

Projectidee: Niet ten alle tijden – tijdstip en manier van toepassing van biologische middelen in de aardappelteelt

Viola Kurm, Florian Gorter & Jan van der Wolf

Achtergrond

Er is een groot aantal biologische middelen op de markt die gunstige micro-organismen bevatten die worden aangeduid als biostimulanten (i.e. groeiverbeteraars) of als biologische bestrijdingsmiddelen (i.e. biocontrol agents, BCAs). Eén belangrijk doel van het gebruik van deze middelen is het weerbaarder maken van de plant tegen abiotisch of biotische stress factoren inclusief het voorkomen van ziektes. Echter is uit veel veldproeven gebleken dat de werking van deze middelen heel variabel kan zijn. Dit vermindert het vertrouwen in biologische middelen. Er zijn echter ook sterke aanwijzingen dat toepassing van micro-organismen wel degelijk een gunstig effect kunnen hebben. Zo kon de toepassing van de BCA *Serratia plymuthica* A30 zwartbenigheid door *Dickeya* spp. in een kasproef tot wel 0% reduceren. In een veldproef gaf deze BCA bij behandeling van net geoogst pootgoed ook een sterke reductie van zwartbenigheid. *Fusarium* droogrot kon worden onderdrukt door niet-pathogene *Fusarium* stammen.

Zowel tijdstip als manier van toepassing zijn cruciaal zijn voor het succes van biologische middelen. Voor micro-organismen zijn "priority effects" bekend, oftewel "wie het eerst komt het eerst maalt" waardoor ziekteverwekkers worden buitengesloten door gunstige micro-organismen die 'vooraan' zitten. Ook werd gezien dat kolonisatie van planten en knollen door BCA afhankelijk is van het moment van toepassing. Zo werkte *S. plymuthica* A30 wel bij toepassing direct na oogst maar niet voor poten. Er is weinig bekend over wijze en tijdstip van toepassing van gunstige micro-organismen in relatie tot de populatiedynamica en het werkingsmechanisme.

Doel

In dit project wordt de beste manier van toepassing voor het gebruik van gunstige micro-organismen tegen een belangrijke bacterie- en schimmelziekte bepaald. Hierbij wordt ook de werkwijze van de toegepaste middelen bepaald.

Werkplan

In dit onderzoek wordt gebruik gemaakt van twee modelsystemen. Het één is de belangrijke bacteriële ziekteverwekker *Pectobacterium brasiliense*, waarvan bekend is bekend dat deze al tijdens de eerste veldgeneratie planten kan infecteren. Als tweede modelsysteem wordt of droogrot veroorzaakt door *Fusarium* sp. of verwelkingsziekte veroorzaakt door *Verticillium* sp. voorgesteld. Voor elk model zullen meerdere biologische middelen (i.e. gunstig micro-organismen), zowel middelen die reeds op de markt zijn en experimentele middelen worden getest.

WP1: Ontwikkelen van detectiemethodes

Voor onderzoek naar de populatiedynamica van geselecteerde gunstige micro-organismen worden uitplaatmethoden en zo mogelijk kwantitatieve (TaqMan) assay ontwikkeld. Voor detailstudies naar de kolonisatie en werkingsmechanisme worden microscopische

technieken gebruikt waarbij de gunstige micro-organismen en de pathogenen met een fluorescent label worden gemarkeerd.

WP2: Onderzoek onder geconditioneerde omstandigheden

Experimenten in kas en klimaatcellen worden ingezet om 1) de in WP1 ontwikkelde detectiemethodes te evalueren, 2) de populatiedynamica van zowel de gunstige micro-organismen als de ziekteverwekker in verschillende delen van de plant te bepalen.

Voor detailonderzoek naar kolonisatie, overleving en activiteit zal voor een selectie van de modellen gebruik worden gemaakt van fluorescent gemerkte bacteriën in combinatie met microscopische technieken. Daarbij wordt voor het *Pectobacterium* model ook een door WUR ontwikkelde *in vitro* toets ingezet. Voor *Fusarium* zal worden gebruik gemaakt van een veel gebruikte bioassay op knollen.

WP3: Populatiedynamica met verschillende manieren van inoculatie in het veld

Het effect van het moment van toepassing en de populatiedynamica van gunstige micro-organismen worden daarna bestudeerd in veldexperimenten, zo mogelijk met antibioticum-resistente stammen van BCA en pathogeen. Inoculatiemethoden zijn: 1) na inoculatie van het substraat tijdens miniknol productie, 2) na bladbehandeling in de eerste veldgeneratie, 3) na knolinoculatie via lenticellen onder vochtige omstandigheden, 4) na knolinoculatie na groen-roeien, 5) door knolinoculatie tijdens het voorkiemen.

Voor het *Pectobacterium* model worden geïnoculeerde knollen gebruikt of de opkomende planten in het veld besproeid met *P. brasiliense*. Voor het *Fusarium* model worden planten gepoot in potten en de grond wordt geïnoculeerd met *Fusarium*. Na de oogst worden zowel de populaties van de ziekteverwekkers als van de gunstige organismen in de knol bepaald middels uitplaten op selectieve media en TaqMan. Veldexperimenten zullen in twee jaar worden uitgevoerd.

WP4: Werkingsmechanisme

Voor het werkingsmechanisme wordt onder ander gebruik gemaakt van de monsters uit WP2. De gehele genoom sequentie van de toegepaste gunstige micro-organismen wordt bepaald en er wordt gekeken naar de aanwezigheid van genen voor de productie van antibiotische stoffen. Verhoging van de resistentie van de plant wordt onderzocht middels de bepaling van drie planthormonen en van secundaire metabolieten in zowel knol als de bovengrondse plantdelen.

Op te leveren producten

Dit project methode(n) van inoculatie die nodig zijn voor de effectieve toepassing van gunstige micro-organismen. Met deze kennis kunnen BCAs en biostimulanten succesvol worden ingezet voor het verhogen van de plantweerbaarheid en vermindering van de ziektedruk.