



# Fysische, chemische en biologische bestrijding van pectinolytische *Erwinia*'s

J.M. van der Wolf & J. van Doorn







# Fysische, chemische en biologische bestrijding van pectinolytische Erwinia's

J.M. van der Wolf<sup>1</sup> & J. van Doorn<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Plant Research International, Postbus 16, 6700 AA Wageningen

<sup>2</sup> Praktijkonderzoek Plant & Omgeving – Bollen, Bomen & Fruit, Postbus 85, 2160 AB Lisse

© 2006 Wageningen, Plant Research International 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 Plant Research International B.V.

## **Plant Research International B.V.**

Adres : Droevendaalsesteeg 1, Wageningen  
: Postbus 16, 6700 AA Wageningen  
Tel. : 0317 - 47 70 00  
Fax : 0317 - 41 80 94  
E-mail : [info.pri@wur.nl](mailto:info.pri@wur.nl)  
Internet : [www.pri.wur.nl](http://www.pri.wur.nl)

# Inhoudsopgave

	pagina
Voorwoord	1
Inleiding	3
Behandelingen	5
Biologische bestrijding	11
Conclusies	15
Literatuur	17



# Voorwoord

Deze literatuurstudie is uitgevoerd door het Plant Research International en Plantaardig Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Sector Bloembollen in het kader van het DWK onderzoeksprogramma 'Plantgezondheid' (onderdeel 'Effectief en duurzaam middelenpakket'), gefinancierd door het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit.

Dr.ir. A. Veerman (PPO Lelystad) wordt bedankt voor zijn kritische commentaar en aanvullingen op deze nota.





# Inleiding

Rotveroorzakende bacteriën, m.n. pectinolytische *Erwinia* spp., zijn al jarenlang verantwoordelijk voor veel schade in diverse gewassen, m.n. in de teelt van aardappelen en de bloembolgewassen hyacint, Zantedeschia en iris. Vanuit de sector ligt er een vraag naar methoden die beheersing van *Erwinia* spp. tijdens de teelt en in de naoogst mogelijk maken. Daarbij ligt het accent op teeltmaatregelen die de introductie en verspreiding van *Erwinia*'s voorkomen. Het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen of fysische methoden voor behandeling van plantmateriaal tegen *Erwinia* spp. is weinig gangbaar. Dit komt enerzijds omdat er geen bactericiden als gewasbeschermingsmiddel zijn toegelaten in de gewassen waar *Erwinia*'s economische schade geven. Men is vooral voorzichtig met het toelaten van antibiotica i.v.m. risico's op resistentievorming bij humaan en veterinair pathogene bacteriën. Verder is de ontwikkeling en registratie van gewasbeschermingsmiddelen zeer kostbaar. Chemische bedrijven hebben weinig belangstelling deze te ontwikkelen voor een markt met een beperkte potentiële omzet. Anderzijds heeft het beperkte onderzoek dat naar bestrijding is uitgevoerd ook weinig succes opgeleverd. *Erwinia*'s zijn vaatpathogenen die beschermd door het plantmateriaal moeilijk bereikbaar zijn voor contactmiddelen en er zijn helaas geen systemische bactericiden beschikbaar. Echter, naast infecties van het vaatweefsel kunnen bij aardappelen ook lenticel-infecties een rol spelen bij de ontwikkeling van bacteriezieke planten. *Erwinia*'s in de lenticellen zouden mogelijk wel bereikt kunnen worden met chemische middelen of via een fysische behandeling. Derhalve dient onderscheid gemaakt te worden tussen enerzijds interne besmettingen, en anderzijds lenticel besmettingen ontstaan door versmering. Bacteriën kunnen via versmering ook vrij op de buitenkant van het plantmateriaal terecht komen. Deze cellen zullen in veel gevallen toch wel afsterven, omdat de overleving van *Erwinia*'s op de oppervlakte van materialen, inclusief op het oppervlak van knollen en bollen, beperkt is (Edwards *et al.*, 2001; (Van Vuurde & De Vries Ph, 1994); Ficke *et al.*, 1973). *Erwinia*'s kunnen namelijk slecht tegen uitdrogen. De overleving is voor *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (Eca) daarom sterk afhankelijk van temperatuur en luchtvochtigheid en varieerde van 240 dagen bij 100% RH en 5 °C tot minder dan 8 dagen bij 63% RH en 25 °C of bij 75% RH en 40 °C (Ficke *et al.*, 1973). Het soort materiaal (glas, rubber, metaal of plastic) was hierbij minder van belang. Op oogstmachines en sorteerbanden werd na de oogstperiode (oktober, november) een overleving vastgesteld van 1 tot 20 dagen. In ander onderzoek overleefden Eca en *E. c.* subsp. *carotovora* op schone materialen minder dan 12 uur op beton, metaal en plastic en de afname op hout was in die periode al aanzienlijk (Edwards *et al.*, 2001). De testomstandigheden werden niet vermeld. Als de materialen eerst gedompeld waren in een organisch materiaal (gistextract) overleefde Eca wel goed op deze materialen en Ecc alleen matig op plastic en hout. Op intacte knollen is Eca al na 2 dagen dood ((Van Vuurde & De Vries Ph, 1994)). Alleen in diepere wonden kan Eca langer overleven ( $\leq 222$  dagen), zeker na wondheling. In de meeste experimenten werd gewerkt met bacteriën opgegroeid op of in een groeimedium. Het zou wel kunnen zijn dat bacteriën in een biofilm of vanuit rottend aardappelweefsel langer kunnen overleven op het oppervlak van knollen of andere materialen. De overleving van *Erwinia chrysanthemi* (Ech) op materialen is niet precies bekend en vraagt verder onderzoek.

In deze literatuurstudie worden de beschikbare gegevens nog eens nader bekeken vanuit de vraag of een praktische en (kosten)effectieve methode haalbaar is om *Erwinia*'s in plantaardig uitgangsmateriaal zoals knollen en bollen te bestrijden. Achtereenvolgens wordt aandacht besteed aan fysische, chemische en biologische behandelingsmethoden. Een deel van de informatie is eerder gepubliceerd in nota's over de beheersing van *Erwinia*'s in de aardappel- en bloembollenteelt (Van der Wolf, 2004; Van Doorn & Van der Wolf, 2005). Er wordt relatief uitgebreid ingegaan op de mogelijkheid om m.b.v. bacteriofagen *Erwinia*'s te bestrijden. De mogelijkheden om loof te behandelen worden in deze studie niet behandeld.



# Behandelingen

## Fysische behandelingen

Behandeling van aardappelpootgoed met warm water, hete vochtige lucht of met droge hitte zijn de bekendste fysische behandelingsmethoden en gaven in verschillende studies een redelijk goed behandelingseffect. Met name hete lucht en stoom zijn interessant, omdat dan de knollen niet teruggedroogd hoeven te worden. Echter dieper liggende knolinfecties kunnen niet worden bereikt zonder de knol te beschadigen. Essentieel is het snel terugdrogen van de knol, om zuurstofgebrek van de knol te voorkomen en de vermeerdering van overgebleven *Erwinia*'s tegen te gaan. Apparatuur voor warmwaterbehandeling, ontwikkeld voor bloembollen, kan mogelijk ook voor pootgoed worden gebruikt, al is uit eerder onderzoek gebleken dat het vinden van een evenwicht tussen bestrijdingsresultaat en schade aan de kiemkracht een precaire zaak is. Overigens lijken warmtebehandelingen voor bestrijding van *Erwinia*'s in bloembollen weinig zin te hebben, omdat bloembollen een temperatuur van 52 °C niet kunnen verdragen. Een andere interessante fysische behandeling is die met UV-straling.

Een groot deel van de micro-organismen wordt tijdens fysische behandelingen gedood. De behandelde knollen lenen zich goed voor toepassing van antagonisten die het vrijwel steriele knoloppervlak gemakkelijk zullen koloniseren. Echter mogelijk zijn de 'steriele knollen' ook vatbaarder voor kolonisatie door bodempathogenen.

### *Warmwaterbehandeling*

In Schots onderzoek leidde behandeling in een zgn. Continuous Hot Water Treatment systeem van pootgoed gedurende 5 min bij 53 °C, gevolgd door een snelle droging al tot een verlaging van het percentage bacterieziek door *Eca* aan het einde van het groeiseizoen van 63 tot 13% (Graham *et al.*, 1985). De gemiddelde besmettingsniveaus van de knollen nam af van  $10^5$  tot  $10^2$  cellen per knol. De opbrengst nam toe met 30%. Verdere verhoging van de temperatuur resulteerde in een sterke kiemschade en een verminderde opbrengst.

De tijd van het jaar waarin de behandeling wordt uitgevoerd is kritisch en het optimum is rasafhankelijk (Rozen, 1990). Verder werd de opkomst van de planten door de behandeling een week vertraagd (de knollen werden niet voorgekiemd), hoewel dit niet resulteerde in een verminderde opbrengst aan het einde van het seizoen.

Ook in ander Schots onderzoek werd een sterke reductie gevonden van het percentage planten met symptomen na een warmwaterbehandeling van 5 of 10 minuten bij 55 °C (Graham *et al.*, 1985). Er werd weinig verschil in behandelingseffect gevonden tussen natuurlijk besmette knollen en knollen die kunstmatig waren besmet door incubatie in een bacteriële suspensie. Ook hier werd een vertraging in de kieming waargenomen.

Er is ook onderzoek gerapporteerd waarin een behandeling van 10 min bij 55 °C een goed bestrijdingsresultaat gaf zonder aantasting van kiemkracht (Graham *et al.*, 1985). Bij droge hitte moet pootgoed minstens 30 min bij 60 °C behandeld worden (Graham *et al.*, 1985).

Bij bloembollen wordt voor de behandeling van hyacintenbollen tegen de pathogene bacterie *Xanthomonas hyacinthi*, 'heetstook' al lang toegepast (Van Doorn & Roebroek, 1993). Daarbij worden de bollen eerst 2 weken bij 38 °C en daarna 3 dagen bij 44 °C behandeld in een goed geventileerde ruimte. Dit temperatuur regime is echter onvoldoende voor bestrijding van *Erwinia* spp. De behandeling leidt eerder tot een verzwakking van de bollen en een toename van zachtrot door *Erwinia* spp.

De vraag is of resultaten uit onderzoek dat m.n. in Schotland aan de aardappelknol is gedaan, direct vertaald mag worden naar de Nederlandse situatie. In Schotland worden veel infecties gevonden in de lenticellen. Deze zijn relatief gemakkelijk bereikbaar voor warmte. In Nederland lijken infecties aan het naveleinde dominant. Bacteriecellen in de naveleindes zijn beter beschermd tegen de hitte.

Eca bleek dus effectief gereduceerd te kunnen worden bij een behandelingsregime dat weinig effect had op de vitaliteit van de knol. Echter in Nederland worden problemen ook veel door Ech en Ecc veroorzaakt. Het is de vraag of een temperatuursbehandeling voor deze pathogenen wel toepasbaar is. Een temperatuursbehandeling van Ech in een vloeibaar groeimedium gaf bij 56 °C na 2 min een reductie van 95%, terwijl hetzelfde effect bij Ecc al na 2 min bij 50 °C werd verkregen. Eca was nog gevoeliger voor warmte (Robinson & Foster, 1987). Hierbij werd gebruik gemaakt van gesuspendeerde bacteriën, terwijl bacteriën op een agar medium hogere temperaturen kunnen verdragen (Mackay & Shipton, 1983). Mogelijk dat bacteriën in natuurlijk gevormde biofilms een nog hogere letale temperatuur hebben. Verder bleek de letale temperatuur afhankelijk van de stam en van de leeftijd van de bacterie-cultuur. Temperatuursbehandelingen van plantmateriaal zouden dus mogelijk hitte-resistente stammen kunnen selecteren. Een lange behandelingsduur van pootgoed voor eliminatie van Ech zal dus zeker leiden tot kiemschade en een slechte opkomst van het gewas. Ook Ecc kan aanzienlijk hogere temperaturen verdragen dan Eca. Bij 49 °C, overleefden alle 6 getoetste Ecc stammen terwijl van Eca er maar één van de zes stammen overleefde (Pérombelon *et al.*, 1989).

Tenslotte is het de vraag of de warmwaterbehandeling kosteneffectief kan worden toegepast. Apparatuur moet in staat zijn om een constante temperatuur van 55 °C gedurende 5-10 minuten te handhaven voor een bulkproduct als pootaardappelen. Het is daarna essentieel dat de aardappel snel met een sterke luchtstroom worden teruggedroogd.

#### *Droge lucht en stoom*

Naast warmwaterbehandeling en droge lucht, kan stoom voor ontsmetting van pootgoed gebruikt worden. In een opgeschaald systeem waarin 100 knollen gelijktijdig behandeld konden worden, gaf behandeling van knollen met stoom van 70 °C bij 2 atmosfeer gedurende 5 seconden een reductie van bacterieziek in het veld van 26 naar 3% (Afek & Orenstein, 2002). Ook voor andere pathogenen zoals *Helminthosporium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum coccodes*, *Fusarium*, *Streptomyces* en *Spongospora* bleek de stoombehandeling effectief. Naast een bactericide of fungicide effect zou de stoombehandeling ook de knolresistentie kunnen verhogen door veranderingen in het niveau van fenolen, coumarinen, ligninen en de enzymatische activiteit in de knol. Het is ook van andere gewassen bekend dat een warmtebehandeling kan leiden tot een verhoging van phytoalexinen, stoffen die gerelateerd zijn aan weerstandsinductie (Kim *et al.*, 1991; Afek & Szejnberg, 1993). Een stoombehandeling in combinatie met waterstofperoxide (10% Compound P) gedurende een periode van 10 uur gaf ook een sterke reductie van natrot bij aardappel veroorzaakt door Ecc tijdens de bewaring te zien (Afek *et al.*, 1999). De stoombehandeling werd uitgevoerd in een Tabor Atomizing System, waarin onder druk minuscule waterdruppels worden gevormd die fungeren als carrier voor het waterstofperoxide. Tijdens de bewaring van 5 maanden bij 8 °C en 95% RH liep bij natuurlijk besmet materiaal het percentage rotte knollen terug van 15 naar 1% en voor materiaal dat extra besmet was met actief rottende knollen van 26 naar 4%.

Desinfectie met stoom is kosteneffectief, gemakkelijk en veilig uit te voeren en is ook vriendelijk voor het milieu. De vraag is wat deze stoombehandelingen kan betekenen voor de reductie van bacterieziek in het veld. In het onderzoek van Afek *et al.* (1999) werden de knollen bewaard bij hoge RH, onder condities die gunstig zijn voor natrot ontwikkeling. Hierbij zullen Ecc bacteriën die in lenticellen aanwezig zijn, rot kunnen veroorzaken. Een stoombehandeling zal deze bacteriën kunnen elimineren, maar niet de bacteriën die via het naveluiteinde in het vaatsysteem zijn binnengekomen. Ook bacteriën die in de bolrokken van bloembollen zitten lijken onbereikbaar.

#### *UV-behandeling*

UV straling bleek effectief bij het voorkomen van bewaarziekten door *Erwinia*'s (Ranganna *et al.*, 1997). Bij een relatief milde dosis, die de kiemkracht van de knollen niet aantastte werd een volledig bestrijdingsresultaat verkregen. De effectiviteit werd vergroot door knollen voor de behandeling 6 uur bij 37 °C te incuberen. In het onderzoek werd echter alleen gewerkt met kunstmatig besmette knollen.

## Chemische middelen

Met chemische middelen, zoals chloor, metaalionen en antibiotica kunnen bacteriën afgedood worden, maar er zijn ook middelen, zoals acetyl salicylzuur die indirect werken via (versnelde) inductie van de weerstand in de plant. Ontsmetting van pootgoed met chemische middelen leidt slechts tot een (beperkte) reductie, en zelden tot een eliminatie van pathogeenpopulaties in knollen of bollen.

Het gebruik van middelen in een dampfase heeft de voorkeur, omdat dit geen risico's geeft op versmering en het uitgangsmateriaal ook niet teruggedroogd hoeft te worden. Gebruik van gasvormige middelen vraagt wel om luchtdichte ruimtes en maatregelen (afzuigsystemen) die blootstelling van mens en dier aan (toxische) middelen verhindert.

Het gebruik van natuurlijke gewasbeschermingsmiddelen is een interessante mogelijkheid voor de biologische aardappelteelt. Een voordeel van middelen is, dat men niet afhankelijk van de biologische activiteit van een levend organisme.

Als chemische middelen toegediend in vloeibare vorm niet voldoende effectief zijn, kunnen ze juist leiden tot een verspreiding van de *Erwinia*'s en een verhoging van de ziektedruk (Graham *et al.*, 1985; Bartz, 1999).

Toepassing van Kasugamycine (5%), Hydroxychinoline (8HQ, 0.375%), Mancozeb (20%), Formaldehyde (1%), Streptomycine (0.125%), koperoxychinolaat (2%) of kopersulfaat (1%) toegevoegd aan een middel tegen *Rhizoctonia* (Solacol) tijdens planten in aanwezigheid van rotte knollen gaf geen reductie van bacteriezieke planten in het veld. Koperoxychloride (1%) werkte wel matig, maar was fytotoxisch (Graham *et al.*, 1985).

Ook in ander Amerikaans onderzoek was het antibioticum kasugamycine al dan niet in combinatie met gechloreerd water niet of matig effectief voor het reduceren van natrot tijdens de bewaring van aardappelknollen (Bartz, 1999).

Naoogst behandeling van *Zantedeschia* knollen met koperhoudende producten in Canada gaf geen reductie van bacterieziek (Gracia Garza *et al.*, 2002). Als het middel tijdens de teelt via druppelirrigatie werd toegediend, werd wel een bestrijding gevonden, maar ook schade aan het gewas.

Behandeling van knollen met chloor (NaOCl) in dampvorm, geïnoculeerd door knolwonden te inoculeren met hoge concentraties Eca, was alleen effectief na een behandeling van minstens 10 dagen bij hoge concentraties chloor (200 mg/l). Bij die concentraties werd de kieming sterk geremd (Tweddell *et al.*, 2003). In ander onderzoek werd slechts een 40% reductie in verlies door natrot tijdens de bewaring bereikt door behandeling van aardappelknollen met chloorgas (chloordioxide) (Tsai *et al.*, 2001). Chloor inactieveert snel door reacties met organisch materiaal van de knollen (Olsen *et al.*, 2003).

Behandeling van knollen met aluminium en bisulfite zouten resulteerde in een reductie van zacht rot tijdens de bewaring van knollen (Yaganza *et al.*, 2001). Een behandeling van 5 min met 50 mM natrium metabisulfite was reeds voldoende om een reïncultuur van Eca volledig af te doden (Yaganza *et al.*, 2004). Het is een zgn. multitarget compound dat eiwitten en enzymen kan inactiveren, ATP- en ADP-voorraden uitput, en kan reageren met DNA. Natrium metabisulfite is goedkoop en wordt in de industrie veel toegepast bij het bleken van stoffen en als ontsmettingsmiddel. Het middel is relatief veilig, maar wel is het ingetrokken als GRAS-compound, omdat mensen allergisch kunnen zijn, met name astmatische personen. Toepassing door behandeling van pootgoed in een afgesloten ruimte lijkt wel mogelijk. Dan moet wel uitgesloten worden dat alsnog een allergische reactie ontstaat als residuen vrijkomen tijdens het poten

Aluminiumchloride doodt Eca effectief in een concentratie van 100 mM bij een behandelingsduur van minimaal 10 min (Yaganza *et al.*, 2004). Dit is relatief lang voor een praktijktoepassing. Aluminiumchloride beïnvloedt de permeabiliteit van de celwand van de bacterie membranen. Verder kan het complexeren met ATP, DNA en fosfaten. Een oplossing van 100 mM heeft een pH van 2.5, maar de lage pH is niet de enige factor die de bactericide werking verklaart. Ook gebruik van aluminiumchloride heeft een laag ecotoxicologisch risico. Mogelijk dat de lage pH wel een corrosief effect heeft op installaties en apparatuur.

Aluminiumchloride en natrium metabisulfiet hebben ook een dodend effect op *Helminthosporium solani* (Hervieux *et al.*, 2002).

Wateroplosbare, geoxideerde teergronden in Zuid-Afrika (oxifulvine zuur met koper of ijzer) bleken een sterk anti-bacteriële werking (ook tegen *Erwinia*'s) *in vitro* te hebben (Aveling *et al.*, 1999). De toepasbaarheid op aardappelknollen is niet onderzocht.

Voor bestrijding van *Erwinia*'s in *Agave* werd met succes het bactericide beta-hydroxyethylhydrazine toegepast dat effect heeft op de polyamine biosynthese. In welke mate deze stof ook op aardappelen zal werken is onbekend.

*Erwinia*'s blijken gevoelig voor vluchtige terpenen in tijmolie (Basim *et al.*, 2000). Dit is potentieel voor de biologische teelt interessant. Praktische toepassing lijkt ver weg vanwege de hoge kosten van een behandeling. *Erwinia*'s zijn i.t.t. veel andere bacteriën gevoeliger voor tijmolie geëmulgeerd in water dan voor een tijmbehandeling in dampvorm.

Ook waterige extracten van *Allium*, *Euphorbia* en *Piper* soorten bleken actief tegen *Erwinia*'s en zouden voor behandeling van biologisch pootgoed en bloembollen ingezet kunnen worden (Lirio *et al.*, 1998).

Behandeling van knollen met karvon had geen effect op natrot (Gorris & Smid, 1993). Toepassing van (etherische) oliën heeft als risico dat er lokaal anaërobe condities kunnen ontstaan die de ziekte juist bevorderen. Zo bleek het aangieten van Chinese kool met een mengsel van bacteriën en minerale olie al bij zeer lage dichtheden natrot te kunnen induceren (Lee & Cha, 2001). Ook moet er bij het behandelen van aardappelknollen opgepast worden met de toevoeging van oppervlaktespanning verlagende stoffen (surfactants) aan bestrijdingsmiddelen (Bartz *et al.*, 1997). Sommige van deze stoffen kunnen ook natrot induceren. Dit kan verklaard worden uit een versmering van de bacterie door de surfactant, maar ook uit de vorming van een egale waterfilm rond de knol. Hierdoor kan de zuurstofspanning in de knol verlaagd worden, wat resulteert in een verminderde weerstand.

Nog verder weg van een praktijktoepassing ligt het gebruik van bacteriocinen, macromoleculaire toxinen die door *Erwinia* stammen worden gemaakt en verwante *Erwinia* stammen lyseren, maar soms ook een bredere groep van plant-geassocieerde bacteriën kunnen afdoden (Tovkach, 1998b; Tovkach, 1998a).

De groep bacteriocinen van hoogmoleculair gewicht lijken sterk op bacteriofagen: een gemeenschappelijke voorouder lijkt aannemelijk. Bacteriocinen kunnen in principe ook gebruikt worden als biocontrol agent. Er zijn veel bacteriocinen gevonden bij o.a. *E. carotovora* subsp. *atroseptica* en *carotovora*, *E. chrysanthemi*, *Erwinia* spp. van suikerbiet, en andere *Erwinia*-soorten zoals *E. herbicola*, *E. salicis*, *E. uredovora*, *E. quercina* en *E. amylovora* (Vidaver 1976, Jabrane *et al.*, 2002). Nguven *et al.* (1999) karakteriseerde 'carotovoricin Er', een 'faagstaartachtig' bacteriocine uit *E. carotovora* subsp. *carotovora*. De productie van bacteriocinen is echter kostbaar en de bewaarbaarheid problematisch. Bacteriocinen zijn vaak ook te specifiek.

## Elicitors

Het gebruik van weerstandsbevorderende middelen is een alternatieve benadering voor de bestrijding van *Erwinia*'s. Ze zijn interessant vanwege de volgende aspecten:

1. Vaak zijn deze middelen breed werkend, met een effect tegen niet alleen bacteriën, maar ook tegen virussen en schimmels.
2. Veel van deze middelen kennen een systemische werking, waardoor ook delen van de plant beschermd zijn, die ruimtelijk zijn gescheiden van de behandelde delen.
3. Ze zijn vaak effectief gedurende een relatief lange periode oplopend tot aan de totale levensduur van de plant.
4. Het effect is gebaseerd op verschillende mechanismen in de plant, waardoor het pathogeen waarschijnlijk moeilijk resistentie kan opbouwen.
5. Van een aantal van deze middelen is bekend dat het gebruik hiervan geen ecotoxicologische risico's met zich meebrengt.

In het algemeen leveren middelen die geen antimicrobiële werking hebben minder risico's op voor het milieu. Elicitors bieden vaak wel minder bescherming dan (synthetisch-) chemische gewasbeschermingsmiddelen. Verder is het tijdstip van toediening kritischer (Lyon & Newton, 1997). Bescherming wordt vaak pas een week na toediening verkregen. Tenslotte kan behandeling ook een negatief effect hebben op de plantontwikkeling.

Elicitors worden door *Erwinia*'s zelf gemaakt tijdens het infectieproces. Aangetoond werd dat pectinolytische enzymen van *Erwinia* de vorming van fytoalexines induceert na incubatie van de celwanden van sojaboon (Davis *et al.*, 1986). De elicitors werden geïdentificeerd als oligogalacturonides. Behandeling van de wonden van aardappelknollen met oligogalacturonides in een concentratie van 2 mg/ml resulteerde in geïnduceerde weerbaarheid en bescherming tegen Eca (Dutton *et al.*, 1997). De resultaten werden echter niet getoond en de mate van het effect kan dus ook niet geschat worden. De oligogalacturonides hadden geen effect op de groei van Eca in een medium. Oligogalacturonides kunnen een negatief effect hebben op de ontwikkeling van het wortelsysteem omdat het een antagonist is van auxine. Dit is bij aardappelen en bollen zeer ongewenst, gezien het toch al relatief ondiepe wortelstelsel. Oligogalacturonides hebben een laag ecotoxicologisch risico. Gezuiverde oligogalacturonides kunnen niet kosteneffectief worden toegepast, maar mogelijk zijn ruwe fracties van plantenextracten of van polygalacturonzuur, die met een pectinolytisch enzym zijn behandeld, ook toepasbaar.

Behandeling van pootaardappelen met acetyl salicylzuur (aspirine) als elicitor, gaf m.n. als het pootgoed voor de behandeling beschadigd werd, al bij lage concentraties 0.0125% een goed behandelingsresultaat (Lopez *et al.*, 2001). De behandelingen werden in kasexperimenten beoordeeld. Er werden geen fytotoxische effecten gevonden. Elicitors zouden toegepast kunnen worden bij de oogst, om in wondweefsel weerstand te kunnen induceren, bij voorkieming van aardappelknollen, voor planten en in het jonge plant stadium via loofbespuitingen.





# Biologische bestrijding

## Micro-organismen

Biologische bestrijding van *Erwinia*'s is in verschillende studies slechts in beperkte mate effectief gebleken. Toepassing van antagonisten wordt verhinderd door de regelgeving. Een registratiedossier dat voor toepassing noodzakelijk is, vraagt een investering van meer dan een miljoen euro. Antagonisten die naast een bestrijdingseffect ook op een andere wijze de kwaliteit van het plantmateriaal verbeteren, zoals via groeistimulatie, hebben duidelijk een meerwaarde. Behandelingen met antagonisten kunnen worden uitgevoerd bij snelle vermeerderingstechnieken, voor het poten, maar ook bij groenrooien en inschuren. Echter, voor behandeling van bulk pootgoed is een relatief groot volume antagonisten nodig. Dit zal de behandeling kostbaar maken.

Er zijn antagonisten geïsoleerd waarvan de activiteit is gebaseerd op productie van antibiotica, productie van sideroforen die betrokken zijn bij competitie om ijzer, en het uitschakelen van signaalstoffen die betrokken zijn bij inductie van virulentiefactoren. In het algemeen wordt er geen relatie gevonden tussen *in vitro* en *in vivo* activiteit van antagonisten en de effectiviteit in het veld.

Groenrooien biedt mogelijkheden om antagonisten toe te dienen op een belangrijk tijdstip voor knolinfectie met en de opbouw van *Erwinia*'s (Kastelein *et al.*, 1996; Kastelein *et al.*, 1999). Verschillende bacteriën en *Trichoderma* soorten bleken in staat te zijn te beschermen tegen infecties met *Erwinia*'s. Ook toepassing van antagonisten bij het inschuren bleek een redelijke mate van wondbescherming op te leveren.

*Erwinia*'s produceren een aantal virulentiefactoren, zoals pectinolytische enzymen, die alleen worden aangemaakt bij het bereiken van een hoge populatiedichtheid (quorum sensing). Deze dichtheid wordt door de bacteriecel gedetecteerd door het produceren van specifieke extracellulaire signaalstoffen (homoserine lactonen (HSLs) die gemakkelijk door het milieu kunnen diffunderen. Er zijn verschillende groepen bacteriën gevonden die deze signaalstoffen enzymatisch kunnen afbreken waardoor het infectieproces niet op gang komt (Dong Yi *et al.*, 2001; Uroz *et al.*, 2003). Ook heeft men al *Pseudomonas* bacteriën die in hoge dichtheden in het wortelmilieu van de aardappelplant voorkomen, voorzien van het erfelijk materiaal dat codeert voor het enzym dat HSLs kan afbreken. Hierdoor werd de plant weerbaar tegen *Erwinia*-infectie (Molina *et al.*, 2003a; Molina *et al.*, 2003b). De behandeling met de *Pseudomonas* bacterie werkte ook nog 2 dagen na toediening van de *Erwinia*'s. Het voordeel van deze benadering is dat er geen selectiedruk op *Erwinia*'s wordt uitgeoefend, omdat de bacterie niet gedood wordt. Hierdoor zal er naar verwachting niet snel resistentie optreden tegen deze enzymen. Inmiddels zijn er homoserine-afbrekende enzymen gevonden in de volgende genera: *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Comamonas*, *Variovorax*, *Pseudomonas* en *Ochrobactrum* (Dong Yi *et al.*, 2001; Uroz *et al.*, 2003). Met isolaten uit de genera *Bacillus*, *Rhodococcus* en *Ochrobactrum* zijn al goede bestrijdingsresultaten geboekt bij de aardappel. Interessant is dat ook de bodembacterie *Bacillus thuringiensis* infecties van *Erwinia*'s in aardappel kon stoppen, omdat voor dit organisme al een toelating voor insectenbestrijding bestaat in Nederland (Dong Yi *et al.*, 2001).

Naast het toedienen van antagonisten die het quorum sensing mechanisme van *Erwinia*'s verstoren, zouden ook gezuiverde producten toegediend kunnen worden. Men heeft bijvoorbeeld synthetische analogen van de signaalstoffen gemaakt waarmee het ziekteproces geremd kan worden. Ook zijn er componenten uit een rode alg, *Delisea pulchra* geïsoleerd die het quorum sensing mechanisme blokkeren (Manfield *et al.*, 2001).

Voor bestrijding van *Ecc* in meloen werd een *Pseudomonas fluorescens* geïsoleerd die naast een antagonistische werking ook de totale eiwitconcentratie in de zaailingen verhoogde (El-Hendawy *et al.*, 1998).

In Amerikaans onderzoek bleek behandeling van aardappelknollen met een *Bacillus* of *Pseudomonas* het percentage zachtrot sterk te reduceren (Graham *et al.*, 1985). Een mengsel van deze bacteriën werden op de knol aangebracht voor inoculatie met *Erwinia*. Een poederformulering van de *Bacillus* sp., op de knol toegediend vóór poten, was ook in staat om het percentage zwartbenigheid te reduceren van 13 naar 1%.

Gebruik van een niet-gekaracteriseerd bacterie-isolaat voor bestrijding van Ech in tomaat in de kas verminderde de symptoomexpressie aanzienlijk (Aysan *et al.*, 2003). Getrimde wortels van zaailingen waren eerst geïncubeerd in de antagonist en daarna in een Ech suspensie. Het isolaat remde Ech nauwelijks *in vitro* en lijkt dus geen antibioticum te produceren.

Een andere interessante groep van antagonisten zijn parasitaire *Bdellovibrio*'s. Deze predatoren voeden zich met andere bacteriën. Er zijn ook isolaten die in staat zijn Ecc te infecteren (Shemesh & Jurkevitch, 2004). Infecties van Ecc met deze predatoren leiden tot een sterke daling van *Erwinia* populaties. Echter, infecties van een Ecc cultuur leiden tot selectie van resistente mutanten, waardoor na enige tijd de Ecc populatie zich weer herstelt. Mogelijk dat bestrijding met *Bdellovibrio*'s wel effectief is in combinatie met middelen die resistentievorming tegen gaan of resistente mutanten uitschakelen.

Een *Bacillus subtilis* stam, die een breedwerkend antibioticum produceerde was in staat infectie met *Erwinia*'s in aardappelplanten te verhinderen of te reduceren na co-inoculatie van getrimde wortels, of in een aardappelschijven-toets (Sharga & Lyon, 1998). In onderzoek naar beheersing van (lak)schurft, werd een verbeterd behandelingsresultaat verkregen door de antagonistische *Bacillus subtilis* stam eerst te formuleren in water-oplosbare granules voor behandeling van het pootgoed (Schmiedeknecht *et al.*, 1998). Dit zou ook voor de bestrijding van *Erwinia*'s interessant kunnen zijn.

Planten bevatten vaak bacteriën die gespecialiseerd zijn in het koloniseren van het vaatweefsel (zgn. endofyten). Met name antagonistische en/of groeistimulerende endofyten die bij de stamselectie van aardappelen meevermeerderd kunnen worden zijn potentieel interessant. In dat geval hoeft pootgoed niet telkens opnieuw behandeld te worden. Endofyten zouden relatief eenvoudig tijdens *in vitro* vermeerdering van aardappelplanten aan het weefselweekmedium of aan het substraat van miniknollen toegevoegd kunnen worden.

De endofyten die in de aardappel gevonden zijn behoorden tot verschillende bacterieklassen en waren voor een deel niet cultiveerbaar. Infecties met *Erwinia* resulteerden in een toename van de diversiteit van de endofyten, mogelijk door beschadiging van plantenweefsel waardoor nutriënten vrijkomen en ook ingangspoorten voor nieuwe micro-organismen worden gecreëerd (Reiter *et al.*, 2002). Sommigen endofyten beschermen de plant tegen schade door Eca (Reiter *et al.*, 2002). In eerder onderzoek was al gevonden dat de meest actieve antagonistische endofyten te vinden zijn op plaatsen waar ook het pathogeen zich bevindt (Sturz *et al.*, 1999). Opvallend was dat geen van deze endofyten Eca *in vitro* remden en dus geen effectieve antibiotica tegen Eca lijken te produceren. De beschermende werking zou anders verklaard kunnen worden door competitie om nutriënten, geïnduceerde resistentie of interactie met het quorum sensing mechanisme van het pathogeen. Endofyten kunnen ook ingezet worden om de moederknol snel te laten wegroten.

## Bacteriofagen

Bacteriofagen zijn bacteriële virussen, die in allerlei vormen kunnen voorkomen. Het verschil met micro-organismen is hun onvermogen onafhankelijk buiten de waard te kunnen leven; het zijn obligate intracellulaire parasieten en hebben een waard (een bacterie) nodig om zich te kunnen vermenigvuldigen.

Hoewel bacteriofagen overwegend waardspecificiteit vertonen tot op zelfs isolaatniveau, komen er zgn. 'broad host range' bacteriofagen voor zoals P1 en Mu. Deze kunnen een brede reeks van bacteriesoorten infecteren en zorgen voor genetische uitwisseling tussen bacteriesoorten (Summers, 2005).

Er zijn reeds specifieke fagen geïsoleerd voor Eca. Deze werden uit gevonden in rioolwater en gebruikt voor typering van stammen (Toth *et al.*, 1999). Deze zijn echter niet geëvalueerd voor bestrijding van Eca. Voor Ecc, werden er specifieke fagen geïsoleerd vanuit kassen (Blom, 2004). Deze werden toegepast voor bestrijding van Ecc in aardappel. In sommige experimenten werd tot 40% reductie van het aantal aangetaste planten verkregen. Fagen konden in principe worden toegepast in kunstmestoplossingen, maar sommige componenten gaven een remming van de faagwerking, zoals Fe-EDTA.

Verder isoleerden Eayre *et al.* (1995) specifieke fagen gericht tegen Ecc en *E. ananas* uit meren in Florida en Texas. In 15% van de watermonsters werden fagen gevonden.

In de literatuur zijn vrijwel geen meldingen van lytische bacteriofagen bij Ech. Er is slechts één publicatie, waarin na een mitomycine-behandeling van een Ech kweek plaques werden gevonden. Met deze behandeling worden aanwezige profagen in *E. chrysanthemi* namelijk geïnduceerd tot lytische fagen. De fagen werden gebruikt voor transductie bij *E. chrysanthemi*, maar niet voor bestrijding (Chatterjee *et al.*, 1980).

De overleving van fagen is afhankelijk van de milieu-omstandigheden en van de aanwezigheid van groeiende bacteriën, hun gastheer. Gegevens over de halfwaardetijd zijn schaars. Na toediening van een commerciële faagsuspensie van Omnilytics (soms via de grond, meestal via bladbespuiting), gericht tegen *Xanthomonas perforans* werden nog na 21 dagen virulente fagen aangetroffen in jonge blaadjes en bloemen van behandelde tomaten. Ook combinatie met bestrijdingsmiddelen of andere reagentia lijken fagen goed te kunnen doorstaan (Jackson *et al.*, 2005).

Fagen kunnen worden ingezet voor bestrijding van *Erwinia*'s op blad en ook tijdens oogst en sortering als er risico's zijn op versmering. Voordelen van de toepassing van bacteriofagen zijn de specificiteit, de relatief eenvoudige productie en de milieuvriendelijkheid (Clark *et al.*, 2006). Verder is de effectiviteit van de bestrijding niet sterk afhankelijk van de concentratie van fagen; bij groeiende gastheercellen zullen de fagen zichzelf vermenigvuldigen.

Een potentieel nadeel van het gebruik van fagen is de inactivatie door het milieu (UV). Afbraak kan worden tegengegaan door bacteriofaagsuspensies te mengen met beschermende substanties zoals skimmed milk (Balogh *et al.*, 2003). De sterke (stam) specificiteit van fagen kan ook een nadeel zijn. Verder is er het risico op resistentievorming.

Resistente *Erwinia* stammen kunnen bestreden worden door het gebruik van H-mutanten. Voor het maken van H-mutanten worden resistente bacteriën aan hoge concentraties fagen blootgesteld om op deze wijze mutant-lyserende fagen te selecteren. Deze strategie wordt o.a. gebruikt bij de bestrijding van *X. campestris* pv. *pelargonii* (Flaherty *et al.*, 2001). Gezien de bestaande commerciële toepassingen, zoals door de firma Omnilytics in de Verenigde Staten, en de toepassing van fagen in de voedingsmiddelenindustrie, wordt verwacht dat de maatschappelijke weerstand voor het gebruik van fagen in de landbouw gering zal zijn. Dagelijks komen mens en dier toch al met vele verschillende bacteriofagen in contact.



## Conclusies

- Voor een effectieve behandeling van knollen en bollen tegen *Erwinia*'s met contactmiddelen is het nodig dat het middel ook de interne infecties bereikt. Er zijn echter geen systemische bactericiden beschikbaar. Behandelingen met contactmiddelen die alleen de buitenkant van plantmateriaal ontsmetten zullen hoogstens leiden tot een reductie de ziekte-incidentie., maar niet tot een eliminatie van het pathogeen.
- Er zijn geen bactericide middelen voor gebruik in de aardappelteelt toegelaten. Voor bloembollen mag alleen formaldehyde gebruikt worden. Dit middel is niet erg effectief tegen *Erwinia*'s. Kandidaatmiddelen moeten dus eerst als gewasbeschermingsmiddel geregistreerd worden. Dit is een belangrijk obstakel voor de introductie van deze middelen.
- Contactmiddelen kunnen worden ingezet bij oogst en sortering, om versmering te voorkomen en ook voor het poten, om inoculum dat weglekt van rotte knollen en bollen te elimineren.
- Van de chemische contactmiddelen lijken vooral natrium metabisulfaat en aluminiumchloride mogelijkheden te bieden voor de ontsmetting
- Van de fysische behandelingen lijken vooral hete vochtige lucht en mogelijk UV interessante opties, omdat met deze behandelingen het plantmateriaal niet teruggedroogd hoeft te worden. Verder hoeft er voor het gebruik van fysische behandelingsmethoden geen dure registratie geregeld te worden.
- Een alternatief voor contactmiddelen zijn middelen die de weerstand in planten bevorderen. Van deze groep stoffen is acetyl salicylzuur de meest interessante kandidaat. Weerstandsbevorderende middelen werken in potentie wel tegen interne infecties. Elicitors bieden vaak minder bescherming dan biociden.
- Biologische bestrijding van *Erwinia*'s blijft ook interessant, omdat antagonistische (met name endofyten) in potentie ook de *Erwinia*'s in het vaatstelsel kunnen bereiken. Net als met chemische middelen is de registratie een belangrijk obstakel naar een praktijktoepassing.



# Literatuur

- Afek, U. & A. Sztejnberg, 1993.  
Temperature and gamma irradiation effects on scoparone, a citrus phytoalexin conferring resistance to *Phytophthora citrophthora*. *Phytopathology* 83, 753-7658.
- Afek, U. & J. Orenstein, 2002.  
Disinfecting potato tubers using steam treatments. *Canadian Journal of Plant Pathology-Revue Canadienne De Phytopathologie* 24, 36-39.
- Afek, U., J. Orenstein & E. Nuriel, 1999.  
Fogging disinfectants inside storage rooms against pathogens of potatoes and sweet potatoes. *Crop Protection* 18, 111-114.
- Aveling, T.A.S., Q. Kritzing & C.F. Malan, 1999.  
Effect of oxifulvic acid supplemented with copper and/or iron on growth of bacterial and fungal plant pathogens. *South African Journal of Botany* 65, 244-246.
- Aysan, Y., A. Karatas & O. Cinar, 2003.  
Biological control of bacterial stem rot caused by *Erwinia chrysanthemi* on tomato. *Crop Protection* 22, 807-811.
- Bartz, J.A., R. Blacharski & R.V. Robideaux, 1997.  
Surfactants can promote the development of bacterial soft rot in potatoes. *Phytopathology* 87, S6.
- Bartz, J.A., 1999.  
Suppression of bacterial soft rot in potato fibers by application of kasugamycin. *American Journal of Potato Research* 76: 127-136.
- Basim, H., O. Yegen & W. Zeller, 2000.  
Antibacterial effect of essential oil of *Thymbra spicata* L. var. *spicata* on some plant pathogenic bacteria. *Journal of Plant Diseases and Protection* 107, 279-284.
- Basim, H., O. Yegen & W. Zeller, 2000.  
Antibacterial effect of essential oil of *Thymbra spicata* L. var. *spicata* on some plant pathogenic bacteria. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* 107, 279-284.
- Davis, K.R., A.G. Darvill, P. Albersheim & A. Dell, 1986.  
Host-Pathogen Interactions. XXIX. Oligogalacturonides released from sodium polypectate by endopolygalacturonic acid lyase are elicitors of phytoalexins in soybean. *Plant Physiology* 80, 568-577.
- Dong, Yi H., H. Wang Lian, L. Xu Jin, B. Zhang Hai, F. Zhang Xi & H. Zhang Lian, 2001.  
Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an N-acyl homoserine lactonase. *Nature London* [print] 14 June, 2001; 411, 813-817.
- Dutton, M.V., N.M. Rigby & A.J. MacDougall, 1997.  
Induced resistance to *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, through the treatment of surface wounds of potato tubers with elicitors. *J. Phytopathology* 145, 163-169.
- El-Hendawy, H.H., I.M. Zeid & Z.K. Mohamed, 1998.  
The biological control of soft rot disease in melon caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* using *Pseudomonas fluorescens*. *Microbiological Research* 153: 55-60.
- Edwards, J., R.C. Mann, N.S. Crump & R.F. De Boer, 2001.  
Evaluation of disinfectants against common potato pathogens on different surface materials in the potato shed. In: *Proceedings of the second Australasian soilborne diseases symposium*. (Porter, I.J. *et al.*, eds.). Lorne, March 2001.
- Ficke, W., K. Skadow, H.J. Müller, K. Naumann & R. Zielke, 1973.  
Die Lebensfähigkeit von *Pectobacterium carotovorum* var. *atrosepticum* (van Hall) Dowson auf Maschinen und Maschinenwerkstoffen. *Arch. Phytopathol. u. Pflanzenschutz* 9, 361-381.
- Gracia Garza, J.A., T.J. Blom, W. Brown & W. Allen, 2002.  
Pre- and post-plant applications of copper-based compounds to control *Erwinia* soft rot of calla lilies. *Canadian Journal of Plant Pathology* [print] September 2002 2002; 24, 274-280.

- Graham, D.C. & M.D. Harrison (eds), 1985.  
Report of the international conference on potato blackleg disease. 95 pages.
- Gorris, L.G.M. & E.J. Smid, 1993.  
Milieuvriendelijke bestrijding en snelle detectie van aardappelbewaarzykten. *Aardappelwereld* 9, 23-25.
- Hervieux, V., E.S. Yaganza, J. Arul & Tweddell, 2002.  
Effect of organic and inorganic salts on the development of *Helminthosporium solani*, the causal agent of potato silver scurf. *Plant Disease* 86, 1014-1018.
- Kim, J.J., S.B. Yehoshua, B. Shapiro, Y. Henis & S. Carmeli, 1991.  
Accumulation of Scoparone in heat-treated lemon fruit inoculated with *Penicillium digitatum* Sacc. *Plant Physiology* 97, 880-885.
- Lee, S.H. & J.S. Cha, 2001.  
Efficient induction of bacterial soft rot using mineral oil. *Phytopathology* 91, S53.
- Mackay, J.M. & P.J. Shipton, 1983.  
Heat treatment of seed tubers for control of potato blackleg (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*) and other diseases. *Plant Pathology* 32, 385-393.
- Pérombelon, M.C.M., E.M. Burnett, J.S. Melvin & S. Black, 1988.  
Preliminary studies on the control of potato blackleg by a hot water treatment of seed tubers. In: Tjamos, E.C. & Beckmann, C.H. (Eds), *Proceedings NATO Advanced Research Workshop on 'Interaction of Genetic and Environmental Factors in the Development of vascular wilt diseases of plants'*, Cape Sunion, Greece, 557-566.
- Robinson, K. & G. Foster, 1987.  
Control of potato blackleg by tuber pasteurization: the determination of time-temperature combinations for the inactivation of pectolytic *Erwinia*. *Potato Research* 30, 121-125.
- Roozen, N.J.M., 1990.  
Onderzoek naar *Erwinia*'s in Schotland. Reisverslag PAGV Lelysatad. Interne mededeling nr. 726.
- Shemesh, Y. & E. Jurkevitch, 2004.  
Plastic phenotypic resistance to predation by *Bdellovibrio* and like organisms in bacterial prey. *Environmental Microbiology* 5, 12-18.
- Tweddell, R.J., R. Boulanger & J. Arul, 2003.  
Effect of chlorine atmospheres on sprouting and development of dry rot and silver scurf on potato tubers. *Postharvest Biology and Technology* 28, 445-454.
- Van der Wolf, J.M., 2004.  
Naar een *Erwinia*-vrije pootgoedteelt: een literatuurstudie. PRI Rapport 82.
- Van Doorn, J. & J.M. van der Wolf, 2005.  
Is *Erwinia* te beheersen? Een literatuurstudie over rotproblemen in diverse gewassen om met deze kennis *Erwinia* in bolgewassen beter te kunnen aanpakken. PPO Sector Bollen. Interne nota PPO nr. 320966.
- Yaganza, E.S., J. Arul & R.J. Tweddell, 2001.  
Postharvest application of organic and inorganic salts for the control of potato tuber soft rot. *Phytopathology* 91, S198 (Abstract).
- Yaganza, E.S., D. Rioux, M. Simard, J. Arul & R.J. Tweddell, 2004.  
Ultrastructural alterations of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* caused by treatment with aluminum chloride and sodium metabisulfite. *Applied and Environmental Microbiology* 70, 6800-6808.
- Van Doorn, J. & E.J.A. Roebroek, 1993.  
*X. campoestris* pv. *hyacinthi*: cause of yellow disease in *Hyacinthus*. In: *Xanthomonas* (eds JG Swings and EL Civerolo. P. 83-90 Chapman and Hall, London.
- Balogh, B., J.B. Jones, M.T. Momol, S.M. Olson, A. Obradovic, P. King, & L.E. Jackson, 2003.  
Improved efficacy of newly formulated bacteriophages for management of bacterial spot on tomato. *Plant Dis* 87, 949-
- Blom, T.J., 2004.  
Website University of Guelph; [www.gov.on.ca/OMAFRA](http://www.gov.on.ca/OMAFRA).
- Chatterjee, A.K., & M. Brown, 1980.  
Generalized transduction in the enterobacterial phytopathogen *Erwinia chrysanthemi*. *J. Bacteriol.* 143, 1444-1449.



- Clark, J.R. & J.B. March, 2006.  
Bacteriophages and biotechnology: vaccines, gene therapy and antibacterials. Trends in Biotechnol. 24, 212-218.
- Eayre, G.G., J.A. Bartz & D.E. Concelmo, 1995.  
Bacteriophages of *Erwinia carotovora* and *Erwinia ananas* isolated from fresh water lakes. Plant Dis 79, 801-804.
- Flaherty, J.E., B.K. Harbaugh, J.B. Jones & G.C. Somodi, 2001.  
H-mutant bacteriophages as a potential biocontrol of bacterial blight of Geranium. HortScience 36, 98.
- Jabrane, A., A. Sabri, P. Compere, P. Jacques, I. Vandenberghe, J. van Beeumen & P. Thonart, 2002.  
Characterization of Serracin P, a phage-tail-like bacteriocin, and its activity against *Erwinia amylovora*, the fire blight pathogen. Appl Environm Microbiol 68, 5704-5710
- Jackson, L.E. & J.B. Jones, 2005.  
Bacteriophage: a viable bacteria control solution. Proc. 1<sup>st</sup> IS on Tomato Diseases, eds. MT Momol, P Ji and JB Jones. Acta Hort. 695 ISHS 2005, 109- Kastelein, P., A. Bouman, A. Mulder, L.J. Turkensteen & J.W.L. van Vuurde, 1996. The effect of green crop lifting on the contamination of seed potato tubers by pathogenic *Erwinia* spp. Potato Research 39, 31-42.
- Kastelein, P., E.G. Schepel, A. Mulder, L.J. Turkensteen & J.W.L. Van Vuurde, 1999.  
Preliminary selection of antagonists of *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica* (Van Hall) Dye for application during green crop lifting of seed potato tubers. Potato Research 42, 161-171.
- Lirio, L.G., M.L. Hermano & M.Q. Fontanilla, 1998.  
Antibacterial activity of medicinal plants from the Philippines. Pharmaceutical Biology 36, 357-359.
- Lopez, M.M., M.J. Lopez-Lopez, R. Marti, J. Zamora, J. Lopez-Sanchez & R. Beltra 2001.  
Effect of acetylsalicylic acid on soft rot produced by *Erwinia carotovora* subsp *carotovora* in potato tubers under greenhouse conditions. Potato Research 44, 197-206.
- Lyon, G.D. & A.C. Newton, 1997.  
Do resistance elicitors offer new opportunities in integrated disease control strategies? Plant Pathology 46, 636-641. 117.
- Manefield, M., M. Welch, M. Givskov, G.P.C. Salmond & S. Kjelleberg, 2001.  
Halogenated furanones from the red alga, *Delisea pulchra*, inhibit carbapenem antibiotic synthesis and exoenzyme virulence factor production in the phytopathogen *Erwinia carotovora*. Fems Microbiology Letters 205, 131-138.
- Molina, L., F. Constantinescu, L. Michel, C. Reimmann, B. Duffy & G. Defago, 2003a.  
Degradation of pathogen quorum-sensing molecules by soil bacteria: a preventive and curative biological control mechanism. Fems Microbiology Ecology 45, 71-81.
- Molina, L., F. Constantinescu, L. Michel, C. Reimmann, B. Duffy & G. Defago, 2003b.  
Degradation of pathogen quorum-sensing molecules by soil bacteria: A preventive and curative biological control mechanism. FEMS Microbiology Ecology [print] 1 July 2003 2003; 45, 71-81.
- Nguyen, A.H., T. Tomita, M. Hirota, T. Sato & Y. Kamio, 1999.  
A simple purification method and morphology and component analyses for carotovoricin Er, a phage-tail-like bacteriocin from the plant pathogen *Erwinia carotovora* Er. Biosci Biotechnol Biochem 63, 1360-1369.
- Olsen, N.L., G.E. Kleinkopf & L.K. Woodell, 2003.  
Efficacy of chlorine dioxide for disease control on stored potatoes. American Journal of Potato Research 80, 387-395.
- Ranganna, B., A.C. Kushalappa & G.S.V. Raghavan, 1997.  
Ultraviolet irradiance to control dry rot and soft rot of potato in storage. Canadian Journal of Plant Pathology- Revue Canadienne De Phytopathologie 19, 30-35.
- Reiter, B., U. Pfeifer, H. Schwab & A. Sessitsch, 2002.  
Response of endophytic bacterial communities in potato plants to infection with *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica*. Applied and Environmental Microbiology 68, 2261-2268.
- Schmiedeknecht, G., H. Bochow & H. Junge, 1998.  
Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. II. Biological control of potato diseases. Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection 105, 376-386.

- Sharga, B.M. & G.D. Lyon, 1998.  
Bacillus subtilis BS 107 as an antagonist of potato blackleg and soft rot bacteria. Canadian Journal of Microbiology 44, 777-783.
- Sturz, A.V., B.R. Christie, B.G. Matheson, W.J. Arsenault & N.A. Buchanan, 1999.  
Endophytic bacterial communities in the periderm of potato tubers and their potential to improve resistance to soil-borne plant pathogens. Plant Pathology 48, 360-369.
- Summers, W.C., 2005.  
History of phage research and phage therapy. In: Phages, their role in bacterial pathogenesis and biotechnology. 2005 MK Waldor, DI Friedman, and SL Adhya (eds). ASM Press, Washington D.C. Chapter 1, 3-17.
- Toth, I.K., V. Mulholland, V. Cooper, S. Bentley, Y.L. Shih, M.C.M. Perombelon & G.P.C. Salmond, 1997.  
Generalized transduction in the potato blackleg pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* by bacteriophage fM1. Microbiology (Reading) 143, 2433-2438.
- Toth, I.K., Y. Bertheau, L.J. Hyman, L. Laplaze, M.M. Lopez, J. McNicol, F. Niepold, P. Persson, G.P.C. Salmond, A. Sletten, J.M. van der Wolf & M.C.M. Perombelon, 1999.  
Evaluation of phenotypic and molecular typing techniques for determining diversity in *Erwinia carotovora* sbspp. *atroseptica*. J Appl Microbiol 87, 770-781.
- Tovkach, F.I., 1998a.  
Biological properties and classification of *Erwinia carotovora* bacteriocins. Microbiology 67, 636-642.
- Tovkach, F.I., 1998b.  
Relationship between the lytic activity of macromolecular carotovoricins and bacteriocin sensitivity of producer strains of *Erwinia carotovora*. Microbiology 67, 643-648.
- Tsai, L.S., C.C. Huxsoll & G. Robertson, 2001.  
Prevention of potato spoilage during storage by chlorine dioxide. Journal of Food Science 66, 472-477.
- Uroz, S., C. D' Angelo Picard, A. Carlier, M. Elasri, C. Sicot, A. Petit, P. Oger, D. Faure & Y. Dessaux Y, 2003.  
Novel bacteria degrading N-acylhomoserine lactones and their use as quenchers of quorum-sensing-regulated functions of plant-pathogenic bacteria. Microbiology Reading [print] August 2003, 149, 1981-1989.
- Van Vuurde, J.W.L. & Ph.M. de Vries, 1994.  
Population dynamics of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on the surface of intact and wounded seed potatoes during storage. Journal of Applied Bacteriology 76, 568-575.
- Vidaver, A.K., 1976.  
Prospects for control of phytopathogenic bacteria by bacteriophages and bacteriocins. Annual Rev. Phytopathol. 14, 451-465.