

Onderdrukking van *Pseudomonas syringae* pv *porri* in prei

Leo van Overbeek¹, Johnny Visser², Harrie Koenraad³ en Gijs van Kruistum²

- 1 Plant Research International B.V. (PRI)
Postbus 16, 6700 AA, Wageningen
tel: 0317 476 041
fax: 0317 418 094
E-mail: PRI: L.S.vanOverbeek@plant.dlo.nl
- 2 Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Sector AGV (PPO)
Postbus 430, 8200 AK Lelystad
tel: 0320 291 662
fax: 0320 230 479
E mail: g.van.kruistum@ppo.dlo.nl
- 3 NAKtuinbouw:
Sotaweg 22, Postbus 40, 2370 AA, Roelofarendsveen
Tel: 071 332 6262
fax: 071 332 6363
E mail: h.koenraad@naktuinbouw.nl

Rapportage over het onderzoek van periode Maart 2005 tot en met Februari 2006.
Gefinancierd door Productschap Tuinbouw.

Rapportage over het onderzoek van periode Maart 2003 tot en met Februari 2004.
Gefinancierd door Productschap Tuinbouw, in opdracht van de landelijke
gewascommissie prei en Plantum

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 en preikwekers (vermeerderaars) en telers.

© 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

De bacterie *Pseudomonas syringae* (Psp) kan met verschillende pathovars een groot aantal gewassen aantasten, waaronder peer, lelie, tomaat, prei, knoflook etc. Het is een opportunistische pathogeen, dat wil zeggen dat de plant wordt geïnfecteerd en aangetast wanneer er sprake is van omstandigheden die de vitaliteit van de plant nadelig beïnvloeden. De bacterie koloniseert in eerste instantie het blad oppervlak (epifytische kolonisatie). Bij een aantal gewassen kunnen na nachtvorst invalspoorten ontstaan waardoor de bacterie de plant binnenkomt. De infectie kan vervolgens latent aanwezig blijven en pas later of bij prei zelfs pas op het productieveld bij, voor bacteriegroei gunstige omstandigheden, tot aantastingen leiden. De bacterie kan via zaad, grond of plantenresten overleven en zich verspreiden. Bij prei is bekend dat bij plantopkweek in de kas vrijwel nooit problemen ontstaan met bacterie aantasting. Bij opkweek in de vollegrond zonder bedekking zijn de temperatuurwisselingen groter, komt nachtvorst voor, komt er meer vuil in de schacht door verstuiven of opspatten van grond, is er inslag van regen of hagel etc. De infectiekansen zijn dan groter en de vitaliteit van het plantmateriaal is aan grote schommelingen onderhevig. Het is bekend dat er ook een verschil in gevoeligheid voor aantasting tussen preirassen bestaat.

Enkele opvallende waarnemingen in 2002 waren o.a. dat met name het ras Flextan het meest, en ras Apollo het minst vatbaar was. De verschillen tussen preicultivars kunnen worden verklaard door: 1) verschillen in vatbaarheid voor populatieopbouw van het pathogeen (resistentie) en 2) verschillen in expressie van symptomen (tolerantie). Productievelden die nooit eerder gebruikt waren voor de preiteelt vertoonden symptomen van de ziekte terwijl velden met een lange teelthistorie geen symptomen vertoonden. Ook incidentele meldingen van preitelers waren opvallend, zoals een lokaal verhoogde ziekte-incidentie ten gevolge van overvloedige watergift en lokale afwezigheid van symptomen op de plek waar voorafgaand aan de teelt vuur was gestookt, terwijl in de rest van het productieveld de ziekte aanwezig was.

In 2003 is aangetoond dat latente besmetting voorkwam in één productieveld, evenals de proeflocatie te Neer. Besmetting was afhankelijk van ras en behandeling (onderdrukkend effect door behandeling met ENTEC). Besmettingniveau van de rassen kwam overeen met geregistreerde vatbaarheid voor bacterievlekkenziekte, waardoor er een aanwijzing bestaat dat vatbaarheid is gerelateerd op aanwezigheid, en dus koloniserend vermogen, van Psp in/op preiplanten van het betreffende ras.

In 2004 is er een enquête gehouden over telers en kwekers in combinatie met een integrale toetsing op aanwezigheid van Psp in preipercelen. Uit de enquête bleek o.a. dat ras, terugstort van prei en opkweek een belangrijke invloed had op besmetting. Daarnaast bleek dat teeltadviezen niet altijd werden opgevolgd. Uit de integrale toetsing bleek dat 60% van de preipercelen besmet was met Psp.

Probleemstelling

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.

Psp kent een bodemgebonden stadium. Besmetting vanuit grond is aangetoond binnen het onderzoek van de afgelopen 3 jaar. De grootste veroorzaker van bodembesmetting is de terugstort van preiafval afkomstig van geschoonde en latent besmette preiplanten. Met de huidige wetgeving is het niet mogelijk om preiafval op andere percelen terug te storten, dan het perceel van herkomst. Alternatieve mogelijkheden om preiafval te vernietigen, zoals verbranding of compostering zijn te duur of mogelijk niet haalbaar. Echter, behandeling van preiafval, al dan niet in combinatie van de juiste timing van terugstort op het opkweek- of productieperceel, kan bodembesmetting aanzienlijk reduceren. In dit voorstel worden maatregelen onderzocht die realistisch zijn voor de praktijk met als doel het besmettingsniveau van de bodem door Psp te reduceren. De bedoeling is om verkregen kennis toegankelijk te maken naar telers en kwekers.

Het voorgestelde onderzoek heeft de volgende doestellingen:

- Statistische analyse van de enquête, gehouden onder kwekers en telers in 2003.
- Integrale kennisoverdracht naar telers en kwekers

Plan van aanpak

Binnen het plan van aanpak, zoals geformuleerd in de projectbeschrijving, zijn de volgende twee punten onderzocht:

- Statische analyse van de enquête. Ism de statistische groep van W-UR zal de data van de enquête worden geanalyseerd, waardoor effecten van maatregelen op besmetting door Psp verduidelijkt zullen worden.
- Kennisoverdracht zal plaatsvinden via een flyer waarin teeltadviezen richting kwekers en telers worden gegeven. Uitgifte van de flyer zal samenvallen met een nieuwsbrief van LTOgroeiservice

De resultaten zullen worden besproken op basis van deze punten.

Statistische analyse van de enquête. De enquête met daaraan gekoppeld de veldbemonsteringen zijn beschreven in het verslag van 2004 (auteur Erwin Dekker). In het voorwoord van dit verslag staat de uitkomst van de statistische analyse vermeld. Hierbij samengevat de belangrijkste conclusies van de uitkomst van de statistische analyse:

- Het preiras heeft een significant effect op de epidemiologie van 'Pseudomonas in prei', waarbij vooral het ras Apollo opviel vanwege het lage aangetroffen besmettingsniveau,
- Andere parameters wijzen weliswaar op een effect op Pseudomonas onderdrukking in prei, maar omdat effecten niet statistisch kunnen worden onderbouwd zal er met voorzichtigheid moeten worden omgegaan met deze gegevens,
- In de praktijk van de preiteelt worden de 'Good Agricultural Practices' niet altijd nageleefd en dit kan tot gevolg hebben dat het pathogeen zich sterker manifesteert, maar het moet niet worden opgevat als de **oorzaak** van 'Pseudomonas in prei',
- Besmetting in jonge preiplanten van commerciële kwekers geeft aanleiding tot zorg omdat een deel van de besmetting mogelijk afkomstig is van besmette opgekweekte prei en hiervoor is verder onderzoek noodzakelijk.

Eind september werden alle plots bemonsterd en werden er mengmonsters van 3 willekeurig gekozen planten per plot geanalyseerd op aanwezigheid van Psp door uitplaten op medium semi-selectief voor Psp; MSPB1. In 16 van de 24 plots werd een besmetting aangetroffen. De hoogste besmetting was Log 6,22 kve/ g plant in de plots 23 en 24 en de laagste besmetting was Log 1 kve/ g plant in plots 9 en 13. In plots 1, 4, 7, 8, 10, 16, 19 en 22 waren geen besmettingen aangetroffen (detectiegrens: Log 0.8 kve/ g plant). Opvallend was dat ook niet behandelde plots waren besmet, hetgeen betekent dat het pathogeen zich heeft uitgebreid over de hele proeflocatie. Omdat de planten niet waren besmet tijdens de opkweek moet de besmetting zijn opgetreden tijdens of na de uitplant. Ten gevolge van de besmetting in de onbehandelde grond kan er geen uitspraak worden gedaan over het effect van de bodembehandelingen op onderdrukking van Psp in prei. Wel opvallend was de statistisch ($P < 0.05$) lagere aantallen Psp in het ras Apollo (gemiddeld $< \text{Log } 1 \text{ kve/ g plant}$) ten opzichte van de rassen Flextan (Log 3,46 kve/g plant) en Kenton (Log 4,57 kve/ g plant). Dit toont opnieuw het raseffect op Psp-besmetting aan, waarbij Apollo het meest resistent bleek te zijn ten opzichte van Flextan en Kenton. In maart 2006 werd de bemonstering en analyse herhaald en toen bleek dat 13 van de 24 plots waren besmet. Het aantal Psp kve's was rond de Log 1 per g plant voor alle drie de rassen. Dit betekent dat Psp kan overleven in winterprei, maar dat het aantal sterk is afgenomen.

Belangrijkste conclusies uit het veldexperiment zijn:

- een sterk raseffect op Psp besmetting, waarbij het ras Apollo het meest resistent blijkt te zijn ten opzichte van de andere geteste rassen, Flextan en Kenton.
- besmetting van Psp na uitplant ongemerkt optreedt. De oorzaak van deze besmetting is nog onduidelijk, maar is zeker niet afkomstig van besmet uitgangsmateriaal.

bijlage 1

Uitgedeelde folder tijdens de demonstratiemiddag van 28 oktober op de proeflocatie 'De Vredepeel'.

Bijlage 2

'Pseudomonas' in prei blijkt een algemeen probleem in Nederland

Oorzaken en oplossingen tot op de bodem uitgezocht

Leo van Overbeek

Onderzoeksleider 'Pseudomonas' in prei
Plant Research International Wageningen.

De preiteelt in Nederland is een kwetsbare sector. Naast de bekende ziekten en plagen in prei zoals Phytophthora, Alternaria en trips hebben preitelers laatste jaren te kampen met 'Pseudomonas'. Deze bacterieziekte in prei is verantwoordelijk voor omvangrijke productie verliezen waardoor de sector onder druk komt te staan. Resultaten van onderzoek naar de veroorzaker van de preiziekte, de bacterie *Pseudomonas syringae* pathovar *porri*, zijn recentelijk gepresenteerd tijdens studiebijeenkomsten in Maasbree, Gilzen en Kruishoutem (België). Het onderzoek wordt gezamenlijk uitgevoerd door Plant Research International, Praktijkonderzoek Plant en Omgeving, beide onderdeel van Wageningen UR en de Naktuinbouw. Produktschap Tuinbouw en Plantum financieren dit onderzoek. Gedurende drie jaar is de ecologie en epidemiologie van 'Pseudomonas' bestudeerd op een proeflocatie in Neer, en op commerciële teelt- en opkweekbedrijven. Het onderzoeksteam wordt ondersteund door LTO groeiservice, telers en kwekers, veredelaars en zaadbedrijven, en teeltadviseurs. De resultaten van het onderzoek geven de omvang van besmetting weer en laten een licht vallen op de belangrijkste oorzaken van 'Pseudomonas' in prei. Aan de hand van deze resultaten zijn een aantal maatregelen geformuleerd op het gebied van teelthandelingen, beleid en advisering.

Latente besmettingen. Een integrale toetsing op aanwezigheid van 'Pseudomonas' in 166 willekeurige preipercelen wees uit dat er 101 besmet waren variërend van licht tot zeer zwaar. Enkele telers hadden, op basis van aantastingsverschijnselen in prei die typisch zijn voor de ziekte, al een vermoeden dat 'Pseudomonas' aanwezig was op hun bedrijf, maar nu blijkt dat 'Pseudomonas' algemeen voorkomt in de Nederlandse preiteelt. De omvang verraste dan ook de gehele sector. Dat aanwezigheid van het pathogeen niet altijd overeenkomt met ziekteverschijnselen wijst erop dat besmetting latent voorkomt. Kennelijk kan 'Pseudomonas' zich lange tijd verschuilen en plotseling de kop opsteken na 'gunstige' weersomstandigheden zoals warmte, hoge luchtvochtigheid en soms na hevige regen- of hagelbuien. De mate van aantasting en productie verlies is grillig en dus onvoorspelbaar en verschilt per seizoen. Daarom mag latente besmetting van 'Pseudomonas' in prei terecht de tijdbom voor de preiteelt worden genoemd en bij 60 % van de preipercelen kan die bom elk teeltseizoen afgaan.

Besmetting vanuit grond. Hoe is het toch mogelijk dat een dergelijke omvangrijke besmetting zich heeft kunnen manifesteren in de preiteelt? De oorzaak zit in twee eigenschappen van het pathogeen, namelijk zaadoverdraagbaarheid en uitstekende overleving in gewasresten. Zaadoverdraagbaarheid is mogelijk de primaire oorzaak van besmetting, maar kan onmogelijk de huidige omvang van besmetting verklaren. Besmetting vanuit zaad lijkt in de meeste gevallen niet de

oorzaak van uitbraak te zijn. Daarnaast wordt preizaad van hoge kwaliteit geproduceerd door Nederlandse bedrijven en vindt er voortdurende controle op besmetting door 'Pseudomonas' plaats. Besmetting vanuit grond, en met name in gewas- en wortelresten, is veel waarschijnlijker en in de loop van het onderzoek is daar vooral de aandacht op gericht geweest. Bodembesmetting is te verklaren vanuit het typische karakter van de preiteelt, namelijk continueelt op arme en vooral zure gronden (dekzand), en terugstort van afval afkomstig na 'schonen' van de prei. Vooral dit laatste houdt besmetting in stand, want na oogst wordt prei gewassen en de buitenste bladeren verwijderd. De wetgeving schrijft voor dat het afval vernietigd moet worden, óf worden teruggereeden op het perceel van herkomst. De meeste telers kiezen voor het laatste en brengen onbewust besmet afval terug op hun perceel. Het huidige onderzoek heeft aangetoond dat 'Pseudomonas' goed overleeft in preiresten, vooral wanneer de temperatuur laag is waarbij vertering van de resten langzaam gaat. Zaaïen of uitplanten in besmette grond leidt automatisch tot besmetting in het volgende teeltseizoen.

Uit een enquête genomen bij telers en kwekers de afgelopen zomer blijkt inderdaad dat terugrijden van preiafval op het land tot een verhoogde kans op besmetting leidt. Echter, een deel van de telers hadden ook besmetting zonder dat er afval werd teruggereeden. De bron van besmetting kan dus ook van elders komen. Uit de analyse van de enquête werden twee alternatieve bronnen van besmetting zichtbaar. Telers die hun uitplantmateriaal van elders betrokken hadden vaker besmettingen dan zelfkwekers of zaaiers van prei. Uit analyses van monsters bij sommige preikwekers bleken zelfs alle bemonsterde planten besmet te zijn. Daarnaast bleek toppen van prei het risico op besmetting door 'Pseudomonas' te verhogen. Telers die aangaven dat ze meer dan twee keer per seizoen hadden getopt hadden in alle gevallen besmetting. Verontrustend was dat er veel geteeld werd op grond met een te lage pH waarde. Ongeveer 90 % van de monsters genomen van prei geteeld op grond met een pH-waarde die kleiner is dan 5.1, bleken te zijn besmet. Positief nieuws uit de enquête is er ook te melden, namelijk dat raskeuze en voorvrucht invloed heeft op besmetting. Er werd geen besmetting aangetroffen in het ras Apollo tijdens de integrale monsternamen. Uit veldstudies blijkt dat Apollo op twee manieren weerbaar is tegen 'Pseudomonas'; ten eerste is de frequentie van besmetting lager dan bij andere rassen en ten tweede, is het niveau van besmetting lager dan bij de andere getoetste rassen. Gras als voorvrucht resulteert in afwezigheid van besmetting in prei. Ook deze waarneming is bevestigd in het laboratorium, namelijk, grond afkomstig uit permanent grasland blijkt 'Pseudomonas' zeer sterk te weren.

Mogelijkheden tot terugdringen van 'Pseudomonas' in prei. Beheersing van besmettingen van 'Pseudomonas' in prei is mogelijk zonder inzet van chemische middelen. Veredeling op resistentie tegen 'Pseudomonas' zou een goede optie zijn en daarvoor is kennis nodig over het mechanisme van resistentie in het ras Apollo. De wijze waarop dit ras de populatieopbouw van het pathogeen tegengaat is hoopvol voor kruisingen tot nieuwe resistente rassen. Ziektewering in grond is ook een optie om de omvang van de epidemie te beperken. Ziektewering is aangetroffen in grond waarop 23 jaar continu prei is geteeld en waarbij bijna elk jaar afval op het perceel werd teruggereeden. Een nieuw onderzoeksprogramma bij Plant Research International, gefinancierd vanuit gelden afkomstig van aardgaswinning door de Nederlandse overheid, zal zich richten op het mechanisme van ziektewering met prei en 'Pseudomonas' als model. Dit onderzoek moet technieken opleveren waarmee het optreden van weerbaarheid op den duur kan worden voorspeld. Grond kan ook

weerbaarder worden gemaakt door toevoeging van organisch stof. Zo bleek kippenmest de aantasting van prei door 'Pseudomonas' te beperken.

Activiteiten om de epidemie te beheersen moeten gericht zijn op de bodem. De wetgeving op het punt van terugrijden van preiafval zal moeten worden aangepast waardoor het voor telers mogelijk wordt om terug te rijden op alternatieve percelen waar andere, ongevoelige gewassen worden geteeld. Daarnaast kan het tijdstip van terugrijden en behandeling van preiafval bepalend zijn voor de mate van besmetting in de vervolgteelt. Opties zijn: langere periodes tussen terugrijden en uitplant of inzaai en fijn malen van het afval waardoor vertering sneller verloopt en overleving van 'Pseudomonas' in grond korter is. Op vatbare grond zouden resistente rassen de voorkeur moeten hebben, terwijl op weerbare gronden alle rassen geteeld kunnen worden. Ook zou tijdens teeltadvisering de nadruk moeten worden gelegd op bodemkeuze en hygiëne, vooral tijdens het toppen van prei. Tenslotte lijkt toediening van kalium een gunstig effect te hebben op de mate van aantasting door 'Pseudomonas'. Het effect van kalium is waarschijnlijk plantversterking, maar er is binnen het huidige onderzoek nog onvoldoende aandacht aan besteed. Het is vooralsnog onduidelijk of door toediening van kalium latente besmetting daadwerkelijk wordt verminderd.

Toekomstperspectief. Volledige uitroeiing van 'Pseudomonas' wordt niet beoogd met de huidige voorgestelde maatregelen, maar wel sterke reductie van de epidemie. Door gebrek aan effectieve middelen tegen 'Pseudomonas' is de preisector gedwongen tot duurzame maatregelen in de productieteelt. De voorgestelde maatregelen zijn milieuvriendelijk en hebben geen nadelig effect op voedselveiligheid. Door toepassing van die maatregelen zal de preisector de uitstraling hebben van een duurzame en milieuvriendelijke teelt die mogelijk model kan staan voor de toekomstige landbouw binnen Europa. Vooralsnog is de preisector alleen gebaat bij vermindering van productieverlies, waardoor de preiteelt in Nederland van een zware druk wordt ontlast. Gezien de uitkomsten van het lopende onderzoek naar 'Pseudomonas' in prei wordt verwacht dat onderdrukking van de epidemie op korte tot middellange termijn haalbaar is.