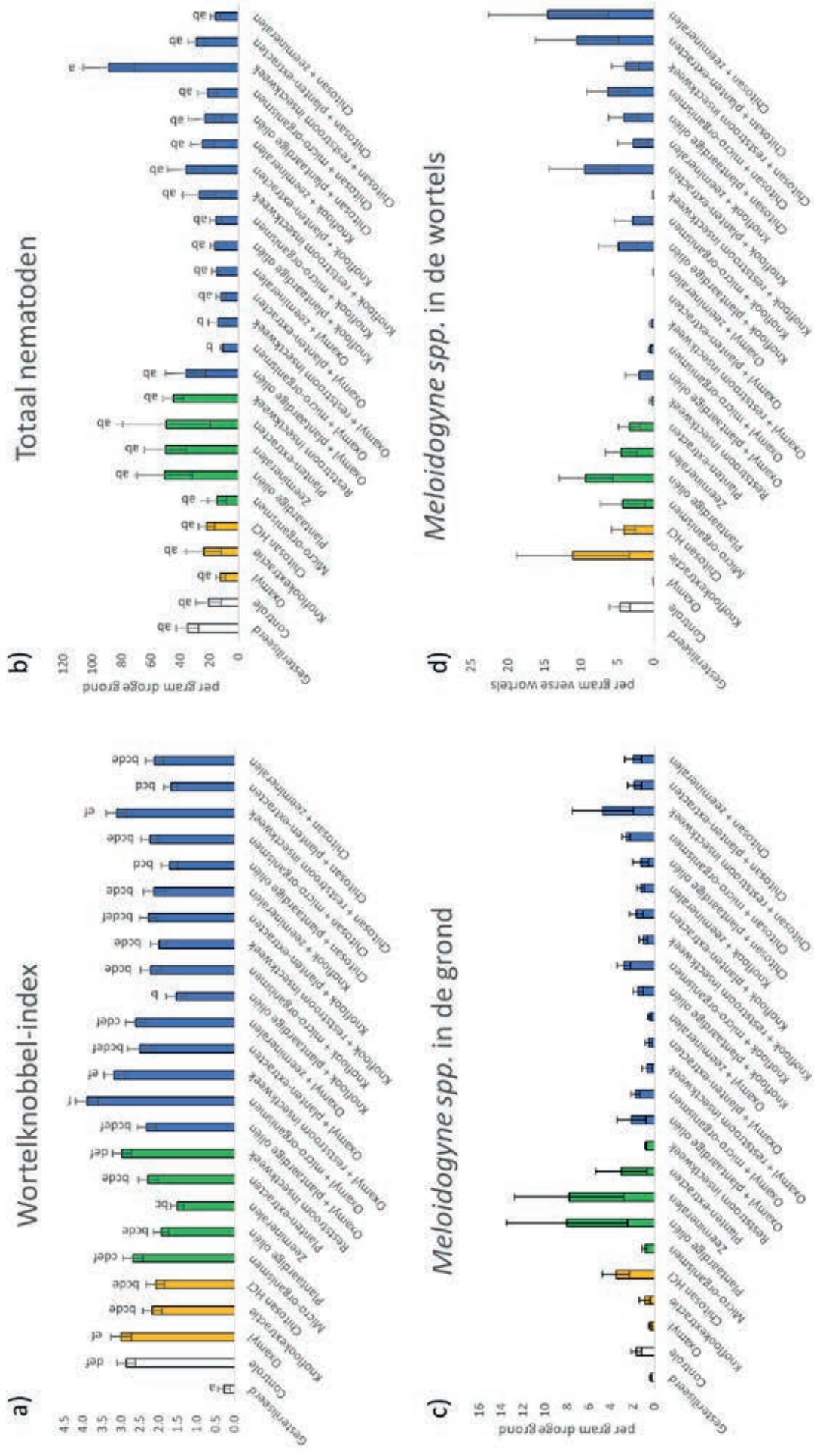
De **WKI** was 92% lager in de gesteriliseerd behandeling ten opzichte van de controle. Niet alle behandelingen leiden tot een significante afname van de WKI t.o.v. de controle. Significante vermindering van de WKI werd waargenomen bij de behandeling met de zeemineralen (47 %) en bij de knoflook extractie + plantenolie behandelingen (Figuur 4a).

Tenslotte was de ratio carnivore-omnivore nematoden 756% hoger in de chitosan HCl + reststroom insectkweken behandeling (Figuur 5d).

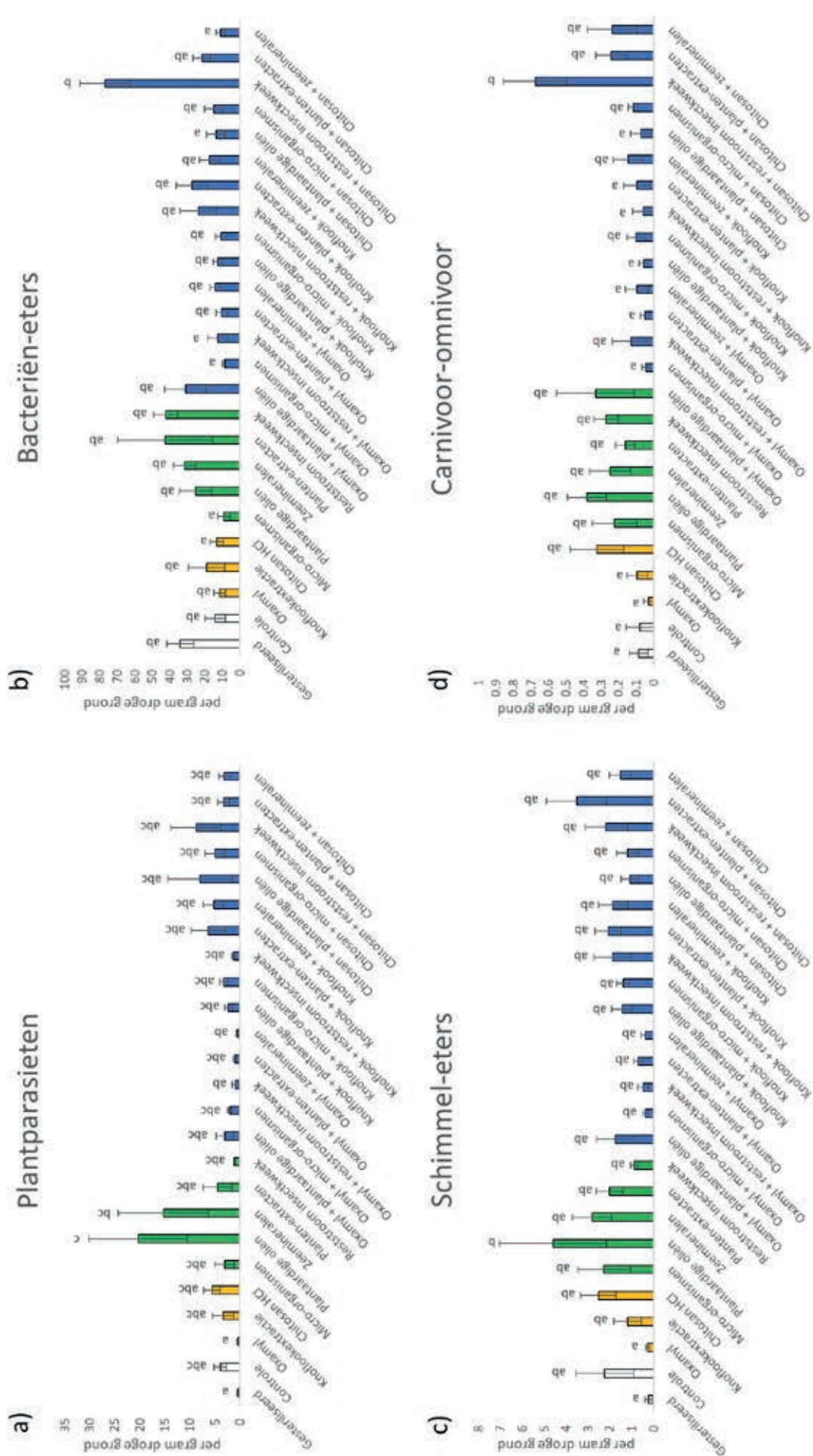
Ook al waren bepaalde effecten niet statistisch significant, toch zijn er verschillen die de moeite waard zijn om te bespreken. De knoflook extractie, chitosan HCl en zeemineralen behandelingen veroorzaakt circa 7% verhoging in bovengronds versgewicht (Figuur 3a) en een circa 14% hoger drooggewicht bovengronds (Figuur 3b). Bovendien leiden de knoflook en chitosan HCl behandelingen tot een vermindering van respectievelijk 24% en 27% in de **WKI** en ook veroorzaakten een paar combinaties tussen biologische nematiciden en biostimulanten eveneens een verlaging in de **WKI** (Figuur 4a). Het aantal J2 **WKA** in de bodem was ongeveer 47% minder met knoflook extracten, micro-organismen en de reststroom insectkweek behandelingen (Figuur 4c,d). Ten slotte was er verhoging van circa 58% in het **totale aantal nematoden** in de bodem met de toevoeging bij alle biostimulanten (met de uitzondering van de micro-organismen behandeling) (Figuur 4b).



Figuur 3 De bovengronds vers- (a) en droog- (b) en de ondergronds vers- (c) en droog- (d) gewicht aan het einde van de proef van de chrysanthemen. Binnen een paneel balken met verschillende letters verschillen statistisch van elkaar (Tukey's HSD $p \leq 0.05$); geen letters betekent geen verschillen.



Figuur 4 De wortelknobbel-index toont de ernst van de knobbels veroorzaakt door (*Meloidiogene spp.*) WKA in de wortels (0 = geen knobbels, 10 = wortels helemaal bedekt in knobbels en de plant is dood) (panel a). Totaal nematoden (b) en *Meloidiogene spp.* (c) in de grond en *Meloidiogene spp.* gewonnen uit de wortels (d) na de proef. Binnen een paneel balken met verschillende letters verschillen statistisch van elkaar (Tukey's HSD $p \leq 0.05$); geen letters betekent geen verschillen.



Figuur 5. Plantparasieten (a), Bacteriën-eters (b), schimmel-eters (c) en carnivore-omnivoore (d) nematoden die uit de grond na de proef worden gewonnen. Binnen een paneel balken met verschillende letters verschillen statistisch van elkaar (Tukey's HSD $p \leq 0.05$).

Hieronder staan de tabellen met de statistische resultaten. De kolom genaamd "Df" toont de degrees of freedom; deze is een statistische meting van het aantal behandelingen en herhalingen. De kolom genaamd "F-value" toont of het verschil tussen de behandelingen significant is; in het algemeen geeft een groter F-value aan dat er sprake is van significante verschillen. De kolom "p-value" toont of de verschil tussen de behandelingen significant is. Een p-value kleiner als 0.05 betekent dat een significant verschil aanwezig is. De onderliggende Tabellen tonen dat alle behandelingen grote significante effecten hadden (d.w.z. de p-values zijn erg laag).

Tabel 2

De resultaten van de effecten van de behandelingen op de bovengronds vers- en droog- en de ondergronds vers- en drooggewicht en de wortelknobbel-index (d.w.z. schaal die de schade veroorzaakt door wortelknobbelaaltjes bepaalt) van de chrysanten aan het einde van de proef.

Responsvariabele	Df	F-value	(p-value)
Bovengronds versgewicht	24, 961	11.1	(<0.001)
Bovengronds drooggewicht	24, 962	10.2	(<0.001)
Ondergronds versgewicht	24, 937	13.3	(<0.001)
Ondergronds drooggewicht	24, 828	15.2	(<0.001)
Wortelknobbel-index	24, 952	10.9	(<0.001)

Data $\ln(x)$ of $\ln(x+1)$ getransformeerd voor analyse. Bovengronds vers- en drooggewicht: n = 1000; ondergronds versgewicht: n = 975; ondergronds drooggewicht: n = 866; wortelknobbel-index: n = 990.

Tabel 3

De resultaten van de effecten van de behandelingen op de aantal van verschillende voedsel groepen van nematoden die van de bodem worden gewonnen en de aantal van Meloidogyne spp. die van de bodem en de wortels worden gewonnen.

Responsvariabele	Df	F-value	(p-value)
Totaal nematoden	24, 93	1.9	(0.019)
Meloidogyne spp. (grond)	24, 100	2.2	(0.004)
Total plantparasieten nematoden	24, 100	2.7	(<0.001)
Bacteriën-eters	24, 92	2.1	(0.007)
Schimmel-eters	24, 93	2.5	(0.001)
Carnivore-omnivore nematoden	24, 100	2.1	(0.007)
Meloidogyne spp. (wortels)	24, 97	2.8	(<0.001)

Data $\ln(x)$ of $\ln(x+1)$ getransformeerd voor analyse. Alle variabele: n = 120.

4 Conclusies en vervolg

Zoals verwacht veroorzaakt de gesteriliseerd behandeling een toename van boven- en ondergronds gewicht. In aanvulling op de direct doding van ziekte en plagen zoals WKA (van der Wurff 2010), veroorzaakt sterilisatie een tijdelijke verhoging van nutriënten door het afbreken van de cellen van micro-organismen en bodemleven (McNamara, Griffiths *et al.* 2007, Roux-Michollet, Dudal *et al.* 2010). Deze puls aan voedingsstoffen geeft voordelen voor de planten; d.w.z. een toename in groei. Maar deze toename vindt alleen in de eerste groeicyclus (direct na de sterilisatie) plaats en kort daarna verdwijnt dit voordeel. Bovendien leidt de sterilisatie van de bodem tot een bodemvoedselweb dat uit balans is, het bodemleven dat de bodem opnieuw gaat koloniseren is niet altijd dezelfde als de bestaande populatie (Roux-Michollet, Czarnes *et al.* 2008). Hierdoor veranderen de functie's van de bodem (bv nutriëntenkringloop, weerbaarheid). Dit kan gevolgen hebben voor het creëren van een stabiel bodemsysteem in de chrysantteelt. Dus een alternatief voor stomen is nodig.

Het gebruik van de biologische bestrijdingsmiddel, de knoflook extracten en ook de chitosan HCl en de biostimulanten (zeeminerale en plantenolie) hebben positieve effecten tegen WKA gehad. De WKI was aanzienlijk minder bij de toepassing van de zeeminerale en de combinatie tussen knoflook extracten + plantenolie (ongeveer 47%) en er was ook een trend naar een lager WKI met de toepassing van knoflook alleen en ook de chitosan HCl (circa 25%). Deze effecten zijn mogelijk veroorzaakt door direct effecten tegen de aaltjes (Akhtar and Alam 1993, Chen and Peng 2019) of door indirect effecten zoals verbetering van de weerbaarheid van de planten (Pylak, Oszust *et al.* 2019). Meer metingen zijn nodig om te bepalen wat de oorzaken zijn van deze effecten, b.v. plantaardige afweerstoffen (Sato, Kadota *et al.* 2019) en/of veranderingen in de bodem microbiom (Chen and Peng 2019). Niettemin zijn deze resultaten bemoedigend want ze bieden een potentieel alternatief voor stomen in de chrysantteelt en mogelijk kan het effect onder andere omstandigheden of iets andere middelen nog sterker uitvallen. Specifiek in relatie tot de bodemgemeenschap zijn die positieve effecten misschien veroorzaakt door een positief effect van de biostimulant op de micro-organismen door betere voeding (Buée, De Boer *et al.* 2009) en ook door feedback effecten, b.v. door meer wortellexudaten die de micro-organismen gemeenschap helpt opbouwen en de planten verder versterkt (Philippot, Raaijmakers *et al.* 2013). Als we kunnen bepalen welke combinatie van stoffen in de biostimulanten een sterkere bodemgemeenschap creëren dan wordt het mogelijk de weerbaarheid van de bodem te sturen. De toevoeging van specifieke antagonistische micro-organismen (bv *Purpureocillium lilacinum* strain 251 (Kiewnick and Sikora 2006, Dahlin, Eder *et al.* 2019)) kunnen ook een weerbaardere bodem creëren. Betere controle van de bodemweerbaarheid heeft potentie de teelt van chrysant en andere gewassen minder afhankelijk van stomen te maken.

Het was tegen verwachting dat de oxamyl behandeling de WKI niet reduceert. Herhaalde toepassing van oxamyl kan de effectiviteit van dit bestrijdingsmiddel verminderen, omdat de nematoden resistentie tegen de effecten ervan ontwikkelen (Glazer, Salame *et al.* 1997). Er was daarentegen, door de Oxamyl behandeling, wel een (niet significant) lager aantal J2WKA in de wortels en de bodem te zien. Oxamyl doodt niet altijd nematoden (Ebene, Kovaleski *et al.* 2019), maar verlamt ze, uiteindelijk gevolgd door een herstel van verlamming en hervatting van normale voedingsactiviteiten na een paar weken (Wright and Womack 1981). Het kleinere aantal J2 WKA is misschien veroorzaakt door geremde reproductie en/of de direct effecten op het uitkomen (Evans and Wright 1982, Woods, Haydock *et al.* 1999). Kort gezegd de nematoden hebben zich misschien snel genoeg hersteld van de oxamyl om schade bij de chrysanten te veroorzaken, maar niet snel genoeg om zich te reproduceren voor het einde van de 8 weken die de proef geduurd heeft (Wright and Womack 1981). Deze onzekere effecten van oxamyl op WKN laten zien dat een meer voorspelbare behandeling nodig is. Een aantal van de behandelingen veroorzaakte een daling van het plantgewicht, b.v. de reststroom insectenweek (ook interactie met de chitosan HCl), oxamyl + een paar van de biostimulanten interactie behandelingen. De daling in biomassa in een paar van de behandelingen met oxamyl was onverwacht. Het is mogelijk dat die door de breed spectrum toxiciteit van oxamyl veroorzaakt was (Bunt 1975, Bell, Aalders *et al.* 2006). Oxamyl heeft misschien de positieve effecten van bepaalde biostimulanten beperkt door de remming van her kolonisatie van nuttige micro-organismen (Roux-Michollet, Czarnes *et al.* 2008). Hier ligt nog een reden het gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen af te bouwen (Wesemael, Viaene *et al.* 2011, Donley 2019).

Het is ook mogelijk dat deze behandelingen een compromis tussen groei en verdediging veroorzaakten (Jones and Hartley 1999), d.w.z. de planten groeien wat minder om meer afweerstoffen te produceren. Het is nodig om deze daling beter te begrijpen want deze daling is niet acceptabel voor de uniformiteit en kwaliteitsnormen van de chrysantindustrie. Het is belangrijk om te bepalen welke stoffen deze daling veroorzaakt. Misschien is het mogelijk deze stoffen weg te laten en alleen de groeistimulerende stoffen te behouden. Aan de andere hand creëerden de knoflook extractie, chitosan HCl en zeemineralen behandelingen planten met hogere bovengronds gewicht (c. 7%). Dat is een bescheiden stijging, maar nog steeds bemoedigend.

Hoewel niet statistisch significant, was het aantal stadium J2 WKA in de bodem minder (c. 47%) in de behandelingen met knoflook extracten, micro-organismen en de reststroom insectweek. Dit suggereert dat deze behandelingen de potentie heeft om een volgende generatie van WKA te reduceren. Dat betekent dat bij de volgende chrysantteelt wat minder schade kan worden verwacht. Het gebruik van deze middelen in volgende teeltcycli kan een additief effect tegen WKA hebben. Dat betekent dat de schade veroorzaakt door de aaltjes daalt met elke toevoeging van deze middelen met een groter voordeel voor de groei van de chrysanten. Bovendien was het totaal aantal nematoden in de bodem hoger in bijna alle biostimulanten behandelingen. Een groter aantal nematoden in de bodem is geassocieerd met snellere nutriëntenkringloop (Griffiths 1994, Kulmatiski, Anderson-Smith *et al.* 2014) want nematoden hebben een groot effect op nutriënten in de bodem door hun uitwerpselen. Een snellere nutriëntenkringloop kan voordelen voor de chrysant hebben. Meer nematoden in de bodem is ook een indicatie van een gezonder en weerbaarder bodemecosysteem (Bongers and Ferris 1999). Dit betekent dat meer micro-organismen aanwezig zijn en de algemene activiteit van het bodemleven hoger is. Dat kan tot een sterker en meer stabiele bodem leiden die voordelen voor het gewas heeft (d.w.z. minder schade t door niet alleen aaltjes, maar ook andere ziekte en plagen en dat betekent gezondere en mooiere planten).

De volgende stap is om te bepalen of deze middelen een sterker effect hebben als zij over langere periodes gebruikt worden (b.v. gedurende een aantal teeltcycli). Het is ook belangrijk om te bepalen of deze middelen hetzelfde effect hebben op andere cultivars van chrysant want in deze proef is maar één cultivar gebruikt en verschillende cultivars kunnen andere responses hebben door fysiologische verschillen (Rohde 1972, Giebel 1974). Deze kennis is belangrijk voor telers want misschien hebben deze middelen sterker effecten op andere cultivars. Tenslotte is het ook nuttig om te bepalen of deze effecten een relatie hebben met specifieke eigenschappen van een bepaalde cultivar zodat veredelaars kunnen selecteren op de eigenschappen die het beste passen bij de effecten van biologische bestrijdingsmiddelen en biostimulanten.

Literatuur

Akhtar, M. and M. M. Alam (1993).

"Utilization of waste materials in nematode control: A review." *Bioresource Technology* 45(1): 1-7.

Al-Shalaby, M. E. M. (2009).

"The use of garlic extracts for biocontrol of *Meloidogyne incognita* infecting cucumber plants." *International Journal of Nematology* 19(2): 208-214.

Amsing, J. J. (2003).

Wortelknobbelaaltjes in chryasant : inventarisatie, schadelijkheid en bestrijding. Aalsmeer, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Sector Glastuinbouw.

Amsing, J. J. (2004).

"Wortelknobbelaaltjesproblematiek in de glastuinbouw." *Gewasbescherming* 35(5): 260-262.

Bates, D., M. Mächler, B. Bolker and S. Walker (2015).

"Fitting linear mixed-effects models using lme4." 2015 67(1): 1-48.

Bell, N. L., L. T. Aalders, N. R. Cox and C. A. Cameron (2006).

"Non-target effects of a carbamate and the proteins avidin and aprotinin on in vitro development of a bacterial feeding nematode." *Soil Biology and Biochemistry* 38(9): 2816-2822.

Bongers, T. and H. Ferris (1999).

"Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring." *Trends in Ecology & Evolution* 14(6): 224-228.

Buée, M., W. De Boer, F. Martin, L. van Overbeek and E. Jurkevitch (2009).

"The rhizosphere zoo: An overview of plant-associated communities of microorganisms, including phages, bacteria, archaea, and fungi, and of some of their structuring factors." *Plant and Soil* 321(1): 189-212.

Bunt, J. A. (1975).

Effect and mode of action of some systemic nematicides. Wageningen, H. Veenman.

Chen, Q. and D. Peng (2019).

"Nematode Chitin and Application." *Advances in experimental medicine and biology* 1142: 209-219.

Dahlin, P., R. Eder, E. Consoli, J. Krauss and S. Kiewnick (2019).

"Integrated control of *Meloidogyne incognita* in tomatoes using fluopyram and *Purpureocillium lilacinum* strain 251." *Crop Protection* 124: 104874.

Donley, N. (2019).

"The USA lags behind other agricultural nations in banning harmful pesticides." *Environmental Health* 18(1): 44.

Ebone, L. A., M. Kovaleski and C. C. Deuner (2019).

"Nematicides: history, mode, and mechanism action." *Plant Science Today*(2): 91-97%V 96.

European and Mediterranean Plant Protection Organization (2013).

"Nematode extraction." *EPPO Bulletin* 43(3): 471-495.

Evans, S. G. and D. J. Wright (1982).

"Effects of the nematicide oxamyl on life cycle stages of *Globodera rostochiensis*." *Annals of Applied Biology* 100(3): 511-519.

Giebel, J. (1974).

"Biochemical mechanisms of plant resistance to nematodes: a review." *Journal of nematology* 6(4): 175-184.

Glazer, I., L. Salame and D. Segal (1997).

"Genetic Enhancement of Nematicide Resistance in Entomopathogenic Nematodes." *Biocontrol Science and Technology* 7(4): 499-512.

Griffiths, B. S. (1994).

"Microbial-feeding nematodes and protozoa in soil- their effects on microbial activity and nitrogen mineralization in decomposition hotspots and the rhizosphere." *Plant and Soil* 164(1): 25-33.

Hothorn, T., F. Bretz and P. Westfall (2008).

"Simultaneous Inference in General Parametric Models." *Biometrical Journal* 50(3): 346-363.

Jones, C. G. and S. E. Hartley (1999).

"A protein competition model of phenolic allocation." *Oikos* 86(1): 27-44.

- Jones, J. T., A. Haegeman, E. G. J. Danchin, H. S. Gaur, J. Helder, M. G. K. Jones, T. Kikuchi, R. Manzanilla-López, J. E. Palomares-Rius, W. M. L. Wesemael and R. N. Perry (2013).
 "Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology." *Molecular Plant Pathology* 14(9): 946-961.
- Kiewnick, S. and R. A. Sikora (2006).
 "Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251." *Biological Control* 38(2): 179-187.
- Kulmatiski, A., A. Anderson-Smith, K. H. Beard, S. Doucette-Riise, M. Mazzacavallo, N. E. Nolan, R. A. Ramirez and J. R. Stevens (2014).
 "Most soil trophic guilds increase plant growth: a meta-analytical review." *Oikos* 123(12): 1409-1419.
- Kuznetsova, A., P. B. Brockhoff and R. H. B. Christensen (2017).
 "lmerTest package: tests in linear mixed effects models." 2017 82(13): 26.
- Laquale, S., V. Candido, P. Avato, M. P. Argentieri and T. D'Addabbo (2015).
 "Essential oils as soil biofumigants for the control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato." *Annals of Applied Biology* 167(2): 217-224.
- Lenth, R. (2019).
 "emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means." R package version 1.3.5.1.
- Liu, J., J. Sun, J. Qiu, X. Liu and M. Xiang (2014).
 "Integrated management of root-knot nematodes on tomato in glasshouse production using nematicides and a biocontrol agent, and their effect on soil microbial communities." *Nematology* 16(4): 463-473.
- McNamara, N. P., R. I. Griffiths, A. Tabouret, N. A. Beresford, M. J. Bailey and A. S. Whiteley (2007).
 "The sensitivity of a forest soil microbial community to acute gamma-irradiation." *Applied Soil Ecology* 37(1): 1-9.
- Moens, M., R. N. Perry and J. L. Starr (2009).
Meloidogyne Species – a Diverse Group of Novel and Important Plant Parasites. Root-knot nematodes. R. N. Perry, M. Moens and J. L. Starr. Cambridge, MA, CABI North American Office: 1-17.
- Philippot, L., J. M. Raaijmakers, P. Lemanceau and W. H. van der Putten (2013).
 "Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere." *Nature Reviews Microbiology* 11: 789-799.
- Pichyangkura, R. and S. Chadchawan (2015).
 "Biostimulant activity of chitosan in horticulture." *Scientia Horticulturae* 196: 49-65.
- Ploeg, A. and P. Maris (1999).
 "Effects of temperature on the duration of the life cycle of a *Meloidogyne incognita* population." *Nematology* 1(4): 389-393.
- Pylak, M., K. Oszust and M. Frąc (2019).
 "Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit." *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 18(3): 597-616.
- R Core Team (2019).
 "R: A Language and Environment for Statistical Computing."
- Rohde, R. A. (1972).
 "Expression of Resistance in Plants to Nematodes." *Annual Review of Phytopathology* 10(1): 233-252.
- Roux-Michollet, D., S. Czarnes, B. Adam, D. Berry, C. Commeaux, N. Guillaumaud, X. Le Roux and A. Clays-Josserand (2008). "Effects of steam disinfestation on community structure, abundance and activity of heterotrophic, denitrifying and nitrifying bacteria in an organic farming soil." *Soil Biology and Biochemistry* 40(7): 1836-1845.
- Roux-Michollet, D., Y. Dudal, L. Jocteur-Monrozier and S. Czarnes (2010).
 "Steam treatment of surface soil: how does it affect water-soluble organic matter, C mineralization, and bacterial community composition?" *Biology and Fertility of Soils* 46(6): 607-616.
- Sato, K., Y. Kadota and K. Shirasu (2019).
 "Plant Immune Responses to Parasitic Nematodes." *Frontiers in Plant Science* 10: 1165.
- Spiegel, Y., I. Chet and E. Cohn (1987).
 "Use of chitin for controlling plant-parasitic nematodes: II. Mode of action." *Plant and Soil* 98(3): 337-345.
- Teklu, M. G., T. H. Been, C. H. Schomaker, A. Beniers, L. Altena, T. G. v. Beers, D. Boomsma and L. P. G. Molendijk (2013).
 Extraction efficiency of J2 of *M. chitwoodi* from roots and potato peels using the Seinhorst spray mist-chamber.

van der Wurff, A. W. G. (2010).

Biological control of root knot nematodes in organic vegetable and flower greenhouse cultivation: state of science : report of a study over the period 2005-2010. Bleiswijk, Wageningen UR Greenhouse Horticulture.

van der Wurff, A. W. G., C. Blok, C. W. Labrie, T. Vermeulen and W. Voogt (2009).

De problematiek van de kasgrondteelten: Mogelijke oplossingen aangedragen door ondernemers met substraatbedden in het bijzonder. Bleiswijk, Wageningen UR Glastuinbouw.

Wesemael, W. M. L., N. Viaene and M. Moens (2011).

"Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe." *Nematology* 13(1): 3-16.

Woods, S. R., P. P. J. Haydock and C. Edmunds (1999).

"Mode of action of fosthiazate used for the control of the potato cyst nematode *Globodera pallida*." *Annals of Applied Biology* 135(1): 409-415.

Wright, D. J. and N. Womack (1981).

"Inhibition of development of *Meloidogyne incognita* by root and foliar applications of oxamyl." *Annals of Applied Biology* 97(3): 297-302.

Yeates, G. W., T. Bongers, R. G. M. Degoede, D. W. Freckman and S. S. Georgieva (1993).

"Feeding-habits in soil nematode families and genera- an outline for soil ecologists." *Journal of Nematology* 25(3): 315-331.

Bijlage 1 De wortelknobbels-index



0 No knots on roots



1 Few small knots, difficult to find



2 Small knots only but clearly visible. Main roots clean



3 Some larger knots visible. Main roots clean



4 Larger knots predominate but main roots clean



5 50% of roots infested. Knotting on parts of main roots. Reduced root system



6 Knotting on main roots



7 Majority of main roots knotted



8 All main roots knotted. Few clean roots visible



9 All roots severely knotted. Plant usually dying



10 All roots severely knotted. No root system. Plant usually dead

Bijlage 2 Biovin product informatie

Plant Health Cure B.V.

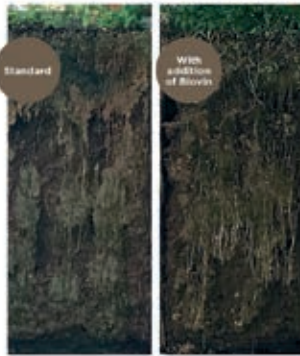
Technical data sheet

85 - Version 01-2020

Biovin[®] powder

Organic soil improver
- the basis for
healthy crops

Biovin is based on the organic remains of the grape pressing process (grape must). The humification of the grape must creates a product with organic plant nutrients and a great number of beneficial micro-organisms, including the important nitrogen-fixing bacteria (actinomycetes) and SAR (Systemic Acquired Resistance) microbes. They improve resistance and tolerance for abiotic stress.



At least 45 researches have been run since 1974, all scientifically coordinated by several different government and university research stations and facilities. The outcomes always indicate that Biovin promotes the uptake of mineral fertilizers and prevents nitrate leaching. The nitrates are converted into ammonium nitrogen for the plants. The use of Biovin achieves major savings in the use of manure and/or fertilizer and can reduce leaching.

- Contains essential bacteria and fungi
- Beneficial effect on ecosystem in the potting soil
- Positive effect on plant growth
- Positive effect on harvest quality
- Easy to mix
- Great diversity in spore elements
- Guaranteed free of weeds
- Prevents high nitrate levels in plants and in the soil



USE IN COMBINATION WITH OTHER (PHC) PRODUCTS

Biovin can be used in combination with all PHC fertilizers, PHC bacterial products and PHC mycorrhiza products. The use of Biovin Liquid enhances the effect of Biovin. This creates an active soil and root environment, shedding a completely new light on the use of fertilizer, fungicides and biocides.

Lawns (sport fields, golf courses)

Mix Biovin with topdressing sand. Apply in March and September. Spread 10 kg/100 m² and let it withdraw with water.

Container cultivation

Mix Biovin with potting soil combined with MiniPlug or V.A. cocktail (mycorrhiza)

Packaging, transport & storage

Biovin is supplied in 20 kg bags (40 bags a pallet = 800 kilo), and in 600 kg BigBags. Store dry, frost free and out of direct sunlight. Wet material can clog machinery. Shelf life unlimited.

Seed beds

Spread 10 kg of Biovin per 100m² and V.A. cocktail mycorrhiza spores or Pt spores. Prepare the seed bed using a rotating cultivator and seed or plant it.

Planting trees/shrubs

Mix 100 grams - 1 kg of Biovin through the soil for the plant hole.



We Grow Soil.

P.O. Box 103 5060 AC Oisterwijk | The Netherlands | +31 (0)13 - 7200 300 | www.phc.eu | info@phc.eu

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

Rapport WPR-944

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.