

Relatie grondbemonstering en partijbesmettingen *Meloidogyne*

Auteurs: **J. Doornbos¹, J. Luimes², T.H. Been³,
A.W.W. v. Gastel⁴ en G.W. Korthals⁴.**

NAK AGRO¹, Nederlandse Algemene
Keuringsdienst², Plant Research International³ &
Praktijkonderzoek Plant & Omgeving⁴

Projectnummer: 32 501010 00

Dit project maakt deel uit van het Actieplan Aaltjesbeheersing, een initiatief van het Productschap Akkerbouw, Productschap Tuinbouw en LTO Nederland. Binnen het Actieplan voeren diverse partijen gezamenlijk onderzoek- en voorlichtingsprojecten uit op het gebied van aaltjesbeheersing om de continuïteit van teelten voor de Nederlandse land- en tuinbouw te waarborgen.

Informatie over het Actieplan Aaltjesbeheersing

Tjitse Bouwkamp

Postbus 29739

2502 LS Den Haag

Telefoon 070 - 370 84 26

Fax 070 – 370 83 13

E-mail aaltjesbeheersing@hpa.agro.nl

Internet www.kennisakker.nl



Dit rapport is een uitgave van Praktijkonderzoek Plant en Omgeving
Sector Akkerbouw. Groene ruimte en Vollegrondsgroenten
Edelhertweg 1. 8219 PH Lelystad
Postbus 430
8200 AK Lelystad
Telefoon: 0320 – 29 11 11
Fax : 0320 – 23 04 79
E-mail : wianda.vangastel@wur.nl
Internet: www.ppo.wur.nl

© 2011. januari Lelystad. PPO - AGV.

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 PPO – AGV.

Hoewel de inhoud van deze uitgave met zorg is samengesteld, kunnen hieraan op geen enkele wijze rechten worden ontleend.

INHOUDSOPGAVE

1	INLEIDING	5
1.1	Doelstelling	5
2	PROEFOPZET EN -UITVOERING	7
2.1	Keuze percelen	7
2.2	Proefuitvoering	7
2.3	Grondonderzoek	7
2.4	Knolonderzoek	9
2.4.1	Onderzoek 2008	9
2.4.2	Onderzoek 2009	10
3	RESULTATEN	11
3.1	Resultaten 2008	11
3.2	Resultaten 2009	12
4	CONCLUSIE, DISCUSSIE EN AANBEVELINGEN	15
4.1	Conclusie en discussie	15
4.2	Aanbevelingen	18
BIJLAGEN		
	Bijlage 1: Perceel gegevens teeltjaar 2008	19
	Bijlage 2: Voorvrucht percelen teeltjaar 2008	20
	Bijlage 3: Perceel gegevens teeltjaar 2009	21
	Bijlage 4: Voorvrucht percelen teeltjaar 2009	22



1 INLEIDING

Het project 'Opsporingsmethode *Meloidogyne* in pootaardappelen' bestaat uit drie onderdelen. In dit rapport worden de resultaten weergegeven van onderdeel C 'Relatie grondbemonstering en partijbesmetting *Meloidogyne*'. De onderdelen A en B bevatten de volgende onderwerpen: onderdeel A 'Theoretische onderbouwing voor monstergrootte en partijcontrole', uitgevoerd door dhr. T. Been (PRI) en onderdeel B 'Ontwikkelen van een biotoets voor telers', uitgevoerd met als doel om lage besmettingen van het quarantaine aaltje *Meloidogyne chitwoodi* voorafgaand aan de aardappelteelt betrouwbaar te detecteren. Onderdeel C 'Relatie grondbemonstering en partijbesmetting *Meloidogyne*' wordt in dit rapport beschreven.

1.1 Probleemstelling

Meloidogyne chitwoodi (maïswortelknobbelaaltje) behoort tot de zogenaamde wortelknobbelaaltjes. Deze aaltjes veroorzaken schade in verschillende gewassen, zoals aardappel, bieten, erwten, peen en schorseneer. De schade kan zeer groot zijn. Naast opbrengst- en kwaliteitsderving is *Meloidogyne chitwoodi* een quarantaineorganisme. Dit betekent dat vermeerderingsmateriaal, zoals pootaardappelen en bloembollen, vrij moet zijn van *Meloidogyne chitwoodi*. Indien dit aaltje in een partij wordt aangetroffen verliest de partij de pootgoedstatus. Daarnaast wordt het bedrijf een uitgebreid controleregime opgelegd en wordt in de jaren daarna binnen een straal van 1 km het vermeerderingsmateriaal verplicht getoetst op dit organisme. De gevolgen voor de sector kunnen groot zijn. Enerzijds omdat een partij pootgoed meer oplevert dan een partij consumptie aardappelen. Anderzijds omdat het imago van Nederland als exporteur van hoogwaardig vermeerderingsmateriaal in het geding kan komen. Het aaltje is met de huidige technieken lastig te detecteren, waardoor zowel het nemen van maatregelen voor controle, de preventie van verspreiding, als het inzicht in de financiële risico's die de teler neemt worden belemmerd.

In dit deelproject ('Relatie grondbemonstering en partijbesmetting *Meloidogyne*') wordt een onderzoek uitgevoerd naar de relatie tussen een grondbemonstering voorafgaand aan de teelt van aardappelen (consumptie- en pootaardappelen) en de mate van besmetting van het uiteindelijke product: de aardappelen. Hierbij worden zowel vooraf (grondbemonstering) als achteraf (partijonderzoek) verschillende methodieken met elkaar vergeleken.

1.2 Doelstelling

Doel van dit onderzoek is om na te gaan of een bemonstering uitgevoerd vóór de teelt van aardappelen betrouwbare informatie verschaft over de aan- of afwezigheid van het aaltje en de risico's op partijbesmettingen. Een bedrijfszekere bemonstering garandeert een goede perceelskeuze waarmee telers een afkeuring van partijen door een voorgeschreven partijonderzoek kunnen minimaliseren of voorkomen.



2 PROEFOPZET EN PROEFUITVOERING

2.1 Keuze percelen

De keuze van de percelen is gemaakt op basis van twee situaties, namelijk:

- 1) Bedrijven liggend in de cirkelgebieden 2007;
- 2) Verdeeld over meerdere gebieden in Nederland.

Door NAK AGRO zijn in deze regio's telers benaderd met de vraag of zij percelen hebben met poot- of consumptieaardappelen in 2008. Deelname aan het project was op vrijwillige basis en zonder consequenties voor de telers. Er zijn dertig percelen geselecteerd, verdeeld over drie regio's in Nederland, namelijk: Noord-Holland, de Noordoostpolder en Zuid Oost Nederland.

In onderstaande tabel zijn de aantallen percelen per gebied weergegeven waar de monsternamen van grond heeft plaats gevonden.

Tabel 1. Aantal bemonsterde percelen per gebied

Gebied	Aantal percelen
Noord-Holland	10
Noordoostpolder	10
Zuid Oost Nederland	10

2.2 Proefuitvoering

Van elk perceel zijn onderstaande bemonstering- en onderzoekstechnieken toegepast op een oppervlakte van 1 ha.

Monsternamen van 2 x 1200 cc grond volgens de methode:

- 1) NAK AGRO standaard VLA (1200/100 cc spoelen en 2 x 10 cc suspensie tellen)
- 2) NAK AGRO extra VLA (1200/300 cc spoelen en 100 cc suspensie volledig tellen)

De grond is geanalyseerd op het laboratorium van Nederlandse Algemene Keuringsdienst (NAK) te Emmeloord. Op de percelen zijn aardappelen gepoot en voor het rooien zijn knolmonsters genomen voor bepaling van de knolaantasting. Ook het knolonderzoek is uitgevoerd op het laboratorium van de NAK. Het onderzoek is op twee verschillende manieren uitgevoerd, namelijk visueel (graaddagetoets) en met behulp van Polymerase Chain Reaction (PCR). De met *Meloidogyne* besmette percelen zijn in het jaar na de aardappelteelt in het voorjaar van 2009 opnieuw bemonsterd (Pf mei 2009).

Binnen het project 'Opsporingsmethode *Meloidogyne* in pootaardappelen' was voor het onderdeel C 'Relatie grondbemonstering en partijbesmetting *Meloidogyne*' de insteek om bij zoveel mogelijk dezelfde telers op een ander perceel de methodieken, uitgevoerd in 2008, te herhalen. Door omstandigheden is dit niet bij alle telers gelukt en zijn er in 2009 ook percelen van nieuwe telers bemonsterd. De uitvoering van het grond- en knolonderzoek heeft op dezelfde wijze plaats gevonden als in 2008.

2.3 Grondonderzoek

Van alle 30 percelen is voor aanvang van de aardappelteelt de besmetting met *Meloidogyne chitwoodi* bepaald door een grondmonster van het onderzoeksperceel te nemen. Voor

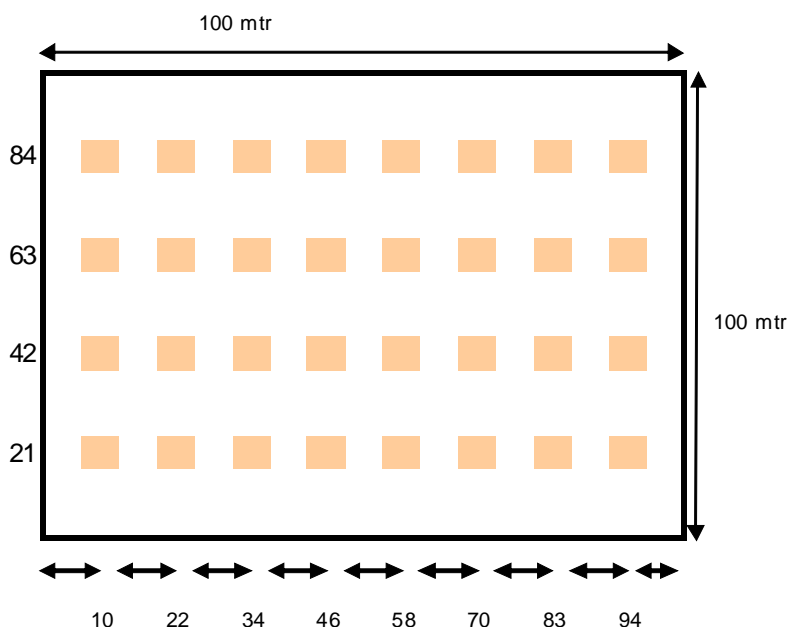


teeltjaar 2008 heeft dit plaatsgevonden na 15 december 2007 tot de 1^e week van februari 2008 (Pi 2008). Voor teeltjaar 2009 heeft de monstername van de 29 percelen (1 perceel afgevallen) in het voorjaar, namelijk mei 2009 (Pi 2009), plaatsgevonden.

Binnen het project 'Opsporingsmethode *Meloidogyne* in pootaardappelen' worden twee bemonsteringsmethodieken met elkaar vergeleken waardoor er twee maal een monstername van 1200 cc grond heeft plaatsgevonden op 1 hectare grond. Beide grondmonsters zijn gescheiden van elkaar gestoken.

Methode standaard VLA: De grond is gestoken volgens bemonsteringsmethode 10. Hierbij wordt 2400 cc per 2 ha verzameld, volgens een raster met rasterbreedte variërend tussen 8 tot 11 meter en een rasterlengte variërend tussen 15 tot 21 meter. Dit resulteert in ca 32 steken met een steekgrootte van ca 40 cc (grondboor 1,2 cm 25 cm diep). Doordat dit onderzoek zich richtte op percelen met een oppervlak van 1 ha is, gebruik makend van de beschreven rasterdimensies, is geen 2400 cc maar 1200 cc grond verzameld. De grond wordt zorgvuldig gemengd en uit het bulkmonster wordt een sub monster genomen van 100 cc. Dit submonster wordt in een schaal over een zeef van 180 μ m verspreid en met een geringe hoeveelheid water door de zeef gespoeld. De larven worden door de zeef heen gespoeld en opgevangen in het spoelwater. De eipakketten blijven met de rest van de grond op de zeef achter. Deze overgebleven grond (in de zeef) wordt gedurende 14 dagen ter incubatie weggelegd. De doorgespoelde grond wordt gespoeld volgens de Oostenbrink techniek. De 100 ml spoelsuspensie (minerale fractie) wordt na 48 uur afgetapt, de 100 ml incubatiesuspensie (organische fractie) wordt na 2 weken afgetapt. De suspensies worden afzonderlijk geteld. Standaard zijn 2 tellingen van 10 cc uitgevoerd door twee personen voor wederzijdse controle. In tabel 2 & 3 is het totaal aantal larven per 100 cc weergegeven, door het aantal larven geteld in de 20 cc van de spoel- en incubatiemonsters om te rekenen naar 100 cc suspensie.

In onderstaande figuur is schematisch weergegeven hoe de monstername heeft plaats gevonden.



Figuur 1. Monstername van grondmonsters: Bemonsteringsmethode 10: 2400 cc / 2 ha, raster: breed 8-11 meter, lengte 15-21 meter, steekgrootte 40 cc. Omdat in dit project 1 ha is bemonsterd is de totale hoeveelheid grond 1200 cc.

Methode extra VLA: De grond is gestoken volgens bemonsteringsmethode 10. Dit is op dezelfde wijze uitgevoerd als bij de methode standaard VLA. Nu is echter uit het 1200 cc bulkmonster een submonster van 300 cc verzameld. Dit grotere submonster wordt op

dezelfde manier verwerkt als beschreven bij de methode standaard VLA. De tellingen van de suspensie van de spoel- en incubatie monsters verschillen wel ten opzichte van de standaard methode, omdat bij de methode extra VLA de volledige suspensie van 100 cc is geteld. Van beide methoden is de soortdeterminatie morfologisch uitgevoerd.

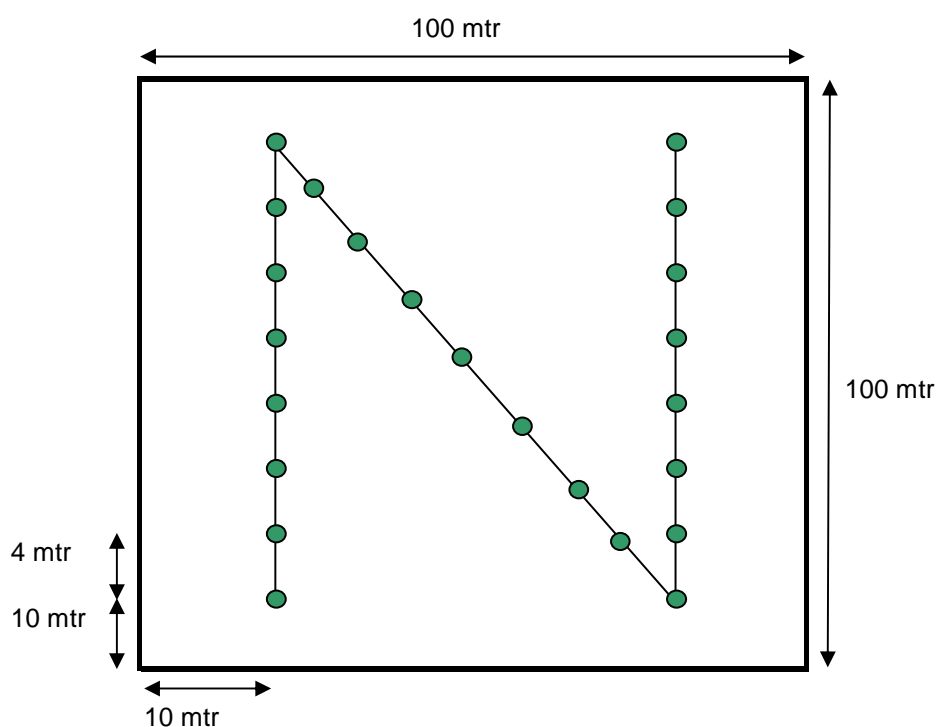
Na de teelt van aardappelen in 2008 is van de besmette percelen in het voorjaar (april tot eind mei) van 2009 opnieuw de besmetting in de grond bepaald (Pf 2008). De monsternamen en monsterverwerking is op dezelfde wijze uitgevoerd als vóór de aardappelteelt. Van de grondmonsters gestoken in het voorjaar 2009 is geen soortbepaling uitgevoerd.

Voor teeltjaar 2009 is op dezelfde wijze het grondonderzoek uitgevoerd. De resultaten van dit onderzoek staan vermeld in hoofdstuk 3.1 *Resultaten 2008* en in hoofdstuk 3.2 *Resultaten 2009*.

2.4 Knolonderzoek

Vóór de oogst van de aardappelen zijn in augustus en september knolmonsters direct uit het bemonsterde perceelsgedeelte genomen. In teeltjaar 2008 is dat uitgevoerd op 30 percelen en in teeltjaar 2009 op 29 percelen.

Voor het knolonderzoek zijn, ongeveer één week voor de daadwerkelijke oogst, uit het bemonsterde oppervlak van 100 x 100 m 80 planten geroid. Onderling zijn de verschillen in rooidata groot, o.a. door rasverschillen. Hiervoor is het bemonsterde perceelsgedeelte uitgemeten en gemarkeerd met piketten. Binnen deze oppervlakte is een randbuffer van 10 meter aangehouden waarbinnen de monsters zijn verzameld. De bemonstering is uitgevoerd volgens de N-methode. Vanaf de linkerzijde is naar achteren gemonsterd, daarna schuin naar de rechter voorhoek en vervolgens weer recht naar achteren, waarbij de totale monsterlengte ongeveer 310 meter bedraagt. Over deze afstand is om vier meter de opbrengst van één gehele plant geroid. In onderstaande figuur is schematisch weergegeven waar de knolmonsters uit de 1 ha (100 x 100 m) gehaald zijn.



Figuur 2. *Monsternamen van knolmonsters*

2.4.1 Onderzoek 2008

Bij het oogsten van de knollen zijn er twee partijmonsters, van 200 knollen (knolmaat 35-50 mm), van een perceel samengesteld. Na de oogst zijn de aardappelen bewaard bij 18 graden Celsius.

De twee knolmonsters zijn gecodeerd als monster A en B.

- Monster A (200 knollen) is in december 2008 visueel onderzocht. Eén schil wordt op een willekeurige plaats van de knol gehaald en het snijvlak wordt beoordeeld op symptomen van het wortelknobbelaaltjes *Meloidogyne chitwoodi* en/of *Meloidogyne fallax*. Dit onderzoek, ook wel graaddagetoets genoemd, is uitgevoerd volgens PD-voorschrift.
- Monster B (200 knollen) is in november 2008 onderzocht door middel van PCR. Het monster werd gesplitst in twee submonsters van elk 100 knollen die apart werden geanalyseerd. Deze toets is uitgevoerd door de NAK. Van de aardappel is 1 schil verwijderd. Op dezelfde plek is de 2^e schil gebruikt voor PCR onderzoek. De 100 schillen zijn samengevoegd tot 1 monster. Hiermee is de moleculaire bepaling uitgevoerd. Het PCR onderzoek is uitgevoerd op 2 x 100 knollen. De detectiekans van de uitgevoerde PCR toets is één eiprop in 100 knollen.

De uitslagen van dit onderzoek staan vermeld in hoofdstuk 3.1 *Resultaten 2008*.

2.4.2 Onderzoek 2009

Ook bij het oogsten van de knollen in 2009 zijn twee monsters van een perceel genomen van 200 knollen in de knolmaat 35-50 mm. Deze twee monsters zijn gecodeerd als monster A en B en zijn in november 2009 onderzocht. Monster A is visueel onderzocht. Monster B is gesplitst in elk 100 knollen en door middel van PCR onderzocht.

De uitslagen van dit onderzoek staan vermeld in hoofdstuk 3.2 *Resultaten 2009*.

Voor de analyse van de verschillende methoden is een verdelingsvrije tekentoets gebruikt.

3 RESULTATEN

3.1 Resultaten 2008

In onderstaande tabel worden de resultaten weergegeven van onderzoeksjaar 2008. In de kolom Grondonderzoek (jan 08) is het berekende aantal aaltjes per volume weergegeven. In de kolom 100 cc staan de resultaten van methode 1) NAK AGRO standaard VLA en in de kolom 300 cc staan de resultaten van methode NAK AGRO extra VLA 1200/300 cc spoelen en 100 cc tellen. In de kolom Knolonderzoek (nov 08) worden de resultaten van het knolonderzoek, van zowel de visuele inspectie als van de twee PCR monsters, weergegeven. In de laatste kolom Grondonderzoek (mei 09) wordt de eindbesmetting volgens methode 1 en 2 weergegeven.

Tabel 2. Resultaten onderzoek jaar 2008

Volgnr	Grondonderzoek (jan 08)		Knolonderzoek (nov 08)			Grondonderzoek (mei 09)	
	Pi - grond		visueel	PCR		Pf - grond	
	100 cc	300 cc	monster A	monster B		100 cc	300 cc
			200 kn	100 kn	100 kn		
1	10	13	besmet	chitw.	chitw.	375	347
2	-	-	-	chitw.	-	-	-
3	-	2	besmet	chitw.	chitw.	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-
5	20	16	besmet	chitw.	chitw.	5	10
6	32	43	besmet	chitw.	chitw.	235	509
7	-	-	-	-	-	No	No
8	10	-	-	chitw.	chitw.	40	3
9	50	16	besmet	fallax	fallax	135	183
10	13	7	besmet	chitw.	chitw.	20	29
11	-	-	-	-	-	No	No
12	-	-	-	-	-	No	No
13	-	No	-	-	-	No	No
14	-	-	-	-	-	No	No
15	-	-	-	-	-	No	No
16	-	-	-	-	-	No	No
17	-	-	-	chitw.	-	No	No
18	-	-	-	-	-	No	No
19	-	-	-	-	-	No	No
20	-	-	-	-	-	No	No
21	-	-	-	-	-	No	No
22	-	-	-	chitw.	-	No	No
23	146	183	besmet	chitw.	chitw.	170	173
24	-	-	-	-	-	No	No
25	-	-	-	-	-	No	No
26	-	-	-	-	-	No	No
27	-	-	-	-	-	No	No
28	-	7	-	-	-	No	No
29	-	-	-	-	-	No	No
30	-	-	-	-	-	No	No

- = niet aantoonbaar besmet, No = niet onderzocht

Perceelsgegevens als ras, plantdatum en grondsoort van de bedrijven zijn opgenomen in bijlage 1: Perceel gegevens onderzoek jaar 2008. Gegevens met betrekking tot de voorvruchten zijn opgenomen in bijlage 2. Voorvrucht percelen onderzoeksjaar 2008.



3.2 Resultaten 2009

In tabel 3 worden de resultaten weergegeven van onderzoeksjaar 2009. In de kolom Grondonderzoek (mei 09) is het berekende aantal aaltjes per volume weergegeven. In de kolom 100 cc staan de resultaten van methode 1) NAK AGRO standaard VLA en in de kolom 300 cc staan de resultaten van methode 2) NAK AGRO extra VLA. In de kolom Knolonderzoek (nov 09) worden de resultaten van zowel de visuele inspectie als de twee PCR monsters weergegeven. Perceelsgegevens als ras, plantdatum en grondsoort van de bedrijven zijn opgenomen in bijlage 3: *Perceel gegevens onderzoek jaar 2009*. Gegevens met betrekking tot de voorvruchten zijn opgenomen in bijlage 4: *Voorvrucht percelen onderzoeksjaar 2009*.

Naast het grondonderzoek is gekeken naar mogelijke verbanden tussen voorvrucht- en andere perceelsgegevens in relatie tot besmettingen. De dataset bleek niet geschikt om statistisch betrouwbare relaties vast te stellen. Het enige dat opviel, bij de bestudering van de datasets, was dat in een aantal gevallen bij een monocultuur van maïs vaker besmettingen werden gevonden.

Tabel 3. Resultaten onderzoek jaar 2009

Volgnr.	Grondonderzoek (mei 09)		Knolonderzoek (nov 09)		
	Pi - grond		visueel	PCR	
			monster A	monster B	
	100 cc	300 cc	200 kn	100 kn	100 kn
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-
36	40	37	No	No	No
37	60	31	besmet	chit/fal	chit/fal
38	85	209	besmet	chit/fal	chit/fal
39	-	-	besmet	chit	chit/fal
40	-	2	besmet	chit	chit
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	chit	chit
43	-	-	No	No	No
44	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-
46	-	-	-	-	-
47	-	-	-	-	-
48	-	-	-	-	-
49	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-
51	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-
53	-	-	-	-	-
54	-	-	No	No	No
55	-	-	-	-	-
56	-	2	-	chit	-
57	-	-	-	-	-
58	120	43	besmet	chit	chit
59	-	-	besmet	chit	chit

- = niet aantoonbaar besmet, No = niet onderzocht



4 CONCLUSIE, DISCUSSIE EN AANBEVELINGEN

4.1 Conclusie en discussie

Grondbemonstering (vooraf) is niet slechter dan de gangbare partijbemonstering (achteraf), maar kan het risico op afkeuring van pootgoed na de teelt eerder signaleren.

Numeriek is de PCR methode het meest succesvol met 19 van de 21 besmettingen aangetoond. De PCR methode blijkt significant beter dan de standaard VLA bemonsteringsmethode en de graaddagetoets. Er kan overigens geen significant verschil worden aangetoond tussen PCR en de extra VLA bemonsteringsmethode.

De graaddagetoets is net zo goed als de standaard VLA bemonsteringsmethode. Het PCR knolonderzoek is wat betreft detectie significant beter dan de standaard VLA bemonstering. Van de 19 PCR detecties zijn er 11 door de standaard VLA bemonsteringsmethode gedetecteerd.

De PCR methode is ook significant beter dan de graaddagetoets. De PCR toets is dus een goede vervanger van de graaddagetoets. Van de 19 PCR detecties zijn er 13 ook door de graaddagetoets ontdekt.

Beide bemonsteringsmethoden kunnen onder de gegeven omstandigheden het risico van afkeuring van partijen in veel gevallen voorkomen. De extra VLA methode scoort beter dan de standaard VLA methode (75% van de PCR detecties) en zal nog beter functioneren als deze wordt toegepast voor de vroegtijdige detectie van kleine besmettingshaarden. Beide methoden zouden beter hebben gepresteerd als het mogelijk was geweest de bemonsteringen in de juiste periode van 2008 uit te voeren.

Gezien het feit dat detectie vóór de teelt van pootgoed voor de teler de voorkeur heeft boven detectie met een graaddagetoets of PCR toets na de teelt, blijft bemonstering vooraf de voorkeur hebben. Het is wel wenselijk om de bereikte betrouwbaarheid, vergelijkbaar met de graaddagetoets, verder op te hogen. Nieuw ontwikkelde grond bemonsterings- en onderzoeksmethoden kunnen het risico op partijafkeuring nog verder minimaliseren.

Verificatieonderzoek is langdurig onderzoek en is vooral relevant wanneer het onderzoek gericht is op bodem gebonden organismen. Ondanks de hier gerapporteerde twee jaar onderzoek is de uiteindelijke gegevens set nog redelijk beperkt. Daarnaast zijn in dit geval bijvoorbeeld de grootte van de aangetroffen besmettingen onbekend. Hierdoor staan er veel onbesmette percelen in de database; 38 percelen zijn niet besmet verklaard met welke methode dan ook. Deze percelen kunnen niet worden gebruikt om conclusies te trekken betreffende de kwaliteit van de gebruikte detectiemethoden.

De gegevens zijn nog eens weergegeven in tabel 4 en 5. Van de 59 bemonsterde percelen bleken er uiteindelijk 21 op enigerlei wijze aantoonbaar besmet. Hiervan konden 15 besmettingen op basis van grondbemonstering worden aangetoond. Van deze besmettingen konden er 10 met beide bemonsteringssystemen worden aangetoond. De standaard VLA bemonsteringsmethode leverde 1 besmetting op die niet werd aangetoond met de extra VLA methode. De NAK AGRO extra VLA methode leverde 4 besmettingen extra op die niet werden aangetoond met de standaard VLA methode. Vanwege het lage aantal dataparen (15) is er geen significant verschil in effectiviteit te berekenen tussen de beide bemonsteringsmethoden.

Tabel 4. Vergelijking bemonstering methoden en knolonderzoek. Aangegeven wordt het aantal aangetoonde besmettingen per methode, het aantal besmettingen dat door beide versies van een methode – bemonstering en knolonderzoek apart - is aangetoond en hoeveel extra

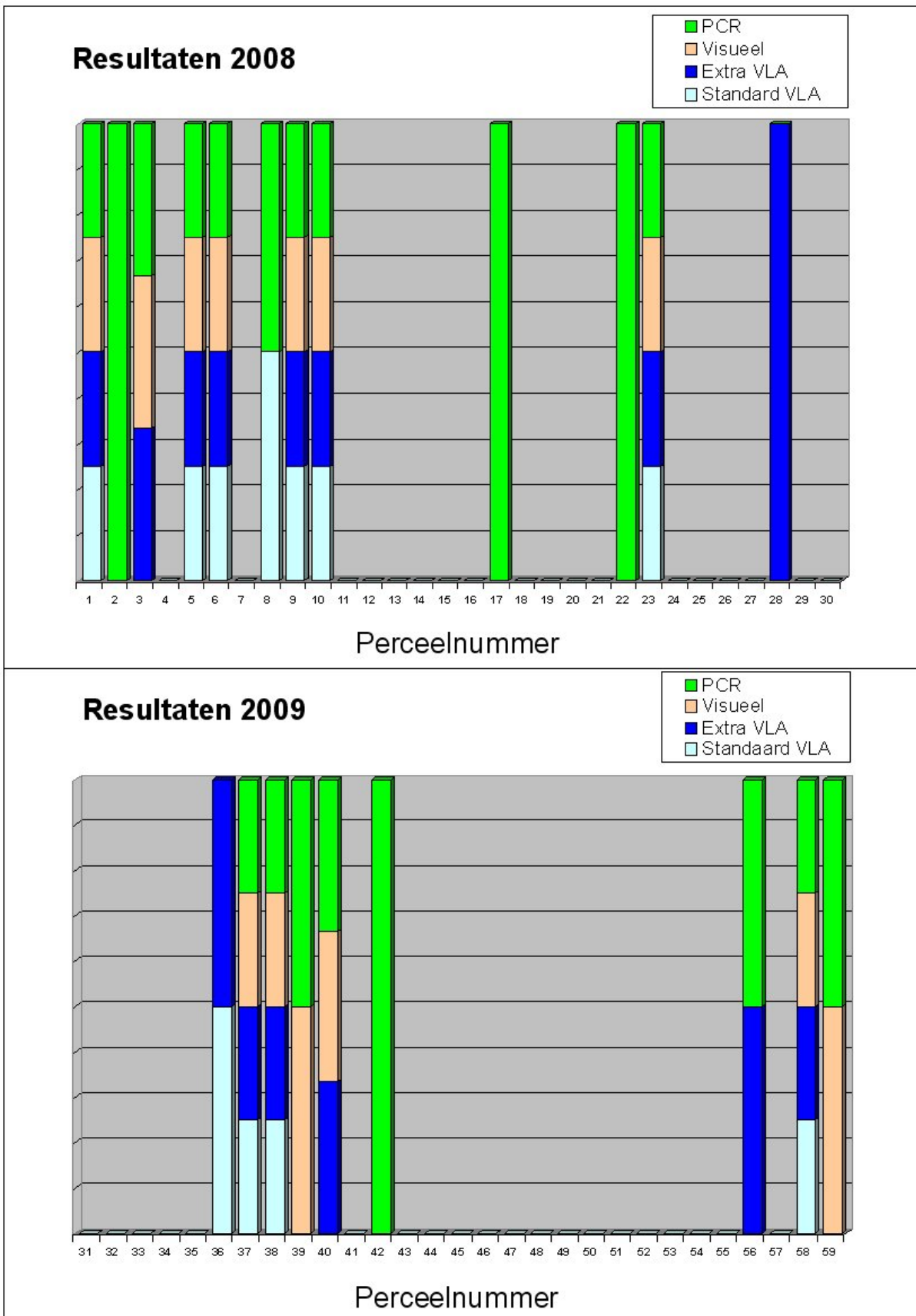


percelen een methode oplevert ten opzichte van de andere (bemonstering en knolonderzoek apart)

Bemonsterde percelen	2008 30				2009 29				Totaal 59			
	Standaard VLA	Extra VLA	Visueel	PCR	Standaard VLA	Extra VLA	Visueel	PCR	Standaard VLA	Extra VLA	Visueel	PCR
Bij 1 methode aangetroffen	7	8	7	11	4	6	6	8	11	14	13	19
Bij beide methoden aangetroffen	6	6	7	7	4	4	6	6	10	10	13	13
Binnen de methode extra aangetroffen	1	2	0	4	0	2	0	2	1	4	0	6

Wanneer er wordt gekeken naar de waargenomen symptomen blijken er in totaal 13 besmettingen te worden aangetroffen; deze zijn ook (op twee na) door de standaard VLA bemonstering aangetoond, terwijl de extra VLA bemonstering er ook twee aantoont die niet via symptomen wordt teruggevonden.

Numeriek is de PCR methode het meest succesvol met 19 van de 21 besmettingen aangetoond. De PCR methode blijkt significant beter ($P < 0.004$) dan de standaard VLA bemonsteringsmethode en de graaddagtoets ($P < 0.034$). Geen significant verschil ($P < 0.05$ niveau) kan worden aangetoond tussen PCR en de extra VLA bemonsteringsmethode. In figuur 3 zijn deze resultaten gevisualiseerd.



Figuur 3. *Vergelijking bemonsteringsmethoden en knolonderzoek. Aangegeven wordt met welke methode of methoden het besmet bevonden monster is aangetoond.*

Tabel 5. Aantal aangetoonde besmettingen per toegepaste methode en het totaal aantal gedetecteerde *Meloidogyne* besmettingen.

Jaar	2008	2009	Totaal
Bemonsterde percelen	30	29	59
Percelen standaard VLA	7	4	11
Percelen extra VLA	8	6	14
Percelen visuele toets	7	6	13
Percelen PCR	11	8	19
Percelen gedetecteerd	12	9	21

Bemonstering blijkt even effectief als het achteraf testen van 200 knollen op externe symptomen. De kans op een vals negatieve uitslag lijkt in dit onderzoek voor de extra VLA methode even groot als het aantal vals negatieven voor de externe symptomen, maar dit is statistisch niet hard te maken. Duidelijk is dat grondbemonstering niet slechter is dan de gangbare partijbemonstering, maar wel het risico op afkeuring van pootgoed na de teelt sterk kan reduceren! Bovendien moet rekening worden gehouden met het feit dat de bemonsteringen voor het onderzoekjaar 2009 zeer laat zijn uitgevoerd, namelijk in mei 2009 i.p.v. in het najaar van 2008, waardoor de bemonsteringen minder effectief zijn als die uitgevoerd voor het onderzoeksjaar 2008. Door de langere natuurlijke sterfte in het voorjaar zijn de detectiekansen veel lager en is het effect van beide bemonsteringsmethoden voor de detectie onderschat. De vertraging is veroorzaakt door de strenge winter van 2008.

Zelfs met de beperkte dataset blijkt de PCR methode effectiever qua detectie dan alle andere methoden en heeft het grote voordelen t.o.v. het European Plant Protection Organization (EPPO) protocol, o.a. qua tijdstip (onmiddellijk na de oogst) en de snelheid van de bepaling.

De her bemonstering in het voorjaar van 2009 van de in mei 2008 bemonsterde percelen laat zien dat alle besmettingen werden teruggevonden.

4.2 Aanbevelingen

Intussen zijn er op basis van dit en ander lopend onderzoek sterk verbeterde bemonsteringsmethoden ontwikkeld voor *M. chitwoodi*: de zogenaamde Melo-intensieve detectiemethoden. Deze methodieken houden rekening met de natuurlijke afname van de *M. chitwoodi* populatie in de wintermaanden en zijn specifiek bedoeld om, als voorbemonstering voor de teelt van pootaardappelen, het risico voor de teler op knolafkeuring na de teelt te minimaliseren. Om op eenduidige wijze de effectiviteit van een dergelijke methode ten opzichte van een knolonderzoeksmethode te testen is het noodzakelijk deze methodieken te verifiëren op percelen met een bekende besmetting van *M. chitwoodi*. Hierbij kan, door de gebruikte methoden per perceel te herhalen, ook de betrouwbaarheid van elke geteste methode worden geschat.

Bijlage 1. Perceel gegevens teeltjaar 2008

Volgnummer	Ras	Plantdatum	Grondsoort	Zuurgraad (pH)	Organische stof	% afslibbaar
1	Fontane	18-apr	zand	5.5	1.6	No
2	Hansa	5-mei	zand	5.2	No	No
3	Hansa	26-apr	zand	5.6	No	No
4	Hansa	9-mei	klei	5.2	No	No
5	Première	3-mei	zand	5.7	No	No
6	Fontane	21-apr	zand	5.1	2.5	No
7	Markies	20-apr	klei	6.2	1.6	25
8	Première	5-apr	zand	5.9	1.9	No
9	Hansa	25-apr	zand	5.6	4.5	No
10	Frieslander	26-apr	zand	No	No	No.
11	Gloria	14-apr	zavel	No	2.1	No
12	Gloria	15-apr	zavel	No	2.1	No
13	L. Rosetta	10-apr	lichte zavel/klei	7.5	No	10 tot 12
14	L. Rosetta	10-apr	lichte zavel/klei	7.5	No	10 tot 12
15	Voyager	12-apr	zeeklei/zavel	6.9	1.6	7 tot 12
16	Asterix	12-apr	zeeklei/zavel	6.9	1.6	7 tot 12
17	Gloria	14-apr	zavel	No	2.1	No
18	Bellini	30-apr	lichte zavel	6.8	1.2	10
19	Bellini	30-apr	lichte zavel	6.8	1.2	10
20	Bellini	30-apr	lichte zavel	6.8	1.2	10
21	Spunta	17-apr	lichte zavel	5.9	0.8	10
22	Ditta	28-apr	zee/duinzand	5.6	1.2	10
23	No	1-apr	lichte zavel	6	1.5	10
24	Spunta	1-apr	zeeklei/zavel	5.2	1.7	11 tot 16
25	Innovator	20-apr	alluviaal zand	7.1	1.8	8 tot 10
26	Everest	7-apr	klei	7	1.7	15
27	Inova	21-apr	klei	7.5	1.3	10
28	Nicola	15-apr	klei	7.4	1.4	11
29	Fontane	15-apr	klei	7.2	1.4	10
30	Ramos	5-mei	klei	6.5	2.5	25

No = geen gegevens

Bijlage 2. Voorvrucht percelen teeltjaar 2008

Volgnummer	Voorvrucht 2005	Voorvrucht 2006	Voorvrucht 2007
1		mais	mais
2	aardappelen	mais	bieten
3	mais	mais	mais
4	aardappelen	bieten	mais
5	mais	mais	mais plus bieten
6	aardappelen	bloemkool	bieten
7	bieten	tarwe	mais
8	bieten	uien	tulpen + courgette ?
9	bieten	zomergerst	bieten
10	bieten	mais	zomergerst
11	tarwe zilveruien	tulpen anemonen	bieten
12	tarwe zilveruien	tulpen anemonen	bieten
13	aardappelen	gras	uien
14	aardappelen	gras	uien
15	aardappelen	wintertarwe	tulpen +suikerbieten
16	aardappelen	wintertarwe	tulpen +suikerbieten
17	tarwe zilveruien	tulpen anemonen	bieten
18	pootaardappelen	lelies	lelies
19	pootaardappelen	lelies	lelies
20	pootaardappelen	lelies	lelies
21	suikerbieten	zomertarwe	pootaardappels
22	suikerbieten	snijmaïs	pootaardappels
23	uien	tarwe	pootaardappels
24	gras	gras	gras
25	Engels raaigras	suikerbieten	gerst
26	peen	tarwe	plant uien
27	gerst	tarwe	tulpen
28	aardappelen	tarwe	spinaziezaad
29	aardappelen	luzerne	luzerne
30	aardappelen	tarwe	uien

Bijlage 3. Perceel gegevens teeltjaar 2009

Volgnummer	Ras	Monster- name grond	Monster- name gewas	Plant- datum	Grond- soort	Zuurgraad (pH)	Organische stof	% Afslibbaar
31	Desiree					7	2	25
32	Santana				zavel	7.2	1.2	15
33	Inova				zavel	7.7	1.9	10
34	Signum				zavel	7.4	1.2	11
35	Inova				klei	7	2.5	35
36	Première	1-apr	29-sep	31-mrt	zand			
37	Fontane	3-apr	29-sep	21-mrt	zand	5.3		
38	Première	2-apr	24-jul	5-apr	zand	5.6	3.2	
39	Agria	2-apr	29-sep	21-apr	zand	5.5	3.5	
40	Hansa	5-apr	24-jul	5-apr	zand	7	3.7	
41	Agria	6-apr		25-apr	zand			
42	Première	6-apr	29-sep	25-apr	zand			
43	Asterix	6-apr	29-sep	25-apr	zand			
44								
45								
46								
47								
48								
49								
50								
51								
52								
53								
54		3-jun			zand	6	2.2	<7
55	Kuroda	4-jun		20-apr	zee/ duinzand	7.1	1.4	<10
56	Fabula	4-jun			zand	6.2	1.1	<8
57	Kondor	4-jun	1-aug	25-apr	zavel	5.8	1.1	<10
58	Fontana	10-apr	28-sep	10-apr	zand	7	2	
59	Hansa	22-apr	29-sep	26-apr	zand	5.3	5	

Bijlage 4. Voorvrucht percelen teeltjaar 2009

Volgnummer	Voorvrucht 2006	Voorvrucht 2007	Voorvrucht 2008
31	aardappelen	mais	tarwe
32	peen	suikerbieten	wintertarwe
33	spinazie	tarwe	tulpen
34	lucerne	lucerne	sbieten
35	pootaard	sbieten	graszaad
36			zomergerst
37	prei	bieten	bonen
38		graszuid	uien
39		uien	gladiolen
40	aardappelen	snijmais	suikerbieten
41	vruchtboomen	vruchtboomen	mais
42	gras	mais	bloembollen
43	gras	mais	bloembollen
44			
45			
46			
47			
48			
49			
50			
51			
52			
53			
54	aardappelen	mais	bieten
55	zomer gerst	pastinaat	zomergerst
56	bieten	narcis	tarwe
57	aardappelen	graan	bieten
58	korrelmais	suikerbieten	korrelmais
59	aardappelen	zomergerst	bonen

Dankwoord

Dankzij de financiering door Productschap Akkerbouw kon dit project gerealiseerd worden. Daarnaast gaat onze dank uit naar de telers die bereidwillig waren deel te nemen aan dit project.

