

IN SAMENWERKING MET : WAGENINGEN UNIVERSITY & RESEARCH, PRAKTIJKONDERZOEK AGV  
LELYSTAD

# Toetsen van bodemweerbaarheid tegen het wortellesieaaltje

---



Afstudeerwerkstuk

Aeres Hogeschool Almere  
**MATTHIJS VAN DIJK**

10 augustus 2017



# **TOETSEN VAN BODEMWEERBAARHEID TEGEN HET WORTELLESIEAALTJE**

Matthijs van Dijk  
Toegepaste Biologie  
Aeres Hogeschool Almere

Lelystad, 10 augustus 2017

Onder begeleiding van:

Wieneke van der Heide, Aeres Hogeschool Almere (Afstudeerdocent)  
Johnny Visser, Wageningen University & Research  
Leendert Molendijk, Wageningen University & Research



## Voorwoord

---

Dit rapport is het product van mijn afstudeerproject, dat in het kader van de opleiding Toegepaste Biologie aan de Aeres hogeschool Almere is uitgevoerd bij Wageningen University & Research Praktijkonderzoek AGV. Gedurende vijf maanden heb ik mee mogen werken bij een van de top-instellingen als het gaat om praktijkonderzoek voor de landbouw, en ik ben dan ook zeer blij dat ik hier mijn studie tot een einde heb kunnen brengen.

Graag wil ik de volgende personen bedanken voor hun rol bij de uitvoer van dit project: Wieneke van der Heide voor haar begeleiding als afstudeerdocent, Gera van Os voor het organiseren van deze opdracht en Johnny Visser en Leendert Molendijk voor hun uitstekende inhoudelijke begeleiding. Daarnaast wil ik graag mijn ouders bedanken voor hun steun, zowel in goede als minder goede tijden, die het mogelijk heeft gemaakt dat ik een diploma heb kunnen behalen. Tot slot wil ik mijn vriendin bedanken: zonder haar steun en motivatie was dit niet gelukt.

Matthijs van Dijk, 10 augustus 2017



# Contents

---

|     |                                            |    |
|-----|--------------------------------------------|----|
| 1   | Samenvatting .....                         | 7  |
| 1.1 | English abstract .....                     | 7  |
| 2   | Inleiding .....                            | 9  |
| 2.1 | Aaltjes beheersingsstrategie .....         | 9  |
| 2.2 | Groenbemesters & Mengsels .....            | 10 |
| 2.3 | Toepassing van groenbemestermengsels ..... | 10 |
| 2.4 | Bodemweerbaarheid & Aaltjes .....          | 11 |
| 2.5 | Bodemweerbaarheid testen .....             | 11 |
| 2.6 | Vraagstelling .....                        | 12 |
| 3   | Materiaal & Methoden .....                 | 13 |
| 4   | Resultaten .....                           | 15 |
| 4.1 | Gewasscores .....                          | 15 |
| 4.2 | Loofgewichten .....                        | 17 |
| 4.3 | Wortelgewichten .....                      | 19 |
| 4.4 | Bruinscores .....                          | 21 |
| 4.5 | Verbanden tussen variabelen .....          | 22 |
| 4.6 | Seinhorst-curves .....                     | 23 |
| 5   | Discussie .....                            | 25 |
| 6   | Conclusies & Aanbevelingen .....           | 27 |
| 7   | Bronnenlijst .....                         | 29 |





---

# 1 Samenvatting

In 2014 werd het toegestaan om percelen met mengsels van groenbemesters mee te tellen voor het areaal aan ecologisch aandachtsgebied, dat in het kader van het Gemeenschappelijk Landbouwbeleid van de EU op het bedrijf aanwezig moet zijn. Daarnaast ontwikkelen zaadbedrijven mengsels van groenbemesters met de intentie om verschillende gunstige eigenschappen te combineren, waaronder ook het tegengaan van (schade door) schadelijke aaltjes. Hierdoor neemt de aandacht voor groenbemestermengsels sterk toe. Er is echter nog veel onbekend over het effect dat mengsels van groenbemesters hebben op de populatiedynamiek van aaltjes op een perceel. Veel mengsels bevatten een mix van zowel waard- als niet-waard planten. Daarnaast worden er claims gedaan over gunstige effecten op de bodemweerbaarheid van specifieke mengsels van groenbemesters. Om de teler van correcte kennis en informatie over de toepassing van groenbemestermengsels te kunnen voorzien, is het daarom van belang dat er onderzoek wordt gedaan naar effecten van mengsels van waard- en niet-waardplanten op de bodemweerbaarheid en daaruit voortvloeiend effecten op aaltjespopulaties en -schade.

Met dit onderzoek is de eerste stap gezet naar het ontwikkelen van een hulpmiddel om bodemweerbaarheid tegen *Pratylenchus penetrans* te onderzoeken. Dit is cruciaal voor zaadbedrijven als zij hun claims met betrekking tot groenbemestermengsels en bodemweerbaarheid proefondervindelijk willen kunnen staven, en voor partijen die de claims willen verifiëren. Er is gekeken naar de mogelijkheid om een biotoets te ontwikkelen waarmee weerbaarheid van bodems tegen *Pratylenchus penetrans* kan worden aangetoond en vergeleken. Hiertoe is een proef uitgevoerd, waarbij de schade door *P. penetrans* op sla bij verschillende inoculumdichtheden is vergeleken voor twee verschillende gronden: een onbehandelde veldgrond, en dezelfde veldgrond gepasteuriseerd. Er is gekeken welke meetvariabele het meest geschikt was om de schaderelatie inzichtelijk te maken, of er bij één of meerdere dichtheden getoetst moest worden en bij welke dichtheden er getoetst moet worden.

Een volledig antwoord op de vraag ‘Hoe kan middels een biotoets met sla, verschil in bodemweerbaarheid tegen *P. penetrans* worden aangetoond tussen verschillende gronden?’ is niet definitief te geven. Op de gepasteuriseerde groei vond een versterkte groei van planten plaats, waarschijnlijk als gevolg van chemische en biologische verandering als gevolg van verhitte. Hierdoor was geen informatieve schaderelatie vast te stellen op gepasteuriseerde grond. Een duidelijke relatie tussen initiële inoculumdichtheid en groeiremming is wel aangetoond voor de onbehandelde grond, wat betekent dat de combinatie van sla en *P. penetrans* in principe geschikt is. De meest geschikte variabele om deze schaderelatie te kwantificeren is het versgewicht van het loof. Het is waarschijnlijk dat er bij meerdere dichtheden zal moeten worden getoetst, zodat maximum opbrengst, tolerantiegrens en minimum opbrengst per veldgrond kunnen worden bepaald en vergeleken. Hoeveel trappen in de dichthedenreeks nodig zijn, en in welk bereik de dichtheden moeten liggen, is afhankelijk van de variatie tussen schaderelaties van verschillende gronden. Op basis van dit experiment zijn daar nog geen goede uitspraken over te doen. Een vervolgonderzoek waarbij meerdere veldgronden met elkaar worden vergeleken is de logische vervolgstap, waarbij ook gekeken kan worden of verschillen in bodemweerbaarheid zich voornamelijk uiten in verschillen in de tolerantiegrens of minimumopbrengst.

---

## 1.1 English abstract

In 2014 it was allowed to include the area of mixed-crop green manures in the total ecological focus area on a farm. In addition, seed companies developed mixtures of green fertilizers with the intention of combining various beneficial properties, including the prevention of damage by harmful nematodes. However, there is still much unknown about the effect that mixed-crop green manures have on the population dynamics of nematodes in a field. Many mixtures contain a mix of both host and non-host crops. In addition, claims are made about favorable effects on soil resistance of specific mixtures of green manures. In order to provide the grower with accurate knowledge and information about the application of mixed-crop green manures, it is therefore important to

investigate effects of mixtures of host and non-host plants on soil suppressiveness and consequent effects on nematode populations and damages caused by them in the following crop.

This research is the first step in developing a tool to investigate soil suppressiveness to *Pratylenchus penetrans*. This is crucial for seed companies if they want to substantiate their claims regarding mixed-crop green manures and soil suppressiveness, and for parties that would want to verify those claims. The possibility was investigated of developing a bioassay that can be used to demonstrate and compare the suppressiveness of soils to *Pratylenchus penetrans*. A test was carried out where damage from *P. penetrans* to lettuce was assessed at different inoculum densities on two different soils: an untreated field soil and the same field soil pasteurized. Different measurement variables were assessed for their usefulness in showing and quantifying yield losses in relation to population densities. It was also assessed whether testing should be done at one or more population densities and what range of densities should be included.

A definite answer to the question 'How can a bioassay with lettuce be used to investigate differences in soil suppressiveness against *P. penetrans* in different soils?' cannot be given based on this research. On pasteurized soil, enhanced plant growth occurred, probably due to chemical and biological changes in the soil due to heating. As a result, yield loss relations on pasteurized soil were not significant enough to support statements about soil suppressiveness. A clear relationship between initial population density and yield loss has been demonstrated for the untreated soil, which means that the combination of lettuce and *P. penetrans* is in principle suitable for investigating soil suppressiveness against *P. penetrans*.

The most useful measurement variable to quantify this yield loss relation is fresh weight of the foliage. It is likely that multiple population densities should be used to make reliable estimates for maximum yield, damage threshold and minimum yield for each tested soil. How many different densities are required, and in which range the densities should lie, depends on the variation between yield loss relationships of different soils, and no conclusions can be made based on this experiment alone. A follow-up experiment comparing multiple soils is the logical next step. A follow-up experiment can also be used to check whether differences in soil suppressiveness are predominantly expressed in differences in the variable damage threshold or the variable minimum yield.

## 2 Inleiding

Nematoden vormen een belangrijke groep van phytopathogene organismen die in de landbouw over de hele wereld voor tientallen miljarden euro's aan schade veroorzaken (Van der Putten et al. 2006). Ook in Nederland kan veelvuldig schade ontstaan door aaltjes. Van de circa 1200 soorten die in Nederland voorkomen, zijn ongeveer 100 soorten schadelijk voor planten. Aardappel- en bietencysteaaltjes (*Globodera spp.* en *Heterodera spp.*) vormen belangrijke plaagorganismen vanwege het grote areaal aan aardappel en bieten in Nederland. Daarnaast vormt het maïswortelknobbelaaltje (*Meloidogyne chitwoodi*) een probleem vanwege zijn lage schadedrempel, waardoor bij lage besmettingen al problematische schade optreedt, en het wortellesieaaltje (*Pratylenchus penetrans*) vanwege zijn brede range aan waardplanten (zie afbeelding 2.1). Vanaf de jaren negentig werd het gebruik van chemie in de bestrijding van aaltjes door de overheid steeds verder teruggedrongen, waardoor de focus in de aaltjesbestrijding verschoof van chemische bestrijding naar een meer integrale aanpak. Om de agrarisch ondernemer hierin te ondersteunen is de Aaltjes Beheersing Strategie ontwikkeld.



Afbeelding 2.1. Schade door wortellesieaaltje (*Pratylenchus penetrans*) in schorseneer.

### 2.1 Aaltjes beheersingsstrategie

Om problemen rondom aaltjes te adresseren en agrarisch ondernemers gereedschap te bieden om aaltjes op hun bedrijf te beheersen is door Wageningen University & Research (destijds PPO-AGV) de Aaltjes Beheersing Strategie (ABS) ontwikkeld. Doel hiervan is om middels een set van maatregelen de teler een handvat te bieden om voor zijn bedrijf een strategie op te zetten om zo besmetting en schade door aaltjes te voorkomen, beheersen of bestrijden. Bij het opstellen van een ABS wordt uitgegaan van vier pijlers (Molendijk, 2000) te weten: preventie, inventarisatie, vruchtwisseling en aanvullende maatregelen. In 1996 is voor aardappel een voorbeeld uitgewerkt door Molendijk & Mulder.

- **Preventie:** de pijler preventie richt zich op het voorkomen van het ontstaan van besmettingen door ervoor te zorgen dat er zo min mogelijk vreemde grond op het bedrijf wordt toegelaten, en grond van probleempercelen niet naar schone percelen wordt verslept. Gebruik van gekeurd poot- en zaaigoed en onkruidbeheersing vallen hier ook onder.
- **Inventarisatie:** de pijler inventarisatie richt zich op het opsporen van eventuele besmettingen in een vroeg stadium. Dit gebeurt door kennis van de ondernemer over symptomen van aaltjesbesmetting op het gewas te vergroten, zodat deze op tijd kunnen worden opgemerkt, en het bemonsteren van percelen om aanwezigheid en omvang van mogelijke besmettingen vast te stellen. Ook het verzamelen van de historische gegevens van een perceel zoals besmettingen en eventuele bestrijding die in het verleden is toegepast is hier onderdeel van.
- **Vruchtwisseling:** nadat de aaltjesbesmetting in beeld is gebracht kan worden gekeken of de beheersing middels een gericht gekozen vruchtwisseling kan worden verbeterd. Het is vooral zaak om te voorkomen dat een schadegevoelig gewas wordt geteeld ná de teelt van een vermeerderend gewas. Niet alleen gewaskeuze, maar ook ras keuze is van belang, omdat er verschillen in resistentie zijn tussen verschillende rassen van bijvoorbeeld groenbemesters.
- **Aanvullende maatregelen:** als laatste redmiddel kunnen aanvullende maatregelen worden toegepast zoals chemische bestrijdingsmiddelen of biologische bestrijding zoals anaerobe grondontsmetting, vanggewassen en inundatie.

---

## 2.2 Groenbemesters & Mengsels

Onder de pijler Vruchtwisseling vallen ook de groenbemesters. Verschillende groenbemesters kunnen een verschillende waardplantstatus hebben voor verschillende soorten aaltjes. Daarnaast bestaat er ook verschil in resistentie tussen verschillende rassen van groenbemesters. Het is daarom voor de ondernemer van belang om in de keuze van zijn groenbemesters rekening te houden met een eventuele aanwezige aaltjesbesmetting, het effect dat het telen van een groenbemester heeft voor de ontwikkeling van de aaltjespopulatie en de gevolgen hiervan voor het volggewas. Op de website [www.aaltjesschema.nl](http://www.aaltjesschema.nl) heeft WUR praktijkonderzoek AGV informatie verzameld rondom waardplantstatus (mate waarin een aaltjessoort zich vermeerderd op het gewas) van gewassen en groenbemesters. Dit biedt de ondernemer een belangrijk hulpmiddel. Als er geen rekening wordt gehouden met de waardplantstatus van (mengsels van) groenbemesters, kan dit voor problemen zorgen (Reindsen, 2007). Voor mengsels van groenbemesters is dit net zo belangrijk, maar er ontbreekt nog veel kennis over de effecten van mengsels van groenbemesters op de ontwikkeling van aaltjespopulaties op een perceel (Visser & Hoek, 2010). Het is daarom van belang dat op dit gebied kennis ontwikkeld wordt, ook omdat er in de praktijk steeds meer interesse is voor de toepassing van groenbemestermengsels.

---

## 2.3 Toepassing van groenbemestermengsels

In de herziening van het Europese Gemeenschappelijk Landbouw Beleid (GLB) in 2014/2015, werd bepaald dat zogeheten ecologische aandachtsgebieden moesten worden gecreëerd om de biodiversiteit op landbouwbedrijven te beschermen en te verbeteren (Europees Parlement, 2013). Dit betekende onder andere dat 30% van de rechtstreekse subsidie aan ondernemers slechts wordt uitbetaald als gebruik wordt gemaakt van milieuvriendelijk landbouwmethoden, waaronder het behouden van 5-7% van het areaal als ecologisch aandachtsgebied (Europese Commissie, 2013). In de Nederlandse regeling die hiervan de invulling is, werd het toegestaan om onder bepaalde voorwaarden het areaal aan groenbemesters in een nateelt voor 30% mee te tellen voor het totale areaal ecologisch aandachtsgebied op het erf (Economische Zaken, 2014). Een van de voorwaarden was dat de groenbemester een mengsel betrof en als gevolg hiervan vergrootte aandacht voor mengsels van groenbemesters.

Naast de versterkte aandacht voor mengsels vanwege de vernieuwde GLB-regels, wordt de aandacht ook versterkt door de ontwikkeling van groenbemestermengsels door veredelaars en zaadbedrijven, waarbij gunstige eigenschappen van mengsels worden gepromoot ten opzichte van groenbemesters in monocultuur. Door bijvoorbeeld diep en minder diep wortelende gewassen te combineren of een combinatie van snel sluitende gewassen met gewassen die een goede doorworteling teweegbrengen wordt geprobeerd om gunstige eigenschappen van afzonderlijke groenbemesters met elkaar te combineren. Daarnaast is de aaltjesbeheersing een belangrijk focuspunt (Groeipartners, z.d.). Er zijn meerdere mengsels van groenbemesters op de markt die specifiek bedoeld zijn voor de beheersing en/of bestrijding van aaltjesbesmettingen. Zo biedt P.H. Petersen de Viterra-lijn aan met daarin o.a. 3 mengsels die schade door aaltjes moet verminderen (Saaten Union GmbH., 2016). DSV heeft de mengsels Terralife NemaControl, een mengsel van verschillende resistente bladrammenassen tegen bietencysteaaaltjes en maïswortelknobbelaaltjes, en Terralife BetaSola een mengsel waarbij tegen een brede range aan aaltjes een gereduceerde impact wordt geclaimd (DSV, 2016).

Probleem bij een aantal van deze mengsels, is dat er soms een groot deel aan waardgewassen in het mengsel voorkomen. Zo bestaat bijvoorbeeld het Viterra Trio mengsel voor 36% uit Alexandrijnse klaver, wat een (matige) waardplant is voor het bietencysteaaaltje (Anoniem, z.d.). Desondanks wordt geclaimd dat het bietencysteaaaltje op dit mengsel zich niet vermeerderd. Eenzelfde geval is het mengsel Terralife Betasola van DSV. Ruim 60% van dit mengsel wordt gevormd door gewassen die het wortellesieaaltje sterk vermeerderen. Desondanks wordt geclaimd dat het mengsel de impact van aaltjes verlaagt en de populatie wortellesieaaltjes zelfs zou verminderen. Dit effect wordt toegeschreven aan de verhoogde bodemweerbaarheid ten gevolge van een verhoogde biodiversiteit door

meerdere verschillende gewassen. Echter is over dit effect uit de literatuur nog weinig bekend, en in de praktijk nog weinig ervaring. Zelfs als er geen claims worden gedaan m.b.t. het effect van het mengsel op een of meerdere aaltjessoorten, is het van belang dat de teler weet wat voor gevolg het telen van dergelijke mengsels zal hebben voor zijn de status van aaltjesproblematiek op zijn perceel. Om in het kader van het opstellen van een Aaltjes beheersingsstrategie de teler van correcte kennis en informatie te kunnen voorzien, is het daarom van belang dat er onderzoek wordt gedaan naar effecten van mengsels van waard- en niet-waardplanten op de bodemweerbaarheid en daaruit voortvloeiend effecten op aaltjespopulaties en -schade.

---

## 2.4 Bodemweerbaarheid & Aaltjes

Bodemweerbaarheid is samen met stabiliteit, biodiversiteit en actieve nutriëntencycli een eigenschap van 'gezonde bodems'. In de context van de plantpathologie wordt met bodemweerbaarheid vaak specifiek de ziekte onderdrukkende capaciteit bedoeld ('soil suppressiveness'). Ziekteonderdrukking kan een verscheidenheid van mechanismen inhouden zoals het voorkomen van vestiging van een pathogeen, het voorkomen van schade door pathogenen die wel aanwezig zijn, of het beperken van de groei van pathogene populaties (Van der Putten et al., 2006).

Het is bekend dat de toevoeging van verse organische stof in de bodem, een bijdrage kan leveren aan onderdrukking van plantenziekten, echter is dit niet onherroepelijk het geval. Mechanismen die aan ziekteonderdrukkende effecten ten grondslag kunnen liggen zijn: toxische stoffen die bij de vertering vrijkomen, een toename van het aantal antagonisten - zowel concurrentie als predatie, toename van parasitaire schimmels en/of bacteriën, stimulatie of remming van ei-uitkomst en/of cyste-lokking (Postma et al., 2010). Minder bekend is of specifieke mengsels van planten een effect hebben op de bodemweerbaarheid, die níet het gevolg zijn van de toevoeging van organische stof en die zich uit in een verminderde schade in het volggewas. Dit laatste punt is een belangrijke: enig effect op de bodemweerbaarheid dat voortkomt uit het mengsel dient blijvend genoeg te zijn om zich tijdens de groei van het volggewas te kunnen uiten. Hierbij moet vervolgens worden uitgesloten dat dit effect niet slechts het gevolg is van het onderwerken van het gewas en de input van verse organische stof die dit veroorzaakt.

Kostenko et al. (2015) vonden dat met het toenemen van plantdiversiteit in een ecosysteem, o.a. plantparasitaire nematoden in aantal toenamen, terwijl predatoire nematoden geen verhoging lieten zien. Hiltbold et al. (2015) lieten zien dat wortellexudaat uit erwten een ruststadium induceert in zowel plant-parasitaire nematoden als predatoire nematoden. Echter is in een studie uit 2005 waargenomen dat *Meloidogyne incognita* een toegenomen activiteit liet zien na herstel van een exudaat-geïnduceerde rusttoestand (Hubbard et al., 2005). In alfalfa en komkommer was het aantal aaltjes per wortel in de eerste vier tot zeven dagen hoger dan in onbehandelde controles. Dit toont aan dat hoewel er mechanismen zijn die via wortellexudaat op nematoden werken, de exacte effecten moeilijk te kenmerken zijn in een veldsituatie. Ook is het van belang te beseffen dat bodemweerbaarheid veelal soortspecifiek is. Een bodem die weerbaarheid tegen het ene pathogeen laat zien, hoeft niet per definitie ook weerbaarheid tegen andere pathogenen te laten zien (Termorshuizen et al., 2006).

---

## 2.5 Bodemweerbaarheid testen

Vanwege de afwezigheid van duidelijk aanwijsbare indicatoren die wijzen op bodemweerbaarheid, zal het identificeren en/of kwantificeren van bodemweerbaarheid voornamelijk moeten berusten op observaties van de schade in een gewas, groeiend op de te onderzoeken grond, in aanwezigheid van een pathogeen. Om de effecten van de teelt van (specifieke) (mengsels van) groenbemesters op de bodemweerbaarheid te testen, is daarom ontwikkeling nodig van een gestandaardiseerd toetsprotocol waarmee (meer) weerbare van niet/minder weerbare gronden kunnen worden onderscheiden. Wageningen University & Research heeft een protocol voor het uitvoeren

van toetsing van bodemweerbaarheid tegen *Meloidogyne spp.* en tegen *Rhizoctonia*. Dit wordt gedaan door op de toetsgronden sla of biet te laten groeien, en een pathogeen toe te voegen. Vervolgens wordt na tijd *t* gekeken hoeveel schade het gewas op de verschillende gronden heeft ondervonden van het pathogeen.



Afbeelding 2.2. Worteltesieaaltje (*Pratylenchus penetrans*)

Voor het worteltesieaaltje (afbeelding 2.2) is nog geen weerbaarheidstoets voor handen, terwijl dit wel een belangrijke plant-parasitaire nematodesoort is, die veel op zand-, dal-, en lichte zavelgronden voorkomt en een breed waardplantbereik heeft (Aasman et al., 2013). Daarnaast claimt DSV plant een specifiek effect van de teelt van hun groenbemestermengsel op schade door *P. penetrans* (DSV, 2016). Het is daarom wenselijk om een toets te ontwikkelen waarmee weerbaarheid tegen *P. penetrans* kan worden getoetst, om het onderzoek naar bodemweerbaarheid, en de invloed die teeltmaatregelen (waaronder het telen van groenbemesters) op de bodemweerbaarheid hebben, te kunnen verbreden. Bij voorkeur zou dit in de combinatie *P. penetrans* op sla gebeuren omdat sla in een aantal biotoetsen die bij Wageningen University & Research worden uitgevoerd ook al het toetsgewas is. Het voordeel van sla is dat het een relatief goedkoop en snelgroeiend gewas is, wat de kosten en looptijd van de biotoets verlaagt. Schade van *P. penetrans* in sla uit zich door remming van de plantontwikkeling, door aanwezigheid van laesies op de wortels en uiteindelijk door verbruining van de wortels.

## 2.6 Vraagstelling

In dit onderzoek wordt onderzocht of het mogelijk is om bodemweerbaarheid tegen *P. penetrans* te toetsen met sla als toetsgewas. De volgende vragen zijn hierbij van belang:

Hoe kan middels een biotoets met sla, verschil in bodemweerbaarheid tegen *P. penetrans* worden aangetoond tussen verschillende gronden?

Hiervoor is antwoord nodig op de volgende vragen:

- Welke variabele (versgewicht, wortelgewicht, telling van wortellaesies, scoren van mate van verbruining van wortels, of visuele beoordeling van de groei van de planten) geeft het meeste informatie over verschil in schade?
- Kan er op basis van één inoculumdichtheid getoetst worden, of is er een dichthedenreeks nodig waarmee een schaderelatiecurve kan worden opgesteld?
- Bij welke inoculumdichtheid of -dichtheden moet er getoetst worden?

Aan de hand van de antwoorden op deze vragen zal een protocol kunnen worden opgesteld waarmee gronden vergelijkend getoetst kunnen worden op weerbaarheid tegen *P. penetrans*. Naast effecten op *Meloidogyne spp.* en *Rhizoctonia* kunnen dan ook effecten op *P. penetrans* worden onderzocht. Hiermee kan het onderzoek naar de relatie tussen groenbemester(-mengsels) en bodemweerbaarheid verbreed worden. Daarnaast kan deze methode ook in algemenere context toegepast worden, zoals bijvoorbeeld onderzoek naar bodemweerbaarheid in zijn algemeen. Daarmee zal deze methode en dit onderzoek niet alleen interessant zijn voor Wageningen University & Research, maar voor elke partij die zich bezighoudt met onderzoek op dit gebied. Het voordeel van deze methode zal zijn dat de toets met sla als toetsgewas kan worden uitgevoerd, wat de looptijd van de toets relatief kort houdt.



### 3 Materiaal & Methoden

Dekzandgrond afkomstig van proefboerderij Vredepeel is verzameld en met behulp van een schop gemixt. De grond is in twee partijen verdeeld, de helft hiervan is vier uur op 68-70 °C gepasteuriseerd. De grond is in gesloten plastic zakken verhit om verdamping van bodemvocht te voorkomen. Het vochtgehalte van beide partijen is (na pasteurisatie) bepaald door in drie herhalingen 300gr grond voor 12 uur op 100 graden te drogen in een droogstoof. Beide grond hadden een vochtgehalte van 10,5%. Grond is bewaard bij 4 °C. De grond is nagekeken op eventuele aanwezigheid van *P. penetrans* en andere aaltjessoorten door de grond op te spoelen volgens het standaardprotocol voor het spoelen met een Oostenbrink trechter, waarbij de grond in de trechter in suspensie wordt gebracht in een opwaartse waterstroom, waardoor gronddeeltjes uitzinken en aaltjes in suspensie blijven. Deze suspensie is twee weken geïncubeerd en vervolgens geteld. Zwarte plastic potjes (afmetingen: 9x9x9cm) zijn genummerd en gevuld met 500ml grond. De bodem van de potjes werd bedekt met 50µm gaas om uitspoelen van grond te voorkomen en om te voorkomen dat aaltjes tijdens het watergeven door de gaatjes in de pot naar buiten zouden kruipen. Sla (ras 'Wengen' werd direct op de potjes gezaaid (1 zaad/pot). Kieming en groei van de planten gebeurde bij hetzelfde kasklimaat (dag-/nachttemperatuur: 22/16°C, dag/nacht ritme van 16/8 uur). Potten stonden per acht in plastic eb & vloedbakken. Na kieming werden de potjes via eb en vloed gewaterd (2,5 liter water/bak, overtollig water na 15 minuten afdalen.) Eenmaal per week werden de potjes bemest met 25ml kristallon oplossing (2gr/L, N-P-K-MgO-SO: 15-5-30-3-5 + spoorelementen). Na 14 dagen werden de potjes geïnoculeerd met een reeks van 12 inoculum-dichtheden met *P. penetrans* (zie afbeelding 3.1). De reeks liep van 6.25 aaltjes/100ml grond volgens een exponentiele reeks (factor twee per stap) naar 6400 aaltjes/100ml grond, met een controle van 0 aaltjes/100ml grond (zie tabel 3.1) De proef is in zes herhalingen uitgevoerd. De totale omvang van de proef is daarmee 144 potjes (twee gronden, 12 inoculumdichtheden per grond, zes herhalingen). Inoculum werd bereid door besmet wortelmateriaal van maïs en hennep uit opslag gedurende vier weken te incuberen in een Seinhorst mistkast. De verkregen aaltjessuspensie werd geteld en de dichtheid werd vastgesteld op 2520/ml wat overeenkwam met 32 000/13 ml. Inoculatievolume per potje werd daarom op 13 ml gesteld. Per herhaling was daarom  $6 * 13 = 84$  ml nodig, maal twee gronden = 166 ml per inoculumdichtheid. Van 400 ml basis suspensie is 200 ml apart genomen, en is de overige 200ml aangelengd met 200 ml water, om zo een verdunning van een op twee te verkrijgen. Van de resulterende 400 ml oplossing met een dichtheid van 1255/ml en 16000/13 ml, werd opnieuw 200 milliliter apart genomen, en de overige 200ml aangelengd met 200 ml water. Op deze manier werd stapsgewijs de inoculumreeks verkregen.

**Tabel 3.1. Aaltjes (n) per volume grond in inoculumreeks**

| n/ml   | n/100 ml | n/500ml |
|--------|----------|---------|
| 0      | 0        | 0       |
| 0.0625 | 6.25     | 31      |
| 0.125  | 12.5     | 63      |
| 0.25   | 25       | 125     |
| 0.5    | 50       | 250     |
| 1      | 100      | 500     |
| 2      | 200      | 1,000   |
| 4      | 400      | 2,000   |
| 8      | 800      | 4,000   |
| 16     | 1600     | 8,000   |
| 32     | 3200     | 16,000  |
| 64     | 6400     | 32,000  |



**Afbeelding 3.1. Inoculatie van de potten met sla voor de bodemweerbaarheidstoets. Met pipet werd per pot 4 maal 4.5 ml suspensie (13ml totaal) met verschillende dichtheden *Pratylenchus penetrans* geïnoculeerd.**

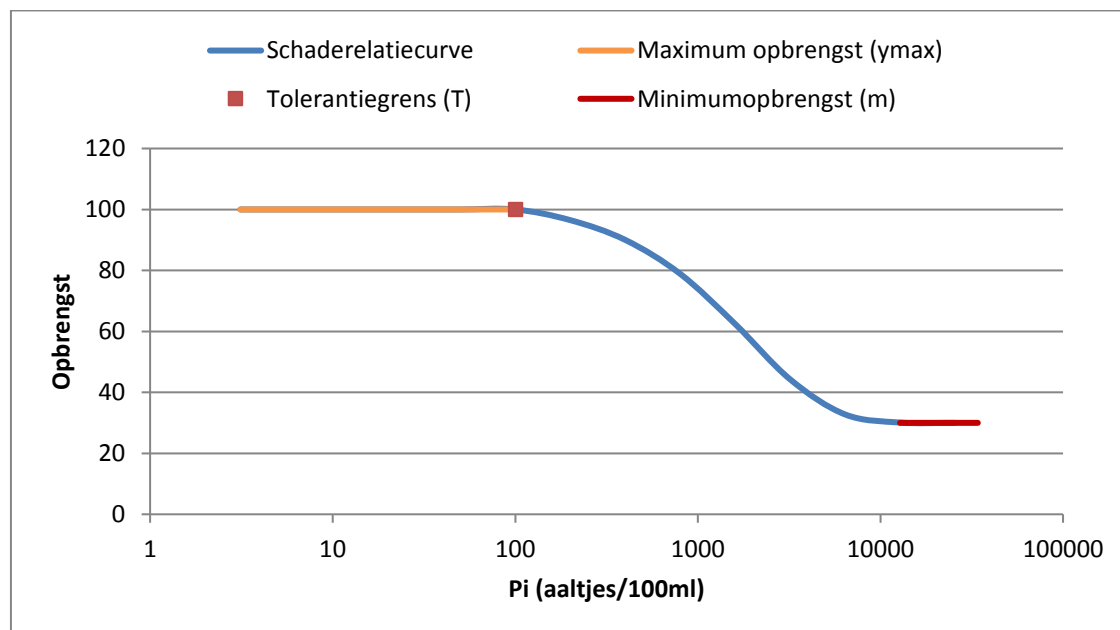
Op 7, 14 en 21 dagen na inoculatie (dni) zijn de planten visueel op groei beoordeeld door planten op een schaal van 1 tot 10 te scoren, waarbij 1 de kleinste planten zijn en 10 de grootste. 28 dagen na inoculatie is de proef afgebroken. Eerst zijn de planten voor een laatste keer gescoord op hun groei. Vervolgens is het loof bij de wortel afgesneden en in papieren zakken gedaan. Vers- en drooggewicht en percentage droge stof zijn bepaald door te drogen in droogstoof voor 24 uur bij 105 graden voor het loof, en 48 uur bij 75 voor de wortels. Wortels werden met grond uit potjes verwijderd en grond werd met water van de wortels gespoeld. Vervolgens werden wortels beoordeeld op mate van aantasting, door de hoeveelheid bruinverkleuring zichtbaar op de wortelstelsels te scoren op een 3-punts schaal (score 1: geen/vrijwel geen lesies, score 2: matig tot veel lesies & score 3: veel tot zeer veel lesies). Vervolgens werden vers- en drooggewichten en percentage droge stof bepaald.

Verwerking van de gegevens vond voornamelijk plaats in Excel. Resultaten werden gemiddeld over de herhalingen en verbanden tussen de variabelen werd bepaald door in Excel trendlijnen en bijbehorende determinatiecoëfficiënt ( $R^2$ ) te berekenen. Met behulp van het statistisch programma Genstat v18, is vervolgens de data gefit naar Seinhorts schaderelatie model (vergelijking 1, Schomaker & Been, 2006), waarbij de parameters schadedrempel ( $T$ ), maximale opbrengst ( $y_{max}$ ) en minimale opbrengst ( $m$ ) zijn geschat (Zie figuur 3.2 voor een visueel voorbeeld). Middels de determinatiecoëfficiënt is gekeken hoe goed de data van de verschillende meetvariabelen in het model passen.

**Vergelijking 1. Seinhorts schaderelatiemodel.**

$$y = y_{max} \left\{ m + (1 - m) 0.95^{\frac{Pi - T}{T}} \right\} \text{ voor } Pi > T$$

$$y = y_{max} \text{ voor } Pi < T$$



**Figuur 3.1 Voorbeeld van een schaderelatiecurve op basis van vergelijking 1.**



## 4 Resultaten

Tijdens de loop van de proef werd al snel duidelijk dat er een groot verschil was in de groei van de sla op de verhitte grond ten opzichte van de onbehandelde grond. De sla op de verhitte grond groeide zichtbaar sneller dan op de onbehandelde grond (Afbeelding 4.1). Hoewel beide gronden bij het vullen van de potjes een vergelijkbaar vochtgehalte hadden (+/- 10,5%), droogde de verhitte grond veel sneller op dan de onbehandelde grond. Een andere factor die opviel, was dat bij het opspoelen van de wortels, er veel wortelmateriaal verloren ging doordat wortels afbraken. Het leek er ook op dat voornamelijk de wortelstelsels met de meeste aantasting hier het meeste last van hadden. Ook tijdens andere handelingen die op de wortelstelsels werden uitgevoerd, bleef stevast een deel van de wortels achter op bijvoorbeeld handen of de ondergrond waarop ze gelegen hadden. Uit de tellingen van de spoelmonsters bleek dat de onbehandelde grond gemiddeld 25 *P. penetrans* per 100 ml grond aan natuurlijke besmetting bevatte. Verder bevatte de grond geen noemenswaardige andere schadelijke aaltjessoorten.

*NB. Voor alle grafieken geldt dat alle waarden op de x-as zijn opgehoogd omdat 0 niet op een logaritmische schaal kan worden weergegeven. '1' op de x-as vertegenwoordigt daarmee een waarde van 0, en is de controle-groep.*



**Afbeelding 4.1** Verschil in groei tussen slaplanten op onbehandelde grond (boven) en gepasteuriseerde grond (onder) 14 dagen na zaai.

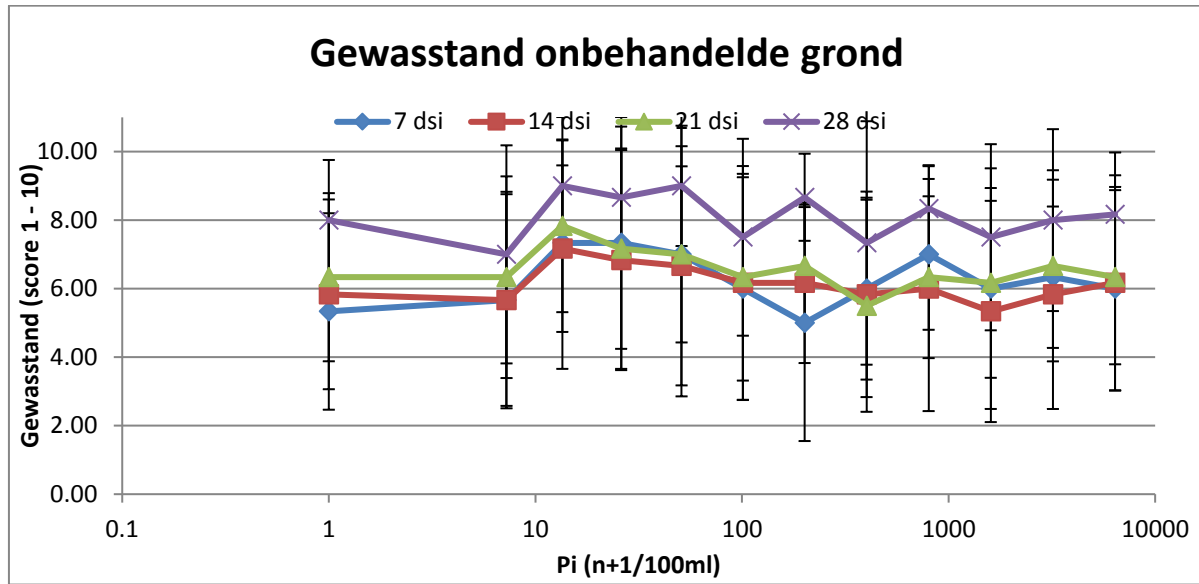
### 4.1 Gewasscores



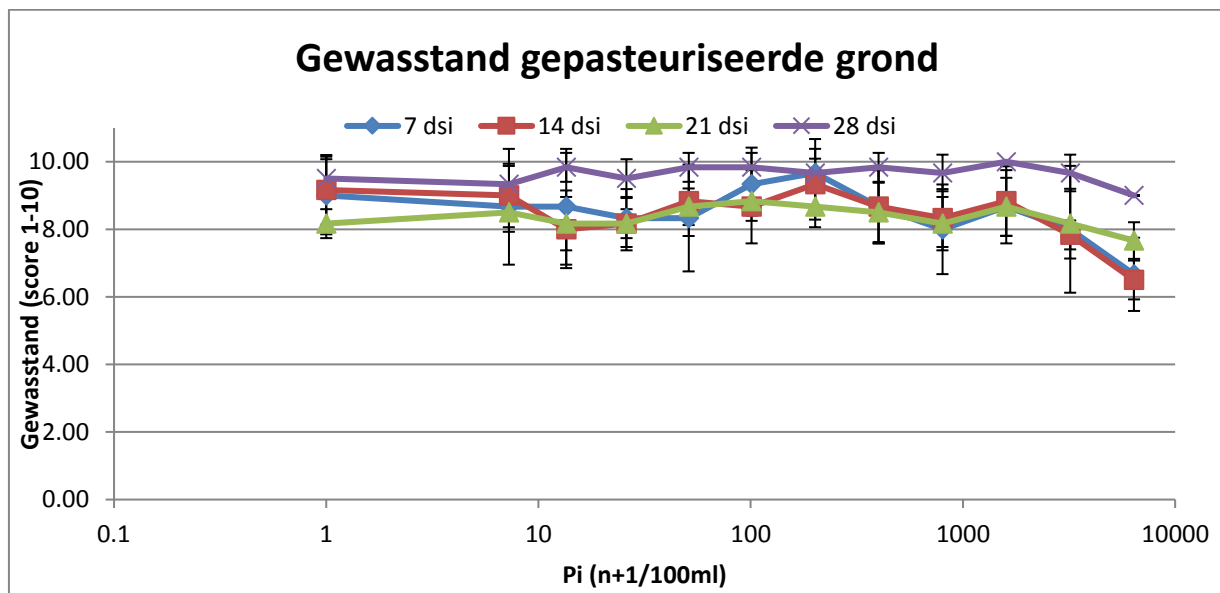
**Afbeelding 4.2.** Voorbeelden van slaplanten 28 dagen na inoculatie. Linksboven control voor de onbehandelde grond, rechtsboven control voor de gepasteuriseerde grond. Linksonder 6400 aaltjes/100ml voor de onbehandelde grond, rechtsonder 6400 aaltjes/100 ml grond voor de gepasteuriseerde grond.

In figuren 4.1 & 4.2 zijn de scores van de gewasstand gedurende de loop van de proef uitgezet tegen de beginbesmetting 'Pi' (Aantal *P. penetrans* per 100ml grond, of n/100ml). De curves voor de onbehandelde grond laten op 7 dagen na inoculatie (dni) bij een Pi van 0 (controle) een gemiddelde score van 4.67 zien. Bij een Pi van 100 begint groeiremming zichtbaar te worden. Op 14 en 21 dni zijn de scores bij een Pi van 0 respectievelijk 4.50 en 5.67. Op beide momenten is vanaf een Pi van 50 groeiremming te zien. De eindscore (28 dni) laat de duidelijkste schaderelatie zien (zie ook afbeelding 4.2), waarbij de scores tot aan een Pi van 100 redelijk gelijk blijven, en vanaf een Pi van 100 een toenemende daling laten zien. De betrouwbaarheidsintervallen van de gemiddeldes van de eerste drie weken overlappen elkaar sterk. De scores bij de eindscore liggen significant hoger dan de scores van de voorgaande weken. De curves voor de gepasteuriseerde grond laten een veel minder sterke daling van de scores bij hogere Pi's zien dan de onbehandelde grond. De scores bij een Pi van 0 zijn voor de vier meetmomenten

respectievelijk: 9.00, 9.17, 8.17 en 9.50. Tot aan een Pi van 1600 blijven de gemiddelde scores redelijk constant. Vanaf een Pi van 1600 treedt een lichte daling van de gemiddelde scores op. Bij de eindbeoordeling liggen de hoogste Pi echter niet significant lager dan de lagere Pi's. De betrouwbaarheidsintervallen van zowel de eerste drie weken als de eindbeoordeling overlappen elkaar sterk. Wat ook opvalt is dat de scores voor de gepasteuriseerde grond consistent hoger liggen dan de scores voor de onbehandelde grond, ook bij een Pi van 0. Dit komt overeen met hierboven genoemde observaties tijdens de looptijd van de proef: de slaplanten op de gepasteuriseerde grond groeide vanaf het moment van kieming duidelijk harder dan de planten op de onbehandelde grond.



Figuur 4.1 Gemiddelde scores van de gewasstand Sla (ras 'Wengen') bij verschillende beginbesmettingen (Pi) met *Pratylenchus penetrans*, op 7, 14, 21 en 28 dagen na inoculatie (dni) voor de onbehandelde dekzandgrond afkomstig van proefbedrijf Vredepeel.



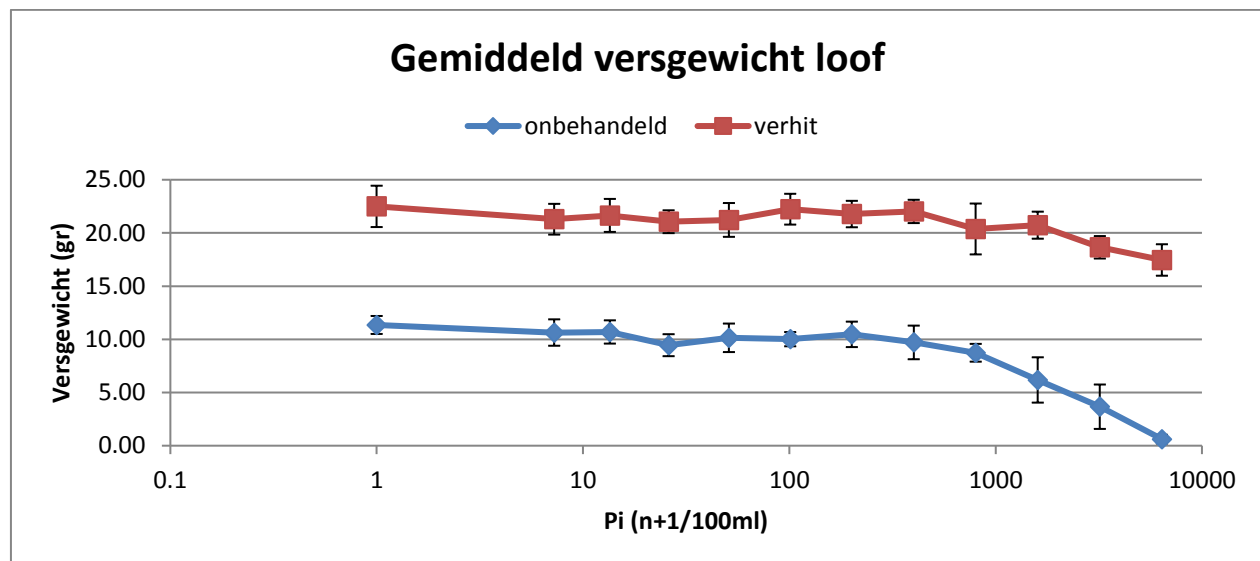
Figuur 4.2 Gemiddelde scores van de gewasstand van Sla (ras 'Wengen') bij verschillende beginbesmettingen (Pi) met *Pratylenchus penetrans*, op 7, 14, 21 en 28 dagen na inoculatie (dni) voor gepasteuriseerde dekzandgrond afkomstig van proefbedrijf Vredepeel.

## 4.2 Loofgewichten

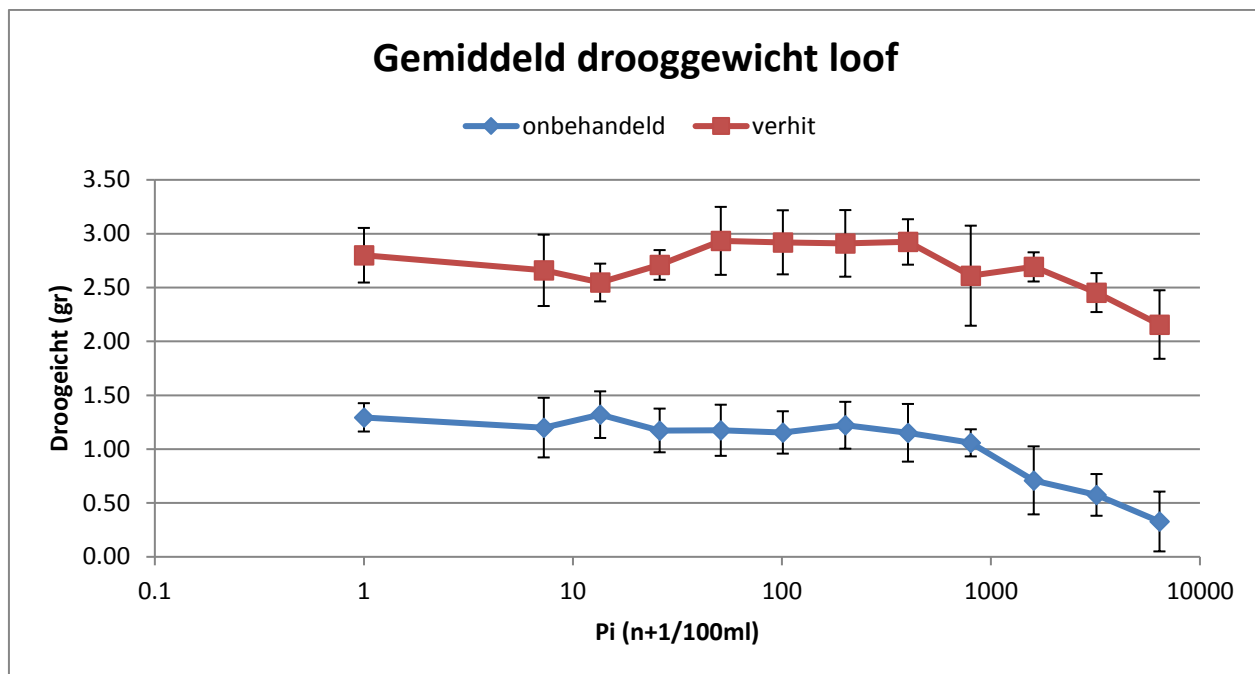
Op 28 dagen na inoculatie zijn de loofgewichten gemeten. De loofgewichten laten in grote lijnen dezelfde trends zien als de gewasscores (figuren 4.3 & 4.4). Het gemiddelde verse loofgewicht bij een Pi van 0 is voor de onbehandelde grond 11.35 gram en voor de gepasteuriseerde grond 22.50 gram. Het gemiddelde loofgewicht blijft voor de onbehandelde groep redelijk gelijk tot een Pi van 200, en begint vanaf dit punt te dalen. Het gemiddelde loofgewicht voor de gepasteuriseerde grond begint te dalen bij een Pi van 400. De daling is voor de onbehandelde grond sterker dan voor de gepasteuriseerde grond, waarbij het verschil tussen beide groepen oploopt van 11.15 gram bij een pi van 0, naar een verschil van 16.84 bij een Pi van 3200.

De drooggewichten laten een vergelijkbare trend zien als de versgewichten. Het gemiddelde drooggewicht bij een Pi van 0 is voor de onbehandelde grond 1.30 gram, en voor de verhitte grond 2.80 gram. Voor de onbehandelde grond begint het gemiddelde gewicht te dalen vanaf een Pi van 200, en voor de verhitte grond vanaf een Pi van 400. Voor beide groepen komt dit overeen met de versgewichten. Opvallend is het relatief lage gemiddelde van de verhitte grond bij een Pi van 800, met vrij grote zekerheidsintervallen. Het lage gemiddelde en de grote zekerheidsinterval zijn het gevolg van een meting die veel lager ligt dan de rest van de herhalingen (1.74 tegen een gemiddelde van 2.61). In mindere mate is deze dip met grotere zekerheidsintervallen ook in het versgewicht terug te zien. De gewasscore voor deze pot was niet duidelijk lager dan zijn groep. Er is geen duidelijk aanwijsbare reden waarom dit gewicht zo laag is. Ook opvallend is het lage gemiddelde bij een Pi van 12.5. Het gemiddelde gewicht bij deze Pi verschilt significant van het gemiddelde bij een Pi van 0. Dit is echter in het versgewicht niet terug te zien. Als gevolg hiervan ligt het droge stofpercentage op dit punt wel aanmerkelijk lager.

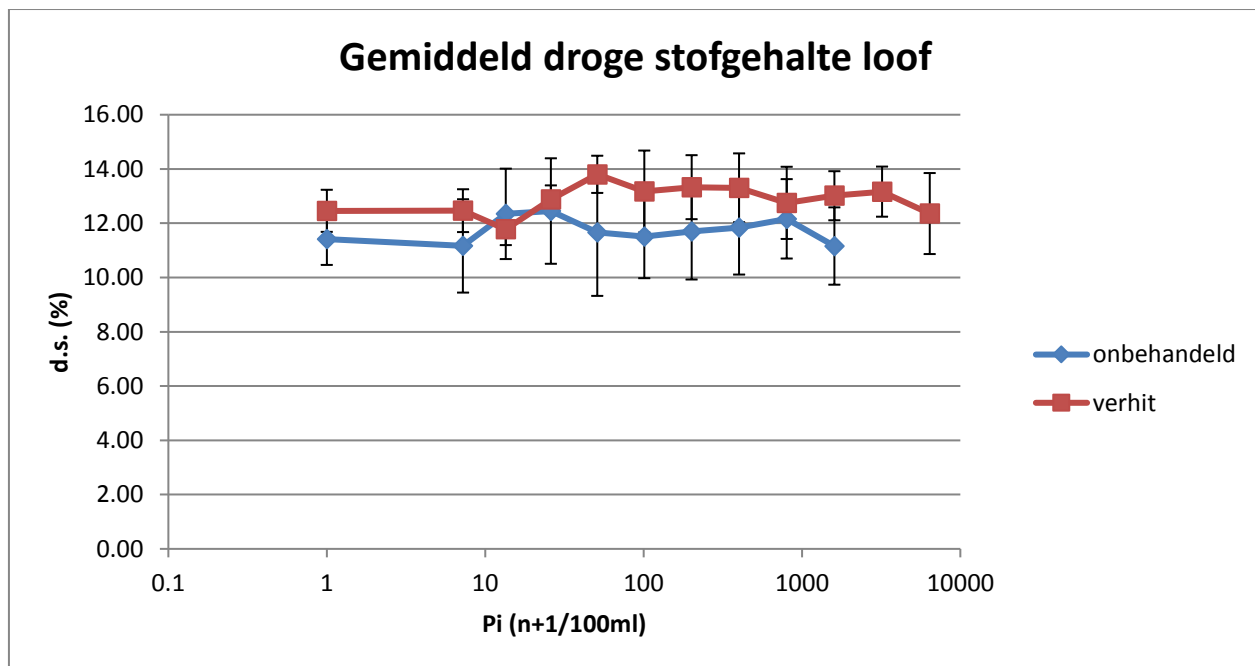
Droge stofgehalten blijven redelijk consistent over de Pi-reeks (figuur 4.5). Droge stofpercentages zijn voor de onbehandelde grond bij Pi van 3200 en 6400 zijn buiten beschouwing gelaten omdat vanwege de kleine planten de droge stof-bepaling niet betrouwbaar meer was (21.69 & 52.26 resp. met zeer grote betrouwbaarheidsintervallen van 14 en 21 resp.). De droge stofgehalten van beide groepen verschillen statistisch niet van elkaar op basis van variantieanalyse.



Figuur 4.3 Gemiddelde versgewichten van het loof van Sla (ras 'Wengen') 28 dagen na inoculatie met *Pratylenchus penetrans* bij verschillende beginbesmettingen (Pi) voor onbehandelde en verhitte dekzandgrond afkomstig van proefbedrijf Vredepeel



Figuur 4.4 Gemiddelde drooggewichten van het loof van Sla (ras 'Wengen') 28 dagen na inoculatie met *Pratylenchus penetrans* bij verschillende beginbesmettingen (Pi) voor onbehandelde en verhitte dekzandgrond afkomstig van proefbedrijf Vredepeel.



Figuur 4.5 Gemiddelde droge stofgehaltes van het loof van Sla (ras 'Wengen') 28 dagen na inoculatie met *Pratylenchus penetrans* bij verschillende beginbesmettingen (Pi) voor onbehandelde en verhitte dekzandgrond afkomstig van proefbedrijf Vredepeel.

### 4.3 Wortelgewichten

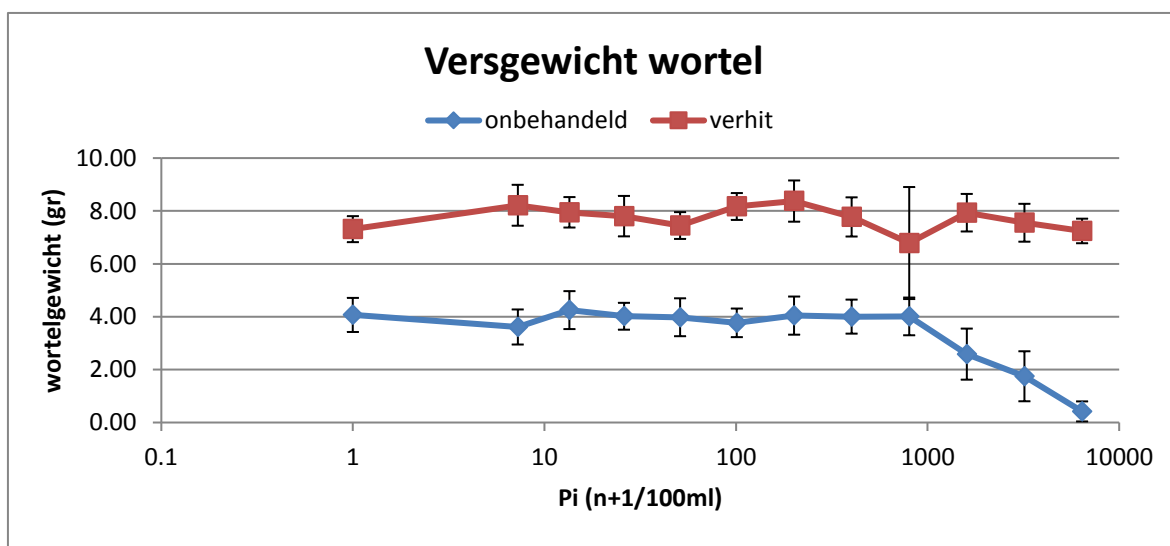
Op 28 dagen na inoculatie zijn de wortelstelsels gespoeld en wortelgewichten gemeten (afbeelding 4.3). De wortelgewichten laten in grote lijnen dezelfde trends zien als de gewasscores en loofgewichten (figuren 4.6 & 4.7). Het gemiddelde verse wortelgewicht bij een  $P_i$  van 0 is 4.07 voor de onbehandelde grond en 7.31 voor de verhitte grond. Voor de verhitte grond is geen duidelijke punt aan te wijzen waarop een daling van de wortelgewichten inzet. De gewichten op  $P_i = 0$  en  $P_i = 6400$  verschillen ook niet significant van elkaar. Voor de onbehandelde grond begint de daling van de gewichten bij een  $P_i$  van 800. Net als bij de loofgewichten valt het relatief lage gemiddelde op van de verhitte grond bij een  $P_i$  van 800, met vrij grote zekerheidsintervallen.



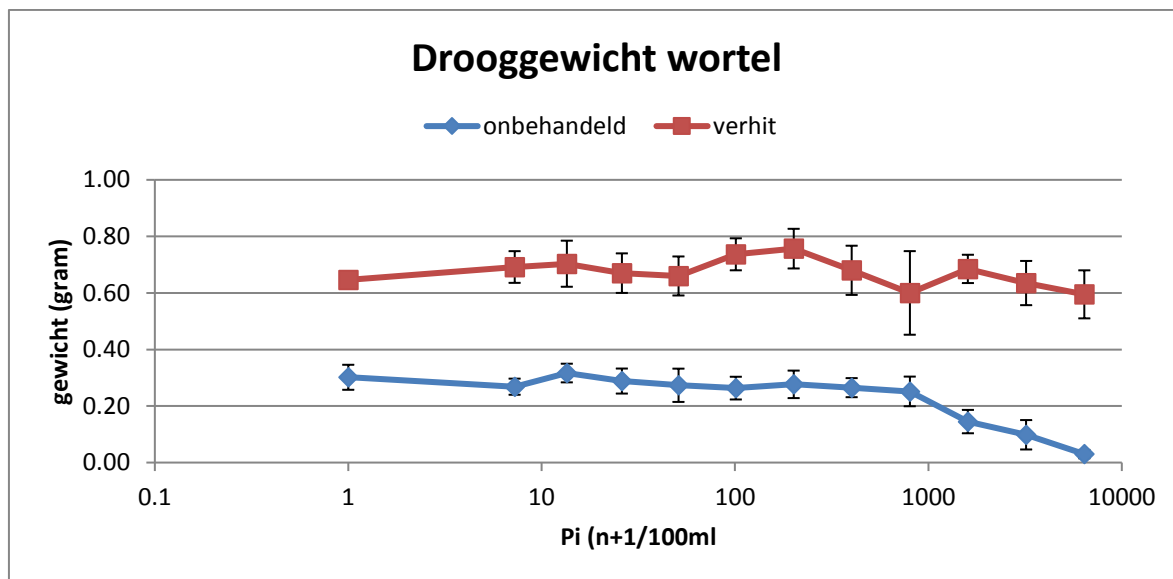
Afbeelding 4.3. Het spoelen van de wortelstelsels voordat ze worden gewogen en beoordeeld op schade.

De drooggewichten laten een vergelijkbare trend zien als de versgewichten. Het gemiddelde drooggewicht bij een  $P_i$  van 0 is voor de onbehandelde grond 0.30 gram, en voor de verhitte grond 0.65 gram. Voor de onbehandelde grond begint het gemiddelde gewicht te dalen vanaf een  $P_i$  van 800, en voor de verhitte grond is een daling niet significant aanwezig (hoogste  $P_i$ 's verschillen niet significant van  $P_i = 0$ ).

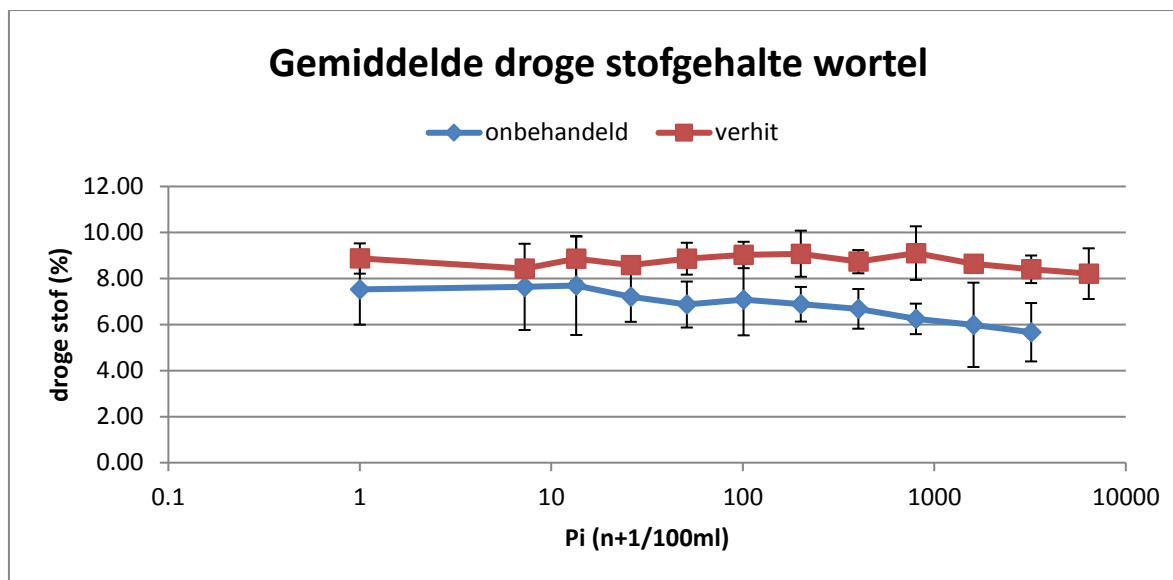
Droge stof-gehalten blijven bij de verhitte grond-groep weer redelijk gelijk, met een droge stof-gehalte van 8.87 bij een  $P_i$  van 0 en 8.21 bij een  $P_i$  van 6400 (figuur 4.8). Deze gehalten verschillen niet significant van elkaar. Bij de onbehandelde grond is een over de gehele reeks een lichte daling te zien, met een droge stof-gehalte van 7.52 bij een  $P_i$  van 0 en 5.67 bij een  $P_i$  van 3200. Echter verschillen de gehalten bij een  $P_i = 0$  en  $P_i = 3200$  niet significant van elkaar. Het droge stof-gehalte bij een  $P_i$  van 6400 is wederom buiten beschouwing gelaten vanwege de extreem hoge waarde met zeer ruime zekerheidsintervallen (een gemiddelde van 15.09 met een zekerheidsinterval van 18.12). De droge stofgehalten van beide groepen verschillen wederom statistisch niet van elkaar op basis van variantieanalyse.



Figuur 4.6 Gemiddelde versgewichten van de wortels van Sla (ras 'Wengen') 28 dagen na inoculatie met *Pratylenchus penetrans* bij verschillende beginbesmettingen ( $P_i$ ) voor onbehandelde en verhitte dekzandgrond afkomstig van proefbedrijf Vredepeel.



Figuur 4.7 Gemiddelde drooggewicht van de wortels van Sla (ras 'Wengen') 28 dagen na inoculatie met *Pratylenchus penetrans* bij verschillende beginbesmettingen (Pi) voor onbehandelde en verhitte dekzandgrond afkomstig van proefbedrijf Vredepeel.



Figuur 4.8 Gemiddelde droge stofgehaltes van de wortels van Sla (ras 'Wengen') 28 dagen na inoculatie met *Pratylenchus penetrans* bij verschillende beginbesmettingen (Pi) voor de onbehandelde en verhitte dekzandgrond afkomstig van proefbedrijf Vredepeel.

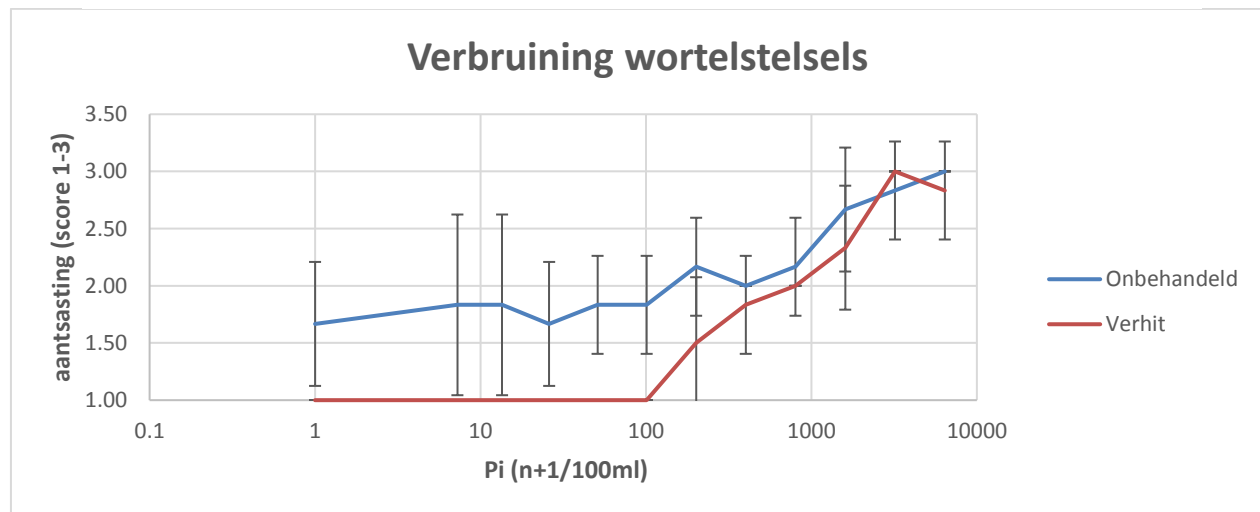


#### 4.4 Bruinscores

Op 28 dagen na inoculatie is de verbruining van de wortels is op een 3-punts schaal gescoord, waarbij op het oog het aantal bruine lesies op het wortelstelsel werd beoordeeld als 1: geen tot weinig, 2: middelmatig tot veel en 3: veel tot zeer veel (afbeelding 4.4). Op de verhitte grond zijn tot en met een Pi van 100 geen duidelijke lesies te zien op de wortelstelsel (figuur 4.9). Vanaf een Pi van 100 stijgt het aantal lesies echter sterk, tot een gelijk niveau met de onbehandelde grond. De onbehandelde grond laat ook bij de laagste Pi (Pi = 0) lesies zien als gevolg van de lage hoeveelheid aanwezige achtergrondbesmetting. De scores van onbehandelde grond en verhitte grond verschillen significant van elkaar tot aan een Pi van 400, vanaf een Pi van 400 en hoger verschillen de bruinscores voor wortels van de onbehandeld groep niet significant van de scores voor wortels van de verhitte groep (ANOVA,  $p < 0.05$ ). Over het geheel genomen verschillen de twee groepen significant van elkaar (ANOVA,  $p < 0.05$ ).



Afbeelding 4.4 Sterk verbruind wortelstelsel (score 3, links) en vrijwel niet aangetast wortelstelsel (score 1, rechts).



Figuur 4.9 Gemiddelde verbruining van de wortels van Sla (ras 'Wengen') 28 dagen na inoculatie met *Pratylenchus penetrans* bij verschillende beginbesmettingen (Pi) voor onbehandelde en verhitte dekzandgrond afkomstig van proefbedrijf Vredepeel. Score op een schaal van 1: geen tot weinig verbruiging tot 3: zeer veel verbruiging.

## 4.5 Verbanden tussen variabelen

Om verbanden tussen de verschillende meetvariabelen inzichtelijk te maken zijn met behulp van Excel trendlijnen door de data getrokken (lineair voor verbanden met bruinscore en voor verband tussen loof en wortelgewicht, exponentieel voor de overige verbanden) en bijbehorende determinatiecoëfficiënten ( $R^2$ ) bepaald. In tabel 4.1 & 4.2 zijn de  $R^2$ -waarden te zien voor de verbanden tussen verschillende meetwaarden op basis van versgewichten (tabel 4.1) en de drooggewichten (tabel 4.2). Hierbij zijn zowel de verbanden voor de gehele proef, als de verbanden voor de afzonderlijke groepen gegeven. Hierbij zijn in groen de sterke verbanden aangegeven ( $R^2 > 0.75$ ), en in wit en rood zwakkere verbanden ( $R^2 < 0.75$ ). Als eerste valt op dat de meetwaarden voor bruinscore weinig verband laten zien met andere meetwaarden. Daarnaast is te zien dat voor de verhitte groep geen enkele meetwaarde een sterk verband laat zien met een andere meetwaarde. Voor zowel de onbehandelde groep als beide groepen samen, laten loofgewicht, wortelgewicht en gewasstand onderling allemaal een sterk verband zien met elkaar.

**Tabel 4.1  $R^2$ -waarden voor verbanden tussen meetvariabelen op basis van versgewichten voor onbehandelde en verhitte grond, als de data samen.**

| Versgewichten |             | Gewasstand | Loofgewicht | Wortelgewicht |
|---------------|-------------|------------|-------------|---------------|
| Loofgewicht   | Onbehandeld | 0.85       |             |               |
|               | Verhit      | 0.18       |             |               |
|               | Samen       | 0.88       |             |               |
| Wortelgewicht | Onbehandeld | 0.76       | 0.79        |               |
|               | Verhit      | 0.04       | 0.17        |               |
|               | Samen       | 0.82       | 0.91        |               |
| Bruinscore    | Onbehandeld | 0.34       | 0.4         | 0.26          |
|               | Verhit      | 0.01       | 0.35        | 0.02          |
|               | Samen       | 0.24       | 0.28        | 0.19          |

**Tabel 4.2  $R^2$ -waarden voor verbanden tussen meetvariabelen op basis van drooggewichten voor onbehandelde en verhitte grond, als de data samen.**

| Drooggewichten |             | Gewasstand | Loofgewicht | Wortelgewicht |
|----------------|-------------|------------|-------------|---------------|
| Loofgewicht    | Onbehandeld | 0.71       |             |               |
|                | Verhit      | 0.13       |             |               |
|                | Samen       | 0.84       |             |               |
| Wortelgewicht  | Onbehandeld | 0.84       | 0.63        |               |
|                | Verhit      | 0.06       | 0.19        |               |
|                | Samen       | 0.9        | 0.91        |               |
| Bruinscore     | Onbehandeld | 0.34       | 0.19        | 0.35          |
|                | Verhit      | 0.01       | 0.14        | 0.05          |
|                | Samen       | 0.24       | 0.23        | 0.2           |



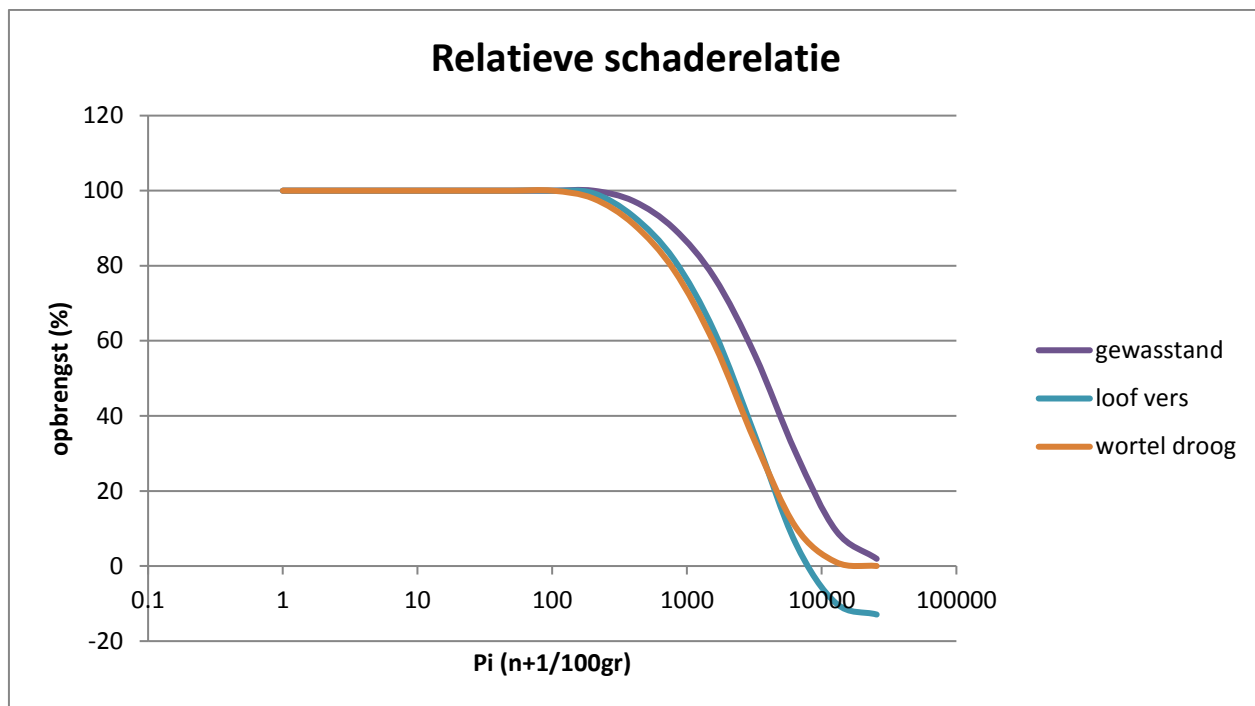
## 4.6 Seinhorst-curves

Seinhorsts schaderelatiemodel is naar de data gefit o.b.v. de meetwaarden Loofgewicht, Wortelgewicht en Gewasstand, zowel op basis van vers- als drooggewichten. Voor Bruinscore zijn geen Seinhorstcurves gefit, omdat deze variabele een score is voor mate van aantasting, en niet voor groeiremming. Daarnaast is er ook geen goede correlatie gebleken tussen deze meetvariabelen en andere variabelen die wel een maat zijn voor groeiremming.

In tabel 4.3 zijn de geschatte parameters en de  $R^2$ -waarden (determinatiecoëfficiënt) te zien. Te zien is dat voor de verhitte grond, geen van de determinatiecoëfficiënten hoger is dan 0.55. Voor onbehandelde grond zijn de determinatiecoëfficiënten voor gewasstand, versgewicht loof en drooggewicht wortels hoger dan 0.80, voor versgewicht wortels hoger dan 0.70 en voor drooggewicht loof niet hoger dan 0.70. De geschatte T-waarden van de drie variabelen met een  $R^2$  van meer dan 0.8 zijn niet gelijk, maar verschillen statistisch niet significant van elkaar (t-test,  $p > 0.05$ ) De waarden voor minimumopbrengst liggen voor alle drie rond de 0, waarbij de negatieve waarde voor het versgewicht loof in de praktijk functioneel 0 nul is. In figuur 4.10 zijn voor de 3 variabelen met een determinatiecoëfficiënt hoger dan 0.80 de relatieve schaderelatie te zien (waarbij  $y_{max} = 100$ ). De curves voor het versgewicht loof en drooggewicht wortel lopen vrijwel gelijk, terwijl de curve voor gewasstand iets hogere waarden laat zien.

**Tabel 4.3 Geschatte parameters o.b.v. het fitten van de seinhorstformule**

| Grond       | Variabel             | T       |           | M (gram) |           | Ymax (gram) |              | adj. R-squared |
|-------------|----------------------|---------|-----------|----------|-----------|-------------|--------------|----------------|
|             |                      | N/100ml | std.err.T |          | std.err.m |             | std.err.ymax |                |
| Onbehandeld | Gewasstand           | 257     | 71.90     | 0.01     | 0.18      | 7.74        | 0.12         | 0.81           |
|             | Versgewicht loof     | 180     | 35.10     | -0.13    | 0.12      | 10.41       | 0.19         | 0.86           |
|             | Drooggewicht loof    | 131     | 40.00     | 0.20     | 0.12      | 1.23        | 0.03         | 0.66           |
|             | Versgewicht wortels  | 323     | 117.00    | -0.48    | 0.39      | 4.00        | 0.10         | 0.74           |
|             | Drooggewicht wortels | 142     | 31.00     | 0.00     | 0.11      | 0.29        | 0.01         | 0.81           |
| Verhit      | Gewasstand           | 1       | 1.22      | 1.03     | 0.02      | 9.45        | 0.19         | 0.03           |
|             | Versgewicht loof     | 351     | 213.00    | 0.65     | 0.16      | 21.72       | 0.20         | 0.52           |
|             | Drooggewicht loof    | 665     | 521.00    | 0.35     | 0.49      | 2.80        | 0.04         | 0.36           |
|             | Versgewicht wortels  | 360     | 868.00    | 0.87     | 0.23      | 7.88        | 0.10         | 0.04           |
|             | Drooggewicht wortels | 279     | 388.00    | 0.80     | 0.19      | 0.69        | 0.01         | 0.14           |



Figuur 4.10. Relatieve schaderelatie voor Gewasstand, versgewicht loof & drooggewicht wortel op onbehandelde veldgrond.

## 5 Discussie

Kijkende naar de gemiddelde scores en gewichten over de pi-reeksen heen is duidelijk dat het pasteuriseren van de grond niet alleen de biologische eigenschappen van de grond verandert, maar ook andere eigenschappen die van invloed zijn op de plantgroei. Vanaf de kieming was duidelijk dat de sla op de gepasteuriseerde grond veel beter groeide dan op de onbehandelde veldgrond. De 25 *P. penetrans*/100ml die uit het veld al aanwezig waren in de onbehandelde grond zijn te weinig om dit verschil te verklaren. Ook na inoculatie met *P. penetrans* bleef het verschil in groei bestaan, zoals onder andere te zien aan de hand van de gemiddelde versgewichten van het loof in figuur 4.3. Het versgewicht van de planten op de verhitte grond blijft consistent hoger dan dat van de planten op de onbehandelde grond, en bij hogere Pi's wordt het verschil zelfs groter doordat planten op de verhitte grond minder groeiremming ondervinden dan planten op onbehandelde grond. Het gevolg is dat er voor de verhitte grond pas vanaf Pi's van 3200 of 6400 een significant verschil ten opzichte van een Pi van 0 zich voordoet voor de gemiddelde scores of gewichten. Dit is terug te zien in de gefitte seinhorstcurves. Schaderelaties komen op de onbehandelde grond wel duidelijk naar voren, met goede fits voor de Seinhorsts schaderelatiemodel. De gefitte seinhorstcurves voor gewasstand, versgewicht loof en drooggewicht wortels geven een determinatiecoëfficiënt van  $>0.80$ . De curve voor drooggewicht wortels heeft een  $R^2$  van 0.74 en is daarmee nog steeds relatief goede fit. De curve voor drooggewicht loof heeft een vrij lage  $R^2$  van 0.66. Waarom dit het geval is, is niet duidelijk.

Een mogelijke verklaring voor de verminderde schade in gepasteuriseerde grond ten opzichte van onbehandelde grond bij gelijk inoculatie-dichtheden, zou kunnen zijn dat bij het verwarmen van de grond vrijgemaakte stikstof wordt omgezet in giftige stoffen zoals ammoniak (Stirling, 2011), met als gevolg dat in de gepasteuriseerde grond een deel van het inoculum afsterft. Dit zou eventueel kunnen verklaren dat de wortelverbruining op de gepasteuriseerde grond bij de Pi lager dan 400 significant lager zijn dan die op de onbehandelde grond. Het verklaart echter niet dat bij een gelijke score voor wortelaantasting bij de hogere Pi's, er alsnog aanzienlijk minder groeiremming optrad in planten op de gepasteuriseerde grond, en dat dit groeiverschil al voor het inoculeren zichtbaar was. Het is waarschijnlijker dat de mate van verbruining op wortelstelsels van de gepasteuriseerde grond bij lagere Pi's relatief minder leek omdat de wortelstelsels zelf groter waren. Als gevolg hiervan werden bij de lagere Pi's waar de aantasting relatief klein was, op grotere wortelstelsels de mate van aantasting waarschijnlijk onderschat. Dit geeft ook aan dat het scoren van wortelverbruining een zeer inexacte methode is vanwege de subjectieve aard ervan.

Het effect van versterkte plantgroei na verhitte is ook gerapporteerd door Stirling (2011) in tarwe op kleibodems (vertisols) die 12 uur bij 65 graden waren verhit. Verhitten van grond kan tot verhoogde plantgroei leiden doordat schadelijke micro-organismen worden gedood, en doordat nutriënten, met name nitraat en mangaan, worden gemobiliseerd waardoor ze beter beschikbaar worden voor de plant (Runia, 2012). Mogelijk werd de groei van planten op de verhitte grond zodanig gestimuleerd dat er als het ware 'overcapaciteit' was, waardoor zelfs bij aantasting van de wortels door *P. penetrans*, de omstandigheden nog steeds zo gunstig waren dat er nauwelijks groeiremming optrad. In dit geval werkt pasteuriseren dus niet zoals bedoeld. In plaats van het uitschakelen van alleen de biologische component, met een verlaagde bodemweerbaarheid als gevolg, wordt het systeem op zowel biologisch, chemisch & fysieke component beïnvloed. Het gevolg hiervan levert niet een minder weerbare bodem, maar juist een meer weerbare bodem op, in zoverre dat planten door betere nutriënten beschikbaarheid en afwezigheid van andere pathogenen, beter in staat zijn om schade van *P. penetrans* te verdragen.

Een laatste effect dat mogelijk invloed heeft op het grote verschil in groei en schadegevoeligheid is een synergistische interactie tussen *P. penetrans* en andere in de grond aanwezige micro-organismen die ervoor zorgt dat de schade door *P. penetrans* wordt versterkt, doordat de lesies die door *P. penetrans* op de wortels worden veroorzaakt als invalsbasis dienen voor andere fytopathologische organismen. Dit effect wordt uitgeschakeld op

het moment dat door pasteurisatie de potentiële schadelijke micro-organismen zijn gedood, met als gevolg dat planten op de gepasteuriseerde grond minder schade ondervinden. Het feit dat bij hogere  $P_i$ 's de verschillen in opbrengstderving groter worden, is mogelijk een indicatie dat dit effect heeft plaatsgevonden, echter is op basis van de gegevens uit deze proef geen conclusie te trekken over de aanwezigheid en omvang van dit effect.

Ondanks de relatief goede fit van seinhorstcurve voor de vers- en drooggewicht van de wortels, zijn deze gegevens waarschijnlijk minder betrouwbaar dan de loofgewichten. Tijdens het schoonspoelen van de wortelstelsels ging er vrij veel wortelmateriaal verloren doordat wortels simpelweg afbraken tijdens het spoelen. Ook tijdens verdere behandeling, zoals het beoordelen van verbruining van de wortels, bleef wortelmateriaal afbreken. De wortelstelsels die het meest waren aangetast, waren duidelijk ook het zwakst. Exacte verliezen zijn niet gekwantificeerd, maar het is denkbaar dat dit effect heeft gehad op de resultaten. Theoretisch zou een oplossing hiervoor zijn om voorzichtiger te spoelen, echter zou dit onherroepelijk betekenen dat het spoelen meer tijd zou kosten.

Op basis van de seinhorstcurves kunnen versgewicht loof en gewasstand worden aangewezen als meest geschikte meetvariabelen om de schaderelatie te bepalen. Van deze twee heeft de variabele versgewicht de voorkeur, omdat dit een objectievere maat is dan gewasstandscore en daarmee minder gevoelig voor storende factoren die afhankelijk zijn van het subjectieve oordeel van de onderzoeker. Daarnaast wordt de opbrengst in de praktijk ook aan de hand van het versgewicht bepaald. Drooggewichten lijken op basis van de resultaten in dit onderzoek weinig meerwaarde te geven.

Een ander vraagstuk dat zich voordoet is hoe om te gaan met de achtergrondbesmetting van *P. penetrans* in toetsgronden. Vanwege de wijdverbreide aanwezigheid van *P. penetrans* zal het regelmatig voorkomen dat een te toetsen grond niet volledig vrij is van een *P. penetrans* besmetting. Op basis van de resultaten voor een enkele onbehandelde veldgrond is niet te zeggen in wat voor bereik de tolerantiegrens voor verschillende gronden zal vallen in de praktijk. Indien het het geval is dat de tolerantiegrens in de praktijk nooit lager dan een bepaalde minimumwaarde is, zou het mogelijk kunnen zijn dat gronden getoetst kunnen worden zolang de aanwezige besmetting niet hoger ligt dan die minimum tolerantiegrens. Ook is op basis van een enkele grond niet te zeggen hoe de schaderelatiecurve verandert afhankelijk van de bodemweerbaarheid. Mogelijk uiten verschillen zich bijvoorbeeld voornamelijk in een hogere minimumopbrengst voor weerbaardere gronden. In dat geval hoeft er slechts bij hogere  $P_i$ 's getest te worden, en is een lichte achtergrondbesmetting verwaarloosbaar.

## 6 Conclusies & Aanbevelingen

In dit onderzoek is gekeken naar de mogelijkheid om een biotoets te ontwikkelen waarmee weerbaarheid van bodems tegen *Pratylenchus penetrans* kan worden aangetoond en vergeleken. Hiertoe is een proef uitgevoerd, waarbij de schade door *P. penetrans* op sla bij verschillende inoculumdichtheden is vergeleken voor twee verschillende gronden: een onbehandelde veldgrond, en dezelfde veldgrond gepasteuriseerd. Er is gekeken welke meetvariabele het meest geschikt was om de schaderelatie inzichtelijk te maken, of er bij één of meerdere dichtheden getoetst moest worden en bij welke dichtheden er getoetst moet worden.

Voor de onbehandelde grond is een duidelijke schaderelatie aan te tonen. Op basis van zowel gemiddelde loofgewichten als wortelgewichten (zowel vers als droog) en ook op basis van de gewasstandscores is een duidelijk verband aan te wijzen tussen hogere  $P_i$ 's en groeiremming. De gefitte seinhorstcurves bevestigen dit. De gepasteuriseerde grond zou moeten dienen als minder weerbare tegenhanger van de onbehandelde grond, echter bleek dit in de praktijk niet het geval te zijn. De observatie dat de plantgroei al voor het inoculeren uiteenliep en vermelding in eerdere onderzoeken van verhoogde groei in verhitte grond, suggereert dat de hogere schadedrempels en loofgewichten het gevolg zijn van een versterkte groei van de plant zelf en niet van verminderde aantasting of verminderde groei van de plant door *P. penetrans*. Als gevolg hiervan, is er voor de verhitte grond vaak geen significant verschil aan te tonen tussen hoge en lage  $P_i$ 's, en kan een schadedrempel niet betrouwbaar geschat worden. Hierdoor kan er geen duidelijke uitspraak worden gedaan over de status van de weerbaarheid van de gepasteuriseerde grond voor *P. penetrans*.

In het kader van het ontwikkelen van een standaardprotocol is optimaliseren van tijd/kosten belangrijk. Aangezien loofgewicht en gewasstand een goed beeld geven van opbrengstderving in onbehandelde veldgrond, en sowieso sneller uit te voeren zijn, is het niet nodig om op het vlak van wortelmetingen de meetmethode te verbeteren. Het is te adviseren om metingen aan wortels achterwege te laten en te focussen op het uitwerken van loofgewicht en eventueel gewasstand.

Uit de resultaten is niet te concluderen of op deze manier van testen ook een duidelijk verschil tussen veldgronden aangetoond kan worden. Er kan geen betrouwbare schatting worden gedaan voor de schadedrempels op de gepasteuriseerde grond, en de resultaten zijn hoogstwaarschijnlijk niet representatief voor resultaten die in de praktijk op onbehandelde veldgronden zullen worden gevonden. Daarnaast doet zich de kwestie voor hoe om te gaan met een eventuele achtergrondbesmetting in te toetsen gronden. Het selectief uitschakelen van enkel de in de grond aanwezige nematode is praktisch gezien onmogelijk. Er zal moeten gekeken worden naar de mogelijkheid om een maximum besmettingsgraad voor te toetsen gronden aan te wijzen, beneden welke de toets nog steeds met betrouwbaarheid kan worden uitgevoerd zodat de aanwezige natuurlijke besmetting verwaarloosbaar is ten opzichte van het inoculum. Ook moet gekeken worden hoe verschillen in bodemweerbaarheid zich uiteten in de schaderelatie. Afhankelijk hiervan kan bepaald worden of de toets zich moet toespitsen op het bepalen van Tolerantiegrenzen of minimumopbrengst of beiden.

Om deze twee redenen, het aantonen van verschillen in bodemweerbaarheid tussen verschillende onbehandelde veldgronden en het inzichtelijk maken van de manier waarop verschillen in bodemweerbaarheid zich uiteten in de schaderelatie, moet een vervolgonderzoek worden opgezet waarbij meerdere gronden parallel getoetst worden, om vervolgens de schaderelatiecurves voor verschillende gronden te kunnen vergelijken. Op basis hiervan kan dan ook meer worden gezegd over het  $P_i$ -bereik waarbinnen getest moet worden.

Een volledig antwoord op de vraag 'Hoe kan middels een biotoets met sla, verschil in bodemweerbaarheid tegen *P. penetrans* worden aangetoond tussen verschillende gronden?' Is niet definitief te geven. Een duidelijke relatie tussen initiële inoculumdichtheid en groeiremming is aangetoond, wat betekent dat de combinatie van sla en *P.*

*penetrans* in principe geschikt is. De meest geschikte variabele om deze schaderelatie te kwantificeren is het versgewicht van het loof. Het is waarschijnlijk dat er bij meerdere dichtheden zal moeten worden getoetst, zodat maximum opbrengst, tolerantiegrens en minimum opbrengst per veldgrond kunnen worden bepaald en vergeleken. Hoeveel trappen in de dichthedenreeks nodig zijn, en in welk bereik de dichtheden moeten liggen, is afhankelijk van de variatie tussen schaderelaties van verschillende gronden. Op basis van dit experiment zijn daar nog geen goede uitspraken over te doen. Een vervolgonderzoek waarbij meerdere veldgronden met elkaar worden vergeleken is de logische vervolgstap, waarbij ook gekeken kan worden of verschillen in bodemweerbaarheid zich voornamelijk uiten in verschillen in de tolerantiegrens of minimumopbrengst.

Met dit onderzoek is de eerste stap gezet naar het ontwikkelen van een hulpmiddel om bodemweerbaarheid tegen *Pratylenchus penetrans* te onderzoeken. Dit is cruciaal voor zaadbedrijven als zij hun claims met betrekking tot groenbemestermengsels en bodemweerbaarheid proefondervindelijk willen kunnen staven, en voor partijen die de claims willen verifiëren.

## 7 Bronnenlijst

Aasman, B., S. Arends, T. van Beers, A., Bossers, H. Hoek, E. Schepel en A., Wolfs (2013). *Aaltjesmanagement in de Akkerbouw* [Brochure]. Stuurgroep Actieplan Aaltjesbeheersing, Zoetermeer.

Anoniem, (z.d.) *Heterodera betae in Alexandrijnse klaver op braak land*. Wageningen University & Research, Wageningen. [http://aaltjesschema.nl/SchemaInfo/HEBE\\_TRFAL.aspx](http://aaltjesschema.nl/SchemaInfo/HEBE_TRFAL.aspx). Geraadpleegd op 30 mei 2017

DSV (2016). *Bodemweerbaarheid verbeteren en nutriënten benutten* [Brochure]. DSV zaden Nederland B.V., Ven-Zelderheide.

Economische zaken. (2014). *Regeling van de Staatssecretaris van Economische Zaken van 11 december 2014, nr. WJZ/14194346, houdende de uitvoering van het gemeenschappelijke landbouwbeleid voor wat betreft de rechtstreekse betalingen en het randvoorwaardenbeleid (Uitvoeringsregeling rechtstreekse betalingen GLB)*. [http://wetten.overheid.nl/BWBR0035925/2015-01-01/1#Hoofdstuk2\\_Paragraaf3\\_Artikel2.17](http://wetten.overheid.nl/BWBR0035925/2015-01-01/1#Hoofdstuk2_Paragraaf3_Artikel2.17)

Europese Commissie. (2013). *Het gemeenschappelijk landbouwbeleid (GLB) en de landbouw in Europa – Veelgestelde vragen* MEMO/13/631. Europese Commissie, Brussel

Europees Parlement. (2013). *Verordening (EU) nr. 1307/2013 van het Europees Parlement en de Raad van 17 december 2013 tot vaststelling van voorschriften voor rechtstreekse betalingen aan landbouwers in het kader van de steunregelingen van het gemeenschappelijk landbouwbeleid en tot intrekking van Verordening (EG) nr. 637/2008 van de Raad en Verordening (EG) nr. 73/2009 van de Raad*. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/?qid=1494230232886&uri=CELEX:32013R1307>

Groeipartners. (z.d.). *Groenbemesters. GLB vergroeningsmengsels, tussen- en nagewassen, vangewassen*. [Brochure] Groeipartners B.V., Steenwijk.

Hiltpold, I., G. Jaffuel, & T. C. J Turlings, (2015). *The dual effects of root-cap exudates on nematodes: from quiescence in plant-parasitic nematodes to frenzy in entomopathogenic nematodes*. Journal of Experimental Botany, 66(2), 603-611.

Hubbard, J., Flores-Lara, Y., Schmitt, M., McClure, M., Stock, S. P., & Hawes, M. (2005). *Increased penetration of host roots by nematodes after recovery from quiescence induced by root cap exudate*. Nematology, 7(3), 321-331. doi:<https://doi.org/10.1163/156854105774355527>

Kostenko, O., Duyts, H., Grootemaat, S., De Deyn, G. B., & Bezemer, T. M. (2015). *Plant diversity and identity effects on predatory nematodes and their prey*. Ecology and Evolution, 5(4), 836-847. doi:10.1002/ece3.1337

Molendijk, L. P. G., & Mulder, A. (1996). *The Netherlands, nematodes and potatoes; old problems are here again*. Potato Research, 39(4), 471-477.

Molendijk, L. P. G. (2000). *Aaltjesmanagement in de akkerbouw* [brochure]. Praktijkonderzoek voor de Akkerbouw en de Vollegrondsgroenteteelt, Wageningen

Postma, R., Korthals, G. W.(2); Termorshuizen, A.J.(3); Dekker, P.(2); Thoden, T.(2). (2010). *Effecten van verse organische stof*. rapport 1326. Nutriënten Management Instituut, Wageningen.

Reindsen, H. (2007). *Aaltjes geven problemen bij inzet groenbemesters*. Nieuwe Oogst Vaktechniek, 3(15), 2.

Runia, W. T. (2012). Soil Disinfestation by Soil Heating. In A. Gamliel & J. Katan (Eds.), *Soil solarization: theory and practice* (pp. 23-31). USA: The American Phytopathological Society.

Saaten Union GmbH (2016). *The best mixtures for healthy soils and high yields* [Brochure]. (Saaten Union GmbH. Isernhagen, Duitsland.

Schomaker, C.H. & Been, T.H. (2006). Plant growth and population dynamics. In: Perry, R.N. & Moens, M. (Eds.) *Plant Nematology*. CABI, Oxfordshire, UK.

Stirling, G. R. (2011). *Suppressive biological factors influence populations of root lesion nematode (Pratylenchus thornei) on wheat in vertosols from the northern grain-growing region of Australia*. Australasian Plant Pathology, 40(4), 416-429.

Termorshuizen, A. J., Van Rijn, E., Van Der Gaag, D. J., Alabouvette, C., Chen, Y., Lagerlöf, J., ... & Steinberg, C. (2006). *Suppressiveness of 18 composts against 7 pathosystems: variability in pathogen response*. Soil Biology and Biochemistry, 38(8), 2461-2477.

Van der Putten, W. H., Cook, R., Costa, S., Davies, K. G., Fargette, M., Freitas, H., ... & Moens, M. (2006). *Nematode interactions in nature: models for sustainable control of nematode pests of crop plants?*. Advances in Agronomy, 89, 227-260.

Visser, J., & H. Hoek (2014). *Nieuwe groenbemesters kunnen ook link zijn*. Groenten & Fruit, thema substraat & bodem(Vollegrond), 2.