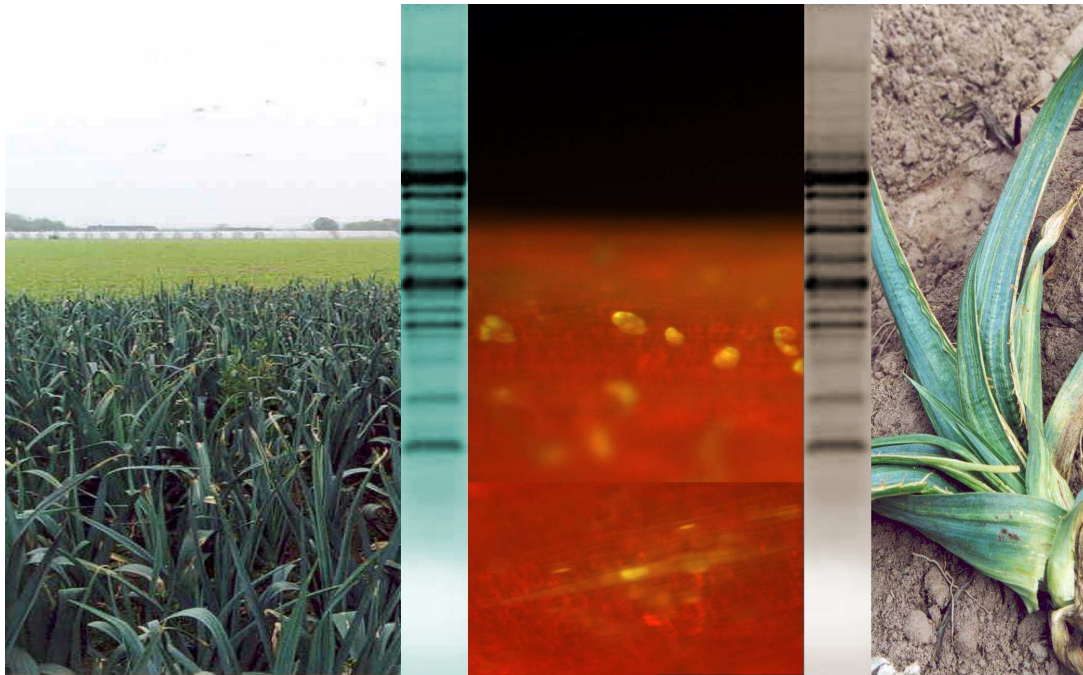


Onderdrukking van *Pseudomonas syringae* pv *porri* in prei m.b.v. biologische preparaten

PT verslag projectnummer **12603** over de periode van 2006 tm 2007



Leo van Overbeek, Johnny Visser en Gijs van Kruistum

Onderdrukking van *Pseudomonas syringae* pv *porri* in prei m.b.v. biologische preparaten

PT verslag projectnummer **12603** over de periode van 1 Maart 2006 - 28 Febr 2007

Leo van Overbeek¹, Johnny Visser² en Gijs van Kruistum²

Plant Research International B.V. (PRI)

Postbus 16, 6700 AA, Wageningen

tel: 0317 476 041

fax: 0317 418 094

E-mail: l.s.vanoverbeek@wur.nl

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Sector AGV (PPO)

Postbus 430, 8200 AK Lelystad

tel: 0320 291 662

fax:0320 230 479

E mail: g.van.kruistum@wur.nl

Rapportage over het onderzoek van periode Maart 2006 tot en met Februari 2007.
Gefinancierd door Productschap Tuinbouw.

Dit onderzoek is tot stand gekomen door samenwerking tussen Plant Research International Wageningen, Praktijkonderzoek Plant en Omgeving Lelystad, LTO Nederland, NAK tuinbouw, Plantum NL, zaad en veredelingsbedrijven, prei-adviseurs, gewasspecialisten, preikwekers (vermeerderaars) en telers. Wij bedanken Plant Health Care BV., Vught voor geleverde adviezen en ter beschikking stellen van hun producten ten behoeve van het onderzoek.

© 2003 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.

Bestaande kennis

Pseudomonas syringae pathovar *porri* (Psp) is de veroorzaker van bacterievlekkenziekte in prei. Jaarlijks treden er grote productieverliezen op ten gevolge van uitbraak van deze ziekte bij diverse teeltbedrijven met name in Limburg en Noord Brabant. Onderzoek bij Nederlandse prei-opkweek en teelt bedrijven wees uit dat meer dan 60 % van de bemonsterde percelen latent besmet waren met het pathogeen. Latente besmetting door het pathogeen kan worden beschouwd als een tijdbom voor de Nederlandse preiteelt.

Binnen het huidige ‘gewasbeschermingsprogramma’ (DWK programma gefinancierd door Min. van. LNV) wordt naar mogelijkheden gezocht om het probleem met *Pseudomonas* in prei te kunnen beheersen. In dit programma worden maatregelen getoetst die zijn gericht op beheersing van het pathogeen in de bodem (suppressieve grond, compost en kippenmest) en tijdens de teelt (mogelijkheid tot overdracht van besmetting door *Thrips tabacci*). Echter, nieuwe biologische preparaten die recentelijk op de markt gekomen zijn, zijn mogelijk perspectiefvol voor de preisector. Van deze preparaten wordt door de producent (Plant Health Care BV., Vught) geclaimd dat ze werkzaam zijn tegen *Pseudomonas syringae* (de groep van pathogenen waartoe Psp behoort). Een toets uitgevoerd door PRI heeft inderdaad uitgewezen dat de functionele component van één van de middelen (SENTRY) een onderdrukkende werking heeft op Psp stam P55. Omdat de preparaten belangrijk kunnen zijn voor de praktijk hebben wij de werking van deze preparaten getoetst onder veldomstandigheden.

Het betreft hier twee middelen: SENTRY en Pre-Tect:

SENTRY; werkzame component is *Bacillus subtilis* stam QST370. Deze stam wordt onder licentie verkocht door ‘Plant Health Care’. De rechten liggen bij Eden Bioscience (VS). De producent claimt dat deze stam jasmonzuur en salicylzuur induceert in de plant (ISR en/ of SAR pathways), waardoor de algemene weerbaarheid toeneemt. Daarnaast is een sterk onderdrukkende werking tegen Psp waargenomen in het laboratorium van PRI, Wageningen.

Pre-Tect, werkzame component is de tweede generatie harpine eiwit (uit *Erwinia amylovora*) en deze stof induceert ook jasmonzuur en salicylzuur in de plant, waardoor verhoging van de weerbaarheid toeneemt. De belangrijkste toepassing van Pre-Tect zal voornamelijk tijdens uitplant zijn, wanneer de planten gestresst zijn. Beide middelen worden nog niet op grote schaal in de akker- en tuinbouw toegepast, hoewel één plantenkweker het middel SENTRY in 2005 voor het eerst heeft toegepast om de plantweerbaarheid te verhogen. De doelstelling van dit onderzoek was toetsing van de middelen Pre-Tect en SENTRY (beide producten worden geproduceerd door ‘Plant Health Care BV., Vught’) op onderdrukking van Psp in prei tijdens opkweek en productie.

Probleemstelling

Om op korte termijn een oplossing te bieden tegen Psp in prei lijken biologische preparaten kansrijk. De firma ‘Plant Health Care’ heeft een aantal producten op de markt die voor preikwekers en telers relevant kunnen zijn om Psp te beheersen. Er is echter nog niets bekend over de werking van deze preparaten tegen Psp in prei in Nederland. Daarom is de werking van SENTRY en Pre-Tect onderzocht op hun mogelijke werking tegen Psp tijdens opkweek en productie van prei.

Plan van aanpak

Zaden (rassen Kenton en Flextan) zijn behandeld met SENTRY, of bleven onbehandeld voor uitzaai. Na opkweek werd er uitgeplant in productiepercelen van proefcentrum 'De Vredepeel'. Voorafgaand aan het experiment werd de grond (zowel bij de opkweek als de productie) gemengd met besmet preiaval. Vlak voor uitplanten werden de volgende behandelingen toegepast:

- geen behandeling op onbehandelde planten (OO, controle)
- geen behandeling op planten die tijdens opkweek zijn behandeld met SENTRY (SO, effect SENTRY op opkweek van prei)
- behandeling met SENTRY op planten die tijdens opkweek zijn behandeld met SENTRY (SS, effect dubbele behandeling met SENTRY op productieprei)
- behandeling met Pre-Tect op planten die tijdens opkweek zijn behandeld met SENTRY (SP, combinatie van beide middelen op productieprei)

Er werd geteeld onder normale, praktijkgerelateerde, bemestings- en gewasbehandelingsregimes. In planten van beide behandelingen werd Psp dichtheid vastgesteld, en aantasting en uitval door Psp bepaald en vergeleken met controle planten (onbehandelde planten, uitgeplant in besmette grond). Van de planten behandeld met SENTRY werd de actieve component (*B. subtilis* QST370) in en rondom de planten éénmalig vastgesteld.

Uitvoering veldexperiment

Een veldexperiment op de proeflocatie 'De Vredepeel' is uitgevoerd volgens protocollen voor opkweek en uitplant van prei (zie bijlage I). De protocollen zijn tot stand gekomen na overleg tussen uitvoerders van de proeflocatie en de heer Pius Floris van de firma Plant Health Care BV Vught

Resultaten en bespreking

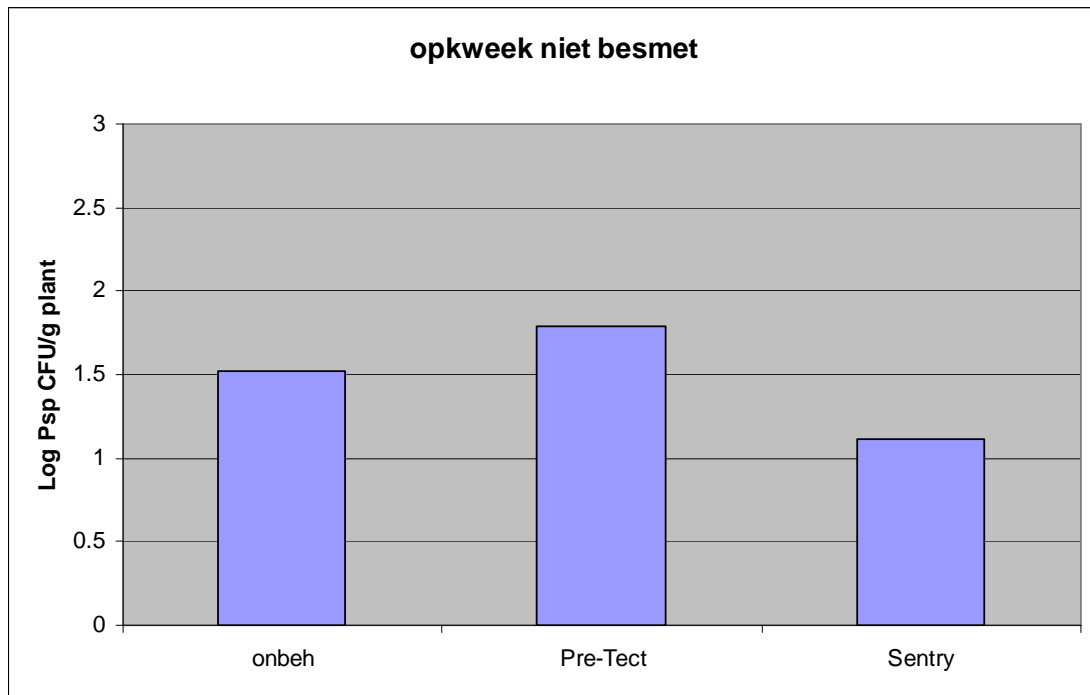
Planten werden opgekweekt op grond die niet was gemengd met preiresten (niet besmette grond) en op grond die was gemengd met preiresten (besmette grond). Kolonievormende eenheden van Psp (Psp CFU) in planten opgekweekt in onbehandelde grond was onder de detectiegrens (niet aantoonbaar aanwezig), maar op grond gemengd met preiresten werden er Log 1,0 Psp CFU per g plant aangetroffen. Ook waren er waarneembare symptomen van Psp aantastingen, zoals kromming en verkleuring van bladeren, zichtbaar tijdens de opkweek. Planten opgekweekt in ongemengde grond waren niet aangetast, terwijl planten afkomstig van gemengde grond een aantastingpercentage hadden van 14,9 (ras Kenton) and 8,9 (ras Flextan). De werkzame component van SENTRY, *B. subtilis* stam QST370, werd aangetroffen in drie van de vijf geteste planten behandeld met SENTRY tijdens de opkweek, met een geschatte dichtheid van Log 1,3 CFU per g plant.

Een lichte besmetting van onbehandelde preiplanten en preiplanten behandeld met Pre-Tect en SENTRY werd aangetroffen tijdens de opkweek in oktober 2006. Het aantal Psp CFUs varieerde tussen Log 1,0 en 1,3 per g plant bij planten van het ras Kenton en tussen Log 1,2 en Log 2,3 per g plant bij die van het ras Flextan. Er was een klein en niet-significant ras-afhankelijk verschil in besmetting. Er was ook geen significant verschil aantoonbaar in besmetting tussen de verschillende behandelingen: onbehandeld (controle), Pre-Tect en SENTRY (Figuur 1). Er waren wel waarneembare symptomen van Psp aantastingen zichtbaar in dezelfde planten in september en oktober van 2006. De mate van aantasting varieerde tussen de 1,4 en 1,7

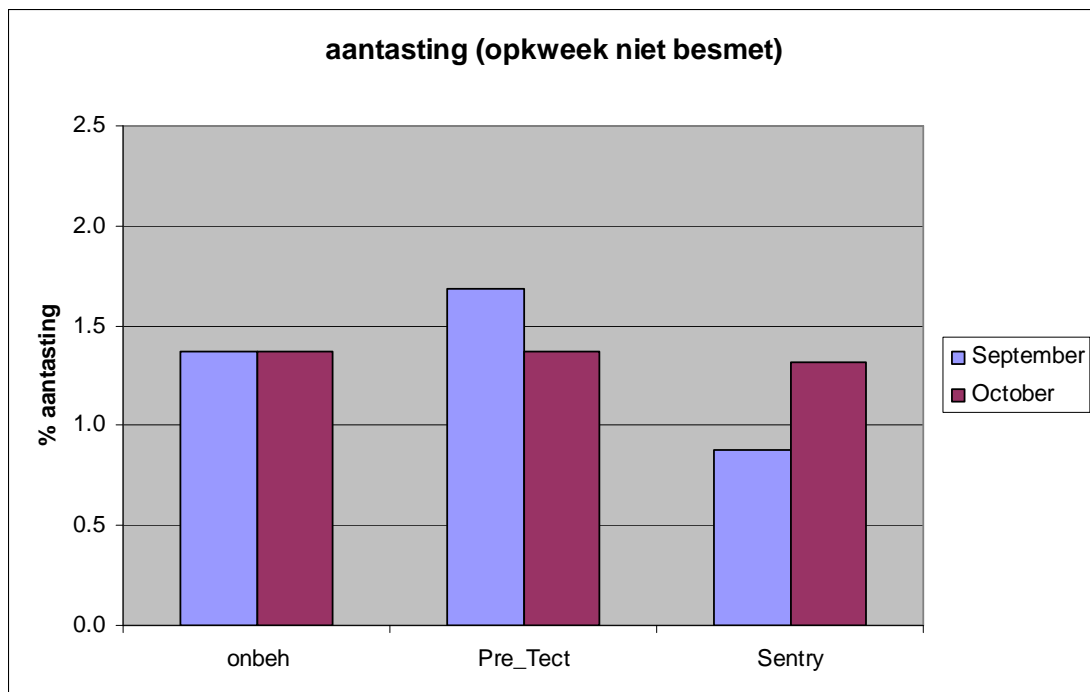
% en Flextan planten waren iets zwaarder aangetast dan Kenton planten (Figuur 2). Er was geen significant verschil aantoonbaar tussen de behandelingen. Er was geen aantoonbaar effect van Pre-Tect en SENTRY op onderdrukking van Psp in prei bij planten die zijn opgekweekt in ongemengde grond.

Planten opgekweekt op grond behandeld met preiresten en uitgeplant op grond met preiresten bevatten tussen Log 0,9 en 1,8 Psp CFU (Kenton) en Log 2,8 en 3,4 Psp CFU (Flextan) per g plant. Er was een significant hogere besmetting in Flextan dan in Kenton planten. Planten die niet waren behandeld met SENTRY en/ of Pre-Tect tijdens de opkweek (OO) hadden een hogere Psp CFU dichtheid dan behandelde planten; Log 1,8 (Kenton) en 3,4 (Flextan) Psp CFU per g plant. De mate van besmetting van planten behandeld met SENTRY tijdens de opkweek (SO), met SENTRY tijdens opkweek en uitplant (SS) en met SENTRY tijdens opkweek en Pre-Tect tijdens uitplant (SP) waren lager; variërend tussen Log 0,9 en 3,3 Psp CFU per g plant (Figuur 3). De verschillen in Psp dichtheden tussen onbehandelde planten (OO) en alle behandelde planten (SO, SS en SP) waren niet significant. De mate van aantasting was het hoogst in planten die twee keer waren behandeld met SENTRY (SS), gemeten in september (2,0%). De mate van aantasting bij onbehandelde planten (OO) en planten één keer behandeld met SENTRY (SO) en één keer met SENTRY en één met Pre-Tect (SO) gemeten in september en oktober en planten twee keer behandeld met SENTRY (SS) gemeten in oktober was tussen de 1,3 en 1,6 %. De verschillen in aantasting tussen de verschillende behandelingen en gemeten op verschillende tijdstippen was niet significant. Er was een tendens zichtbaar tot lichte onderdrukking van Psp in productieprei na behandeling met SENTRY (één en twee keer) en met SENTRY en Pre-Tect. Er is echter geen significant aantoonbaar effect van behandeling met SENTRY en/ of Pre-Tect op de mate van besmetting en aantasting door Psp tijdens productie van prei op grond die was gemengd met preiresten. Ook was er geen verschil zichtbaar tussen éénmalige behandeling met SENTRY tijdens de opkweek of dubbele behandeling tijdens opkweek en uitplant, alsmede behandeling met SENTRY tijdens opkweek en Pre-Tect bij uitplant.

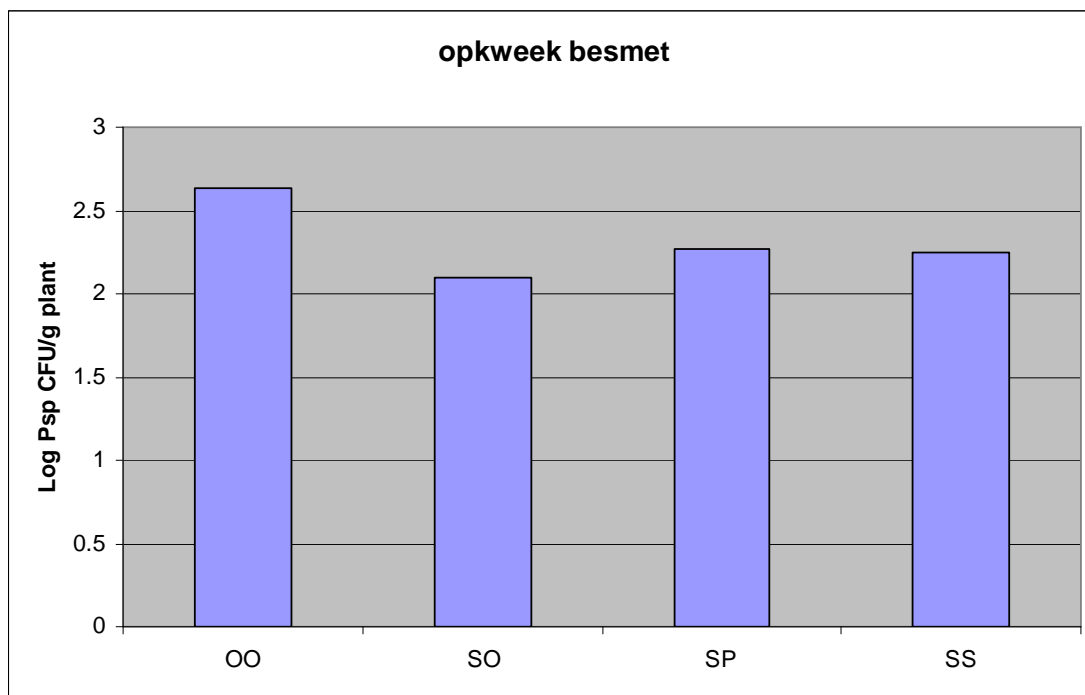
De werkzame component van SENTRY, *B. subtilis* stam QST370, is aangetoond in en om preiplanten wat betekent dat deze bacterie aanwezig is op/ in prei. Eerder was wel aangetoond dat stam QST370 een onderdrukkend effect heeft op Psp groei in het laboratorium. De aangetoonde dichtheid van deze bacteriestam was echter zeer laag en mogelijk onvoldoende om Psp effectief te kunnen onderdrukken. Kennelijk is deze stam onvoldoende in staat om preiplanten te koloniseren en daarmee een onderdrukkend effect op Psp uit te oefenen. Dit verklaart mogelijk waarom er onder veldomstandigheden geen zichtbaar effect van SENTRY en/ of Pre-Tect op Psp onderdrukking werd waargenomen. Slechts een klein effect was zichtbaar in productieprei opgegroeid in grond met Psp. Dit effect was niet echter significant en leidde ook niet tot verminderde aantasting. Gezien de arbeidsintensieve handelingen om beide preparaten aan te brengen op het veld weegt deze reductie in besmetting mogelijk niet op tegen de kosten die gemaakt moeten worden bij de productie van prei. Op basis van de gegevens verkregen uit dit veldexperiment concluderen wij dat werkzaamheid van 'Plant Health Care' producten SENTRY en Pre-Tect tegen Psp in prei niet is aangetoond.



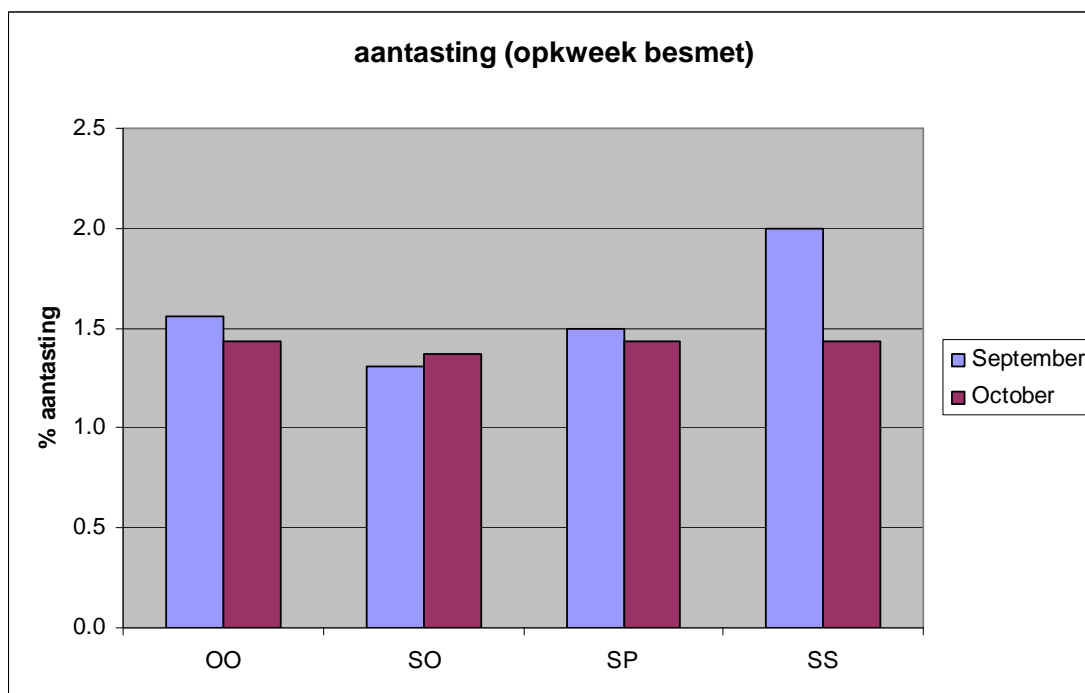
Figuur 1. Effect van toediening van ‘Plant Health Care’ producten Pre-Tect en Sentry op de mate van besmetting in productie prei; opkweek vond plaats in grond die niet was gemengd met Psp besmette preiresten (opkweek niet besmet). Getallen zijn gemiddeld over twee rassen; Kenton en Flextan met vier herhalingen per ras.



Figuur 2. Effect van toediening van ‘Plant Health Care’ producten Pre-Tect en Sentry op de mate van aantasting in productie prei; opkweek vond plaats in grond die niet was gemengd met Psp besmette preiresten (opkweek niet besmet). Getallen zijn gemiddeld over twee rassen; Kenton en Flextan met vier herhalingen per ras.



Figuur 3. Effect van toediening van ‘Plant Health Care’ producten Pre-Tect en Sentry op de mate van besmetting in productie prei; opkweek vond plaats in grond die was gemengd met Psp besmette preiresten (opkweek besmet). Getallen zijn gemiddeld over twee rassen; Kenton en Flextan met vier herhalingen per ras.



Figuur 4. Effect van toediening van ‘Plant Health Care’ producten Pre-Tect en Sentry op de mate van aantasting in productie prei; opkweek vond plaats in grond die was gemengd met Psp besmette preiresten (opkweek besmet). Getallen zijn gemiddeld over twee rassen; Kenton en Flextan met vier herhalingen per ras.

Bijlage I

Protocollen toegepast bij de uitvoering van veldwerkzaamheden

Opkweek

week	activiteit
21-mrt	opkweek besmetten besmette preiplanten uit demo-veld oprooien prei versnipperen en verspreiden en inwerken op "besmet"perceel circa 20 ton/ha = 2 kg/m ² .
week 15	grondmonsters per opkweekperceel (besmet - niet besmet) een mineralenmonster steken monsters naar BLGG sturen
13-apr	zaai opkweek glasplaatje op bruto rij leggen om opkomstmoment te bepalen scherm (anti-worteldoek) plaatsen tussen besmette en niet besmette deel.
week 16/17	oprooien demo-veld / prei bij Kleven als onder glasplaatje de prei opkomt de planten in het demo veld oprooien prei bij kleven oprooien, i o m Kleven, zo lang mogelijk op veld laten staan dit besmette materiaal eventueel bewaren (Leo voert nog een Psp-toets uit.)
week 18	behandelingen Sentry na opkomst en vervolgens wekelijks Sentry toepassen dosering: 6 a 7 L/ha in 600 tot 800 liter water per ha blad moet zo lang mogelijk nat blijven; avond-bespuiting gebruik chloor-vrij water gewasbespuitingen met middelen die chloor bevatten in overleg
week 17 e.v.	gewasverzorging, waarnemingen gewasverzorging volgens gangbare praktijk gewaswaarnemingen: opkomsttelling, gewasontwikkeling en aantasting beoordelen
week 25/26	oprooien en uitplanten per object 2 x 30 planten beoordelen op lengte, diameter en mate van Psp aantasting bemonstering en toetsing Psp-besmetting planten per veldje oprooien (handmatig) en uitplanten eerst de niet besmette planten oprooien!!!
Algemeen	voorkom kruisbesmetting!!!! voer eerst de gewasbehandelingen /waarnemingen uit in het niet besmette deel loop zo weinig mogelijk door de proef gereedschap e d goed schoon maken (ook tijdens werkzaamheden)

Uitplant

week	activiteit
week 20	grondmonsters per uitplantperceel (besmet - niet besmet) een mineralenmonster steken monsters naar BLGG sturen
week 25-28	opkweek besmetten en opbrengen compost en DKM besmette preiplanten (Kleven en demo) verspreiden over het te besmette deel van proefveld circa 22 ton/ha = 2,5 kg/m ² . preiresten licht infrezen 12 stroken van 3 x 33m besmetten (= 1200m ² = 3000 kg preiafval)
week 30	uitplantproef planten grondbewerken en ponsen volgens gangbare praktijk de verschillende objecten uit de opkweekproef uitplanten volgens schema EERST DE NIET BESMETTE PLANTEN UITPLANTEN!!
week 30	gewasverzorging, waarnemingen gewasverzorging volgens gangbare praktijk gewaswaarnemingen: gewasontwikkeling en aantasting beoordelen bemonstering en toetsing Psp-besmetting
week 31	behandelingen Sentry week na uitplanten en vervolgens wekelijks Sentry toepassen. dosering: 6 a 7 L/ha in 600 tot 800 liter water per ha blad moet zo lang mogelijk nat blijven; avond-bespuiting gebruik chloor-vrij water gewasbespuitingen met middelen die chloor bevatten in overleg
week 31	behandelingen Pre-tec eerste behandeling: na aanslaan, half juli tweede behandeling: half augustus derde behandeling: half september vierde behandeling: begin november