1020275

dr. ir. B.M. Schober, LU-Wageningen
en ir. G. van Kruistum, PAV-Lelystad

Natrot in witlof beheersbaar

Natrot wordt veroorzaakt door de bacteriën Pseudomonas marginalis en Erwinia carotovora subsp. carotovora. Beide soorten koloniseren het gewas reeds in het veld en overleven de bewaarperiode van de wortels in de bladkraag. In het onderzoek dat het PAV samen met de LUW, vakgroep Fytopathologie, in de periode 1994-1998 heeft uitgevoerd, is een aantal beheersmaatregelen ter beperking van natrot nader uitgewerkt. Verder is gewerkt aan een toets om het risico op natrot bij gerooide wortels in te kunnen schatten. Factoren die het ontstaan van natrot beïnvloeden, kunnen worden onderscheiden in factoren die direct invloed hebben op het aantal bacteriën en factoren die de plant beïnvloeden. Tot de eerste groep van factoren behoren de weersomstandigheden op het veld, de trekcondities (temperatuur en luchtvochtigheid) en de gebruikte witlofcultivar. Ook kunnen fruitvliegjes in de trekcel natrotbacteriën verspreiden. Tot de tweede groep van de plant beïnvloedende factoren behoren het stikstofgehalte van de wortels en het gebruik van $CaCl_2$. Een combinatie van maatregelen zal het risico voor het optreden van natrot tijdens de trek en in het handelskanaal tot een minimum kunnen beperken.

Probleemstelling

In het handelskanaal ontstaan regelmatig klachten bij afnemers doordat partijen witlof zijn aangetast door smet en/of natrot. In houdbaarheidsproeven komt deze aantasting door verschillende plantpathogene bacteriën naar voren als één van de meest bedreigende voor het uitstalleven van witlof. Uit eerder onderzoek is reeds bekend dat onder andere het gebruikte ras en het stikstofgehalte van de wortel de gevoeligheid voor het optreden van natrot sterk kunnen beïnvloeden. Doordat de betrokken bacteriën een sterk opportunistisch karakter hebben, is besloten om nader onderzoek uit te voeren naar het aantastingsproces en de aantastingsmechanismen. Dit onderzoek is door de LUW in de vorm van een vierjarig promotie-onderzoek uitgevoerd. Het PAV was daarbij betrokken en heeft in het praktijkonderzoek een aantal beheersmaatregelen nader uitgewerkt.

Proefopzet en uitvoering

Het vóórkomen en de epidemiologie van natrotbacteriën in witlof werden in een vierjarig veldexperiment op het PAV te Lelystad en in lab-experimenten aan de Landbouwuniversiteit in Wageningen in de periode 1994 - 1998 nader onderzocht. Er werd een methode ontwikkeld om de bacteriën aan te tonen, waarvoor *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica (Eca)* als modelsysteem gebruikt werd. De aantallen natrotbacteriën tijdens de penproductie, de bewaring van de pennen en het optreden van de ziekte tijdens de trek van witlofkroppen werden onderzocht. Hierbij werd bijzondere nadruk gelegd op de invloed van de stikstofbemesting en beregening tijdens de penproductie en het gebruik van calciumchloride na de pennenoogst. Het optreden en de ruimtelijke verspreiding van de ziekte tijdens de trek en de oogst van de witlofkroppen werden gekarakteriseerd. Ook is de invloed van fruitvliegjes op de verspreiding van de ziekte onderzocht. In lab-experimenten werd de ontwikkeling van de ziekte op fysiologisch niveau bestudeerd door de productie en werking van macererende enzymen van de bacteriën te onderzoeken. De invloeden van het dompelen van de pennen in calciumchloride en de stikstofbemesting van de pennen op de activiteit van de bacteriële enzymen werden nader onderzocht. De invloed van zowel de temperatuur als de beschikbaarheid van water op de groei en overleving van de natrotbacteriën werden gekwantificeerd. Hiervoor werden de temperatuur en relatieve luchtvochtigheid tijdens de trek gevarieerd.

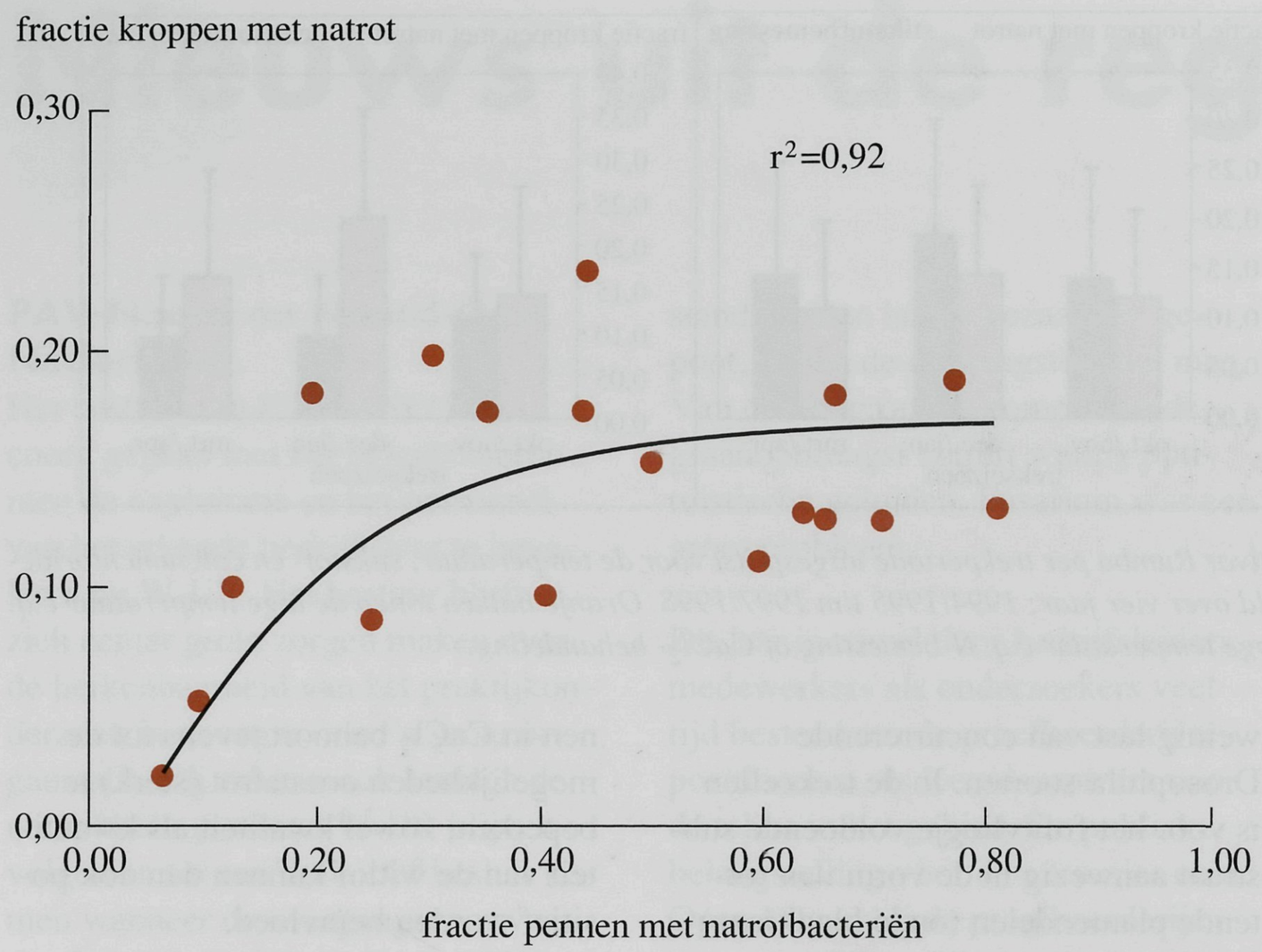
Waarnemingen en resultaten

Wortelteelt

Witlofplanten van de cultivar Rumba werden tijdens de wortelproductie op het PAV onderzocht op het voorkomen van populaties van natrotbacteriën op de plant (epifytische populaties). De bacteriepopulaties bestonden in Nederland uit de soorten *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora (Ecc)* en *Pseudomonas marginalis (Pm)*. Isolaten afkomstig van witlofblad werden geïdentificeerd en de invloed van meerdere omgevingsfactoren op hun voorkomen en dichtheden werd onderzocht. Hierbij werd uitgegaan van de hypothese dat het aantal isola-

omgevingsfactor	r	p
maand	*0.70*	*0.001*
temperatuur	*0.41*	*0.07*
globale straling	-0.38	0.10
alleen Erwinia	*-0.69*	*0.01*
neerslag	-0.12	0.61
luchtvochtigheid	-0.06	0.81

Tabel 1. Correlatie-coëfficiënten (r) en hun significantie (p) tussen het aantal natrotisolaten en enkele omgevingsfactoren in het veld (maandgemiddelden).



Figuur 1. Invloed van de besmettingsgraad van pennen met Ecc en Pm tijdens de bewaring op natrotaantasting tijdens de trek.

ten tijdens het groeiseizoen op het wiltofblad toeneemt. Het aantal bacterie-isolaten nam tijdens het groeiseizoen toe (positieve correlatie tussen aantal isolaten en maand) en werd bevorderd door hogere temperaturen (positieve correlatie tussen temperatuur en aantal isolaten, zie tabel 1). De globale straling tijdens de penproductie had een negatieve of remmende invloed op het aantal Erwinia-isolaten (negatieve correlatie tussen de globale straling en het aantal Erwinia-isolaten).
De gemiddelde groeisnelheid van de natrotbacteriën was tijdens het groeiseizoen significant hoger dan nul. Dit wijst erop dat de populaties in grootte en aantal toenamen. De verhouding tussen de aantallen Ecc en Pm-isolaten veranderde van overwegend Pm van mei tot juli tot een gelijke verhouding tussen beide genera van augustus tot aan de oogst. Het aantal Ecc-isolaten was negatief gecorreleerd met de globale straling. De toename van Ecc in het latere groeiseizoen werd aan de beschermende werking van het microklimaat onder het gewas toegeschreven. Dit microklimaat beschermde de bacteriën voor hoge stralingsintensiteiten en ongunstige temperaturen.
Een invloed van neerslag inclusief extra beregening in augustus-september op de ontwikkeling van de bacteriepopulatie werd niet waargenomen.

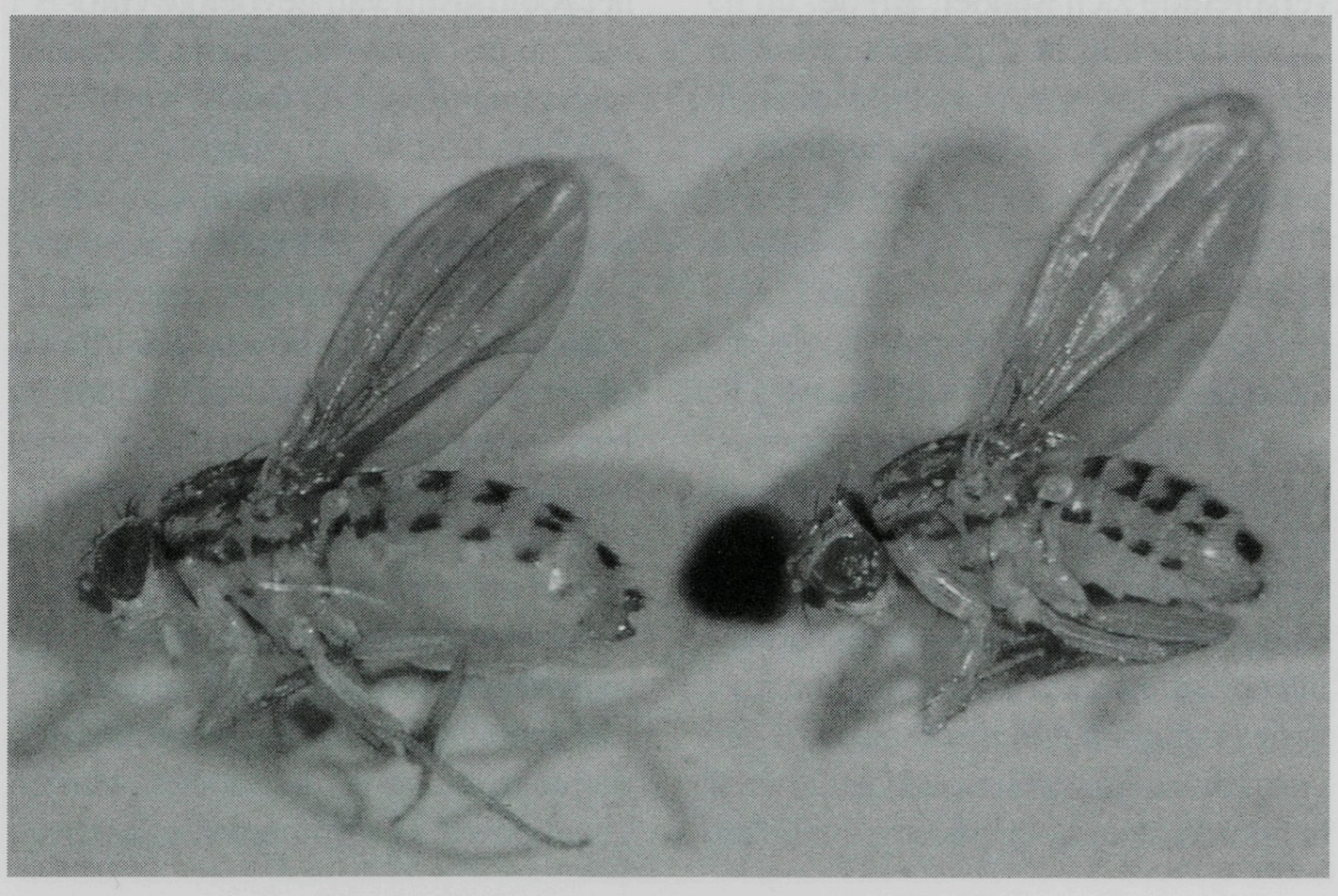
Wortelbewaring

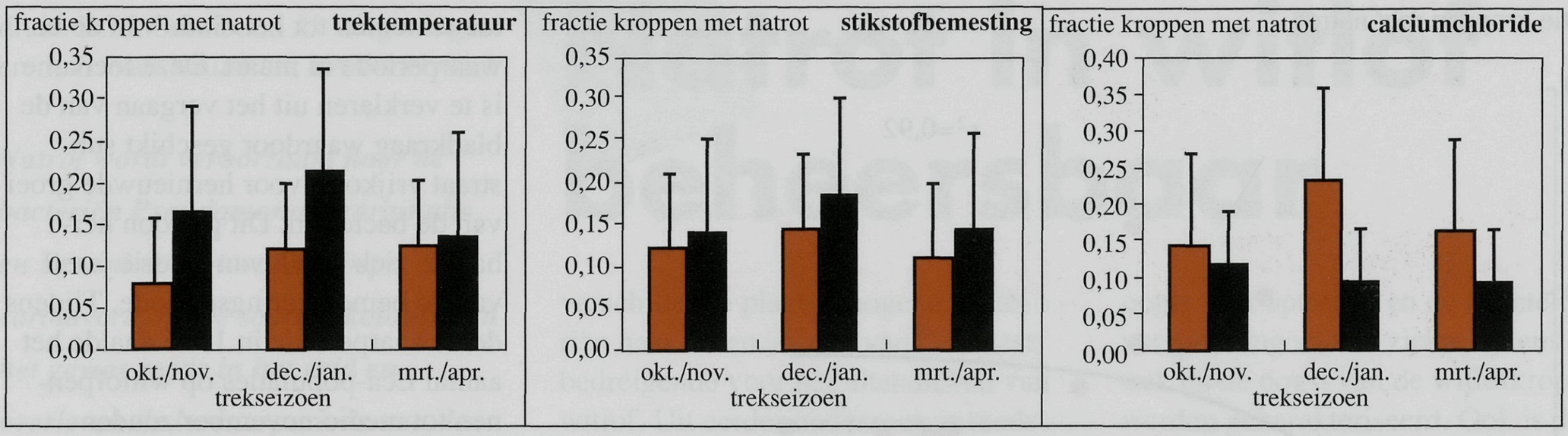
De populaties van natrotbacteriën veranderden tijdens de bewaring van witlofpennen. Populaties van Ecc, Eca en Pm werden in de bewaring vanaf oktober, direct na de oogst, tot in maart van het volgende jaar gevolgd. Pennen werden in 1996 kunstmatig besmet met Eca. De kolonisatie-graad van Ecc en Pm nam tijdens de eerste weken van de bewaarperiode af om na december significant toe te nemen tot het einde van de bewaarperiode in maart. Deze toename is te verklaren uit het vergaan van de bladkraag waardoor geschikt substraat vrijkomt voor hernieuwde groei van de bacteriën. Dit patroon herhaalde zich in elk van de drie jaren van de bemonsteringsperiode. Tijdens de bewaarperiode in 1996 daalde het aantal Eca-populaties op witlofpennen tot medio november zonder daarna weer toe te nemen. Tijdreeksanalyse van de maandelijkse kolonisatie-graad van Ecc en Pm liet een afhankelijkheid zien tussen de waargenomen kolonisatie-graad en die van twee weken eerder. Een hoge kolonisatie-graad tijdens de bewaarperiode ging vaak samen met een hoge ziekte-aantasting tijdens de volgende trekperiode (figuur 1). Dit resultaat maakt het mogelijk om de ziekte-aantasting tijdens de trek van de witlofkroppen, gebaseerd op de kolonisatie-graad van de pennen tijdens de bewaring, te voorspellen. Het aantal pennen besmet met natrotbacteriën moet duidelijk lager zijn dan 10 % om in de trek de natrotaantasting te kunnen beperken.

Trek

Witlof kan tijdens de laatste dagen van de trekperiode een slijmerig rot ontwikkelen, dat tot 60% uitval kan leiden. Het vóórkomen en de aggregatie van de ziekte op witlofkroppen tijdens de trek en de invloed van teelt-

Het fruitvliegje Drosophila busckii, enkele millimeters groot en herkenbaar aan de rode facetogen, kan natrotbacteriën van de ene naar de andere witlofkrop overbrengen.





Figuur 2. Natrotaantasting bij de oogst van cultivar Rumba per trekperiode uitgesplitst voor de temperatuur, stikstof- en calciumchloride-behandelingen. De data zijn gemiddeld over vier jaar: 1994/1995 t/m 1997/1998. Oranje balken tonen de lage temperatuur c.q. geen N of $CaCl_2$; zwarte balken de hoge temperatuur c.q. N-bemesting of $CaCl_2$- behandeling.

maatregelen werd in experimenten onder twee trektemperaturen en luchtvochtigheden bestudeerd. De gemiddelde ziekte-aantasting was het laagst in 1994/1995 en het hoogst in 1996/1997. Witlofkroppen die bij een 3°C lager trekregime getrokken werden en ook een langere trekperiode van minimaal 24 à 26 dagen nodig hadden, vertoonden relatief weinig ziekte (figuur 2). De invloed van de relatieve luchtvochtigheid tijdens de trek was minder voorspelbaar en grillig. De verwachting was dat bij een hogere relatieve luchtvochtigheid tijdens de trek de natrotgevoeligheid zou toenemen. Dit bleek lang niet in alle gevallen zo te zijn. Dompelen van witlofpennen in calciumchloride en lage stikstofbemesting tijdens de wortelproductie verminderden de ziekte-aantasting (figuur 2) en deden de aggregatie van de ziekte in de trekbakken toenemen: de ziekte vormde kleinere haarden in de trekbakken en verspreidde zich minder. Bij de vroegste trek in oktober/november was echter het effect van stikstof en calciumchloride beperkter dan later in het seizoen.

Fruitvliegjes

In onderzoek is aangetoond dat de natrotbacterie *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora (Ecc)* getransporteerd kan worden door het fruitvliegje *Drosophila busckii*. Het fruitvliegje komt als larve of pop mee met de rottende bladkrans. De omstandigheden in een witloftrekcel zijn zeer gunstig voor *D. busckii*. Omdat *D. busckii* één van de weinige soorten is die zich in het donker kan voortplanten, heeft ze weinig last van concurrerende Drosophila-soorten. In de trekcellen is voor het fruitvliegje voldoende substraat aanwezig in de vorm van rottende plantendelen (oude bladkrans) in en bij de groeiende witlofkrop om zich te vermenigvuldigen. De natrotbacterie kan zowel uitwendig als inwendig in het maag-darmkanaal door het fruitvliegje *D. busckii* van de ene naar de andere krop worden overgebracht.

Discussie en conclusies

Natrot wordt veroorzaakt door bacteriën die in de witlofteelt niet te vermijden zijn. De besmetting van het gewas vindt plaats op het veld. Of de bacteriën zich in het gewas ook kunnen handhaven, hangt onder andere van het stikstofgehalte en het weer af. Het eerste is door de teler te beïnvloeden en maatregelen hiervoor zijn bekend en betrouwbaar gebleken. Het weer is niet te beïnvloeden maar door het rooitijdstip van gevoelige cultivars zo te kiezen dat het gewas schoon en droog ingekoeld wordt, kan men het risico op natrot verminderen. Tijdens de bewaring kunnen natrotbacteriën in de bladkrans gedurende een lange periode overleven. Afhankelijk van de bewaarcondities, de temperatuur en het vocht, kunnen bacteriepopulaties zich zelfs nog uitbreiden, zo bleek uit het onderzoek naar de populatie-ontwikkeling van natrotbacteriën. In het laboratorium is een toets ontwikkeld om het risico op natrot bij geoogste pennen in te kunnen schatten. Deze toets zal echter in de praktijk nog verder moeten worden gevalideerd. Het dompelen van pennen in $CaCl_2$ behoort tevens tot de mogelijkheden om natrot (sterk) te beperken; zowel kwaliteit als kwantiteit van de witlof kunnen dan ook positief worden beïnvloed.
In de trek is het niet meer mogelijk om natrot geheel te voorkomen. Maatregelen als verlaging van de forceertemperatuur en relatieve luchtvochtigheid kunnen wel bijdragen aan beperking van natrot, maar kunnen de aantasting dan niet meer voorkómen.

Toepassing

Bestrijden van de ziekte is niet mogelijk, maar sterk beperken of zelfs voorkómen wel. Daarvoor is het noodzakelijk om de fysiologische conditie van de plant te beheersen en de voor de bacteriën gunstige omgevingsfactoren te kennen. De natuurlijke mechanische barrières van de kroppen tegen een bacteriële infectie moeten zoveel mogelijk versterkt worden. Dit kan gebeuren door het terugdringen van het stikstofgehalte van de wortel en het dompelen in calciumchloride. Wanneer ook een voor de bacteriën ongunstig milieu wordt gecreëerd, door een juiste keuze van ras en forceercondities, kan de bacteriële groei en uiteindelijk de ontwikkeling van natrot worden tegengegaan. Het bepalen van de risico's op het optreden van natrot kan gebeuren door de wortels tijdens de bewaring te beoordelen op bacterie-kolonisatie. Hiervoor zal een praktijkmethode moeten worden uitgewerkt.
Aanwezige vliegjes kunnen als vector voor de natrotbacterie optreden en dienen goed te worden bestreden.