

Ontwikkeling biotoets voor de detectie van het quarantaineaaltje *Meloidogyne chitwoodi*

Proefuitvoering in de nematodentuin op PPO AGV, 2010

Auteurs: **A.W.W. van Gastel-Topper, J.H.M. Visser en G.W. Korthals**

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving

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. maart 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

SAMENVATTING	4
1 INLEIDING	5
1.1 Probleemstelling	5
1.2 Doelstelling	5
2 UITVOERING	6
2.1 Proefuitvoering biotoets	6
2.2 Knolaantasting	7
2.3 Statistische verwerking	8
3 RESULTATEN	9
3.1 Gewasontwikkeling biotoets	9
3.2 Vermeerdering <i>M. chitwoodi</i> biotoets	9
3.3 Knolopbrengst biotoets	10
3.4 Symptoomontwikkeling biotoets	10
4 CONCLUSIE EN DISCUSSIE	14
BIJLAGEN	16
Bijlage 1: Overzicht monsternamen grond	16
Bijlage 2: Overzicht nematodentuin	17
Bijlage 3: Besmetting biotoets van diverse juvenielen in 100 ml grond	18
Bijlage 4: Soort verhouding biotoets van diverse juvenielen in 100 ml grond	19
Bijlage 5: Knolopbrengst biotoets	20

SAMENVATTING

Het maïswortelknobbelaaltje *Meloidogyne chitwoodi* komt steeds meer voor en vormt een grote bedreiging voor de akkerbouw en in het bijzonder de pootgoedsector. Omdat dit aaltje een zeer grillig verloop heeft in besmettingsniveaus en een zeer lage besmetting al schadelijk is voor een pootgoedteelt (nultolerantie) is detectie voorafgaand aan een aardappelteelt cruciaal. Om die reden is er vanuit de praktijk een grote behoefte aan een betrouwbare toets voor *Meloidogyne chitwoodi*. Door op een andere wijze dan in een bouwplan een aardappelteelt uit te voeren, in kuipen of in potten in de kas met grond van beoogt pootgoedperceel, wordt de gewenste informatie ontvangen en geen risico genomen met een aardappelteelt. Deze toetsmethode wordt biotoets genoemd.

De doelstelling is het ontwikkelen van een biotoets waarmee lage besmettingen van het quarantaine aaltje *Meloidogyne chitwoodi* voorafgaand aan de pootaardappelteelt of ander vermeerderingsmateriaal betrouwbaar kunnen worden gedetecteerd, in de grond of door middel van symptomen op een gevoelig gewas, zoals aardappel. Deze toetsmethode wordt ontwikkeld voor gebruik door telers op hun bedrijf. Voor de biotoets is aardappel als toets gewas gebruikt. Door na het groeiseizoen de aardappelen te beoordelen kan door de mogelijk ontwikkelde symptomen (op de knol) inzicht worden verkregen in de aanwezigheid van *Meloidogyne chitwoodi* en/of bemonstering van de grond.

In 2010 is in opdracht van Productschap Akkerbouw de biotoets uitgevoerd in cementkuipen in de nematodentuin op PPO-AGV. Voor de biotoets heeft monstername van grond plaatsgevonden op een proefveld van proeflocatie PPO Vredepeel.

Voor bepaling van de beginbesmetting (Pi) heeft uit iedere cementkuip een monstername van grond plaatsgevonden. In de kuipen is het gevoelige aardappelras Asterix gepoot. Gedurende de teelt is de gewasontwikkeling beoordeeld. Na de oogst van de aardappelen zijn het aantal knollen geteld en zijn alle knollen gewogen. De aardappelen zijn beoordeeld op symptomen van *Meloidogyne chitwoodi* aantasting en ingedeeld in vijf klassen. Op basis van deze classificatie wordt de knolaantasting berekend. Na de oogst van de aardappelen is er van elke kuip een grondmonster gestoken voor bepaling van de eindbesmetting (Pf).

Na de teelt van de voor *Meloidogyne* spp. goede waardplant aardappel bleek dat in alle kuipen een vermeerdering van *Meloidogyne* spp. heeft plaats gevonden. De vermeerderingsfactor varieerde van 48 (bij de hoogste Pi) tot ruim 8200 (bij de laagste Pi). Bij de determinatie tot op soort is van *Meloidogyne* spp. in alle monsters bij de beginbesmetting alleen *Meloidogyne chitwoodi* aangetoond.

Er heeft bij alle kuipen een goede symptoomexpressie plaats gevonden op de aardappelen. De knolaantasting binnen de biotoets verloopt van lichte aantasting (KAI 6.3) tot matige tot zware aantasting (KAI 23.1) op de aardappelen. De KAI index varieert van 0 (geen aantasting) tot 100 (zeer zwaar aangetast).

Bij de determinatie tot op soort is van *Meloidogyne* spp. alleen *Meloidogyne chitwoodi* aangetoond bij de eindbesmetting. In de kuipen was de knolopbrengst goed. De netto opbrengst lijkt nauwelijks relatie te hebben met de begin- en eindbesmetting. De biotoets heeft een groeiseizoen van 25 weken gehad. Bij alle kuipen is de eindbesmetting hoger dan de beginbesmetting en daardoor is de detectiekans sterk toegenomen.

De biotoets geeft bij een zeer lage beginbesmetting ($P_i < 5$) een zeer hoge eindbesmetting en daarmee een hoge detectiekans. Zelfs bij een zeer lage beginbesmetting van onder de detectiegrens is een eindbesmetting van 8000 juvenielen / 100 ml waargenomen.

1 INLEIDING

Het project “Opsporingsmethode *Meloidogyne* in pootaardappelen” bestaat uit drie onderdelen. In dit rapport worden de resultaten weergegeven van onderdeel B “Ontwikkelen van een biotoets voor telers”. Het onderzoek is uitgevoerd met als doel om lage besmettingen van het quarantaine aaltje *Meloidogyne chitwoodi* voorafgaand aan de teelt van uitgangsmateriaal (pootgoedteelt) betrouwbaarder te kunnen detecteren. De onderdelen A en C omvatten de volgende onderwerpen: onderdeel A “Theoretische onderbouwing voor monstergrootte en partijcontrole” (uitgevoerd door dhr. T. Been, PRI) en onderdeel C “Relatie grondbemonstering en partijbesmetting *Meloidogyne*” (uitgevoerd door de NAK).

1.1 Probleemstelling

Het maïswortelknobbelaaltje *Meloidogyne chitwoodi* komt steeds meer voor en vormt een grote bedreiging voor de akkerbouw en in het bijzonder de pootgoedsector. Omdat dit aaltje een zeer grillig verloop heeft in besmettingsniveaus en een zeer lage besmetting al schadelijk is voor een pootgoedteelt (nultolerantie) is detectie voorafgaand aan een aardappelteelt cruciaal. Om die reden is er vanuit de praktijk een grote behoefte aan een betrouwbare (bio)toets voor *Meloidogyne chitwoodi*.

Monsternamen op *M. chitwoodi* voorafgaand aan de pootgoedteelt geeft bij een voorvrucht die een slechte waardplant is een zeer lage detectiekans. De aardappel is een goede waardplant en gevoelig voor *M. chitwoodi*. Daarom kan monsternamen na een aardappelteelt een hogere detectiekans geven van de *M. chitwoodi* besmetting in de grond. Door op een andere wijze dan in een bouwplan een aardappelteelt uit te voeren, in kuipen of in de kas met grond van een beoogd pootgoedperceel, wordt de gewenste informatie verkregen en geen risico genomen met een aardappelteelt. Deze toetsmethode wordt biotoets genoemd.

Deze biotoets kan mogelijk gevoeliger zijn en eerder aantonen of er risico's zijn voor een pootgoedteelt dan de gangbare detectiemethoden. Doordat een grotere hoeveelheid grond wordt getoetst en er nog een vermeerdering plaatsvindt op een goede waardplant (besmetting neemt toe en daarmee de detectiekans) is deze methode mogelijk gevoeliger. In geval van een positieve uitslag kan de teler op tijd zijn bouwplan veranderen of andere maatregelen treffen en zodoende de negatieve gevolgen voor de bedrijfsvoering beperkt houden.

In 2010 is in opdracht van Productschap Akkerbouw het ontwikkelen van de biotoets uitgevoerd in cementkuipen in de nematodentuin op PPO-AGV. De grond voor de biotoets is afkomstig van 14 verschillende veldjes van een proefveld van proeflocatie PPO Vredepeel. Op deze veldjes zijn in het teeltjaar 2009 twaalf verschillende groenbemesters aangelegd.

1.2 Doelstelling biotoets

Het ontwikkelen van een biotoets waarmee lage besmettingen van het quarantaine aaltje *M. chitwoodi* voorafgaand aan de aardappelteelt betrouwbaar kunnen worden gedetecteerd. Deze toetsmethode wordt ontwikkeld voor gebruik door telers op hun bedrijf en/of in de kas.

2 UITVOERING

2.1 Proefuitvoering biotoets

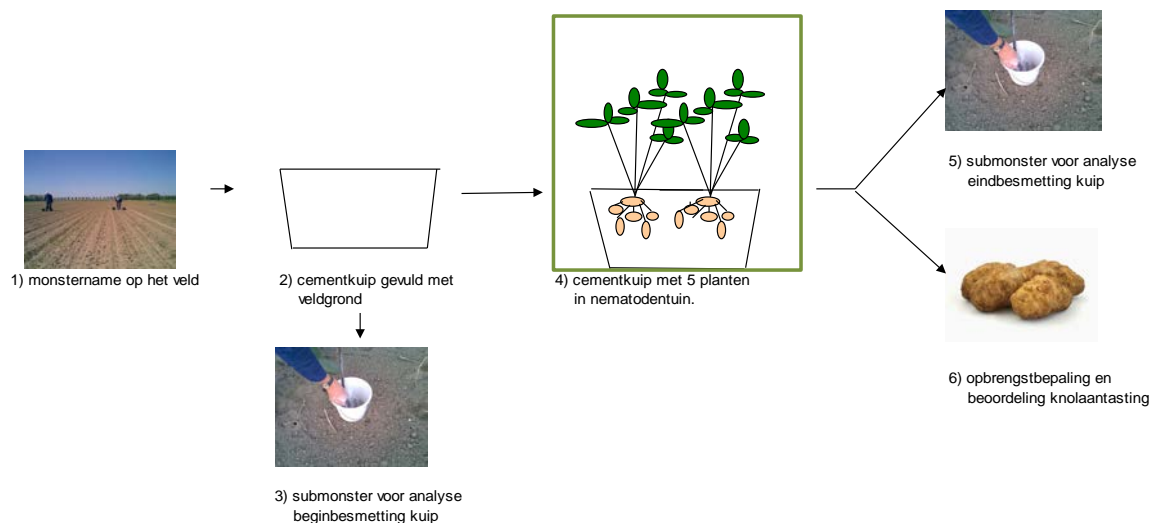
Op een proefveld van proeflocatie PPO Vredepeel zijn 14 veldjes van 6 x 6 meter gekozen met voornamelijk lage tot zeer lage *M. chitwoodi* besmettingen. Uit de geselecteerde veldjes is een raster uitgemeten van 4,5 x 4,5 meter, een netto oppervlakte van 20,25 m². In dit raster heeft de bemonstering van grond plaats gevonden. Per veldje zijn 400 steken genomen, 20 steken in de lengte en 20 steken in de breedte. De monsternamen zijn uitgevoerd op 4 mei 2010 en zijn schematisch weergegeven in Bijlage 1: *Overzicht monsternamen grond*. De cementkuipen hebben een inhoud van 65 liter. In de bodem van de kuipen zijn voorafgaand 4 gaten geboord. De vochtige grond is gestoken met een 2,9 cm grondboor, 0-25 cm diep, en verzameld in emmers. Vervolgens zijn de emmers overgegoten in de cementkuipen. De cementkuipen zijn dezelfde dag vervoerd naar PPO-AGV Lelystad. Een dag later is er met een landbouwboor van 1,2 cm, 0-25 cm diep, een grondmonster gestoken uit alle kuipen voor bepaling van de beginbesmetting (Pi). Het grondmonster van ca. 1 kg grond is verdeeld over de hele kuip gestoken (50 steken). In figuur 1: *Overzicht uitvoering biotoets* is schematisch weergegeven op welk moment de monsternamen van grond hebben plaats gevonden. Uit het grondmonster is een sub monster van 100 ml grond in het laboratorium gespoeld en het organisch materiaal is vier weken geïncubeerd. Hierdoor zijn zowel het aantal vrij in de grond levende juvenielen als het aantal levende eieren bepaald. Per kuip zijn de juvenielen op soort gedetermineerd.

Na de monsternamen van de beginbesmetting zijn de kuipen in de nematodentuin op PPO-AGV geplaatst (zie foto 1). In de nematodentuin zijn gaten gegraven ter grootte van een cementkuip. Daarover is worteldoek geplaatst en in de gaten is een cementkuip zonder bodem geplaatst, een zogenaamde buitenkuip. Onderin de buitenkuip is een laagje grind geplaatst en daarna is de kuip met toets grond in de buitenkuip geplaatst, zodat de rand van de kuip op maaiveld hoogte staat. De nematodentuin is overspannen met windbreekgaas. Op 6 mei 2010 zijn per cementkuip 5 aardappelknollen (ras Asterix) gepoot in de maatsortering 35-50 mm. Het pootgoed was gespoeld en behandeld met Moncereen vloeibaar. Asterix is een ras dat gevoelig is voor *M. chitwoodi* en is daarom gekozen als toetsras.

Over de cementkuipen is een laagje van ca. 1 cm kleikorrels gestrooid om indrogen te voorkomen en stuiven van grond tegen te gaan. Tijdens het groeiseizoen is de grondtemperatuur in de bovenste laag van de kuip gemeten met een datalogger. Vanaf eind mei, na het sluiten van het gewas, is er begonnen met de gewasverzorging, zoals het spuiten tegen Phytophthora en bladluizen. De bespuitingen werden uitgevoerd met een drukspuit volgens de gangbare praktijk. Gedurende het groeiseizoen is er een gewasbeoordeling uitgevoerd, waarbij de gemiddelde planthoogte is waargenomen (zie hoofdstuk 3.1).

Op 5 oktober zijn de aardappelen doodgespoten. Op 19 oktober zijn de kuipen uit de nematodentuin gehaald en 26 oktober zijn de aardappelen geoogst. Per kuip zijn de aardappelen geteld en gewogen. Daarna heeft er op 3 november een na-bemonstering van de grond plaats gevonden. Van alle kuipen is ca. 1 kg grond na-bemonsterd voor de bepaling van de eindbesmetting (Pf). Dit grondmonster is op dezelfde wijze verwerkt als de beginbesmetting. Van een aantal geselecteerde kuipen zijn de juvenielen op soort gedetermineerd.

De aardappelen zijn op 13 december beoordeeld op symptomen van *M. chitwoodi* aantasting (zie hoofdstuk 2.2).



Figuur 2. Overzicht uitvoering biotoets

Op onderstaande foto zijn de kuipen met aardappelen te zien in de nematodentuin op PPO- AGV.



Foto 1. Biotoets in de nematodentuin, juli 2010

2.2 Knolaantasting

Van de biotoets zijn op 26 oktober 2010 de aardappelen geoogst. Op 13 december is per kuip een random monster van 30 aardappelknollen beoordeeld op knolaantasting (KAI). Het random monster, bestond uit aardappelknollen met een knol maat boven de 35 mm. De aardappelen zijn beoordeeld op symptomen van *M. chitwoodi*-aantasting en ingedeeld in vijf klassen (tabel 1).

klasse	symptomen (uitwendig)	ei pakketten onder de schil
0	geen knobbels	nee
1	geen knobbels	ja
2	< 30 % knoloppervlakte aangetast	ja
3	30 - 100 % knoloppervlakte aangetast	ja
4	zwaar misvormd	ja

Tabel 1: Klasseindeling voor beoordeling van knolaantasting door *Meloidogyne*-soorten bij aardappel.

Op basis van deze classificatie is volgens onderstaande formules de **KnolAantastingsIndex** (KAI) berekend, waarbij n_0 , n_1 , n_2 , n_3 en n_4 het aantal knollen is in klasse 0, 1, 2, 3 en 4 en n_{01} het aantal knollen in klassen 0 en 1 samen.

$$\text{KAI} = \frac{0 * n_{01} + 10 * n_2 + 33 * n_3 + 100 * n_4}{n_0 + n_1 + n_2 + n_3 + n_4}$$

$$\text{KAI - inwendig} = \frac{0 * n_0 + 3.3 * n_1 + 10 * n_2 + 33 * n_3 + 100 * n_4}{n_0 + n_1 + n_2 + n_3 + n_4}$$

Bij de KAI-formule wordt geen rekenkundig onderscheid gemaakt tussen klasse 0 en 1. Beide klassen zijn uitwendig symptoom loos, maar verschillen onderling door symptomen (ei pakketten) onder de schil. Bij de KAI-inwendig wordt tussen klasse 0 en 1 wel onderscheid gemaakt door de symptoom loze aardappelen te schillen. Dit is gedaan bij de aardappelen waarbij uitwendig geen symptomen te zien waren. Door de aardappelen te schillen is een eventuele inwendige besmetting met ei pakketten van *M. chitwoodi* zichtbaar geworden wat belangrijk is voor pootgoed. Door klasse 1 mee te wegen in de berekening wordt de inwendige besmetting zichtbaar en vertaald in KAI-inwendig.

2.3 Statistische verwerking

Voor de statistische verwerking van de aaltjesbemonstering is de vermeerderingsfactor voor *Meloidogyne chitwoodi* (P_f/P_i) berekend als $(P_f + 1)/(P_i + 1)$. Doordat bij kuipnummer 10 de beginbesmetting 0 larven / 100 ml grond was, zou de vermeerderingsfactor niet te berekenen zijn, met de berekening +1 kan er wel een waarde berekend worden.

De gegevens voor de gewasbeoordeling, opbrengst gegevens en knolaantasting zijn absolute waarden.

Ten aanzien van figuur 2; 'correlatie begin- en eindbesmetting met de knolaantastingsindex' zijn de resultaten van de aaltjesbemonstering met 10log getransformeerd om een normale verdeling van de data te benaderen. Vervolgens is de data geanalyseerd met lineaire regressie (Genstat 13). In deze analyse is kuipnummer 9 (veldnummer 23) eruit gelaten, omdat externe omstandigheden deze kuip zodanig hebben beïnvloed dat deze als uitbijter kan worden beschouwd.

3 RESULTATEN

3.1 Gewasontwikkeling biotoets

Nadat de aardappelen op 6 mei waren gepoot, kwamen de eerste aardappelen half mei boven. Eind mei waren de planten zover ontwikkeld dat deze elkaar raakten, met uitzondering van kuipnummer 9. De aardappelen kwamen in deze kuip nog niet boven en de grond was erg vochtig. Dit is mogelijk ontstaan door een lekkende koppeling van de waterleiding en deze kuip is daarna verplaatst naar een andere plek binnen de nematodentuin. Deze kuip wordt verder in de resultaten als uitbijter beschouwd en verder buiten de analyses gelaten. Een overzicht van de kuipen (als veldnummer!) is weergegeven in bijlage 2: *Overzicht nematodentuin*.

Een ruime week later zijn de planten in kuipnummer 9 opgekomen. Half juni werd er lichte schade geconstateerd door een slak, waarna er slakkenkorrels zijn gestrooid. Vanaf half juni is er, indien noodzakelijk, handmatig water toegediend. Het beoordelen van de gewasontwikkeling van de biotoets heeft plaatsgevonden in week 24 en 27. De plantlengte van de 5 planten in de kuipen is gemeten en daarvan is het gemiddelde berekend. De verschillen in groei waren zo klein dat deze niet in een figuur zijn weergegeven. Op 14 juni (week 24) was de gemiddelde planthoogte 39 cm en was het minimum aan planthoogte 13.5 cm (kuip 23) en de maximale planthoogte 45 cm. Op 6 juli (week 27) was de gemiddelde planthoogte 64 cm en was het minimum aan planthoogte 60 cm en de maximale planthoogte 67 cm. De planten zijn op 27 juli (week 30) nog een keer gemeten, maar door het strijken van de planten (stengels zijn gaan liggen) was de planthoogte niet betrouwbaar vast te stellen en raakten de planten beschadigd, waardoor dit niet verder is gemeten. De kleur van het gewas is gedurende groeiperiode ook beoordeeld. De kleur was goed en verschilde nauwelijks, zowel onderling als in de tijd dat het gewas zich verder ontwikkelde.

3.2 Vermeerdering *M. chitwoodi* biotoets

In tabel 2 wordt de beginbesmetting, de eindbesmetting en de vermeerderingsfactor van *Meloidogyne chitwoodi* weergegeven.

De bepaling van de beginbesmetting (Pi) heeft een dag na de monsternamen van grond plaatsgevonden. Bij één kuip is een beginbesmetting van 0 (onder detectiegrens) waargenomen. Bij de andere kuipen was de beginbesmetting enkele juvenielen (3-15) *Meloidogyne chitwoodi* per 100 ml grond. Bij drie kuipen is de beginbesmetting tientallen juvenielen (27, 68 en 69) *Meloidogyne chitwoodi* per 100 ml grond en bij één kuip was de beginbesmetting enkele honderdtallen (255) *Meloidogyne chitwoodi* per 100 ml grond. De beginbesmettingen zijn, conform de opzet van de proef, relatief laag met enkele hogere dichtheden als controle. Bij alle grondmonsters is in de determinatiemonsters *Meloidogyne chitwoodi* aangetoond.

Na de oogst van de aardappelen is van elke cementkuip de eindbesmetting (Pf) bepaald. Uit tabel 2 blijkt dat bij alle kuipen een vermeerdering van *Meloidogyne chitwoodi* heeft plaatsgevonden. Van vier monsters zijn de plantparasitaire aaltjes op soort gedetermineerd. In de determinatiemonsters is bij de eindbesmetting alleen *Meloidogyne chitwoodi* aangetoond.

Kuip-nummer	Veld-nummer	Pi (aantal larven / 100 ml grond), monstername 5 mei 2010	Pf (aantal larven / 100 ml grond), monstername 3 november 2010	Vermeerderingsfactor <i>Meloidogyne</i> spp (Pf/Pi)
1	15	27	11058	395
2	16	9	12865	1287
3	17	255	12410	48
4	18	14	7287	486
5	19	15	9575	598
6	20	3	2725	682
7	21	6	13426	1918
8	22	68	6537	95
10	24	0	8250	8251
11	25	9	1555	156
12	26	5	8295	1383
13	27	3	7085	1772
14	28	69	5858	84

Tabel 2. **Beginbesmetting, eindbesmetting, vermeerderingsfactor voor *Meloidogyne chitwoodi*, biotoets 2010.**

In de tabel in bijlage 4 zijn de aantallen juvenielen weergegeven van de overige plant parasitaire aaltjes, zoals *Pratylenchus* en overige plant parasitaire aaltjes. Voor *Pratylenchidae* is de soort *P. crenatus* en een enkel aaltje *P. neglectus*, *P. penetrans* en *P. thornei* gedetermineerd. Voor *P. crenatus* is bekend dat dit aaltje weinig vermeerderd op aardappel.

Zowel bij de beginbesmetting als bij de eindbesmetting is in de kuipen geen besmetting waargenomen van Heterodera en Trichodoriden. De aantallen juvenielen zijn vastgesteld in de bemonstering van 5 mei (beginbesmetting) en van 3 november (eindbesmetting). Bij alle kuipen heeft een goede vermeerdering plaats gevonden. De vermeerderingsfactor varieerde van 48 (bij object met hoogste Pi) tot ruim 8200 (bij object met laagste Pi).

3.3 Knolopbrengst biotoets

In de tabel in bijlage 5 'Knolopbrengst Biotoets' zijn het aantal aardappelen en het gewicht van de aardappelen uit de kuipen weergegeven. Voor de bepaling van de opbrengst is een verdeling gemaakt voor de knol maat 0-35 mm en de knol maat boven de 35 mm. De keuze is gemaakt vanwege de beoordeling van de aardappelen (> 35 mm).

- Er zijn verschillen in aantal knollen per maatverdeling, maar het totaalgewicht van alle kuipen ligt redelijk dicht bij elkaar.
- Er is geen invloed van *P. crenatus* op de knolopbrengst. *P. crenatus* is niet schadelijk voor het gewas aardappel.

3.4 Symptoomontwikkeling biotoets

De mate van knolaantasting is bepaald voor een sub monster van 30 aardappelen. Dit sub monster is random genomen uit de totale knolopbrengst groter dan 35 mm per kuip. De aardappelen zijn beoordeeld op symptomen van *M. chitwoodi*. Met deze gegevens is de

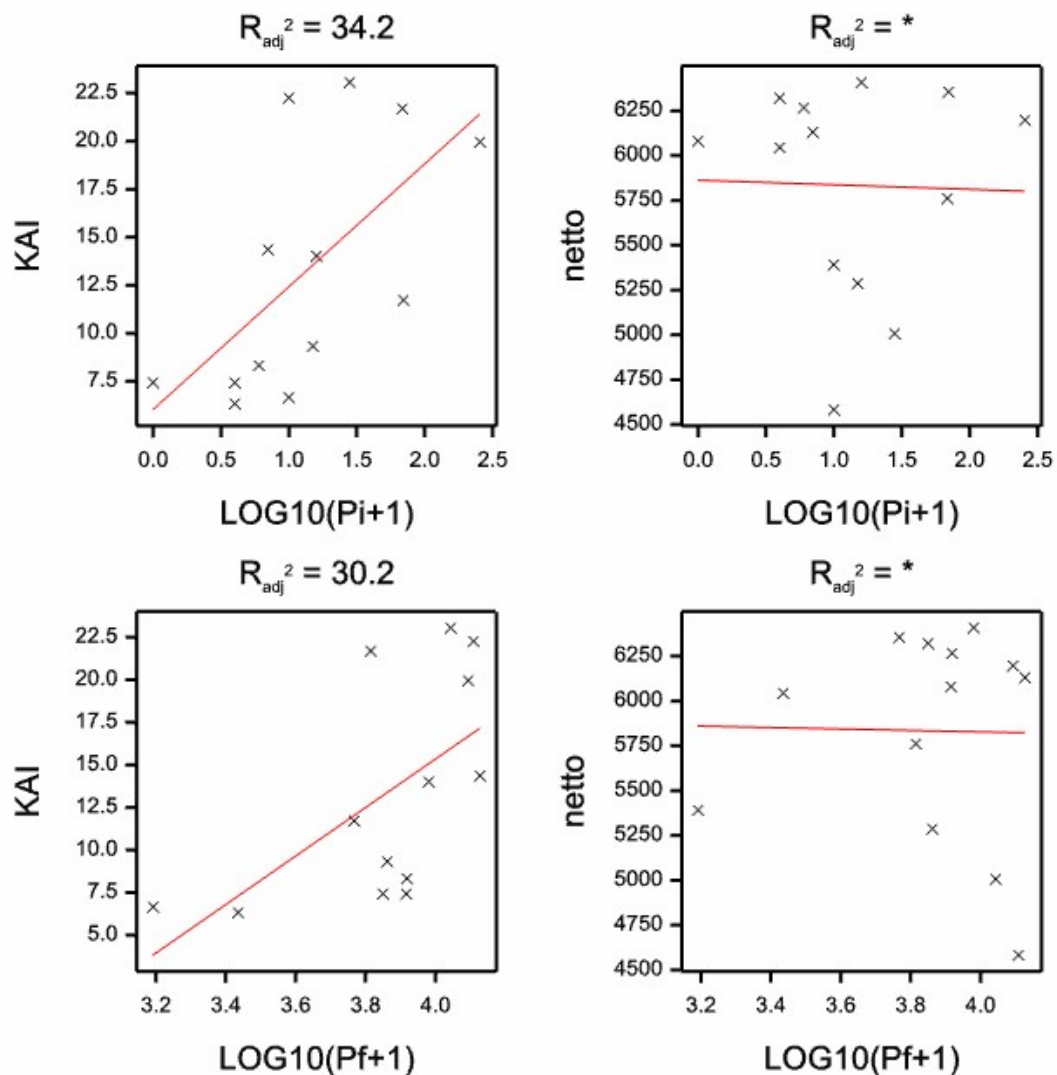
knolaantastingsindex (KAI) berekend. De index loopt van 0 (geen aantasting) tot 100 (zeer zwaar aangetast).

In tabel 3 is per kuip de knolaantasting (KAI) weergegeven.

Hoe hoger de knolaantastingsindex, hoe beter de symptomen op de aardappel zichtbaar zijn. De knolaantasting binnen de biotoets verloopt van lichte aantasting (KAI 6.3) tot zware aantasting (KAI 23.1) op de aardappelen. Uit onderstaande tabel blijkt dat de knolaantasting van de aardappelen voor de verschillende objecten redelijk zwaar is en daarmee duidelijk zichtbaar is, ondanks dat er in sommige kuipen redelijk lage begin besmettingen zaten.

Kuip-nummer	Veld-nummer	Resultaten KAI Biotoets 2010	
		KAI	KAI-inw
1	15	23.1	23.2
2	16	22.3	22.3
3	17	20.0	20.0
4	18	9.3	9.6
5	19	14.0	14.4
6	20	6.3	7.2
7	21	14.4	14.7
8	22	21.7	21.9
10	24	7.4	8.4
11	25	6.7	7.5
12	26	8.3	8.9
13	27	7.4	8.1
14	28	11.7	12.0

Tabel 3. Knolaantasting door *M. chitwoodi* per kuip, biotoets 2010.



* = *het model heeft in deze figuur geen voorspellende waarde*

Figuur 2. *Percentage verklaarde variantie, (R_{adj}^2), van de knolaantastingsindex en de netto knolopbrengst met begin- en eindbesmetting als verklarende variable. De resultaten van de aaltjesbemonstering zijn met 10log getransformeerd om een normale verdeling van de data te benaderen en vervolgens geanalyseerd met lineaire regressie (Genstat 13). Uit deze analyse is kuipnr 9, veldnr 23 verwijderd. Externe omstandigheden hebben deze kuip dermate beïnvloed dat deze als uitbijter wordt beschouwd.*

Om de relaties in te schatten tussen begin- en einddichtheden en knolsymptomen of knolopbrengst hebben we de data in figuur 2 met regressie technieken verwerkt.

De figuur linksboven geeft de voorspellende waarde weer van de beginbesmetting (Pi) (x-as) voor de knolaantastingsindex (KAI) (y-as). Hieruit valt af te lezen dat bij een toename van het aantal juvenielen bij de beginbesmetting, de knolaantasting betrouwbaar toeneemt ($P < 0.05$). De regressielijn = $6.03 + 6.39 \cdot x$, $R_{adj}^2 = 34.2\%$. Deze lijn laat zien dat er grote spreiding is tussen de kuipen.

De figuur linksonder geeft de voorspellende waarde weer van de eindbesmetting (Pf) (x-as) met de knolaantastingsindex (KAI) (y-as). Hieruit valt af te lezen dat bij een toename van het aantal juvenielen bij de eindbesmetting, de knolaantasting betrouwbaar toeneemt ($P < 0.05$), vergelijking lijn = $-41.6 + 14.25 * x$, $R_{adj}^2 = 30.2\%$. Hieruit blijkt dat de eindbesmetting iets minder goed gecorreleerd is aan de knolaantasting dan de beginbesmetting. Naarmate het aantal juvenielen bij de eindbesmetting toeneemt, wordt de spreiding ook groter.

De figuur rechtsboven geeft de voorspellende waarde weer van beginbesmetting (Pi) (x-as) voor de netto opbrengst (y-as) in kilogrammen. Er is een grote spreiding tussen de kuipen en de regressielijn wijkt nauwelijks af van een horizontale lijn. Er is geen voorspellende waarde ($R_{adj}^2 = *$).

De figuur rechtsonder geeft de voorspellende waarde weer van de eindbesmetting (Pf) (x-as) voor de netto opbrengst (y-as) in kilogrammen. De figuur laat zien dat er een grote spreiding is tussen de kuipen bij voornamelijk de kuipen met een hogere eindbesmetting en de regressie lijn wijkt nauwelijks af van een horizontale lijn. Er is geen voorspellende waarde ($R_{adj}^2 = *$) en er is geen betrouwbaar effect van Pi of Pf op de opbrengst.

4 CONCLUSIE EN DISCUSSIE

De biotoets met het quarantaine aaltje *Meloidogyne chitwoodi* op PPO-AGV is in 2010 goed verlopen. Het aardappelras Asterix heeft bij alle kuipen een volwaardig gewas geleverd. Geen van de 14 kuipen is tijdens de groeiperiode komen te vervallen als gevolg van onvoldoende gewasontwikkeling.

De biotoets is uitgevoerd in de nematodentuin op PPO-AGV te Lelystad in cementkuipen. Na de teelt van de voor *Meloidogyne* spp. goede waardplant aardappel bleek dat in alle kuipen *Meloidogyne* spp. is aangetoond. Bij alle kuipen heeft er vermeerdering van *Meloidogyne* spp. plaats gevonden. De vermeerderingsfactor varieerde van 48 (bij de hoogste Pi) tot ruim 8200 (bij de laagste Pi).

Bij de determinatie tot op soort is van *Meloidogyne* spp. in alle monsters bij de beginbesmetting alleen *Meloidogyne chitwoodi* aangetoond.

Bij de beoordeling van de aardappelen op knolaantasting door *Meloidogyne chitwoodi* was er een knolaantastingsindex berekend. Er heeft bij alle kuipen een goede symptoomexpressie plaats gevonden op de aardappelen. De knolaantasting binnen de biotoets verloopt van lichte aantasting (KAI 6.3) tot matige tot zware aantasting (KAI 23.1) op de aardappelen. Bij de determinatie tot op soort is van *Meloidogyne* spp. alleen *Meloidogyne chitwoodi* aangetoond bij de eindbesmetting. In de kuipen was de knolopbrengst goed. De netto opbrengst lijkt nauwelijks relatie te hebben met de begin- en eindbesmetting. De biotoets heeft een groeiseizoen van 25 weken gehad. Bij alle kuipen is de eindbesmetting hoger dan de beginbesmetting en daardoor is de detectiekans sterk toegenomen.

Binnen dit project heeft in 2008 en 2009 het ontwikkelen van een biotoets plaats gevonden in kuipen bij telers en in potten in de kas op PPO-AGV. Door deze twee methoden te vergelijken is onderzocht wat optimale omstandigheden voor invloed hebben op de knolaantasting ten opzichte van de praktijkomstandigheden bij een teler. Uit deze onderzoek jaren kan geconcludeerd worden dat de biotoets een hoge vermeerdering en detectie geeft van *Meloidogyne* spp. Doordat in deze jaren de grond is getoetst afkomstig van een besmet perceel geeft detectie alleen in knollen soms een onbetrouwbaar resultaat van wege het niet tonen van een mengbesmetting. Daarvoor zou aanvullende analyse van grond een goede aanvulling zijn. De biotoets in potten in de kas levert een beter resultaat dan de biotoets in kuipen bij telers, doordat in de kas een langer groeiseizoen kan worden gerealiseerd bij een hogere temperatuur.

In het onderzoek jaar 2010 is gekozen voor de proefuitvoering in de nematodentuin. De klimatologische omstandigheden in de nematodentuin zitten tussen de praktijk (op het erf bij een teler) en de kas (PPO-AGV) in. Detectie van het wortelknobbelaaltje *M. chitwoodi* op de wijze van een biotoets levert ten op zichte van een standaard grondbemonstering een hogere detectie kans.

In het onderzoek naar de ontwikkeling van een biotoets is gebleken dat de hoge detectiekans van de biotoets mogelijk het gevolg is van een aantal factoren. In de kuipen is sprake van een hogere wortelintensiteit, een hogere bodemtemperatuur, een langer groeiseizoen en vochtigere omstandigheden. Al deze factoren hebben een positieve invloed op de vermeerdering van *M. chitwoodi*.

Uit het onderzoek van de periode 2008-2010 is gebleken dat voor een teler de biotoets in cementkuipen, onder praktijkomstandigheden (op het erf), goed uit te voeren is en een hoge detectiekans heeft.

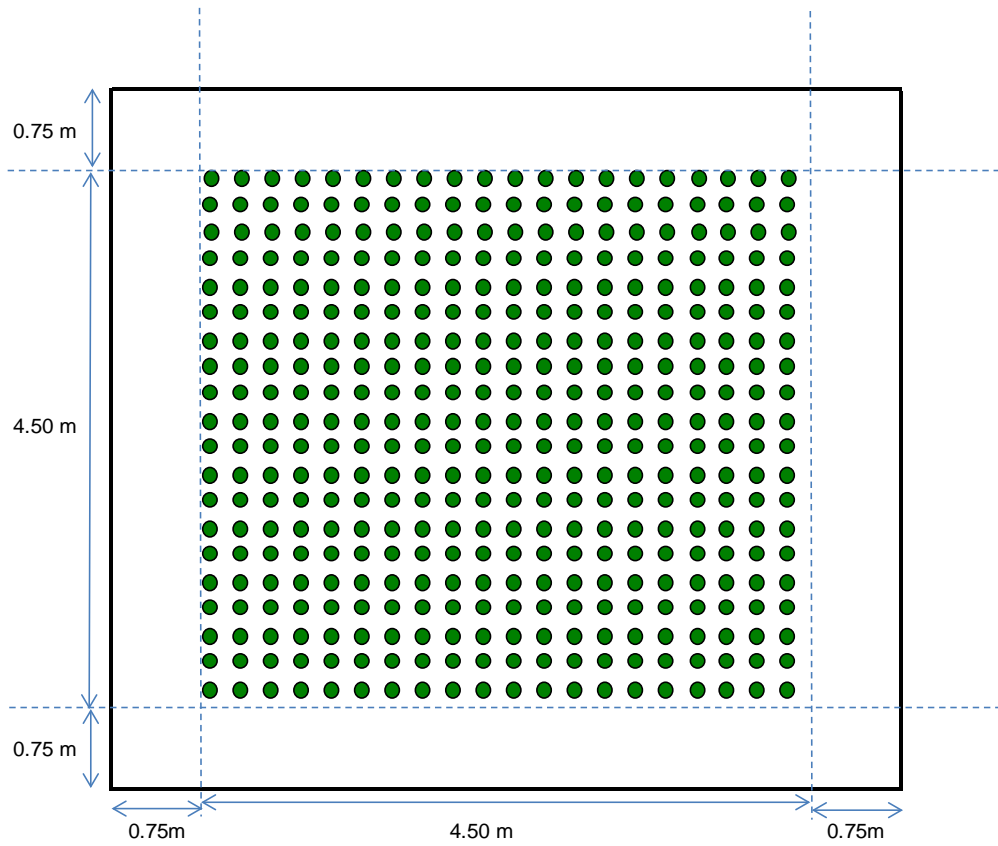
De biotoets, zoals deze is uitgevoerd in 2010, geeft bij een zeer lage beginbesmetting ($P_i < 5$) een zeer hoge eindbesmetting en daarmee een hoge detectiekans. Zelfs bij een beginbesmetting lager dan de detectiegrens is *M. chitwoodi* waargenomen tot een eindbesmetting van 8000 juvenielen / 100 ml.

Dankwoord

Dankzij de financiering door Productschap Akkerbouw kon deze biotoets gerealiseerd worden.

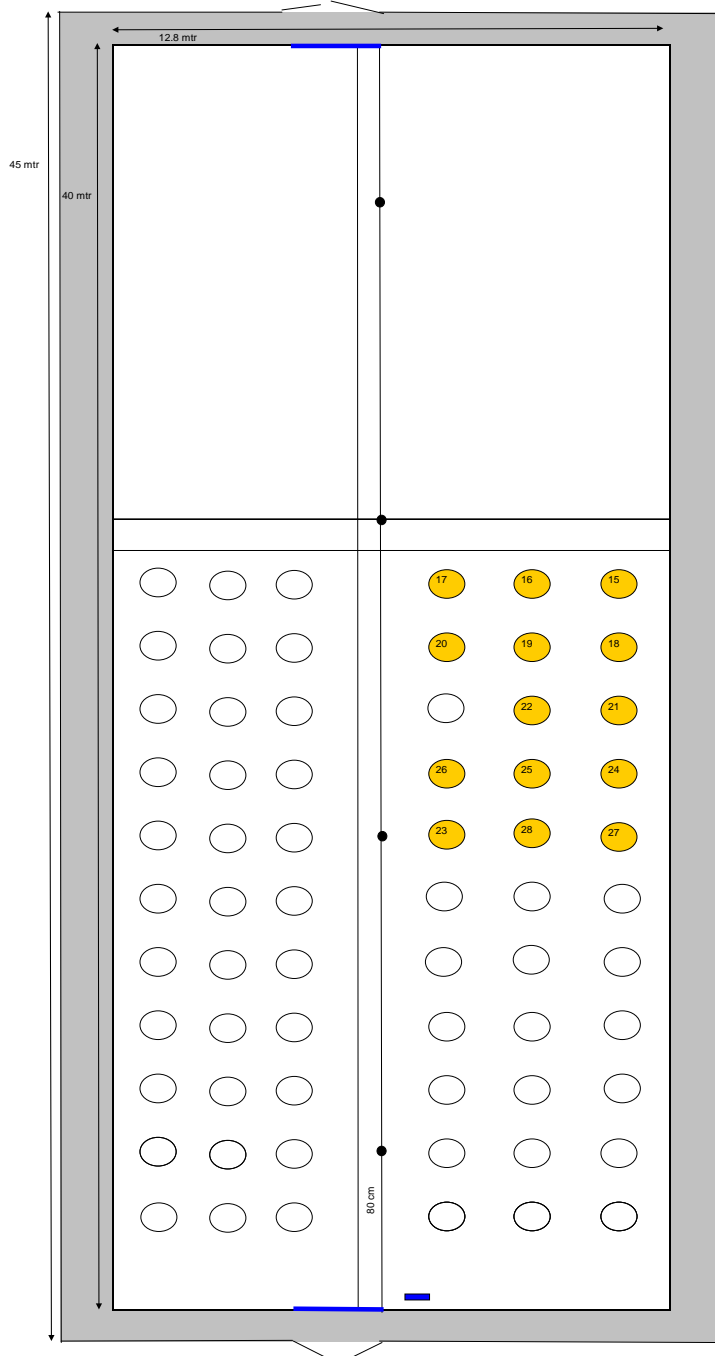
BIJLAGEN

BIJLAGE 1: Overzicht monstername grond



BIJLAGE 2: Overzicht nematodentuin

Plattegrond Nematodentuin PPO-agv



Breedte schaduwhal = 12,8 mtr t

Lengte schaduwhal = 40 mtr

De kuipen hebben een diameter van 55 cm
 en komen dus hart op hart 185 cm uit elkaar
 aan de rechterkant en
 hart op hart 155 cm aan de linkerkant

 Biotoets Mc 2010; veldproef Petersen Melo , her. 2.

BIJLAGE 3: Besmetting biotoets van diverse juvenielen in 100 ml grond.

In onderstaande tabel worden de aantallen juvenielen weergegeven zoals die zijn vastgesteld in de bemonstering begin mei (beginbesmetting) en begin oktober (eindbesmetting). De grondmonsters zijn verwerkt en geanalyseerd door het laboratorium van PPO-AGV.

Besmetting (Pi en Pf) in 100 ml grond					
Kuip-nummer	Veld-nummer	Pi <i>Pratylenchidae</i>	Pi Saprofagen en overige juvenielen	Pf <i>Pratylenchidae</i>	Pf Saprofagen en overige juvenielen
1	15	230	3455	342	4122
2	16	655	2280	1505	5025
3	17	670	2935	1575	4765
4	18	845	6025	1440	3708
5	19	810	6755	1035	3455
6	20	985	7315	1495	3100
7	21	905	3785	627	3557
8	22	220	3040	250	3672
10	24	465	3785	880	3365
11	25	675	5355	675	2578
12	26	455	3980	850	3410
13	27	1075	4770	1202	4312
14	28	850	4495	968	3263

Tabel 4. Besmetting (Pi en Pf) van diverse juvenielen in 100 ml grond, biotoets 2010

BIJLAGE 4: Soort verhouding biotoets van diverse juvenielen in 100 ml grond.

In tabel 5 wordt de soort verhouding van de vrijlevende aaltjes weergegeven voor de biotoets door een soortdeterminatie van de grondmonsters gestoken in mei 2010 en november 2010. In de tabel worden de werkelijk gedetermineerde aantallen juvenielen weergegeven. In de tabel zijn per kolom (families) de verschillende soorten weergegeven.

Aantallen gedetermineerde juvenielen per 100 ml grond				
Tijdstip monstername	Kuipnummer	Veldnummer	Meloidogynae	Pratylenchidae
Mei 2010	1	15	1 <i>M. chitwoodi</i>	
Mei 2010	2	16	3 <i>M. chitwoodi</i>	
Mei 2010	3	17	22 <i>M. chitwoodi</i>	
Mei 2010	4	18	11 <i>M. chitwoodi</i>	20 <i>P. crenatus</i> , 1 <i>P. thornei</i>
Mei 2010	5	19	7 <i>M. chitwoodi</i>	
Mei 2010	7	21	1 <i>M. chitwoodi</i>	
Mei 2010	8	22	20 <i>M. chitwoodi</i>	
Mei 2010	11	25	2 <i>M. chitwoodi</i>	
Mei 2010	12	26	1 <i>M. chitwoodi</i>	
Mei 2010	13	27	5 <i>M. chitwoodi</i>	1 <i>P. penetrans</i> man, 5 <i>P. neglectus</i> , 14 <i>P. crenatus</i>
Mei 2010	14	28	11 <i>M. chitwoodi</i>	
November 2010	4	18	19 <i>M. chitwoodi</i>	11 <i>P. crenatus</i>
November 2010	13	27	20 <i>M. chitwoodi</i>	1 <i>P. penetrans</i> vrouw, 2 <i>P. penetrans</i> man, 3 <i>P. crenatus</i>

Tabel 5. Soort verhouding van vrijlevende aaltjes, biotoets 2010.

Bijlage 5: Knolopbrengst biotoets

Kuip- nummer	Veld- nummer	Aantal aardap pelen < 35 mm	Aantal aardap pelen 35 - 50 mm	Aantal aardap pelen > 50 mm	Gewicht (gr) aardap pelen < 35 mm	Gewicht (gr) aardap pelen 35 - 50 mm	Gewicht (gr) aardap pelen > 50 mm	Totaal gewicht aardap pelen
1	15	33	46	6	2485	1644	877	5007
2	16	24	45	2	670	3589	325	4584
3	17	42	40	17	759	2774	2664	6198
4	18	40	44	7	934	3362	991	5287
5	19	25	48	12	497	4011	1900	6408
6	20	17	42	13	395	3653	1997	6045
7	21	36	42	12	555	3349	2226	6131
8	22	20	42	12	424	3510	1827	5761
10	24	11	33	17	301	2765	3014	6081
11	25	27	55	4	585	4160	647	5392
12	26	35	60	9	694	4445	1128	6267
13	27	43	46	13	895	3541	1884	6321
14	28	25	46	13	534	3906	1916	6355

Tabel 6. Aantal knollen in de maat < 35 mm, 35-50 mm en > 35 mm en het totaalgewicht per kuip, biotoets 2010.