

Inventarisatie van de virulentie binnen Nederlandse *Globodera pallida* populaties

Verslag over de periode 2006 tot en met 2008

T. G. van Beers & L.P.G. Molendijk

© 2008 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

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 Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Dit is een vertrouwelijk document, uitsluitend bedoeld voor intern gebruik binnen PPO dan wel met toestemming door derden. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid voor extern gebruik.

Uitgevoerd in opdracht van het ministerie van LNV

Projectnummer: 3250033500

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Akkerbouw, Groene ruimte en Vollegrondsgroenten

Adres : Edelhertweg 1, Lelystad
: Postbus 430, 8200 AK Lelystad
Tel. : 0320 – 29 11 11
Fax : 0320 – 23 04 79
E-mail : info.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

1	SAMENVATTING.....	5
2	INLEIDING	5
3	DOEL	5
4	MATERIAAL EN METHODEN	6
4.1	Populaties	6
4.2	Inoculum vermeerdering 2006	8
4.3	Opzet en uitvoering van de virulentietoetsing.....	9
5	RESULTATEN	11
5.1	Relatieve vatbaarheid	14
5.2	Eindbesmetting en vermeerdering.....	11
6	DISCUSSIE	19
	BIJLAGE 1 STATISTISCHE VERWERKING	20

1 Samenvatting

De vaststelling van de Nederlandse standaard populaties *G. pallida* gebruikt door de aardappelkwekers voor toetsingen tbv de rassenlijst is ruim 10 jaar geleden. Mogelijk is deze selectie van populaties niet relevant meer omdat er 'nieuwe' populaties zijn die nog agressiever zijn dan de als zeer virulent aangemerkte 'Rookmaker' populatie.

Een eerste virulentietoetsing met een beperkt aantal, qua virulentie 'verdachte', praktijkpopulaties van *G. pallida* heeft geen extreme virulentie aangetoond. De meest virulente veldpopulaties waren niet significant verschillend van de standaard populaties die de aardappelkwekers gebruiken in de toetsing voor de rassenlijst.

Er was één uitzondering, het gaat hier om een populatie van een proefveld waarop een aantal jaar 1:1 Seresta geteeld is. De virulentie van deze uitgeselecteerde populatie wijkt wel af van de standaard toetspopulaties. Deze populatie is inmiddels ook in het kwekersprogramma opgenomen.

Daarnaast is ook de Europese standaard *G. pallida* pa3 toetspopulatie onderdeel van de eerste toetsing geweest. De virulentie van deze populatie lag in dezelfde klasse als de in Nederland gebruikte *pallida* 3 toetspopulaties.

Onder andere naar aanleiding van dit onderzoek is ook de Ro2/3 weer als standaard opgenomen in het toetsprogramma van de kwekers. Ro2/3 blijkt in Nederland niet zo zeldzaam te zijn dan werd aangenomen. Van het ras Seresta was de resistentie tegen Ro2/3 niet formeel getoetst. In deze toetsing kwam naar voren dat Seresta ook hoog resistent is tegen Ro 2/3.

Binnen het project zullen, afhankelijk van financiering, nog een aantal populaties in een virulentietoetsing bekeken. Voor de toekomst zou het aan te bevelen zijn dat de bemonsterende instanties onverwacht extreem vermeerderende populaties centraal zouden aanmelden. Binnen dit project wordt nog een plan geschreven om tot een opzet van een monitoringsysteem voor virulentie in Nederland te komen.

2 Inleiding

Resistente aardappelrassen zijn het belangrijkste instrument bij de beheersing van aardappelmoeheid. Voor de zetmeelaardappelteelt zijn voldoende goede rassen voorhanden. Voor pootgoed en consumptie is het aantal rassen met voldoende resistentie nog zeer beperkt.

Nieuwe rassen worden sinds 1999 op hun resistentie getest met de nieuw ontwikkelde spoeltoets. In deze toets wordt de 'Rookmaker' populatie (E400) gebruikt als de meest virulente 'Pa3' populatie bekend in Nederland. Hoge resistentie tegen deze populatie betekent dat op meer dan 95% van de Nederlandse populaties de resistentie van het geteste ras gelijk of beter is. Dit waarborgt de 'bedrijfszekerheid' van de aangetoonde resistentie. De 'Rookmaker' populatie is echter ruim 10 jaar geleden geselecteerd.

In Zuid Amerika komen *G. pallida* populaties voor die zo virulent zijn dat ze volop vermeerderen op onze resistente rassen. Ook in Nederland zijn er aanwijzingen/suggesties dat er populaties voorkomen die op onze beste resistente rassen een hogere dan verwachte vermeerdering geven. Het is daarom van belang inzicht te krijgen of de huidige virulentie van Nederlands populaties is veranderd en in welke mate een eventuele verandering effect zou hebben op de gemeten partiële resistentie van de huidige rassen.

Daarnaast kan op basis van deze nieuwe informatie worden nagegaan of de standaardpopulaties die door de aardappelkwekers worden gehanteerd voor het ontwikkelen van resistente rassen en het aanmelden voor de rassenlijst, dienen te worden aangepast en wordt duidelijk of de ontwikkeling van een moleculaire virulentietoets zinvol is.

3 Doel

In opdracht van LNV, binnen het programma BO-06 005 Plantgezondheid, thema Fytosanitair Beta, is verzocht in kaart te brengen wat de mate van virulentie is van de Nederlandse *G. pallida* populaties ten

opzichte van de nu gebruikte 'Rookmaker' virulentie. Deze 'Rookmaker' populatie wordt nu als standaard gebruikt voor de meest virulente Nederlandse *G. pallida* populatie. De resultaten van deze virulentietoetsing worden gebruikt als basis voor het beleid ten aanzien van de inzet van resistente rassen in de beheersingsstrategie van *G. pallida* en de toetsprotocollen voor de rassenlijst.

4 Materiaal en methoden

Als strategie om potentieel virulente populaties in handen te krijgen is ervoor gekozen om teeltbegeleiders van de aardappelhandelshuizen, keurmeesters van de NAK en de bemonsterende instanties, te vragen verdachte gevallen door te geven. Het gaat hierbij om telers die ondanks de teelt van hoog resistente rassen in de bemonstering een onverwachte toename van de besmetting constateren.

Van deze percelen is grond opgehaald en hieruit zijn de aanwezige cysten opgespoeld. Ter controle is een PCR toets uitgevoerd ter bevestiging dat het hier *G. pallida* populaties betreft.

Om voldoende cysten te verkrijgen voor de toets en de vitaliteit van alle verzamelde veldpopulaties gelijk te schakelen zijn alle verzamelde populaties eerst vermeerderd op een vatbaar ras.

Om een eventuele bijmenging van *G. rostochiensis* uit te selecteren is voor het ras Markies gekozen dat vatbaar is voor *G. pallida* en resistent tegen *G. rostochiensis* (Ro1).

Ook de standaardpopulaties die nu door de aardappelkwekers worden gebruikt bij de toetsing van nieuwe rassen zijn vermeerderd op Markies.

In het jaar na de vermeerdering op Markies zijn alle veldpopulaties en huidige toetspopulaties getoetst op de rassen Seresta Innovator Santé en Désirée. De eigenschappen van deze rassen ten opzichte van de verschillende pathotypen van *Globodera* staan in tabel 1.

tabel 1 Relatieve vatbaarheid toetsrassen voor verschillende pathotypen van *Globodera* (Bron: NemaDecide)

Toetsrassen	pathotypen van <i>Globodera</i>				
	Pa 2	Pa 3	Ro 1	Ro 2	Ro 3
Seresta	0,2	2	0,5	?	?
Innovator	4,5	1	100	100	100
Santé	5	30	0,5	5	5
Désirée	120	120	120	120	120

4.1 Populaties

De herkomst van de verzamelde veldpopulaties die uiteindelijk getoetst zijn en de gebruikte toetspopulaties staan vermeld in tabel 2.

Een overzicht van de populaties waar na de vermeerdering op Markies in 2006 nog niet voldoende cysten van waren zijn opgenomen in tabel 3.

tabel 2 Referentie populaties en herkomst van de getoetste veldpopulaties

Populatie Nr(intern)	Herkomst	Nadere specificatie
28	Noord Oost Polder (NOP)	Opvallende vermeerdering op het ras Katinka
31	NOP	
35	NOP	
38	Noord Oost Nederland (NON)	
39	Oostelijk Flevoland (OFL)	

44	NOP	
45	NOP	
46	NOP	
47	Referentie populatie aardappelwekers	D 380 (Pa 2)
48	Referentie populatie aardappelwekers	DexIPO (Pa 2)
49	Referentie populatie aardappelwekers	E 425 (Pa 3)
50	Referentie populatie aardappelwekers	E 400 (Pa 3)
51	NON	Op continue teelt Seresta uitgeselecteerde populatie
53	NOP	
54	Referentie pop EU aardappelwekers	Europese Pa3 referent Chavornay
55	OFL	
56	OFL	
57	Zuid Oost Nederland (ZON)	Uit PCR gebleken mengpopulatie <i>G. ros</i> en <i>G. pal</i>
58	ZON	Uit PCR gebleken mengpopulatie <i>G. ros</i> en <i>G. pal</i>
62	Noord Holland (NH)	
67	OFL	
70	Duitsland (D)	Duitse agressieve populatie herkomst Delmsen

De nummering van de populaties zoals vermeld in de eerste kolom zijn alleen voor intern gebruik en hebben verder geen betekenis.

De populaties waarvan na de vermeerdering in 2006 nog niet voldoende cysten geproduceerd zijn, zijn in 2007 nogmaals vermeerderd maar nu op Désirée. Deze populaties zijn opgenomen in tabel 3. Hierin is ook al aangegeven welke populaties ook in 2008 nog een keer doorvermeerderd zijn.

tabel 3 *G. pallida* populaties die in 2007 nogmaals vermeerderd zijn op Désirée.

Populatie	Herkomst	Nadere specificatie
1 *	OFL	
32	NOP	
33	NOP	
34 *	NOP	
36 *	NOP	
37	NON	
40	NON	
41	NOP	
42 *	NOP	
43 *	NOP	
61	OFL	
63	Friesland (F)	
64	NH	
65	Zuid Amerika (ZA)	Agressieve Zuid Amerikaanse populatie Curgos2
66 *	ZA	Agressieve Zuid Amerikaanse populatie Julgueda
68 *	ZA	Agressieve Zuid Amerikaanse populatie Otuzco
69 *	ZA	Agressieve Zuid Amerikaanse populatie Huamaduco

* van deze populaties zijn ook na een tweede vermeerdering in 2007 niet voldoende cysten. De vitaliteit is dus dermate slecht dat ze in 2008 nogmaals vermeerderd zijn. Wanneer dit ook niet voldoende cysten oplevert zullen ze niet in een virulentie toetsing worden opgenomen.

4.2 Inoculum vermeerdering 2006

Om in 2007 voldoende inoculum te hebben per populatie is in 2006 eerst een vermeerdering uitgevoerd met de cysten die uit de veldbemonstering verkregen zijn. Deze vermeerdering had ook tot doel om alle populaties in vitaliteit gelijk te stellen. Populaties uit het veld hebben namelijk cysten van verschillende leeftijd en inhoud.

De vermeerdering is uitgevoerd op het ras Markies. Dit ras is resistent tegen *Globodera rostochiensis* pathotype Ro 1. Wanneer er populaties bij zijn die bestaan uit een mengsel van *G. pallida* en *G. rostochiensis* zal er een uitsselectie van de *G. pallida* populatie plaatsvinden. De vermeerdering is in twee etappes ingezet, één met inzet eind april, drooggezet eind juli en één met inzet 29 mei, drooggezet eind augustus.

Om in de virulentietoets opgenomen te kunnen worden zijn per populatie (4 rassen in 4 herhalingen, 5000 gram per pot, Pi 5) 400.000 levende larven nodig, bij een cystinhoud van 150 zijn dit ruim 2600 cysten. In totaal is van 41 populaties een vermeerdering ingezet.

De potten zijn gevuld met een mengsel van zilverzand, hydrokorrels (2-4mm) en kleipoeder (China clay WBH (kaolin)) in een mengverhouding van resp. 4 : 1 : 0,7. Door dit mengsel komt per 1000kg 20 liter Steineroplossing en 1kg kunstmest N:P:K (12 :10 :18).

Er wordt, bij het inzetten van de proef, gestreefd naar een vochtgehalte van ongeveer 10%.

Tabel 4 Bepaling drooggewicht gemengde grond vóór het vullen van de potten.

DS monster	lege bak	bak +vers	droog+	%DS
1	35,75	323,32	290,3	88,51
2	34,61	325,22	292,2	88,65
3	36,32	251,58	227,4	88,76

Uiteindelijk zijn de potten voor de proef gevuld met 5454 gram natte grond. Dit was droog 4909 gram.

Als pootgoed is gebruik gemaakt van kleine aardappelknolletjes (maat 25/28) waarvan alle kiemen op één na zijn verwijderd. De aardappelen zijn met Moncereen behandeld tegen *Rhizoctonia solani*.

4.3 Opzet en uitvoering van de virulentietoetsing

Zowel voor de vermeerdering van *G. pallida* als voor het inoculeren van de uiteindelijke virulentietoetsing is er met een eisuspensie geïnoculeerd. Deze suspensie is verkregen door cysten in porties van 1000 te malen met een cystencrusher (plunjer Ø 12mm met spiraal Ø 0,1mm eromheen) in speciaal daarvoor bestemde buisjes Ø 15mm met vlakke bodem. De gecrushed inhoud van de buisjes werd gezeefd (Ø 210 µm) om de cystenhuidjes kwijt te raken en daarna verzameld in een maatcilinder. Deze zeer geconcentreerde suspensie is met een magneetroerder in beweging gehouden en belucht met een aquariumpompje. Vanuit deze geconcentreerde suspensie werd, in duplo, een te tellen (minimaal 200 eieren) verdunning gemaakt waarvan visueel (in speciale telbakjes onder een binoculair met 40X vergroting) de verhouding levende/ dode eieren is bepaald. Daarna is het aantal levende eieren berekend dat in de suspensie zit en kon de suspensie verdund worden tot de juiste concentratie.

Voor het inoculeren van de suspensie in de potten is gebruik gemaakt van 20 cm lange metalen, holle naalden (Ø 2mm). Deze naalden zijn aan de onderzijde dicht met twee kleine gaatjes opzij onderaan de naalden zodat er geen grond in kan komen als ze in de potten gestoken worden. Om de suspensie volledig door de pot te verdelen zijn 16 naalden tot op de bodem in de potten gestoken.

Aan de bovenzijde van de naalden is met een siorbandje een stukje siliconenslang vastgemaakt waar de kleinste slang van het doseerapparaat (Jencons perimatic universal dispenser, Salm en Kipp) op past. Het doseerapparaat bestaat uit een slangepomp waarvan twee uiteinden in de suspensie hangen om deze continue rond te blijven pompen en één uiteinde van de slang gebruikt wordt om mee te doseren. Het te doseren volume is nauwkeurig in te stellen evenals de tijdsintervallen tussen de doseringen. De suspensie is ook nog op een magneetroerder geplaatst om de eieren optimaal in suspensie te houden.

Per naald is een volume van 4ml geïnoculeerd. Tijdens het doseren werd de naald langzaam omhoog getrokken zodat de 4 ml over de hele hoogte van de pot evenredig verdeeld werd. De grond bevatte voor het inoculeren 10% vocht en na het inoculeren ongeveer 12%.

Per pot werd één knolletje met één kiem erop (wanneer er meerdere kiemen op één knolletje zaten werden ze op één na verwijderd) gepoot op ongeveer 5 cm diepte. De potten zijn random verdeeld over de drie tabletten in de kas en werden wekelijks gerouleerd. Het rouleerschema zorgde ervoor dat de potten van voor naar achter op het tablet en van links naar rechts in de kas verplaatst worden gedurende de proef. Na ongeveer een week kwamen de eerst planten boven waarna het vochtgehalte op 15% is gebracht door de potten op een weegschaal te zetten met een automatisch watergeefstelsel erboven. Deze gaf water tot een bepaald ingesteld gewicht (pot + droge grond+ boorstukje + vocht) bereikt is. De zijscheuten werden telkens van de planten verwijderd zodat een éénstengelplant overbleef.

De potten zijn vier weken na het inzetten op 18% vocht gebracht. De planten krijgen drie keer in de week water en worden elke week gerouleerd over de tafels. Zo nodig is gespoten tegen luizen en witte vlieg. Na 11 weken is bekeken of de cysten aan de buitenzijde van de pot beginnen met afrijpen (bruinverkleuren). Na 13 weken waren de meeste cysten afgerijpt en kregen de planten geen water meer en is de proef afgebroken. Het bovengrondse plantmateriaal is afgeknipt en per pot samengevoegd met de verwijderde

zijscheuten die al eerder verzameld waren. Hiervan is de droge stof bepaald. Daarnaast zijn de knollen gewogen als versgewicht.

De grond is gedroogd alvorens het submonster voor de bepaling van het aantal *P. pallida* cysten te nemen. In de potten waar, gezien de Pi, hoge aantallen cysten verwacht werden zijn er submonsters genomen, zodanig dat de hoeveelheid grond voldoende cysten (minimaal 200) bevat om een betrouwbare uitspraak te kunnen doen over het totaal aantal cysten in de pot en de inhoud van deze cysten. De submonster gewichten zijn opgenomen in tabel 5.

Voor het spoelen zijn Seinhorst cysten spoelkannen gebruikt. Vóór het spoelen is de grond eerst in suspensie gebracht. Het debris wat overblijft na het spoelen is gedroogd en geacetoneerd om zand en organisch materiaal kwijt te raken. Daarna zijn onder het binoculair al de cysten uitgezocht.

Van deze cysten is de inhoud bepaald door, per herhaling, het totaal aan cysten gecrushed in suspensie (één cyst per ml) te brengen en deze, in duplo, visueel te beoordelen. Bij de hoge dichtheden is van een submonster de cystinhoud bepaald.

tabel 5 Overzicht gegevens virulentietoetsing 2007

Aantal herhalingen	4			
Inhoud potten	5400 gram nat	4806 gram droog		
Datum inzet	5 – 8 maart 2007			
Datum droogzetten	11 juni 2007			
submonsters	2 juli 2007			
Aardappelrassen	Desirée	Innovator	Santé	Seresta
Submonster gewicht	500 gram	Hele pot	2500 gram	Hele pot

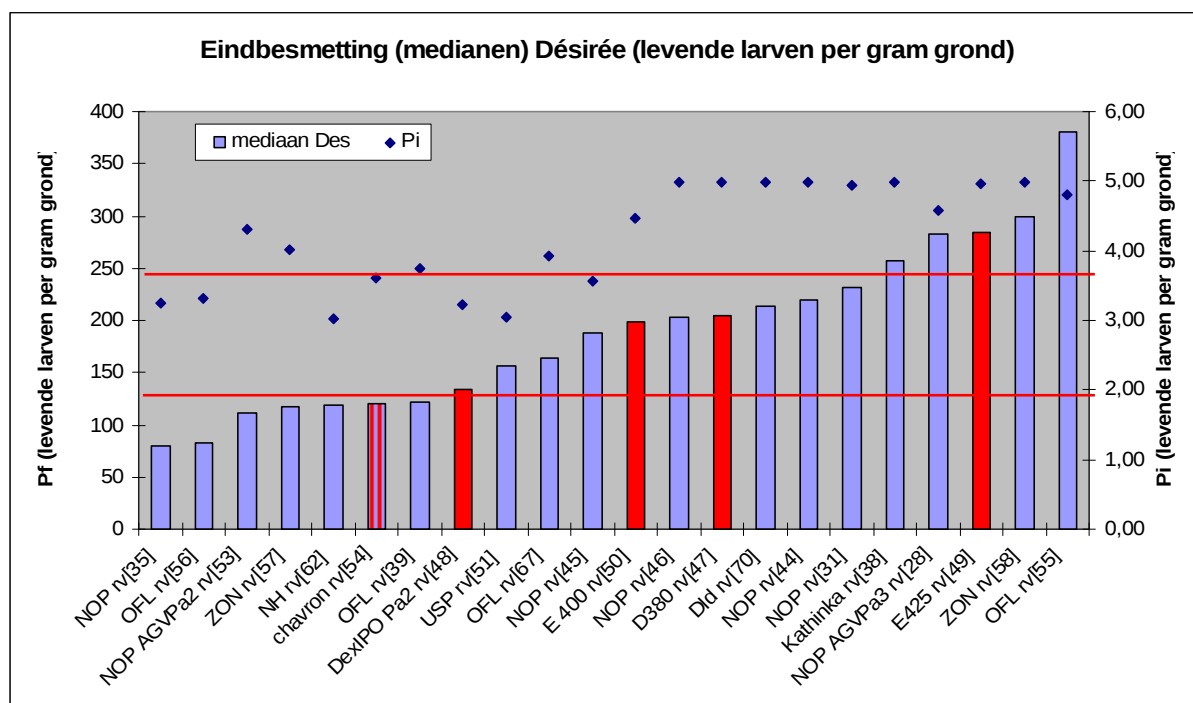
Om meer populaties in aanmerking te laten komen voor de toetsing is een ondergrens aan de Pi gesteld van 3 levende larven per gram grond. Het streven was 5 levende larven per gram grond. Achteraf was het beter geweest om dan alle populaties bij een Pi van 3 te toetsen. Er was vooraf echter geen aanleiding te veronderstellen dat een Pi van 5 niet bij alle populaties haalbaar zou zijn. Gaandeweg, tijdens het inoculeren, bleken er populaties te zijn waar de cystinhoud onvoldoende van was, waarna hiertoe besloten is. De exact gerealiseerde Pi's staan in tabel 6

tabel 6 Pi in levende larven per gram grond per populatie

Populatiernr	Pi (II/gg)	Populatiernr	Pi (II/gg)
28	4.58	50	4.46
31	4.95	51	3.04
35	3.24	53	4.32
38	4.99	54	3.61
39	3.75	55	4.80
44	4.99	56	3.32
45	3.57	57	4.02
46	4.99	58	4.99
47	4.99	62	3.03
48	3.23	67	3.92
49	4.96	70	4.99

5 Resultaten

5.1 Eindbesmetting en vermeerdering



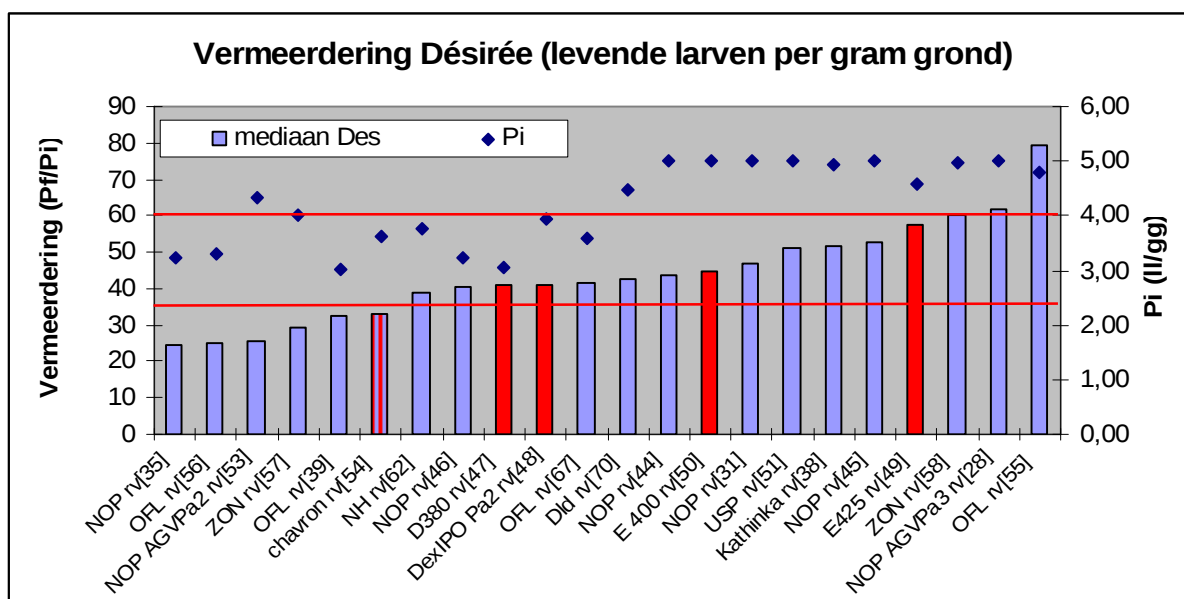
figuur 1 Eindbesmetting in levende larven per gram grond van alle populaties op Désirée.

In figuur 4 staat de eindbesmetting op Désirée weergegeven van alle populaties. De populaties met de hoogste eindbesmetting zijn geen populaties die in één van de vorige figuren naar

voren zijn gekomen omdat ze een hoge relatieve vatbaarheid hadden op één van de resistente rassen.

Daarnaast is deze figuur een weerspiegeling van de verschillen in Pi waar de toets noodgedwongen mee gestart is. Deze varieerde van 3 levende larven per gram grond tot 5 levende larven per gram grond. Hiertoe is noodgedwongen overgegaan omdat in een aantal gevallen de inhoud van de gekweekte cysten tegenviel. Er was in die gevallen niet voldoende inoculum beschikbaar om een Pi van 5 levende larven per gram grond te realiseren. De Pi van 3 is als ondergrens gekozen, wanneer en nog minder inoculum beschikbaar was is de populatie opnieuw voor vermeerdering ingezet.

De vermeerdering Pf/Pi uitgezet tegen de Pi (niet in deze figuur) laat geen verband tussen beide zien.

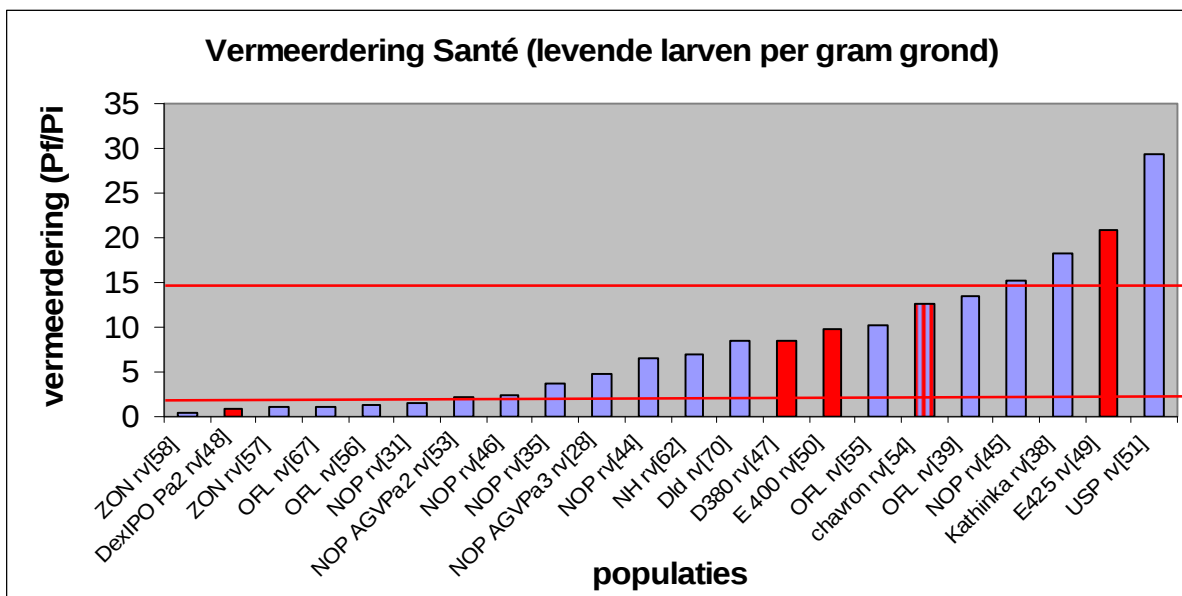


figuur 2 Vermeerdering Désirée op basis van levende larven per gram grond.

De vermeerdering op het vatbare ras is een graadmeter voor de vitaliteit van de populatie en ook een manier om na te gaan of de toetsing geslaagd is. Om van een geslaagde vermeerdering te spreken moet er op de vatbare controle minimaal een vermeerdering van 20 maal zijn opgetreden.

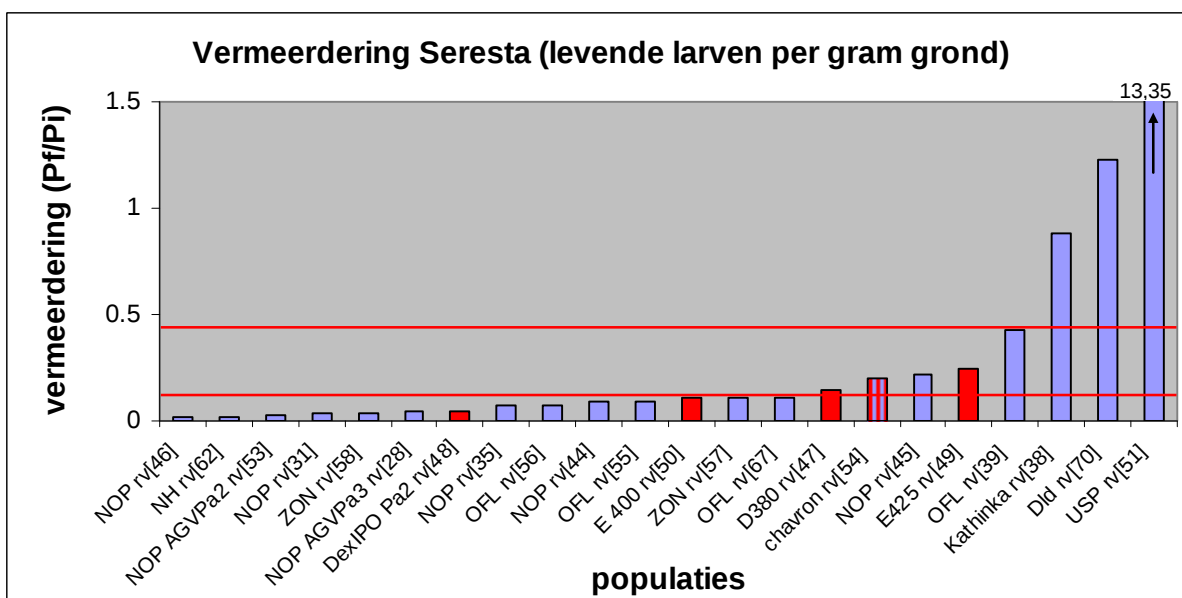
Alle populaties hebben de minimale vermeerdering gehaald, de laagste 24 maal, de hoogste vermeerdering is 79 maal.

Een van de meest agressieve populatie (39) zit, in deze toetsing aan de lage kant qua vermeerdering op Désirée. De andere populaties die op Seresta een hoge relatieve vatbaarheid hebben, de Duitse populatie (70) en de Katinka populatie (38) en de USP (51) populatie hebben wel een 'normale' vermeerdering op Désirée.



figuur 3 Vermeerdering Santé op basis van levende larven per gram grond.

In figuur zijn de verschillen te zien in vermeerdering op Santé tussen de verschillende populaties. De vermeerdering van de meest agressieve populatie (51) verschilt niet significant van de referentiepopulatie E425 (49).

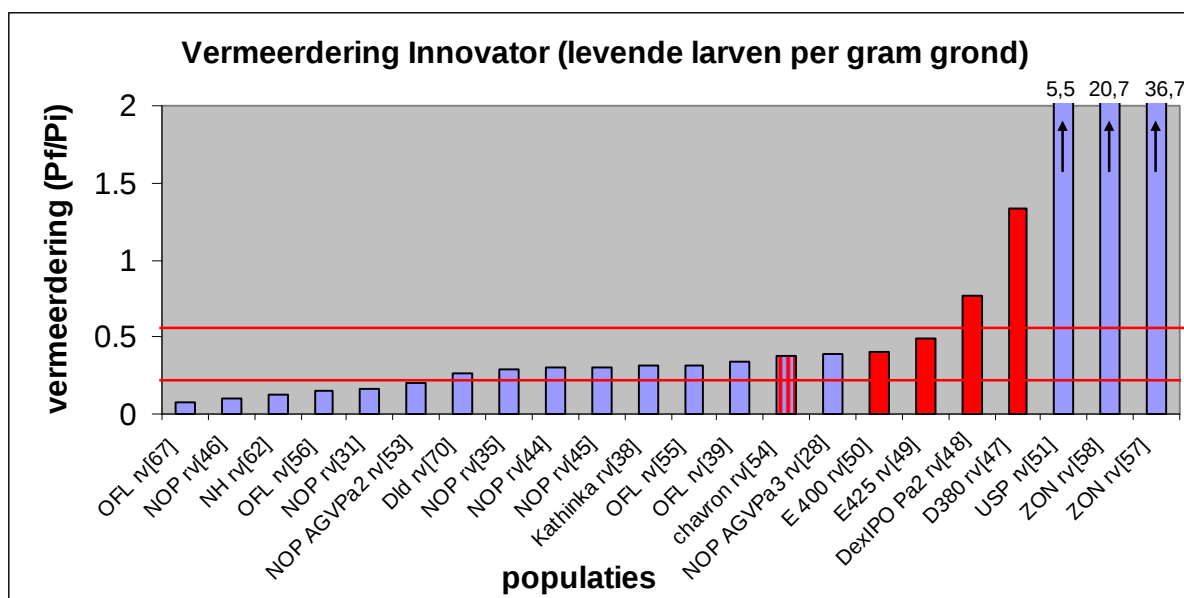


figuur 4 Vermeerdering Seresta op basis van levende larven per gram grond.

De populaties zitten qua vermeerdering op Seresta erg dicht op elkaar. Behalve populatie USP (51) vormen alleen de populaties 38 en 70 een afwijkende groep. Waarbij ook nog opgemerkt moet worden dat de hoge notering van populatie 70 sterk ik bepaald is door één (naar boven) afwijkende pot. Deze zou in een volgende ronde voor hertoetsing in aanmerking komen.

Populatie 39 is niet significant verschillend van naastgelegen populatie 49 en 45. Voor de volledige

statistiek zie bijlage 1.



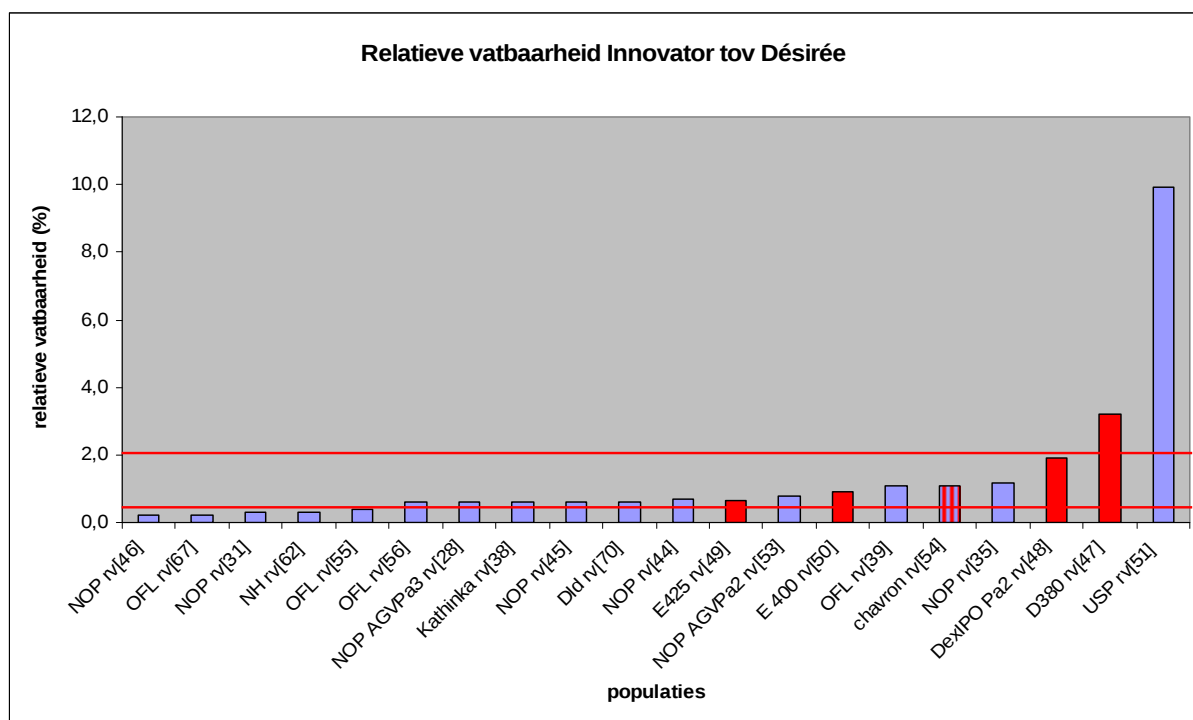
figuur 5 Vermeerdering Innovator op basis van levende larven per gram grond.

Uiterst rechts in figuur 8 geven populatie 57 en 58 een vertekend beeld omdat het hier Ro2/3 populaties betreft. Innovator heeft hier geen resistentie tegen. Op de andere resistente rassen Santé en Seresta kwamen deze beide populaties niet naar voren. De op continueteelt Seresta uitgeselecteerde populatie USP (51) scoort ook een hoge vermeerdering op Innovator. Deze populatie 51 verschilt ook significant van alle toetspopulaties.

5.2 Relatieve vatbaarheid

In de figuren 1, 2, 3 is de relatieve vatbaarheid van alle populaties per ras (Innovator, Santé en Seresta) uitgezet. De relatieve vatbaarheid is uitgerekend op basis van de Pf in levende larven per gram grond. De significante verschillen zijn globaal aangegeven met de rode lijnen. De populaties onder de onderste rode lijn verschillen in ieder geval van de populaties boven de bovenste rode lijn. De populaties in de middengroep zijn meestal niet significant verschillend van de laagste en/of de hoogste groep. Uitgebreide tabellen met significante verschillen zijn opgenomen in de bijlage van dit rapport.

De rode kolommen in de figuren geven de referentie populaties weer zoals die nu door de Nederlandse aardappelkwekers gebruikt worden bij de resistentie toetsing van nieuwe aardappelrassen.



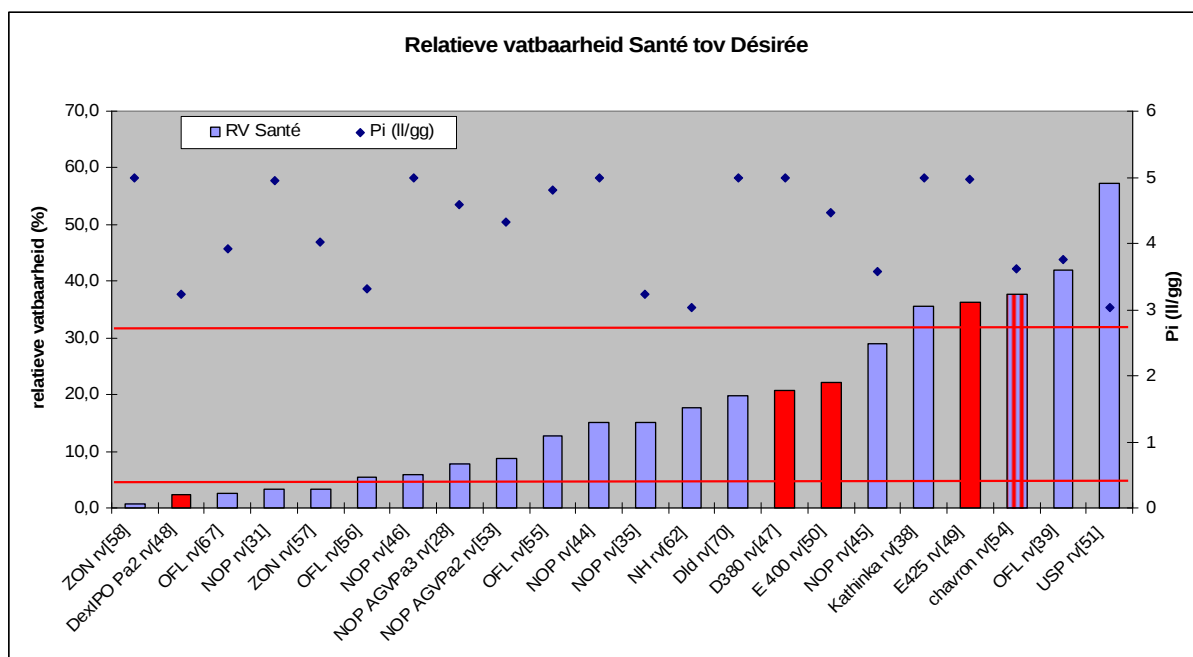
figuur 6 Relatieve vatbaarheid (op basis van levende larven per gram grond) van Innovator ten opzichte van Désirée.

De enige opvallende populatie in deze figuur is 51. Dit is een populatie van een proefveld waar een aantal jaar achter elkaar (1 op 1 dus) het ras Seresta op geteeld is waardoor een uitselectie van virulente aaltjes is opgetreden. Dit is dus geen 'praktijk populatie'.

Alle veldpopulaties vallen binnen de range van de toetspopulaties (de rode balken). In de figuur is te zien dat Innovator minder resistentie heeft tegen de Pa 2 toetspopulaties. Dit is een bekende raseigenschap (zie tabel 1) die al op de rassenlijst is opgenomen.

De Europese Pa 3 toetspopulatie Chavornay wijkt op Innovator niet af van de Nederlandse populaties.

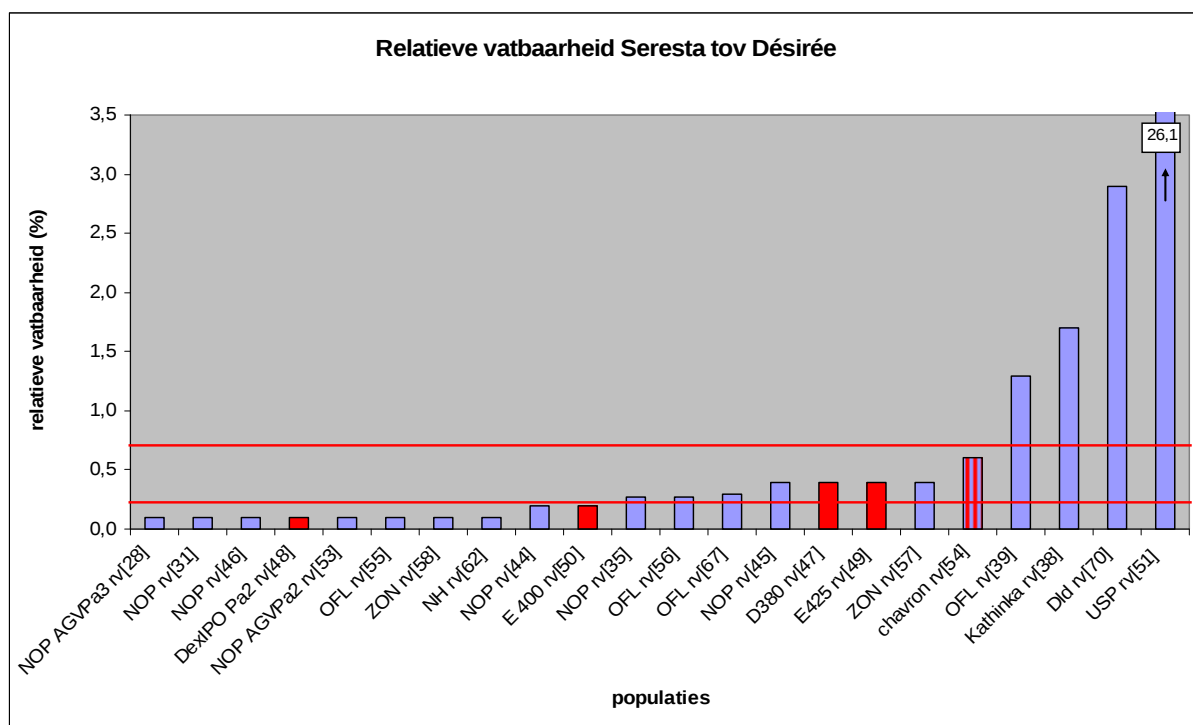
In deze figuur zijn de populaties 57 en 58, beide afkomstig uit Zuid Oost Nederland niet opgenomen. Deze populaties hadden een relatieve vatbaarheid van respectievelijk 125,4 en 34,6 ten opzichte van Désirée. Er was uit de PCR gebleken dat deze populaties een mengsel waren van *G. pallida* en *G. rostochiensis*. Er is hier sprake van een Ro 2/3 populatie. Het ras Markies, dat was bedoeld om *G. rostochiensis* uit eventuele mengpopulaties te selecteren, is alleen resistent tegen Ro 1. En het ras Innovator is vatbaar voor alle *G. rostochiensis* pathotypen.



figuur 7 Relatieve vatbaarheid (op basis van levende larven per gram grond) van Santé ten opzichte van Désirée

Net als in figuur 1 is in dit overzicht van de relatieve vatbaarheid van Santé ten opzichte van Désirée, populatie 51 de hoogste uitschieter. De populaties die in deze figuur het meest virulent zijn, verschillen niet significant van de meest virulente toetspopulatie E425 (nummer 49). De Europese Pa3 toetspopulatie Chavornay (nummer 54) ligt op het zelfde niveau als de Nederlandse toetspopulatie E425 (nummer 49). De NOP populatie 39 is hier wel significant hoger dan de 'Rookmaker' populatie E400 (nummer 50)

De verschillen in Pi hebben de rangorde van de populaties voor wat betreft de relatieve vatbaarheid niet beïnvloed. Ook de rangorde in relatieve vatbaarheid van de andere rassen tov Désirée zijn niet beïnvloed door de verschillen in Pi.



figuur 8 Relatieve vatbaarheid (op basis van levende larven per gram grond) van Seresta ten opzichte van Désirée

In deze figuur is populatie 51 echt een uitschieter. Deze populatie is ongeveer 10 jaar achter elkaar vermeerderd op Seresta in een proefveldsituatie.

De verschillen in de overige populaties zijn minder dramatisch dan ze op het eerste gezicht lijken omdat de schaal van de Y-as loopt van nul tot 3,5 procent. Behalve populatie 51 zijn er nog drie populaties die opvallen. Het gaat hier om een Duitse populatie die als zeer virulent is aangemerkt, een populatie uit Oostelijk Flevoland en om een populatie uit NON die erg virulent lijkt op het ras Katinka (RV Pa 2=2; RV Pa3=9). Deze drie populaties verschillen significant van de Nederlandse toetspopulaties en zijn daarmee dus wel populaties om in de gaten te houden.

Behalve de USP populatie is er dus geen sprake van een doorbraak van de Seresta resistentie in de getoetste populaties.

6 Discussie & conclusies

De populaties 67 en 58, beide afkomstig uit Zuid Oost Nederland wijken, alleen op Innovator, sterk af van de overige populaties. De NAK PCR Uitslagen geven na de toetsing aan dat het om een mengbesmetting gaat van *G. rostochiensis* en *G. pallida* gaat. De voorlopige conclusie is dat er hier sprake moet zijn van *G. rostochiensis* pathotype Ro 2/3. Het zou echter ook nog zo kunnen zijn dat het hier *G. pallida* pathotype Pa 1 betreft, al is dit minder waarschijnlijk. In een later stadium zullen deze populaties nog getoetst worden op *G. pallida* Pa1 differentials.

In de rassenlijst staat de resistentie van Seresta voor de *G. rostochiensis* pathotypen Ro2/3 nog op een vraagteken. In deze toetsing hebben deze populaties nauwelijks vermeerderd op Seresta. Dit duidt erop dat Seresta ook resistentie bezit tegen Ro 2/3. Informeel is dit wel bekend maar nooit voor een officiële toetsing aangemeld.

De Europese Pa3 toetspopulatie Chavornay (54) verschilt qua virulentie in deze toetsing niet van de Nederlandse Pa3 toetspopulaties E400 (50) en E425 (49). De relatieve vatbaarheid op de resistente rassen ligt op een vergelijkbaar niveau. Daar komt nog bij dat de vermeerdering van deze populatie op Désirée, vergeleken met de andere populaties, aan de lage kant was. Dit is op zich een bekende eigenschap van deze populatie. Een lagere vermeerdering op de vatbare referent resulteert in een hogere relatieve vatbaarheid van het resistente ras (vermeerdering resistente ras / vermeerdering vatbare ras) * 100%.

De vermeerdering op de resistente rassen was op zich niet opvallend.

Er volgt in 2009 nog nader onderzoek aan deze populatie om te bekijken of het vermeerderingspatroon (maximale vermeerdering en evenwichts dichtheid) van Chavornay overeenkomt met dat van de Rookmaker populatie.

De Duitse populatie (70) komt alleen op Seresta naar voren met een hoge relatieve vatbaarheid. Deze hoge score wordt veroorzaakt door één afwijkende herhaling waarbij 654 cysten zijn opgespoeld tegen, 12, 14 en 6 cysten in de drie overige herhalingen. Wellicht is er hier sprake van een verkeerd knolletje tussen het Seresta pootgoed of een verwisseling met bv een Santé knol. Hiervoor zijn echter geen aanwijzingen. Wanneer deze herhaling wordt weggenomen is deze populatie niet opvallend tussen de rest.

In het algemeen kan worden gesteld dat er, behalve de op continueteelt Seresta uitgeselecteerde populatie (USP, nummer 51) geen echte uitschieters tussen de getoetste populaties zitten. Een populatie uit de NOP (39) en een populatie uit NON die opviel door de vermeerdering op het ras Katinka (38) zijn de meest opvallende populaties welke in de gaten gehouden moeten worden.

Het spectrum aan toetspopulaties wat nu door de Nederlandse aardappelkwekers wordt gebruikt heeft op basis van deze beperkte toetsing geen aanpassing.

De steekproef op basis waarvan nu conclusies getrokken worden is klein. Omdat er maar een beperkt aantal populaties is getoetst is het nog te vroeg om te concluderen dat er geen reden meer is om opmerkzaam te zijn. In 20011 volgt nog een aanvullende virulentietoetsing met andere verdachte populaties.

Het is raadzaam de vinger aan de pols te houden voor meldingen van agressieve populaties uit de praktijk. Het verdient aanbeveling om via de bemonsterende instanties, populaties met een onverwacht hoge vermeerdering op hoog resistente rassen, centraal aan te melden voor nader onderzoek. Binnen het project, in 2009, wordt hiervoor een plan van aanpak gemaakt.

Bijlage 1 Statistische verwerking

Regression analysis

Response variate: pfpi
Distribution: Negative binomial with parameter k = 1.0000
Link function: Log
Fitted terms: Constant + popu + ras + popu.ras

Summary of analysis

Source	d.f.	deviance	mean deviance	deviance ratio
Regression	87	964.51	11.08629	184.60
Residual	262	15.73	0.06006	
Total	349	980.24	2.80872	

Dispersion parameter is estimated to be 0.0601 from the residual deviance.

Message: the following units have large standardized residuals.

Unit	Response	Residual
51	17.238	-4.31
121	0.909	-3.08
146	19.954	-3.00
327	0.409	2.95
341	0.053	-5.26
342	0.085	-4.97
343	0.010	-5.78
344	4.779	6.60

Message: the error variance does not appear to be constant; large responses are less variable than small responses.

Parameters for factors are differences compared with the reference level:

Factor	Reference level
popu	28
ras	Des

Des

pfpi

Pairwise testing: homogeneous groups in tprob, P=0.05

35	24.61	a	.	.	.	.	.	.	.	.
56	24.79	a	.	.	.	.	.	.	.	.
53	25.66	a	.	.	.	.	.	.	.	.
57	29.25	a	b	.	.	.	.	.	.	.
39	32.34	a	b	c	.	.	.	.	.	.
54	33.22	a	b	c	d	.	.	.	.	.
62	39.00	.	b	c	d	e	.	.	.	.
46	40.69	.	b	c	d	e	f	.	.	.
47	40.97	.	b	c	d	e	f	.	.	.
48	41.24	.	b	c	d	e	f	.	.	.
67	41.63	.	.	c	d	e	f	.	.	.
70	42.67	.	.	c	d	e	f	g	.	.
44	43.90	.	.	c	d	e	f	g	h	.
50	44.60	.	.	c	d	e	f	g	h	.
31	46.87	.	.	.	d	e	f	g	h	.
51	51.20	.	.	.	.	e	f	g	h	.
38	51.59	.	.	.	.	e	f	g	h	.
45	52.71	.	.	.	.	e	f	g	h	.
49	57.43	.	.	.	.	.	f	g	h	i
58	59.93	.	.	.	.	.	.	g	h	i
28	61.78	.	.	.	.	.	.	.	h	i
55	79.29	.	.	.	.	.	.	.	.	i

RV Ino

pfpi

Pairwise testing: homogeneous groups in tprob, P=0.05

67	0.00168	a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
46	0.00247	a	b	.	.	.	.	.	.	.	.	.
62	0.00326	a	b	c	.	.	.	.	.	.	.	.
31	0.00337	a	b	c	.	.	.	.	.	.	.	.
55	0.00398	a	b	c	.	.	.	.	.	.	.	.
45	0.00578	.	b	c	d	.	.	.	.	.	.	.
56	0.00590	.	b	c	d	.	.	.	.	.	.	.
70	0.00604	.	b	c	d	.	.	.	.	.	.	.
38	0.00624	.	b	c	d	.	.	.	.	.	.	.
28	0.00628	.	b	c	d	.	.	.	.	.	.	.
44	0.00679	.	.	c	d	.	.	.	.	.	.	.
53	0.00799	.	.	c	d	.	.	.	.	.	.	.
49	0.00846	.	.	.	d	.	.	.	.	.	.	.
50	0.00890	.	.	.	d	.	.	.	.	.	.	.
39	0.01052	.	.	.	d	e	.	.	.	.	.	.
54	0.01147	.	.	.	d	e	.	.	.	.	.	.
35	0.01177	.	.	.	d	e	.	.	.	.	.	.
48	0.01867	.	.	.	.	e	f	.	.	.	.	.
47	0.03242	.	.	.	.	.	f	.	.	.	.	.
51	0.09855	.	.	.	.	.	.	g	.	.	.	.
58	0.34580	.	.	.	.	.	.	.	h	.	.	.
57	1.25372	.	.	.	.	.	.	.	.	.	i	.

RV San

pfpi

Pairwise testing: homogeneous groups in tprob, P=0.05

Regression analysis

Response variate: ll_g_grond
Distribution: Negative binomial with parameter k = 1.0000
Link function: Log
Fitted terms: Constant + popu + ras + popu.ras

Summary of analysis

Source	d.f.	deviance	mean deviance	deviance ratio
Regression	87	1226.63	14.0992	131.20
Residual	262	28.16	0.1075	
Total	349	1254.79	3.5954	

Dispersion parameter is estimated to be 0.107 from the residual deviance.

Message: the following units have large standardized residuals.

Unit	Response	Residual
51	86.081	-3.26
327	1.605	3.64
341	0.267	-5.80
342	0.424	-5.37
343	0.051	-6.62
344	23.867	5.82

Parameters for factors are differences compared with the reference level:

Factor	Reference level
popu	28
ras	Des

Des

ll_g_grond

Pairwise testing: homogeneous groups in tprob, P=0.05

35	79.8	a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
56	82.3	a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
53	110.8	a	b	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
57	117.5	a	b	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
62	118.2	a	b	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
54	119.8	a	b	c	.	.	.	.	.	.	.	.	.
39	121.4	a	b	c	.	.	.	.	.	.	.	.	.
48	133.3	.	b	c	d	.	.	.	.	.	.	.	.
51	155.7	.	b	c	d	e	.	.	.	.	.	.	.
67	163.4	.	b	c	d	e	f	.	.	.	.	.	.
45	188.3	.	.	c	d	e	f	g	.	.	.	.	.
50	198.8	.	.	.	d	e	f	g	h	.	.	.	.
46	203.2	.	.	.	d	e	f	g	h	.	.	.	.
47	204.6	.	.	.	d	e	f	g	h	.	.	.	.
70	213.1	.	.	.	.	e	f	g	h	.	.	.	.
44	219.2	.	.	.	.	e	f	g	h	.	.	.	.
31	231.9	.	.	.	.	e	f	g	h	.	.	.	.
38	257.6	.	.	.	.	.	f	g	h	i	.	.	.
28	283.1	.	.	.	.	.	.	g	h	i	.	.	.
49	284.8	.	.	.	.	.	.	g	h	i	.	.	.
58	299.3	.	.	.	.	.	.	.	h	i	.	.	.
55	380.3	.	.	.	.	.	.	.	.	i	.	.	.

Ino

ll_g_grond

Pairwise testing: homogeneous groups in tprob, P=0.05

67	0.27	a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
62	0.39	a	b	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
56	0.49	a	b	c	.	.	.	.	.	.	.	.	.
46	0.50	a	b	c	.	.	.	.	.	.	.	.	.
31	0.78	.	b	c	d	.	.	.	.	.	.	.	.
53	0.88	.	.	c	d	e	.	.	.	.	.	.	.
35	0.94	.	.	c	d	e	.	.	.	.	.	.	.
45	1.09	.	.	.	d	e	f	.	.	.	.	.	.
39	1.28	.	.	.	d	e	f	.	.	.	.	.	.
70	1.29	.	.	.	d	e	f	.	.	.	.	.	.
54	1.37	.	.	.	d	e	f	g	.	.	.	.	.
44	1.49	.	.	.	.	e	f	g	h	.	.	.	.
55	1.51	.	.	.	.	e	f	g	h	.	.	.	.
38	1.61	.	.	.	.	e	f	g	h	.	.	.	.
50	1.77	.	.	.	.	.	f	g	h	.	.	.	.
28	1.78	.	.	.	.	.	f	g	h	.	.	.	.
49	2.41	.	.	.	.	.	.	g	h	.	.	.	.
48	2.49	.	.	.	.	.	.	.	h	.	.	.	.
47	6.63	.	.	.	.	.	.	.	.	i	.	.	.
51	15.34	.	.	.	.	.	.	.	.	.	j	.	.
58	103.48	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	k	.
57	147.25	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	k

San

ll_g_grond

Pairwise testing: homogeneous groups in tprob, P=0.05

58	1.68	a	.	.	.	.	.	.	.
48	3.09	.	b	.	.	.	.	.	.
57	4.05	.	b	.	.	.	.	.	.
67	4.43	.	b	.	.	.	.	.	.
56	4.48	.	b	.	.	.	.	.	.
31	7.47	.	.	c	.	.	.	.	.
53	9.71	.	.	c	.	.	.	.	.
46	11.85	.	.	c	.	.	.	.	.
35	12.07	.	.	c	.	.	.	.	.
62	20.78	.	.	.	d	.	.	.	.
28	21.79	.	.	.	d	.	.	.	.
44	32.97	.	.	.	d	e	.	.	.
70	41.91	.	.	.	.	e	f	.	.
47	42.64	.	.	.	.	e	f	.	.
50	44.07	.	.	.	.	e	f	.	.
54	45.16	.	.	.	.	e	f	.	.
55	48.47	.	.	.	.	e	f	.	.
39	50.84	.	.	.	.	e	f	.	.
45	54.66	.	.	.	.	.	f	.	.
51	89.26	.	.	.	.	.	.	g	.
38	91.41	.	.	.	.	.	.	g	.
49	103.40	.	.	.	.	.	.	g	.

Ser

ll_g_grond

Pairwise testing: homogeneous groups in tprob, P=0.05

62	0.061	a
46	0.116	a
53	0.117	a
48	0.158	a b
31	0.191	a b c
35	0.213	a b c
58	0.223	a b c
56	0.224	a b c
28	0.241	a b c
67	0.439	. b c d
57	0.440	. b c d
44	0.444	. b c d
55	0.453	. . c d
50	0.482	. . c d
54	0.708	. . . d e
47	0.732	. . . d e
45	0.780	. . . d e
49	1.254	 e f
39	1.616	 f
38	4.373	 g
70	6.154	 g
51	40.587	 h

RV Ino

Il_g_grond

Pairwise testing: homogeneous groups in tprob, P=0.05

67	0.00168	a
46	0.00247	a b
62	0.00326	a b c
31	0.00337	a b c
55	0.00398	a b c
45	0.00578	. b c d
56	0.00590	. b c d
70	0.00604	. . c d
38	0.00624	. . c d
28	0.00628	. . c d
44	0.00679	. . c d
53	0.00799	. . c d
49	0.00846	. . . d
50	0.00890	. . . d
39	0.01052	. . . d e
54	0.01147	. . . d e
35	0.01177	. . . d e
48	0.01867	 e f
47	0.03242	 f
51	0.09855	 g
58	0.34580	 h
57	1.25372	 i

* MESSAGE: There are 2 significant differences within groups with a common letter (use PRINT=items for details).

62	0.00052	a	.	.	.	.	.	.	.	.
46	0.00057	a	.	.	.	.	.	.	.	.
58	0.00075	a	.	.	.	.	.	.	.	.
31	0.00082	a	b	.	.	.	.	.	.	.
28	0.00085	a	b	.	.	.	.	.	.	.
53	0.00105	a	b	c	.	.	.	.	.	.
48	0.00119	a	b	c	.	.	.	.	.	.
55	0.00119	a	b	c	.	.	.	.	.	.
44	0.00202	a	b	c	d	.	.	.	.	.
50	0.00243	.	b	c	d	.	.	.	.	.
35	0.00267	.	b	c	d	e	.	.	.	.
67	0.00269	.	.	c	d	e	.	.	.	.
56	0.00273	.	.	c	d	e	.	.	.	.
47	0.00358	.	.	.	d	e	.	.	.	.
57	0.00374	.	.	.	d	e	.	.	.	.
45	0.00414	.	.	.	d	e	.	.	.	.
49	0.00440	.	.	.	d	e	.	.	.	.
54	0.00591	.	.	.	.	e	.	.	.	.
39	0.01331	.	.	.	.	.	f	.	.	.
38	0.01698	.	.	.	.	.	f	g	.	.
70	0.02888	.	.	.	.	.	.	g	.	.
51	0.26074	.	.	.	.	.	.	.	.	h

* MESSAGE: There are 2 significant differences within groups with a common letter (use PRINT=items for details).

