



Werkingswijze en gebruiksmogelijkheden van rhizosfeerorganismen, zoals bijvoorbeeld *Bacillus subtilis*

Het is al lang bekend dat een actief bodemleven bijzonder belangrijk is voor een vitale plantengroei. Het bodemleven kunnen we algemeen onderverdelen in een bodemflora en een bodemfauna. De bodemfauna is vooral verantwoordelijk voor de afbraak van het organische materiaal en de vermenging ervan met bodemdeeltjes. De rol van de bodemflora is echter wezenlijk complexer. Ingrijpende bodemprocessen zoals de omzetting van organisch gebonden stikstof naar nitraten zijn zelfs ondenkbaar zonder de aanwezigheid van bepaalde bacteriegeslachten, zoals *Nitrosomonas* en *Nitrobacter*.

Auteur: Fritz Lord (Compo), bewerking Paul Mertens (Compo).

bekend tussen planten en micro-organismen en tussen de micro-organismen onderling. Veel interacties steunen op de aangegane symbiosen tussen plant en micro-organisme (beide organismen hebben profijt van de aangegane relatie) en op de antagonismen tussen de verschillende micro-organismen (de aanwezigheid van een bepaald micro-organisme belemmert de aanwezigheid of de groei van andere micro-organismen).

De grootste aanwezigheid en activiteit van micro-organismen is terug te vinden ter hoogte van de wortelrhizosfeer, de onmiddellijk beïnvloedbare ruimte rondom de wortel. Hier heerst een concurrerend gedrag tussen de diverse micro-organismen die uit zijn op de stoffen die de wortels afscheiden (exudaten) en dat leidt tot complexe verdringingsmechanismen tussen de diverse micro-organismen. Al in de jaren 1900 beschreven wetenschappers de wederzijdse remming tussen bacteriën en schimmels. Ondertussen is men er in geslaagd een veelvoud aan micro-organismen met uitstekende antagonistische mogelijkheden te selecteren voor de inzet in de plantenteelt. Naast hun onderdrukkingseffecten tegenover ziekteverwekkende micro-organismen (pathogenen) vormt ook het stimulerende effect op de plantengroei een belangrijk selectiecriteria.

Ook in de grasverzorging neemt de interesse voor de inzet van micro-organismen toe. Vooral met het oog op de verscherpte aandacht voor de inzet van gewasbeschermingsmiddelen in grasbestanden neemt het belang van doordachte maatregelen ter vitalisering en ter versterking van het weerstandsvermogen van de grassen sterk toe. Hierbij komt nog dat de zandrijke DIN-horizonten, die bij sportvelden en op golfterreinen worden gebruikt, doorgaans een geringe opbouw van een natuurlijke populatie micro-organismen toelaten. En dus kunnen van buitenaf aangebrachte nuttige organismen zich in deze relatief zwakke concurrerende omgeving goed vestigen. In tabel 1 staan enkele van de belan-

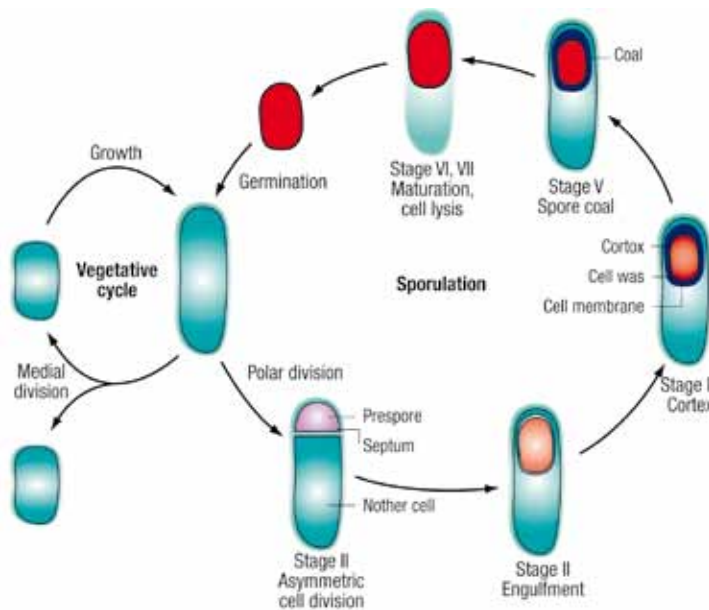
lenen voor inzet in greenkeeping en hiervoor gebruikt kunnen worden.

Bacillus subtilis

De eerste beschrijving van *Bacillus subtilis* dateert al van 1835. De bacterie is sporenvormend, staafvormig en heeft als afmetingen 0,7 á 0,8 µm bij 2 á 3 µm. Dankzij zijn zweefharen is *Bacillus subtilis* beweeglijk. Ze overleeft enkel in een zuurstofrijke omgeving. Het temperatuuroptimum van deze bacterie ligt bij 25 °C, maar de bacterie blijft actief binnen een zeer breed temperatuurtraject (tussen 5 – 55 °C). Het pH-traject voor de groei ligt tussen 4,5 en 8,6 en de optimale pH-waarde tussen 6,0 en 7,5. In afbeelding 1 wordt

Bacteriën	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus amyloquelquefaciens</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>
Schimmels	<i>Trichoderma harzianum</i> <i>Trichoderma viriade</i> <i>Trichoderma konigi</i> Mykorrhiza (<i>Glomus interadices</i> <i>Glomus fasciculatum</i>) avirulente Stämme verschiedener Rasunpathogene (z.B. <i>Rhizoclonia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Pythium</i>)
Actinomyceten	<i>Streptomyces griseovirdis</i>

Tabel 1. Lijst van de belangrijkste in de grasverzorging ingezette micro-organismen

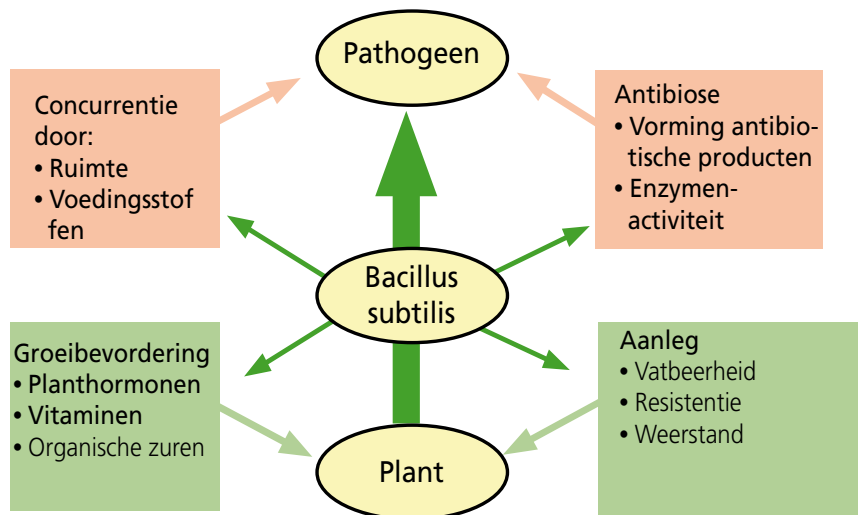


Afbeelding 1. Levenscyclus (vegetatief en sporulatie) van *Bacillus subtilis* (Bron: Nature Review)

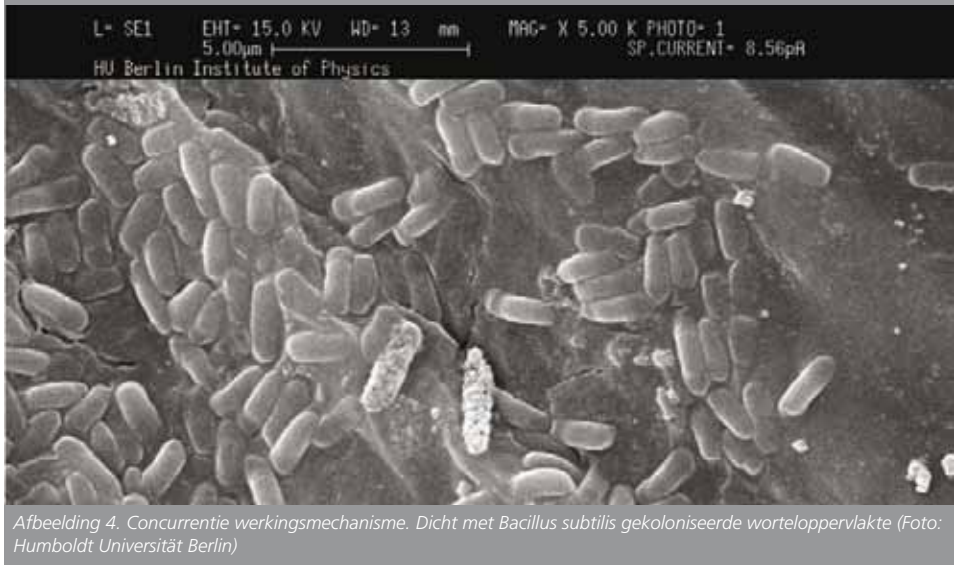
de levenscyclus van *Bacillus subtilis* voorgesteld. Onder gunstige omgevingscondities verloopt de vermeerdering van *Bacillus subtilis* als vegetatieve cel (de linkse kringloop). Slechte overlevingscondities, bijvoorbeeld een gebrekkig voedsel- of vitamineaanbod, kunnen echter tot sporenvorming leiden. Tijdens het sporenvormingsproces deelt de cel zich en ontwikkelt zich over meerdere stadia via de ontbinding van de moedercel tot een dikwandige spore (de rechtse kringloop). In deze vorm kan *Bacillus subtilis* gedurende een lange tijd ongunstige omstandigheden overleven. Een voorwaarde tot kieming van de spore en tot het opstarten van de noodzakelijke fysiologische processen is een voldoende aanwezigheid van water. *Bacillus subtilis* leent zich hierdoor bijzonder goed tot het aanbrengen op meststofkorrels. Na het aanbrengen van de sporen aan de meststofkorrels blijven de aan de korrels klevende sporen volledig kiemkrachtig (afbeelding 2).



Afbeelding 2. Kieming van *Bacillus subtilis* op meststofkorrels van Fertilis Speed. (Foto: BASF Agrarforschungszentrum Limburgerhof)



Afbeelding 3. Werkingsmechanismen van *Bacillus subtilis*



Afbeelding 4. Concurrentie werkingsmechanisme. Dicht met *Bacillus subtilis* gekoloniseerde worteloppervlakte (Foto: Humboldt Universität Berlin)

Na het beregenen van de gestrooide meststoffen, lost de 'gebacteriseerde' meststofkorrel in de bodem op, de sporen kiemen en de bacteriën koloniseren de wortels, waar ze dan met de grassen en de andere aanwezige soorten micro-organismen de hoger beschreven relaties aangaan. In principe kunnen twee werkterreinen en -richtingen onderscheiden worden: een directe (rood) en een indirecte (groen). Afbeelding 3 toont op een vereenvoudigde wijze die beide richtingen en afbeelding 4 toont de sterke kolonisatie van het worteloppervlak. De voor de plant schadelijke schimmels en bacteriën worden door een tijdige, preventieve inzet van *Bacillus subtilis* enerzijds van de voedingsrijke worteluitscheidingen afgeschermd, maar anderzijds ook van mogelijke aanhechtingsplaatsen op het worteloppervlak.

Bacillus subtilis scheidt immers diverse stoffen af die de ontwikkeling van plantschadelijke schimmels afremt. In afbeelding 5 is dit onderdrukkende vermogen van *Bacillus subtilis* tegenover verschillende graspathogenen duidelijk te zien. De verschillende ziekteverwekkers, telkens op de linkerhelft van het agarschijfje, waren niet in staat binnen de invloedssfeer van *Bacillus subtilis* op de rechterzijde van het schijfje te groeien. De invloed van de door *Bacillus subtilis* ontwikkelde remstof is duidelijk zichtbaar.

Van nog grotere betekenis voor de praktijk is echter het indirecte werkingsprincipe (afbeelding 3, groene richting). *Bacillus subtilis* bezit de mogelijkheid bepaalde plantenhormonen te produceren. Al bij geringe concentraties bevorderen deze stoffen de wortelgroei en de ontwikkeling van adventiefwortels.

Grasproeven met *Bacillus subtilis*

Ook bij grassen, bemest met een met *Bacillus subtilis* behandelde meststof (Fertilis Speed 21+5+10+3), kon in een proef een verbeterde wortelgroei worden aangetoond. De gebruikte grassensoorten waren: *Lolium perenne* en een grassenmix bestaande uit 85 % *Festuca* en 15 % *Agrostis* (afbeeldingen 6 en 7).

Dit effect was vooral in de eerste drie tot vier weken na de toepassing van de meststoffen te merken en de voorsprong op het gebied van de verbeterde wortelontwikkeling tegenover de meststoffen zonder bacteriën kwam duidelijk tot uiting. Na zes weken waren, dank zij de optimale omstandigheden die in de proefkas heersten, alle potten goed doorgeworteld en was het onderscheid weliswaar nog steeds aanwezig, maar dan minder opvallend. Duidelijk is ook het verschil van de effecten tussen de gebruikte grassoorten. De kansen tot aanhechting op het worteloppervlak en de door de plant afgescheiden wortelstoffen kunnen hiervoor een mogelijke verklaring bieden.

Criteria voor kolonisatiedichtheid

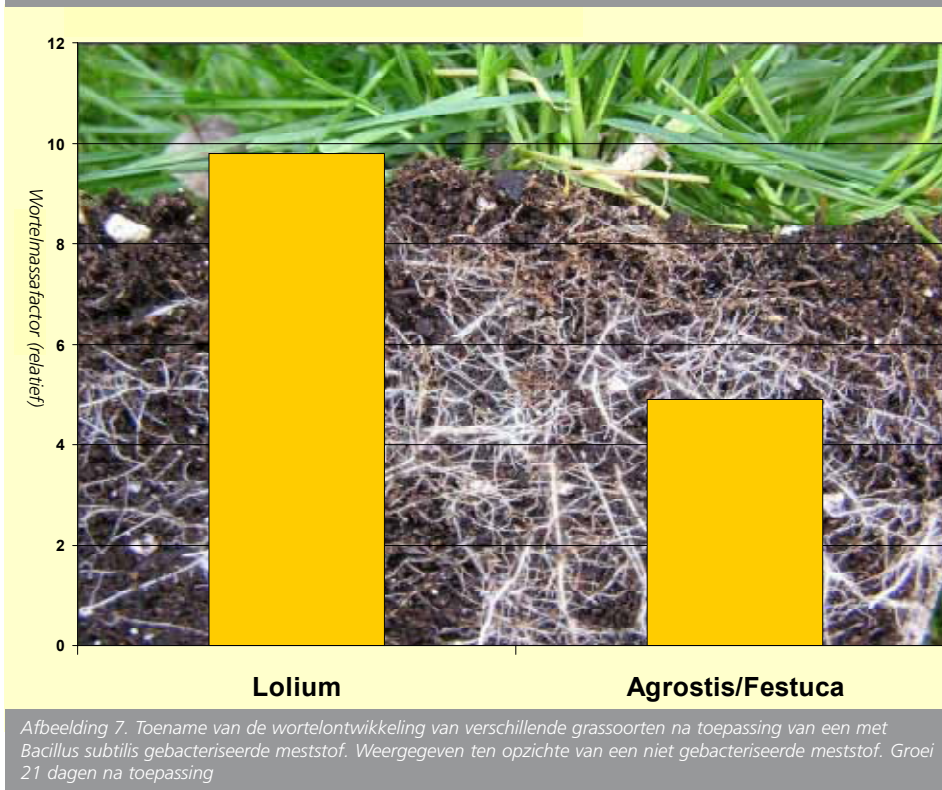
De wetenschap dat rhizosfeerbacteriën levende organismen zijn, is van essentieel belang voor een succesrijke inzet. Bodemfactoren zoals vochtigheid, temperatuur, pH-waarde, textuur, O₂/CO₂-verhouding, wortellexudaten, enzovoorts hebben een verschillende invloed op de ontwikkeling van de aangebrachte bacterie. De hoeveelheid en de samenstelling van de aanwezige microflora en –fauna beïnvloeden echter ook de vestigingskansen van extern aangebrachte nuttige organismen. Het



Afbeelding 5. Remmende werking van *Bacillus subtilis* op verschillende graspathogenen in een laboratoriumproef (Foto: BASF Agrarforschungszentrum Limburgerhof)



Afbeelding 6. Invloed van *Bacillus subtilis* op de wortelontwikkeling van grassen (mix van *Festuca/Agrostis*). Links: toepassing van niet gebacteriseerde meststof, rechts: toepassing van gebacteriseerde meststof. Foto 3 weken na de toepassing



Afbeelding 7. Toename van de wortelontwikkeling van verschillende grassoorten na toepassing van een met *Bacillus subtilis* gebacteriseerde meststof. Weergegeven ten opzichte van een niet gebacteriseerde meststof. Groei 21 dagen na toepassing

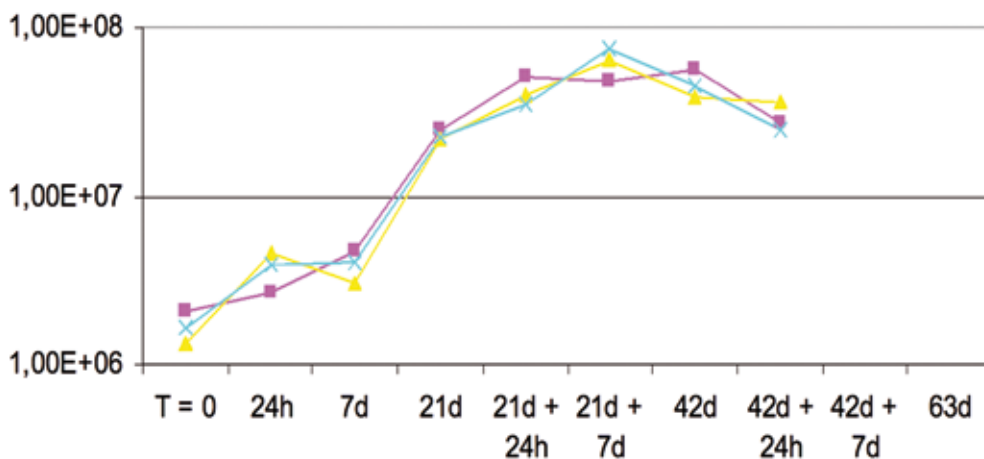
tijdstip van toediening, de hoeveelheid aangebrachte micro-organismen en het contact met de wortels zijn eveneens belangrijke criteria voor een geslaagde kolonisatie. Bewegelijke bacteriën, zoals *Bacillus subtilis*, kunnen echter relatief snel grotere wortelarealen koloniseren.

De afbeeldingen 8 en 9 tonen het verloop van de bacteriedichtheid in het substraat van de hoger genoemde grassenproef. *Bacillus subtilis* werd gebruikt in het begin van de proef, de uitzet werd herhaald na 22 dagen en na 42 dagen. Het substraat bestond voor 85 % uit zand en voor 15 % uit Hygromull.

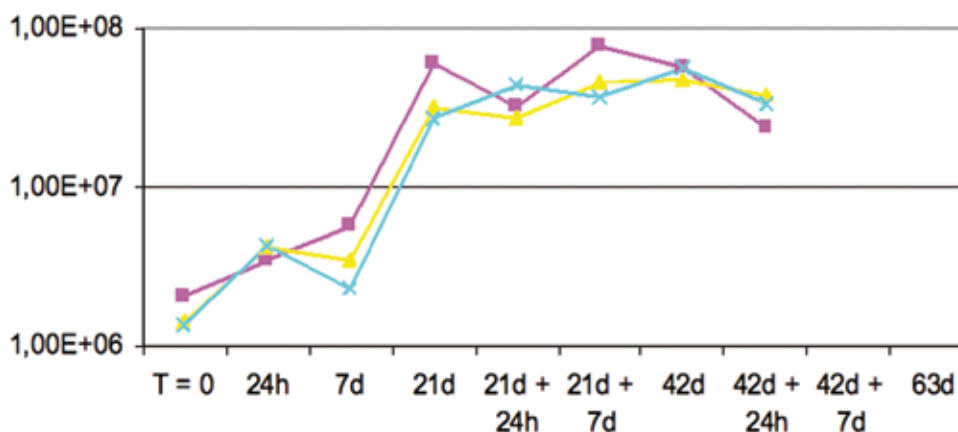
Slotbeschouwingen

Hoe veelbelovend de werkingsmechanismen ook zijn, het gebruik van rhizosfeer-organismen is zeker niet te vergelijken met het inzetten van een gewasbeschermingsmiddel en het gebruik ervan is ook helemaal niet als een universele 'probleemoplosser' te beschouwen. Bij het gebruik moeten altijd de complexe relaties tussen *Bacillus subtilis* en de planten, de al aanwezige microflora en -fauna en de fysische en -chemische eigenschappen van de bodem in overweging worden genomen. De nuttige effecten treden in het bijzonder op onder minder geschikte groeiomstandigheden of onder speciale stresssituaties, zoals de aanwezigheid van pathogenen of zoutstress. Bij golf- en sportveldaanleg worden overwegend zandrijke substraten gebruikt die aanvankelijk een arme biologische aanvangsactiviteit laten zien. In deze relatief concurrentiearme situatie kunnen dan extern aangebrachte nuttige organismen snel in de wortelruimte tot ontwikkeling komen en hun beschermende en stimulerende taak vervullen. Bovendien ondergaan sportvelden stressfactoren zoals hitte- en droogtestress, mechanische belastingen, lichtgebrek enzovoorts, wat op zijn beurt tot een hogere gevoeligheid voor ziekten kan leiden. Maatregelen die het weerstandsvermogen van de grassen bevorderen en een verminderde inzet van gewasbeschermingsmiddelen vragen, zullen in de toekomst zeker aan belang winnen.

De positieve effecten van *Bacillus subtilis* op de wortelgroei tonen aan dat juist in de gevoelige kolonisatiefase na het zaaien, of leggen van nieuwe zoden of ook bij renovatiemaatregelen een snelle en intensieve wortelgroei noodzakelijk is en dat een ondersteuning door deze rhizosfeerbacterie op dat moment nuttig kan zijn. Een afname van de bacterieconcentratie kan door aanvullende toepassingen opgevangen worden.



Afbeelding 8. Evolutie van de bacterieconcentratie in de rhizosfeerbodem bij de menging *Agrostis/Festuca*.



Afbeelding 9. Evolutie van de bacterieconcentratie in de rhizosfeerbodem bij *Lolium perenne*.

Door de combinatie van bacteriesporen en meststofkorrels is een meervoudige inzet van *Bacillus subtilis* zonder meerkost goed realiseerbaar. Tegelijkertijd sluit een inzet van rhizosfeer-organismen aan bij een modern onderhoudsmanagement van de grasmat en wordt een nuttig potentieel voor een vitale en gezonde grasgroei aangeboden. Daarin spelen ook de zorgmaatregelen van de greenkeepers bij de samenstelling, de activiteit en de populatiedichtheid en dus met de efficiëntie van de micro-organismen een bepalende rol.

De auteur Dr. Fritz Lord fritz.lord@compo.de is werkzaam bij Compo in Duitsland. Dit artikel is in eerder geplaatst in het Duitse Rasen. Dit artikel is een vertaling en bewerking van de oorspronkelijke versie.