

Beheersing van *Pseudomonas syringae* pathovar *porri*, de veroorzaker van bacterievlekkenziekte in prei, onder Nederlandse teeltomstandigheden

Els Nijhuis¹, Johnny Visser², Gijs van Kruistum² en Leo van Overbeek¹

¹ Plant Research International B.V., Wageningen

² Praktijkonderzoek Plant en Omgeving, Lelystad

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.

Plant Research International B.V.

Adres : Droevendaalsesteeg 1, Wageningen
: Postbus 16, 6700 AA Wageningen
Tel. : 0317 - 47 60 41
Fax : 0317 - 42 31 10
E-mail : leo.vanoverbeek@wur.nl
Internet : <http://www.wur.nl>

Inhoudsopgave

Inleiding	3
A Overleving van <i>P. syringae</i> pv <i>porri</i> in de bodem	6
B Vatbaarheid van preirassen	7
C Alternatieve teeltopties	11
D Natuurlijke wering in praktijkpercelen	13
Discussie	14
Conclusies	15
Aanbevelingen	15
Bijlagen	16

Inleiding.

Onderzoek naar de ecologie en epidemiologie van *Pseudomonas syringae* pathovar *porri* (*Psp*) is uitgevoerd in 2002 en 2003 en gerapporteerd naar Productschap tuinbouw in 2003. De belangrijkste conclusies uit het onderzoek waren:

- 1 Het voorkomen van (latente) besmettingen in opkweek en teelt van prei variërend in niveau van 10^4 tot 10^{10} kolonievormende eenheden (kve) per gram plant.
- 2 Overleving van meer dan 60 dagen van *Psp* in gewasresten van prei in grond.
- 3 Het voorkomen van besmetting en symptomen van bacterievlekkenziekte, ondanks afwezigheid van *Psp* in preizaad dat werd gebruikt voor opkweek in het proefperceel te Neer (perceel dat langdurend is besmet met *Psp*).
- 4 Verschil in expressie van symptomen van bacterievlekkenziekte in verschillende rassen.
- 5 Matig tot zwakke onderdrukking van bacterievlekkenziekte na gewasbehandeling met diverse middelen.

Dit onderzoek toonde aan dat *Psp* in prei een bodemgebonden stadium kent, ondanks dat het pathogeen in de literatuur wordt beschreven als bladpathogeen. Eén op één teelt van prei in combinatie van het terugbrengen van geschoond preiafval (preiresten en water afkomstig van geoogste prei die op het teeltbedrijf wordt schoongemaakt voor de handel wordt dikwijls teruggebracht op het productieveld) vormt waarschijnlijk de belangrijkste bron van besmetting van zowel gezaaide als uitgeplante prei. Met name het voorkomen van latente besmettingen in prei (besmettingen zonder zichtbare symptomen) vormen een permanente bedreiging voor de preiteelt.

Maatregelen om *Psp* in de Nederlandse preiteelt te beheersen zouden gericht moeten zijn op besmettingen van de bodem. Bodemmaatregelen ter voorkoming of inperking van besmettingen werden aanbevolen in de rapportage van 2003. Herhaaldelijke besmettingen van percelen door *Psp* in combinatie met 1 op 1 teelt van prei hoeft niet altijd tot oogstvermindering te leiden. Vanuit de praktijk komen regelmatig meldingen van percelen met maximale opbrengst ondanks continue teelt en terugstort van geschoond afval. Mogelijk speelt bodemweerbaarheid (natuurlijke wering van bodems tegen pathogenen t.g.v. biotisch of abiotische factoren) bij sommige percelen een belangrijke rol.

Een belangrijke maatregel kan zijn; toepassing van (gedeeltelijk) resistente rassen in een opkweek en/ of teeltomgeving die gevoelig is voor *Psp*. Met name het ras Apollo blijkt minder gevoelig te zijn voor uitbraak van bacterievlekkenziekte dan andere rassen, waardoor inzet van *Psp*-resistentere rassen een optie lijkt.

De infectieroute van *Psp* vanuit grond naar de plant is onduidelijk. Mogelijke invalsroutes kunnen zijn: verwondingen door toppen van prei (afsnijden van bovenste prei bladeren tijdens opkweek en productie), verwondingen ten gevolge van mechanische beschadigingen tijdens opkweek (inloop en landbouwmachines e.d.), verwondingen tijdens hevige (hagel) buien, verwondingen door het bodemleven (andere parasieten en pathogenen), oppervlakte-actieve verbindingen (surfactantia) in bestrijdingsmiddelen en ophoping van opgespat (besmet) regenwater in de schacht.

De speerpunten van aanvullend onderzoek in 2003 en 2004 zijn daarom:

- Bodemmaatregelen om *Psp*-besmettingen te voorkomen of te beperken
- Frequentie en mate van voorkomen van *Psp*-besmettingen in verschillende preirassen
- Hygiëne ter voorkoming van besmettingen tijdens opkweek en productie van prei

Doelstellingen van het huidig onderzoek zijn als volgt geformuleerd:

- Overleving van *P. syringae* pv *porri* in grond met preiafval en nabij preiwortels onder verschillende condities die relevant zijn voor Nederlandse productieomstandigheden (bodemkwaliteit, temperatuur en vochtgehalte)
- Vatbaarheid (resistentie, tolerantie) van verschillende preirassen voor *P. syringae* pv *porri*
- Invloed van alternatieve teeltopties op overleving van *P. syringae* pv *porri* in percelen die gebruikt worden voor preiteelt
- Onderzoek naar weerbaarheid van percelen tegen *P. syringae* pv *porri* in percelen met een lange historie van preiteelt waarbij geen incidenties van bacterievlekkenziekte zijn waargenomen.

Om deze doelstellingen te bereiken werd het plan van aanpak in het onderzoeksvoorstel als volgt geformuleerd:

A. *Overleving van P. syringae pv porri in de bodem.* Overleving van een geïntroduceerde populatie van *P. syringae* pv *porri* in grond wordt onderzocht na toevoeging van besmet preimateriaal in het laboratorium (microcosmos) en in het veld. Enkele nader te kiezen variabelen in bodemcondities worden bestudeerd zoals bodemkwaliteit, temperatuur, vochtgehalte en aanwezigheid van de gastheerplant. Afgifte van het pathogeen vanuit besmet preimateriaal naar de bodem wordt vastgesteld, alsmede de overleving van het pathogeen in besmet preimateriaal na vermenging in grond. De infectieroute en het transport van *P. syringae* pv *porri* in de plant wordt vastgesteld. In dit verband wordt ook de mogelijke inwendige besmetting van het zaad vastgesteld.

B. *Vatbaarheid van preirassen.* Diverse rassen worden geselecteerd door de stuurgroep op basis van praktijkervaringen. Deze rassen worden uitgezet in het proefveld te Neer, kunstmatig besmet met *P. syringae* pv *porri* en opgekweekt onder praktijkomstandigheden. Gedurende het groeiseizoen worden de planten gemonitord op symptomen en aanwezigheid van het pathogeen in het gewas, teneinde tolerantie van resistentie te kunnen onderscheiden. Onder geconditioneerde omstandigheden wordt een standaard toets voor vatbaarheid ontwikkeld.

C. *Alternatieve teeltopties.* In overleg met de stuurgroepleden worden alternatieve gewassen en/ of bodemmaatregelen voorgesteld die acceptabel zijn voor de praktijk. Natuurlijke en/ of kunstmatig besmette bodems worden beplant met alternatieve gewassen, vermengd met organische verrijkmiddelen en/of braak gelaten en de overleving van de *P. syringae* pv *porri* wordt bestudeerd in deze bodems. Eventueel wordt de bodem in een volgend seizoen beplant met een vatbaar preiras teneinde definitieve uitdoving te kunnen vaststellen. Dit onderzoek zal pas gebeuren na vaststelling van eventueel vervolg op het huidige in-te-dienen voorstel.

D. *Natuurlijke wering in praktijkpercelen.* Kandidaat percelen worden geselecteerd op basis van langdurige continue preiteelt waarbij geen ziekte-incidenties in het recente verleden zijn waargenomen. Als controle wordt grond uit een aanpalende perceel bestudeerd dat niet eerder is gebruikt voor preiteelt, teneinde het effect van de bodemsoort te reduceren. De teelthistorie van geselecteerde percelen wordt zorgvuldig vastgelegd. Bodemmonsters worden onderzocht op hun potentie tot onderdrukking van een geïntroduceerde populatie van *P. syringae* pv *porri* d.m.v. overleving en ziektevering. Natuurlijke isolaten uit de bodem worden geïsoleerd op basis van onderdrukking van *P. syringae* pv *porri* onder geconditioneerde (laboratorium) omstandigheden. Geselecteerde isolaten worden geregistreerd en opgeslagen voor eventueel vervolgonderzoek en/ of uitbreiding in alternatieve programma's gericht op ziekteonderdrukking in prei.

De verwachte resultaten zijn kennis over de mogelijkheid van infectie vanuit de bodem naar niet-besmette preiplanten, kennis over verschil in rasgevoeligheid voor besmetting en symptoomexpressie, kennis over alternatieve teeltopties om bodembesmettingen te onderdrukken en kennis over natuurlijke wering tegen *Psp* in percelen met continueelt van prei. Met behulp van deze kennis kunnen aanbevelingen worden gedaan naar de praktijk om oogstuitval t.g.v. bacterievlekkenziekte in prei te beperken of te voorkomen.

Het onderzoek dat werd verricht in 2003 en 2004 wordt beschreven volgens het plan van aanpak A – D in het onderzoeksvoorstel. Conclusies en aanbevelingen worden gedaan aan de hand van de resultaten van het huidige én het voorafgaande onderzoek.

A Overleving van *P. syringae* pv *porri* in de bodem.

Overleving van een geïntroduceerde populatie van P. syringae pv porri in grond wordt onderzocht na toevoeging van besmet preimateriaal in het laboratorium (microcosmos) en in het veld. Enkele nader te kiezen variabelen in bodemcondities worden bestudeerd zoals bodemkwaliteit, temperatuur, vochtgehalte en aanwezigheid van de gastheerplant. Afgifte van het pathogeen vanuit besmet preimateriaal naar de bodem wordt vastgesteld, alsmede de overleving van het pathogeen in besmet preimateriaal na vermenging in grond. De infectieroute en het transport van P. syringae pv porri in de plant wordt vastgesteld. In dit verband wordt ook de mogelijke inwendige besmetting van het zaad vastgesteld.

Aan het einde van de winter van 2003 werd de grond in het proefperceel in Neer bemonsterd en geanalyseerd op aanwezigheid van *Psp*. Daarvoor werd grond gefractioneerd in 3 fracties: 1) herkenbare plantenresten, 2) grond fractie 2-4 mm, 3) grond fractie <0.4 mm. *Psp* is in geen van de fracties aangetroffen. Echter in plantenresten zijn hoge aantallen op *Psp* lijkende kolonies gevonden, maar geen van de isolaten toonde gelijkenis met *Psp* na Box-PCR en specifieke PCR analyse. Omdat *Psp* niet aantoonbaar was in de bodem werd besloten om het proefveld te inoculeren met *Psp* door besmette preiplanten die op het veld hadden overwinterd te versnipperen en in te frezen in de grond. Verdere experimenten met besmette grond wordt beschreven onder punt B

Om de route van infectie van *Psp* in prei vast te stellen werd een kasexperiment met jonge preiplanten (1 maand) opgezet. Preiplanten werden geïnoculeerd met 30 µl 10⁹ kve *Psp* stam P55, alleen of in combinatie met bladbeschadiging (carborundumpoeder) of surfactant (Silwet L77) om de kans op penetratie van stam P55 in prei te vergroten. In een aparte behandeling werd stam P55 toegevoegd aan grond tot een niveau van 3. 10⁸ kve/ g grond. Planten werden na inoculatie 2 weken geïncubeerd in de kas bij 16 uur licht (21⁰C) en 8 uur donker (18⁰C). Symptomen typerend voor bacterievlekkenziekte (doorschijnende lesies in het blad, gevolgd door vergeling, verkurking en uiteindelijk kromming van het blad) werden gescoord.

Behandeling met water, met of zonder beschadiging door carborundumpoeder, of in combinatie met Silwet L77 (negatieve controles) leidde niet tot symptoomontwikkeling typerend voor bacterievlekkenziekte. Tevens werden geen *Psp* kve's aangetoond na analyse van het blad op de plaatsen van inoculatie, of in de wortelbasis en wortel bij inoculatie in grond. Echter, inoculatie van blad met stam P55 in combinatie met carborundumpoeder of Silwet L77 leidde wel tot lichte symptoomontwikkelingen, hoewel verdere symptoomontwikkelingen uitbleven. Uit analyse van bladdelen op de inoculatieplaats en op enige afstand van de plaats van inoculatie (bepaald op 14 en 21 dagen na inoculatie) bleek dat stam P55 kve's aanwezig waren bij behandelingen met alleen stam P55 op het blad en in de schacht en in combinatie met carborundumpoeder en Silwet L77 op het blad (Tabel 1). Inoculatie met stam P55 zonder en met Silwet L77 gaven de hoogste besmetting na 1 week (Log 8.8 en 8.9 kve per g blad, respectievelijk) terwijl behandelingen met carborundumpoeder en toediening in de schacht 4 ordes van grootte lager waren. Systemische verspreiding van besmetting werd alleen waargenomen met de behandeling met Silwet L77 na 14 dagen.

Toediening van stam P55 aan grond leidde tot besmetting van de wortel en wortelbasis tot een niveau van ongeveer Log 5 kve/ g plant. Besmetting werd ook in

hogere delen van de plant waargenomen (stengel), echter het niveau was 1-2 ordes van grootte lager. Na 3 weken waren stam P55 kve waargenomen in de stengelbasis, maar niet meer in de overige bemonsterde delen van de plant (stengel en wortel).

Deze resultaten tonen aan dat verschillende routes van infectie naar de plant mogelijk zijn. Alleen inoculatie van stam P55 met Silwet L77 en inoculatie in grond leidde tot systemische verspreiding en mogelijke vestiging van het pathogeen in prei.

Tabel 1. Aanwezigheid van *Psp* stam P55 na inoculatie op en rondom prei en het effect van plantbeschadiging (carborundumpoeder) of surfactant (Silwet L77) op binnendringing.

Plaats van inoculatie en behandeling	Plaats van bemonstering	Log kve per g plant na:		
		7 d	14 d	21 d
blad	blad	8.8	5.2	BD
Blad + Carborundum	Blad	4.0	BD	BD
Blad + Silwet L77	Blad	8.9	NB	BD
	Blad punt	NB	6.1	BD
	Blad basis	NB	2.4	BD
Grond	Wortel	4.8	5.3	BD
	Wortelbasis	5.5	3.6	4.9
	stengel	3.7	3.6	BD

NB: niet bepaald

BD: Beneden detectie niveau (ca 10 kve/ g plant)

B Vatbaarheid van preirassen:

*Diverse rassen worden geselecteerd door de stuurgroep op basis van praktijkervaringen. Deze rassen worden uitgezet in het proefveld te Neer, kunstmatig besmet met *P. syringae* pv. *porri* en opgekweekt onder praktijkomstandigheden. Gedurende het groeiseizoen worden de planten gemonitord op symptomen en aanwezigheid van het pathogeen in het gewas, teneinde tolerantie van resistentie te kunnen onderscheiden. Onder geconditioneerde omstandigheden wordt een standaard toets voor vatbaarheid ontwikkeld.*

Het effect van grondinoculatie op besmetting van 4 verschillende preirassen werd getoetst met de rassen Roxton, Flextan, Kenton en Apollo. Hiervoor werd stam P55 toegevoegd aan grond tot een niveau van 10^8 kve/g grond. Eén-maand oude planten (2 per ras) werden overgezet op geïnoculeerde grond en verder opgekweekt volgens de hierboven beschreven condities. Na 2 weken zijn de volgende onderdelen van iedere plant bemonsterd: blad, schacht, wortelschijf (overgang schacht naar wortel) en wortels. Alleen in de wortelschijf zijn kolonies van stam P55 aangetroffen op een niveau van: 6.0×10^2 (Flextan), 2.7×10^5 (Kenton) en 1.1×10^3 (Apollo) cfu/g grond. Alleen in wortels van het ras Apollo zijn stam P55 kve's aangetroffen tot een niveau van 1.1×10^5 cfu/g grond.

Het effect van (organische) meststoffen, zaaidichtheid en plantbeschadiging door gesimuleerde hagel op aantasting door *Psp* in de opkweek van preiplanten werd

getoetst met de preirassen Flextan, Kenton en Apollo op het proefveld te Neer. De mate van besmetting op de proeflocatie is in de rapportage van 2002 uitvoerig beschreven en voorafgaand aan het experiment zijn besmette preiplanten in de grond gefreesd (zie onderdeel A). In het voorjaar van 2003 zijn de rassen Apollo, Kenton en Flextan uitgezaaid op het proefveld en de behandelingen aangelegd omschreven in tabel 2. Met een datalogger zijn bodem- en luchttemperaturen geregistreerd, alsmede de relatieve luchtvochtigheid (zie bijlage 2).

Tabel 2. Behandelingen toegepast in het veldexperiment te Neer met de rassen Apollo, Kenton en Flextan. Voor schematische weergave van het proefveld, zie bijlage 1.

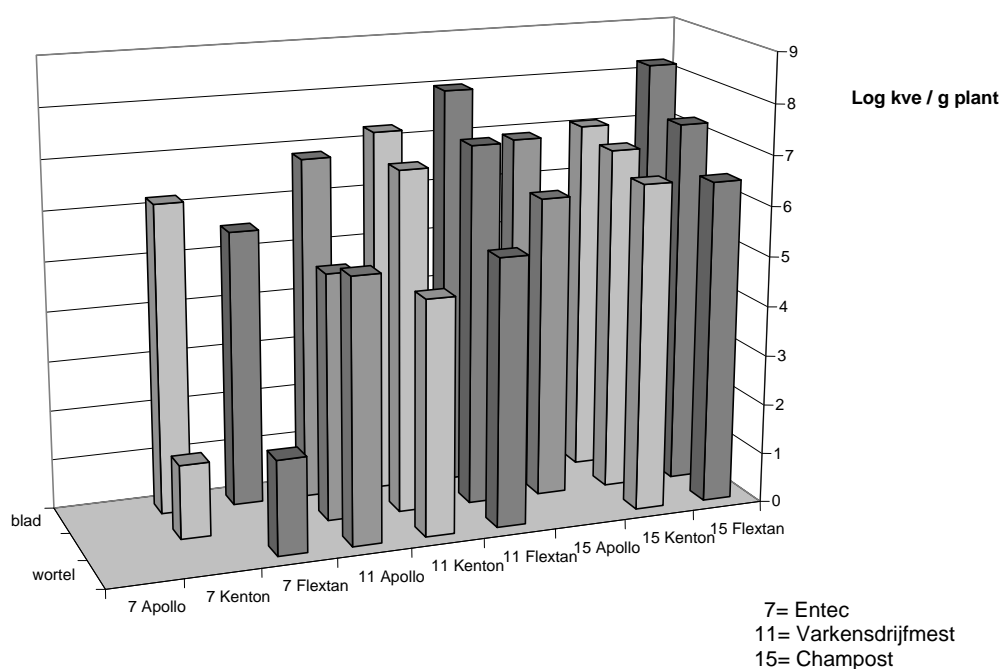
Behandeling	Code	omschrijving
Bemesting	G1	Standaard bemesting met Entec bij zaai
	G2	Champost (50 m ³ /ha)
	G3	Varkensdrijfmest (25 m ³ /ha)
Zaadichtheid	Z1	Standaard; 0,8 cm in de rij
	Z2	Verlaagd; 1,1 cm in de rij
Beschadigen planten	B1	Niet beschadigen, grond losmaken na regen
	B2	Beschadigen (hagelmachine) bij droog weer
	B3	Beschadigen (hagelmachine) bij nat weer / nat gewas

De mate van aantasting van de 3 rassen is bepaald op 13 en 30 Juni (10 en 11 weken na inzaai). De hoogste aantasting is waargenomen bij Flextan en de laagste bij Apollo, zowel op 10 als 11 weken na inzaai (Tabel 3). Hieruit blijkt dat er een verschil is in vatbaarheid van ras voor *Psp*; Apollo minst gevoelig, gevolgd door Kenton en tenslotte bleek Flextan het meest gevoelig te zijn. Er is geen effect van de behandeling waargenomen op de mate van aantasting. De mate van aantasting is rasafhankelijk en komt overeen met de aangetoonde besmettingen in figuur 1

De mate van besmetting van 3 rassen, Apollo, Kenton en Flextan is 8 weken na inzaai bepaald (31 mei). Hiervoor zijn bladmonsters (blad en wortel) van ieder ras, behandeld met Entec, varkensdrijfmest en champost geanalyseerd op aanwezigheid *Psp* kve's. Met uitzondering van Apollo behandeld met Entec werden in alle monsters *Psp* aangetoond (Fig. 1). Hogere aantallen kve's werden aangetoond in het blad dan in de wortel ongeacht ras of behandeling. De behandeling met Entec leidde tot lagere besmettingen (variërend van niet detecteerbaar tot log 6 kve/ g plant) dan de 2 andere behandelingen (varkensdrijfmest en champost; variërend tussen log 4.5 to 8 kve/ g plant). De laagste besmetting werd aangetroffen in het ras Apollo (variërend tussen niet detecteerbaar en Log 7 kve per g plant), gevolgd door Kenton (variërend tussen Log 1 en Log 7 kve/ g plant) en dan Flextan (variërend tussen Log 2 en log 8 kve/ g plant).

De mate van aantasting van de 3 rassen is bepaald op 13 en 30 Juni (10 en 11 weken na inzaai). De hoogste aantasting is waargenomen bij Flextan en de laagste bij Apollo, zowel op 10 als 11 weken na inzaai (Tabel 3). Hieruit blijkt dat er een verschil is in vatbaarheid van ras voor *Psp*; Apollo minst gevoelig, dan Kenton intermediair en Flextan het meest gevoelig. Er is geen effect van de behandeling

waargenomen op de mate van aantasting. De mate van aantasting is rasafhankelijk en komt overeen met de aangetoonde besmettingen in figuur 1



Figuur 1. Mate van besmetting van 3 preirassen (Apollo, Kenton en Flextan) door *Psp* in grond behandeld met Entec, varkensdrijfmest en champing (details zie tabel 2), 8 weken na inzaai op de proeflocatie te Neer.

Tabel 3. *Psp*-aantasting in het proefveld te Neer bepaald op 10 en 11 weken na inzaai (13 en 20 juni).

Ras	<i>Psp</i> -aantasting 13 juni ¹⁾	<i>Psp</i> -aantasting 20 juni ¹⁾
Apollo	0,04	0,43
Kenton	0,28	1,81
Flextan	1,60	2,93
<i>Fprob</i>	<0,001	<0,001
<i>LSD (0,05)</i>	0,267	0,166

¹⁾ Aantastingsschaal: 0 = geen aantasting, 3 = zwaar aangetast

Op 11 juli is de opkweekproef beëindigd en zijn er planten opgerooid voor de uitplantproef. Per bemestingsobject zijn wel en niet beschadigde planten (van elk ras van de standaardzaai) opgerooid en uitgeplant. In de uitplantproef zijn dezelfde drie bemestingsobjecten aangelegd als in de opkweekproef (champost, varkensdrijfmest en Entec). Tijdens de uitplantproef is nagenoeg geen aantasting en uitval waargenomen. In de proef uitgevoerd in 2002 werd wel plantuitval waargenomen. De gewasstand van Flextan was gemiddeld iets slechter dan Apollo en Kenton, mogelijk t.g.v. *Psp*-aantasting in de opkweek. Opmerkelijk is dat ondanks de zeer zware aantasting op het

plantenbed er in de teelt (bijna) geen aantasting is waargenomen. Het zeer droge weer heeft waarschijnlijk een grote rol gespeeld (proefveld is nog wel enkele keren berekend). Verder zijn er in de uitplantproef geen onbesmette planten uitgeplant waardoor vergelijk met gezonde planten niet mogelijk is.

Echter, besmetting in planten voorafgaand (bepaald op 5 maart) en na uitplant (bepaald op 6 augustus en 10 oktober) is aangetoond in bladeren van alle drie rassen. De hoogste besmetting in bladeren is aangetoond in het ras Flextan (log 8.20 kve/ g plant) op 6 augustus en de laagste in Apollo op 5 maart (log 2.29 kve/ g plant). *Psp* kve's werden ook aangetoond in jonge bladeren (alleen Kenton en Flextan), schacht (alle rassen), wortel alle rassen) en in grond rondom de wortel (Kenton en Flextan). Opnieuw wordt hetzelfde beeld van rasgevoeligheid op mate van besmetting aangetoond, waarbij geldt dat Apollo de minst gevoelige is en Flextan meest. Opvallend is dat ondanks afwezigheid van zichtbare symptomen toch besmetting is tot een niveau van log 8.20 kve/ g plant (Flextan, 6 aug). Dit betekent dat er altijd rekening gehouden moet worden met latente besmetting van *Psp* in de preiteelt, zelfs onder omstandigheden die ongunstig zijn voor symptoomontwikkeling.

Tabel 4. Besmettingsniveau van 3 preirassen op de proeflocatie te Neer voorafgaand en na uitzaai.

Datum	ras	Log kve/ g plant of g droge grond bepaald in:					
		blad	jong blad	schacht	wortel	rhizosfeer	grond
05-mrt-04	Apollo	2.29	BD	BD	0.85	BD	BD
05-mrt-04	Kenton	5.06	4.15	2.96	2.40	2.86	1.96
05-mrt-04	Flextan	4.77	BD	3.09	0.48	NA	1.82
06-aug-03	Apollo	3.31	NB	BD	BD	BD	BD
06-aug-03	Kenton	7.72	NB	3.04	3.30	4.43	3.15
06-aug-03	Flextan	8.20	NB	3.44	3.19	4.89	NA
10-okt-03	Apollo	4.52	BD	1.20	1.40	BD	NB
10-okt-03	Kenton	5.91	1.83	1.46	3.51	4.28	NB
10-okt-03	Flextan	5.51	2.74	2.94	3.04	5.63	NB

NB: niet bepaald

BD: Beneden detectie niveau (ca 10^1 kve/ g plant of 10^2 kve/ g droge grond)

C Alternatieve teeltopties.

*In overleg met de stuurgroepleden worden alternatieve gewassen en/ of bodemmaatregelen voorgesteld die acceptabel zijn voor de praktijk. Natuurlijke en/ of kunstmatig besmette bodems worden beplant met alternatieve gewassen, vermengd met organische verrijkmiddelen en/of braak gelaten en de overleving van de *P. syringae* pv *porri* wordt bestudeerd in deze bodems. Eventueel wordt de bodem in een volgend seizoen beplant met een vatbaar preiras teneinde definitieve uitdoving te kunnen vaststellen. Dit onderzoek zal pas gebeuren na vaststelling van eventueel vervolg op het huidige in-te-dienen voorstel.*

Het effect van bodemtoevoegingen, Entec, varkensdrijfmest en champost is getoetst in het proefveld te Neer. Dit experiment is geïntegreerd uitgevoerd met de rassenvatbaarheidstoets vandaar dat de gegevens van deze proef zijn beschreven onder punt B.

Het effect van toevoeging van (organische) meststoffen, een antagonist en plantbeschadiging door gesimuleerde hagel, op aantasting door *Psp* werd getoetst (Tabel 5). Het experiment werd uitgevoerd met het preiras Flextan, in plastic bakken (15 L) gevuld met een standaard mengsel van potgrond en zand (1:1). Per bak werden op 2 april 60 zaden gelegd; 3 rijen van 20 zaden met een afstand van 1 cm per zaad en 10 cm tussen de rijen. De grondmengsels zijn kunstmatig besmet met *Psp* stam P55. Per bak werd 75 gram licht geblenderte stukjes preiblad van 1 à 2 cm en 75 ml stam P55 suspensie met de grond vermengd. Het preiblad was afkomstig van besmette planten uit het proefveld te Neer. In deze proef werd in het najaar van 2002 nog een zware aantasting waargenomen.

Negen weken na zaai werd een deel van de planten nogmaals kunstmatig besmet door bespuiting met een suspensie van stam P55 (dichtheid: 10^9 kve/ ml). Vier uur na deze kunstmatige besmetting werd een gedeelte beschadigd door de “hagelmachine” (beschadiging door gesimuleerde hagel). Het experiment werd uitgevoerd onder niet geconditioneerde omstandigheden in de openlucht. Met een datalogger zijn bodem- en luchttemperaturen geregistreerd, alsmede de relatieve luchtvochtigheid (zie bijlage 3).

Acht en tien weken na inzaai werden de preiplanten beoordeeld op symptomen van bacterievlekkenziekte; op een schaal van 0 - 3: 0 niet aangetast en 3 volledig aangetast. Twaalf weken na zaai werden 40 planten nogmaals beoordeeld. Het experiment werd 2 april ingezet (grondmengsels gemaakt en zaden gelegd). Acht weken na zaai werden alle bakken bijbemest met omgerekend 50 kg N / ha. Op 6 juni werd, voorafgaand aan het aanbrengen van de hagelschade, de kunstmatige besmetting met *P s porri* suspensie uitgevoerd.

De aantasting na kunstmatige behageling was hoger dan voorafgaand aan de behageling (Tabel 6). De verschillende behandelingen hadden geen duidelijk effect op onderdrukking van aantasting, m.u.v. de behandelingen met champost en kippenmest en de grond waarop 23 jaar continueelt van prei heeft plaatsgevonden. De mate van aantasting in grond met 23 j continueelt van prei is zelfs significant lager tijdens de eerste twee beoordelingstijdstippen dan de andere behandelingen. Kennelijk is deze grond weerbaar geworden tegen *Psp* t.g.v. continue blootstelling aan het pathogeen.

Tabel 5. Behandelingen toegepast in de bakkenproef bij PPO te Lelystad met de rassen Apollo, Kenton en Flextan.

Factor	Niveau	
Omschrijving	Omschrijving / instelling	
Grondmengsel	G0	Standaard* zonder <i>Psp</i> -besmetting
	G1	Standaard met <i>Psp</i> -besmetting**
	G2	G1 + champost (50 m ³ /ha)
	G3	G1 + kippenmestkorrels (5 ton / ha)
	G4	G1 + varkensdrijfmest (25 m ³ /ha)
	G5	G1 + rundveedrijfmest (35 m ³ /ha)
	G6	G1 + antagonist (P60) gewasbespuitingen 5 en 7 weken na zaai
	G7	G1 + extra kali-gift, 200 kg K ₂ O / ha bij zaai en 6 weken na zaai nogmaals 200 kg K ₂ O / ha.
	G8	Standaard met <i>Psp</i> -besmet plantmateriaal, maar zonder extra besmetting met <i>Psp</i> -suspensie
G9	Grond afkomstig van perceel met 23 j continue teelt prei. Besmetten met <i>Psp</i> , gelijk aan G1.	
Beschadigen planten	B1	Niet beschadigen
	B2	Wel beschadigen (hagelmachine)
Spray-inoculatie met <i>Psp</i>	S1	Bespuiting met water
	S2	Bespuiting met <i>Psp</i> -suspensie (isolaat P55)

Tabel 6. Aantasting ten gevolge van *Psp* stam P55 bij diverse behandelde gronden (zie tabel 5), alsmede grond van een teeltperceel met een historie van 23 jaar continue teelt van prei.

Object	Behandeling	Aantasting t.g.v. <i>Psp</i> ¹⁾		
		3 juni (voor hagelschade) ¹⁾	13 juni (na hagelschade) ¹⁾	8 juli
G 0	Standaard – P55	0,97 d	1,03 c	1,77 ab
G 1	Standaard + P55	0,97 d	1,06 c	1,93 ab
G 2	G1 + champost	0,22 ab	0,84 bc	2,24 ab
G 3	G1 + kippenmest	0,22 ab	0,66 bc	0,83 a
G 4	G1 + VDM	0,69 cd	0,94 bc	2,19 ab
G 5	G1 + RDM	0,56 bcd	0,88 bc	2,81 b
G 6	G1 + P60	0,56 bcd	1,03 c	2,34 ab
G 7	G1 + K	0,38 abc	0,94 bc	1,35 ab
G 8	G1 - suspensie	0,56 bcd	1,06 c	2,34 ab
G 9	Continue teelt + P55	0,06 a	0,38 a	1,25 ab
<i>F</i> prob		<0,001	<0,001	0,355
<i>LSD</i> (0,05)		0,42	0,34	1,603

¹⁾ Schaal van aantasting: 0 = geen aantasting, 3 = zwaar aangetast

D Natuurlijke wering in praktijkpercelen

*Kandidaat percelen worden geselecteerd op basis van langdurige continue preiteelt waarbij geen ziekte-incidenties in het recente verleden zijn waargenomen. Als controle wordt grond uit een aanpalende perceel bestudeerd dat niet eerder is gebruikt voor preiteelt, teneinde het effect van de bodemsoort te reduceren. De teelthistorie van geselecteerde percelen wordt zorgvuldig vastgelegd. Bodemmonsters worden onderzocht op hun potentie tot onderdrukking van een geïntroduceerde populatie van *P. syringae pv porri* d.m.v. overleving en ziektevering. Natuurlijke isolaten uit de bodem worden geïsoleerd op basis van onderdrukking van *P. syringae pv porri* onder geconditioneerde (laboratorium) omstandigheden. Geselecteerde isolaten worden geregistreerd en opgeslagen voor eventueel vervolgonderzoek en/ of uitbreiding in alternatieve programma's gericht op ziekteonderdrukking in prei.*

Natuurlijke wering is bepaald en vastgesteld bij 1 bedrijf. De resultaten zijn beschreven onder onderdeel C. Gezien de beperkte omvang van dit onderdeel is besloten om in 2004-2005 het effect van deze grond op overleving van *Psp* stam P55 vast te stellen. De resultaten van deze experimenten zullen worden gepresenteerd in hierop volgende rapportages.

Voorafgaand aan verder onderzoek naar ziektevering is een beperkte screening naar aanwezigheid van *Psp* in de teelt gedaan bij 5 willekeurige bedrijven. Het bleek dat bij één van de vijf bedrijven een besmetting was in 3 van de 4 getoetste planten met een niveau van besmetting variërend tussen Log 3 en Log 6 kve/ g plant (Tabel 7). Deze gegevens tonen aan dat herbepetting door *Psp* in de praktijk realistisch is en dat met name bij continueelt van prei ziektevering in de bodem op kan treden.

Tabel 7. Aanwezigheid van *Psp* in preiteelt bij 5 willekeurige bedrijven.

Bedrijf (alleen code)	Log <i>Psp</i> kve/ g plant in:			
	Plant 1	Plant 2	Plant 3	Plant 4
A	BD	BD	BD	BD
B	BD	BD	BD	BD
C	BD	BD	BD	BD
D	BD	BD	BD	BD
E	4.92	5.79	BD	3.26

BD, beneden detectie niveau (Log 10 kve/ g plant)

Discussie

In de voorafgaande rapportage van 2003 is melding gemaakt van een bodemgebonden stadium van de veroorzaker van bacterievlekkenziekte in prei, *Psp*. De overleving van het pathogeen in grond zonder organische resten was kort, want binnen 2 weken was de *Psp* populatie niet meer detecteerbaar. Echter, *Psp* overleefde langer in gewasresten, tot meer dan 6 weken en vooral bij lagere temperatuur (4°C), wat realistisch is voor de winter.

In bodemmonsters genomen na de winter in het proefveld te Neer in 2003 bleek dat *Psp* niet meer aantoonbaar was, ondanks de zware infectie het seizoen ervoor. Onderfrozen van het gewas dat nog stond veroorzaakte een bodembesmetting waardoor besmetting en aantasting in ingezaaide prei, dat voorafgaand aan het experiment door de Naktuinbouw *Psp*-vrij was verklaard. Hieruit blijkt dat bodembesmetting in ieder geval kan worden veroorzaakt door besmet preiafval. De reden dat *Psp* niet meer aantoonbaar aanwezig is na de winter is onduidelijk, maar mogelijk zijn de huidige detectietechnieken niet gevoelig genoeg om *Psp* aan te tonen in lage aantallen. Het is voorsnog onduidelijk op welke wijze *Psp* overleeft in het veld.

Terugstort van geschoond prei-afval is de belangrijkste aanwijsbare oorzaak van bodembesmettingen in Nederlandse preipercelen. Dat besmettingen realistisch zijn in de praktijk bleek uit de waarneming dat één commercieel bedrijf latente besmetting (besmetting zonder duidelijke symptomen van aantasting) had in prei. Latente besmetting is ook waargenomen in het proefveld van Neer in 2003 en het huidige onderzoek. Daarom is integrale screening bij commerciële opkweek en teeltbedrijven van prei naar latente besmetting door *Psp* belangrijk. De uitkomst van dergelijk onderzoek moet vaststellen of herbesmetting van percelen door geschoonde, latent-besmette prei een reële bedreiging is.

De infectieroute van *Psp* via de bodem is zowel ondergronds (via wortels) als bovengronds (blad en schacht), zoals bleek uit kasexperimenten met stam P55. Verwondingen veroorzaakt door carborundumpoeder of het verzwakken van de waslaag met Silwet L77 resulteerde ook in besmetting, maar ook zonder verdere hulp bleek stam P55 het blad en de wortels binnen te kunnen dringen. Systemische en langdurige (21 d) besmetting werd aangetoond na inoculatie in de grond. Hieruit blijkt dat infectie vanuit de bodem een realistische besmettingsroute is. Bodembesmetting kan dus resulteren in gewasbesmetting.

Maatregelen om bacterievlekkenziekte in prei te beheersen moeten worden gericht op de bodem. *Psp*-weerbare grond en toevoeging van kippenmest bleken aantasting in prei het beste te onderdrukken. Toediening van kippenmest aan grond is een optie om toe te passen in de praktijk. Het is echter op dit moment onduidelijk wat het effect van kippenmest is op de dynamiek van *Psp* in grond en op latente besmetting in prei. Het bestaan van *Psp*-weerbare grond na langdurige continue teelt van prei benadrukt het bodemgebonden karakter van het pathogeen. Echter, verder onderzoek is noodzakelijk of biotische of abiotische (bijvoorbeeld meststoffen) factoren in de bodem verantwoordelijk zijn voor de wering. Het effect van weerbaarheid op dynamiek van het pathogeen en latente besmetting is in het huidige onderzoek niet onderzocht.

Nieuwe maatregelen om bacterievlekkenziekte in prei te kunnen beheersen zijn ook denkbaar met inzet van resistentere rassen. Ras Apollo bleek consistent de minste aantasting te vertonen en lijkt het meest resistente ras. Veredeling op resistentere rassen zijn belangrijk voor teelt op *Psp*-vatbare bodems. Het is wel

belangrijk om tijdens verdeling vooral te letten op verlaging van het besmettingsniveau. Teelt met rassen die tolerant (minder gevoelig voor besmetting) zijn zal bodembesmetting niet reduceren. In het huidige onderzoek is het effect van verschillende rassen op niveau van besmetting niet onderzocht.

Conclusies

- *Psp* is na de winter niet aantoonbaar aanwezig in grond van besmette preipercelen. Mogelijk is de detectiemethode te beperkt om lage aantallen *Psp* te kunnen waarnemen in grond.
- Desondanks heeft *Psp* een bodemgebonden stadium tijdens de epidemiologie, waardoor besmetting gehandhaafd blijft.
- Latente besmetting is aangetoond in een commercieel preiteelt bedrijf
- Terugstort van afval afkomstig van geschoond, latent besmette prei, is verantwoordelijk voor herbesmetting van preipercelen.
- *Psp* kan via grond preiplanten besmetten.
- Bodemmaatregelen gericht op terugdringing van *Psp* besmetting voorafgaand aan uitplant of zaai zijn relevant. In iedergeval kippenmest is een maatregel die aantasting kan doen verminderen.
- Weerbaarheid van grond tegen *Psp* kan optreden na langdurige continueelt van prei.
- Er is een raseffect op aantasting door *Psp* aangetoond.

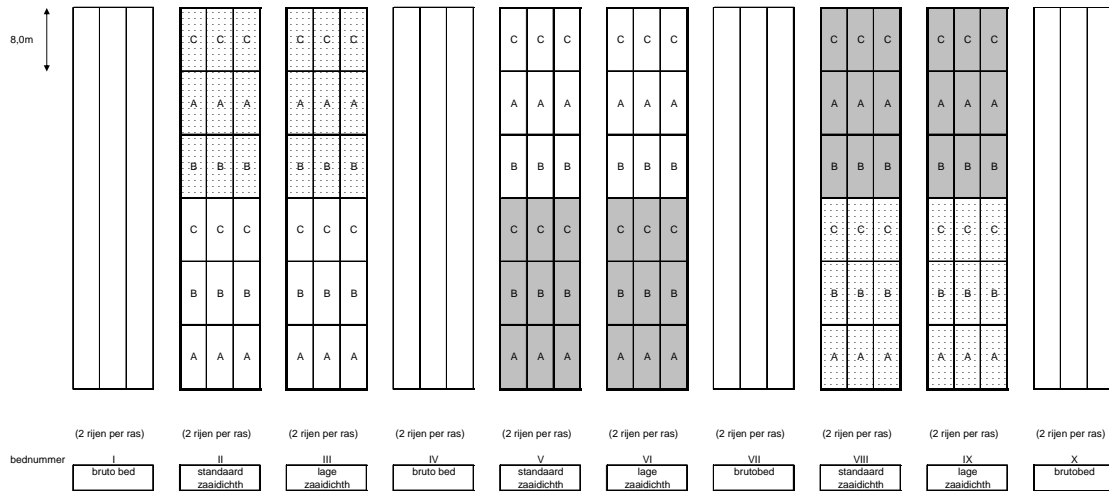
Aanbevelingen

- Onderzoek naar maatregelen om de overleving van *Psp* te verkorten is noodzakelijk. Maatregelen moeten zijn gericht op terugdringen van *Psp* tot een niveau waarop besmetting van zaai of uitgeplante prei niet meer plaatsvindt.
- Integrale screening bij Nederlandse teelt en opkweekbedrijven moet inzicht geven in de mate van besmetting van *Psp* in de Nederlandse preiteelt.
- Nieuwe rassen die resistent zijn tegen *Psp* zijn belangrijk voor teeltgebieden die gevoelig zijn voor bacterievlekkenziekte.
- Vatbare rassen kunnen het best worden geteelt op weerbare bodems
- Bij de veredeling moet worden geselecteerd op lagere infectie en niet op verhoogde tolerantie om veldbesmetting beter te kunnen onderdrukken.
- Het effect van weerbare grond op de dynamiek van *Psp* en latente infectie in het gewas moet verder worden uitgezocht om vast te stellen of bodemweerbaarheid een duurzame oplossing is voor besmetting met *Psp*.
- Technieken om bodemweerbaarheid te kunnen voorspellen na langdurige continueelt is belangrijk om in de toekomst hoge opbrengsten te kunnen garanderen bij het huidige beleid van 'verplichte' terugstort van geschoond prei-afval. Dergelijke technieken zijn momenteel niet voorhanden
- Het huidige beleid ten aanzien van terugstort van geschoond prei afval op perceel van herkomst zal moeten worden heroverwogen. Verbranding van afval heeft vanuit commercieel oogpunt geen zin. Terugstort naar andere percelen waarop geen prei wordt geteeld zou overwogen moeten worden om bodembesmetting te kunnen beheersen.

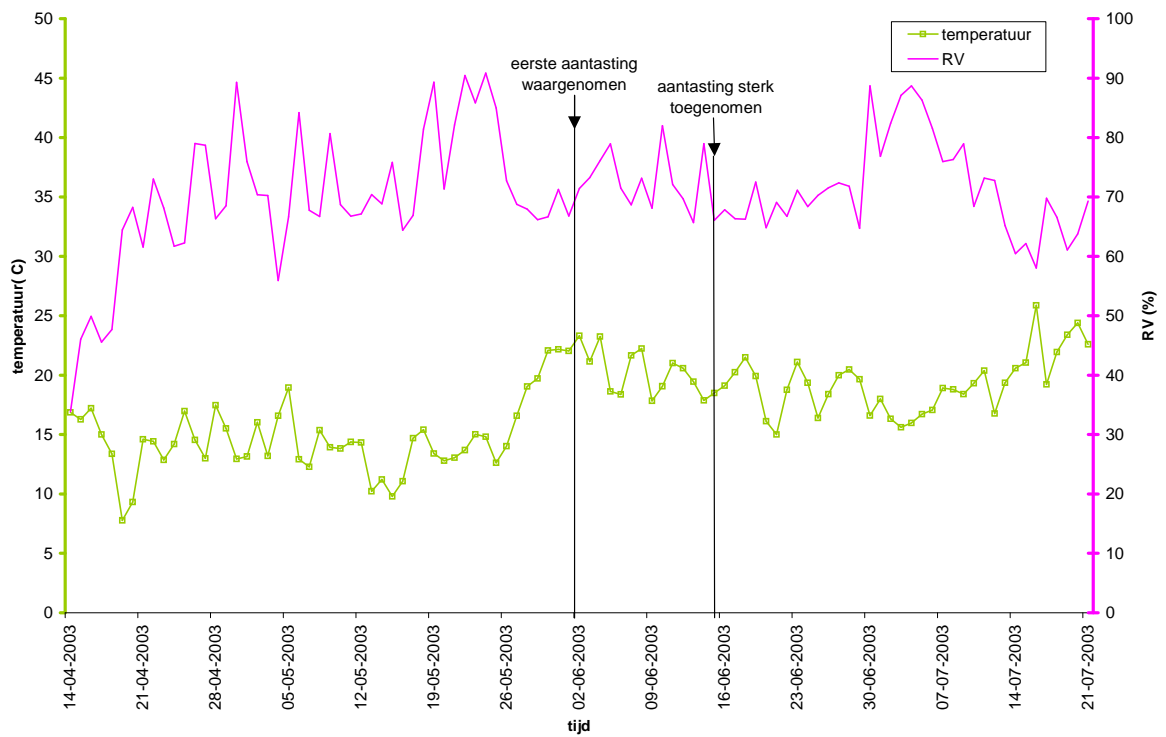
Bijlagen

Pseudomonas-proef 2003.

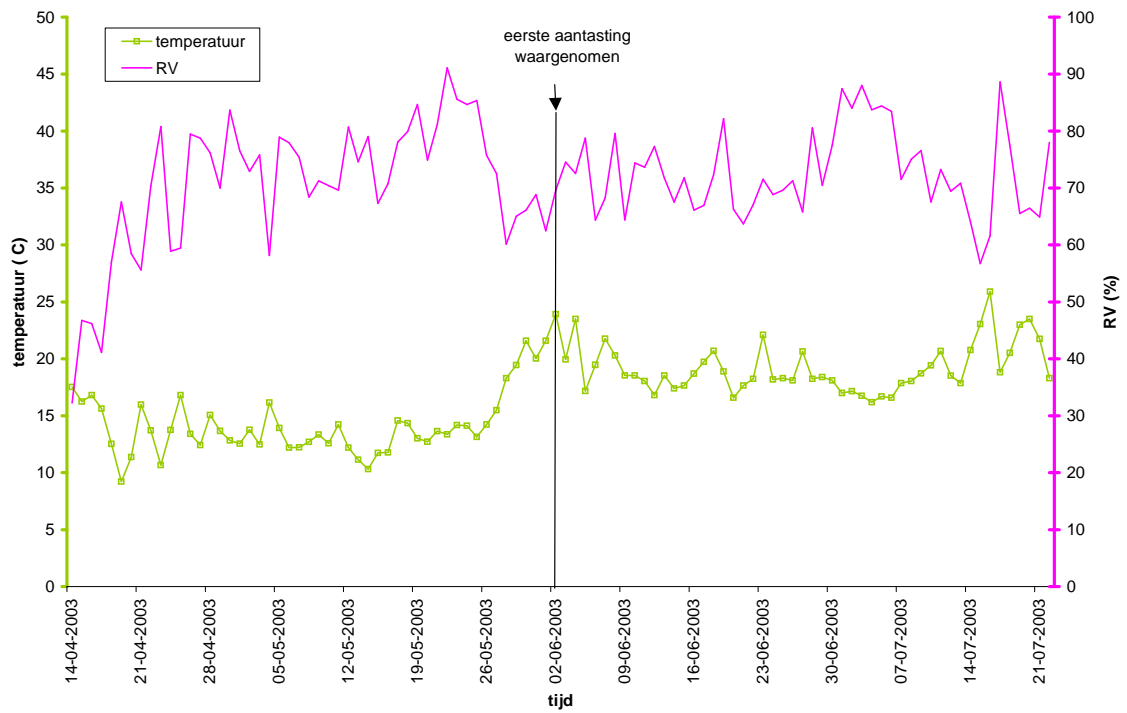
Ben Geraets, Sterreboeweg 16 Neer.
mobiel: 06 21917097



Bijlage 1. Schema van de proeflocatie te Neer, experiment 2003-2004.



Bijlage 2. Gemiddelde dagtemperatuur en relatieve luchtvochtigheid gemeten op circa 10 cm boven het gewas, veldproef *P. s. porri*, Neer 2003.



Bijlage 3. Gemiddelde dagtemperatuur en relatieve luchtvochtigheid gemeten op circa 10 cm boven het gewas, bakkenproef *P. s. porri*, Lelystad 2003.