

Het testen van opgeschaalde Seinhorst-opspoelkannen

P.J. van Bekkum¹, T.G. van Beers², J.E. Beniers¹

¹Plant Research International, Postbus 16, 6700 AA Wageningen

²Proefstation voor Akkerbouw en Vollegrondsgroenten (PAV), Postbus 430, 8200AK Lelystad

Cysten van het aardappelcysteaaltje *Globodera* spp. komen in het veld geclusterd voor, maar zijn na een goede menging van het bulkmonster (in vochtige toestand) Poisson verdeeld (Moriarty, 1960). Indien het submonster dat wordt opgespoeld een substantieel deel is van het bulkmonster, volgen de cysten in het submonster een binomiale verdeling. Om een voldoende grote statistische betrouwbaarheid voor de bepaling van populatiedichtheden van *Globodera* spp. in wetenschappelijke experimenten of bij het testen van aardappelcultivars ten behoeve van hun partiële resistentie-eigenschappen te verkrijgen, is het nodig om zowel de begin- als de einddichtheid van het aaltje nauwkeurig te bepalen, bij voorkeur met een variatiecoëfficiënt van 10 à 14 %. Daardoor is het nodig om minimaal tweehonderd cysten te nemen en na het crushen van de cysten driehonderd levende eieren te tellen (Schomaker, 1992; Seinhorst, 1988). Door deze eis varieert de grootte van het monster dat moet worden opgespoeld om aan het benodigde aantal cysten te komen, afhankelijk van de populatiedichtheid per eenheid grond.

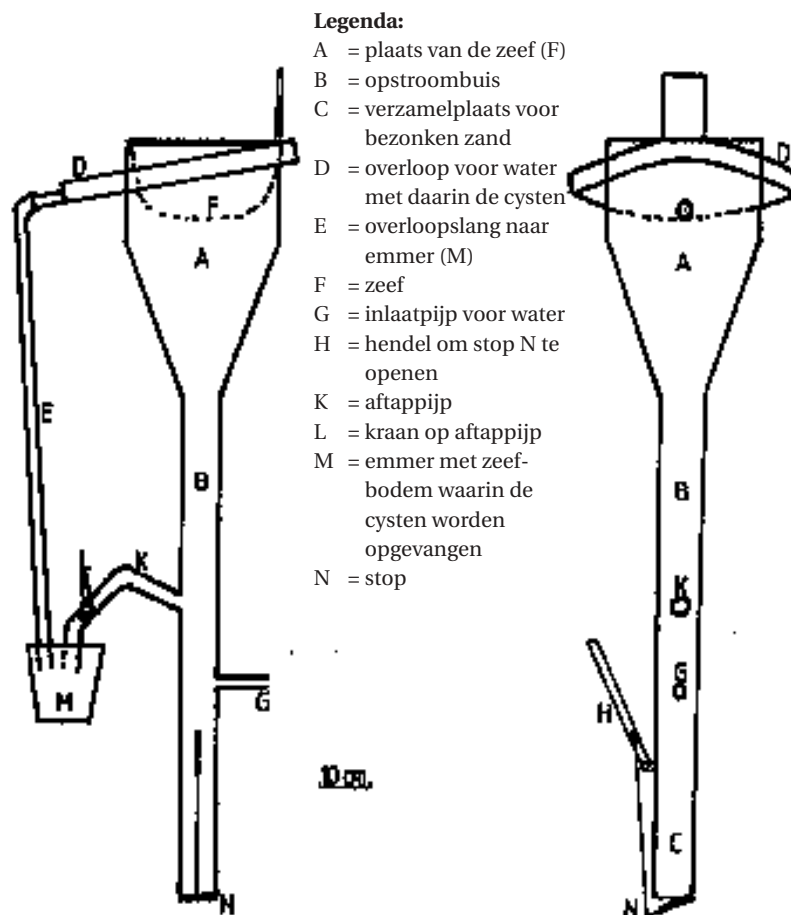
Met de Seinhorst-opspoelkan, ontworpen in 1964, kan een monster van maximaal vijfhonderd gram opgespoeld worden (Seinhorst, 1964). In de praktijk leidt dit ertoe dat er vaak meerdere monsters moeten worden opgespoeld. Bij de bepaling van partiële resistentie kan dit oplopen tot twintig monsters als een hele pot van tien kilogram moet worden opgespoeld.

Om aan dit probleem tegemoet te komen is een opspoelkan met een grotere capaciteit ontwikkeld. De opgeschaalde Seinhorst-opspoelkan heeft een maximale capaciteit van 2500 gram grond en er zijn kleine veranderingen aangebracht ten opzichte van de 'kleine' Seinhorstkan (zie figuur 1). Er is een dikkere opstroombuis aangebracht om de grotere hoeveelheid grond te verwerken. Er is geen opvangbak aanwezig bij de opgeschaalde Seinhorstkan, maar bezinkende grond wordt opgevangen in een langer stuk buis onder de instroomopening. Om een vergelijkbare opstroomsnelheid in de opgeschaalde Seinhorstkan te krijgen zijn flow-

meters (Brooks, tien liter per minuut) geïnstalleerd. In vergelijking met de instroomsnelheid van 3,5 liter per minuut bij de 'kleine' Seinhorstkan wordt bij de opgeschaalde Seinhorstkan een instroomsnelheid van acht liter per minuut aangehouden.

De 'kleine' opspoelkannen hebben bij een instroomsnelheid van 3,5 liter per minuut een verlies van 0,5 - 2% cysten (Seinhorst, 1964) en hun efficiëntie is dus minimaal 98%. Om achter de verliezen van de opgeschaalde Seinhorst-opspoelkannen, ook in vergelijking met de klei-

ARTIKEL



Figuur 1. Opgeschaalde Seinhorstkan

Tabel 1: De verschillende proefopzetten bij het uittesten van de opgeschaalde Seinhorstkannen op CPRO en PAV

Proef nr	Instituut	Seinhorstkan	Aantal submonsters	Soort grond	tijd opstroomsnelheid (min) van debris			acetoneren	aantal keer opspoelen ³
					3,5 l/min	8 l/min	3 l/min		
1	CPRO	'kleine'	4	kunst ¹	3	-	-	ja	1
2	CPRO	opgeschaald	10	kunst	-	3	3	ja	1
3	CPRO	opgeschaald	15	klei ²	-	3	3	ja	1
4	PAV	opgeschaald	30	kunst	-	4	-	nee	2
5	PAV	'kleine'	18	kunst	4	-	-	nee	1

¹ De gebruikte kunstgrond bestond uit 67% zilverzand, 21% hydrokorrels en 12 % kleipoeder.

² Bij het opspoelen van de kleimonsters zijn deze een nacht net onder water gezet met een theelepeltje natriumoxalaat om de kleideeltjes uit elkaar te laten vallen.

³ Bij het PAV is het opgevangen debris direct opnieuw opgespoeld om te kijken naar cysten die eventueel meegesleurd worden door het zand.

ne kannen, te komen zijn beide typen kannen getest bij CPRO en PAV.

proefopzetten zijn weergegeven in tabel 1.

ciëntie van de opspoelkan bepaald kon worden. De opspoelkan werd weer goed schoon gespoeld om alle zandresten onderin de pijp te verwijderen.

Methode

Het principe van de opgeschaalde Seinhorst-opspoelkan is identiek aan de 'kleine' Seinhorst-opspoelkan (Seinhorst, 1964), alleen de instroomsnelheid bij de opgeschaalde opspoelkannen is hoger om een gelijke opstroomsnelheid in de stijgbuis te krijgen.

Tijdens het opspoelen werden de cysten (opgespoeld monster) opgevangen in een emmer met een zeefbodem (M) (figuur 1) van 250µm. Bij 250 µm worden cysten tegengehouden doordat deze groter dan 250 µm zijn, maar zand- en kleideeltjes < 250 µm spoelen door deze zeef heen. Nadat de benodigde tijd van het opstromen was verstreken werd kraan L opgedraaid. Het water met eventueel niet opgespoelde cysten dat zich nog in de opspoelpijp bevond, werd ook in de emmer met de zeefbodem (M) opgevangen. Cysten die zich nog in de pijp bevinden hebben een verminderd drijvend vermogen doordat ze kapot, zeer nat of leeg en gedeukt zijn. Nadat de kan goed was nagespoeld werd kraan L weer dichtgedraaid. Normaal wordt hierna met behulp van hendel H, stop H open gedaan waardoor het zand weggespoeld wordt. Nu werd dit zand (opgevangen debris) opgevangen in een tweede emmer met een zeefbodem van 250 µm, waardoor de effi-

De emmers werden vervolgens goed nagespoeld om deeltjes kleiner dan 250 µm kwijt te raken.

De monsters uit de emmers werden gedroogd bij maximaal 30 °C zodat de inhoud van de cysten niet gedood werd en daarna gezeefd op een 1 mm zeef (Ø = 10 cm) waarbij deeltjes > 1 mm werden weggegooid.

De cysten werden van het resterende debris gescheiden met aceton en geteld. Vervolgens werden de cysten vermalen zodat de levende eieren en larven geteld konden worden, zodat ook bepaald kon worden hoe groot het verlies van levende eieren en larven is.

In tabel 1 is te zien dat bij het CPRO de opstroomsnelheid na drie minuten van acht liter per minuut naar drie liter per minuut werd terugge-

Om een eerste indruk van de efficiëntie van de opgeschaalde Seinhorst-opspoelkan te krijgen zijn er bij herhaling honderd cysten door vijfhonderd tot tweeduizend gram kunstgrond gemengd. Hierbij bleek dat minder dan 5% van de cysten verloren gingen tijdens het opspoelen (Beniers, 1995). Om te bepalen hoeveel % cysten en levende eieren verloren gaan in monsters waarbij de cysten op natuurlijke wijze zijn gevormd op de wortels van aardappelplanten zijn verschillende proefopzetten gehanteerd. Deze

Tabel 2: De gemiddelde verliezen van cysten en levende eieren en larven met standaardfout ten opzichte van de opgespoelde monsters.

Spoeltest	Cysten			Eieren en larven		
	gem. aantal in opgesp. monster	verliezen (opgev. debris)		gem. aantal in opgesp. monster	verliezen (opgev. debris)	
		gem %	stand. fout		gem %	stand. fout
1	942	1,44	0,57	172.400	0,79	0,27
2	496	6,59	2,70	96.170	3,60	1,62
3	59	7,30	2,89	3420	11,56	11,32
4	1146	0,68	0,71	195.040	0,50	0,39
5	443	0,14	0,28	65956	0,59	0,36

bracht. Dit is gedaan zodat het zand nog beter kan bezinken.

Resultaten en discussie

In tabel 2 zijn de resultaten van de verschillende spoeltesten weergegeven van zowel de cysten en levende larven en eieren in het normaal opgespoelde monster en het percentage verloren cysten en levende eieren en larven in het opgevangen debris ten opzichte van het opgespoelde monster.

Kunstgrondmonsters

Bij spoeltest 4 is gekeken naar cysten die verloren gaan doordat ze meegesleurd worden door zand. 80% van de verliezen blijkt te worden veroorzaakt doordat cysten meegesleurd worden door het zand. Dit is ongeveer 0,5% van alle cysten uit een grondmonster. Waarschijnlijk gebeurt dit doordat er zoveel zand (2 kg per monster) op hun 'kop' komt als het monster door de zeef gespoeld wordt. De verliezen zijn echter niet van dien aard dat dit problemen oplevert.

Het opgevangen deel (N) van spoeltest I is opnieuw opgespoeld in een 'kleine' Seinhorstkan. Het verlies is bij deze stap niet gemeten. Uit de literatuur (Seinhorst, 1964) blijkt dat bij een opstroomsnelheid van 3,5 liter/minuut een verlies van 0,5 - 2 % gevonden is. Als bij het opspoelen op de 'kleine' Seinhorstkan nog-

maals 2% cysten zijn verloren wordt het verlies nauwelijks groter. Het gemiddelde verlies bij deze monsters gaat dan naar ongeveer 1,47%.

In spoeltest 2 is het gemiddelde verlies duidelijk hoger dan in spoeltest 1 en 4. De oorzaak die hieraan ten grondslag zou kunnen liggen is het feit dat in deze spoeltest de opstroomsnelheid na 3 minuten terug is gedraaid van 8 liter/minuut naar 3 liter/minuut. De cysten die al een verminderd drijvend vermogen hadden zakken bij een opstroomsnelheid van 3 l/min sneller naar de bodem van de opspoelpijp.

Kleimonsters

Het verlies van cysten in de kleimonsters (3) en de daarbij behorende levende inhoud ligt erg hoog in deze spoeltest. Dit kan verklaard worden door het kleine aantal cysten dat gemiddeld per monster is gevonden. Als er dan enkele cysten worden verloren ligt het verliespercentage al snel hoger. Het blijkt uit ervaring op het IPO met vele kleimonsters uit het veld dat het efficiënter is om de monsters na het weken met natriumoxalaat in een emmer met een gazen bodem van 250 µm te gieten en de gronddeeltjes met water uit te spoelen. Aangezien de meeste deeltjes in kleigrond kleiner dan 250 µm zijn en cysten van het aardappelcyste-aaltje groter dan 250 µm (Seinhorst, 1964) blijft er erg weinig debris over. Na het zeven op een 1 mm zeef (ϕ =

10 cm) en acetoneren blijft er een erg schoon monster over om de cysten te tellen.

Conclusie

Voor het spoelen van grote hoeveelheden kunstgrond zijn de opgeschaalde Seinhorstkannen zeer geschikt. De capaciteit van deze kannen is vijf keer zo groot. Het verlies van cysten loopt bij de verschillende spoeltesten van kunstgrond uiteen van 0,68 % tot 6,59 %. Het verlies van het aantal levende eieren en larven bij deze testen varieert van 0,5 % tot 3,6 %. Om de verliezen zo klein mogelijk te houden lijkt het beter om een opstroomsnelheid van acht liter/minuut gedurende vier minuten aan te houden. De verliezen in de opgeschaalde en de kleine spoelkannen zijn vergelijkbaar, het is dus geen bezwaar om binnen één proef beide typen kannen te gebruiken.

Literatuur

- Beniers, J.E. (1995). Methoden aardappelcyste-aaltje, CPRO 1995.
- Moriarty, F. (1960). Laboratory errors associated with the estimation of the population density of *Heterodera* species in soil. *Ann. Appl. Biol.* **48**: 665-680.
- Schomaker, C.H. (1992). Statistiek voor het bepalen van de relatieve vatbaarheid van aardappelrassen. Unpubl.
- Seinhorst, J.W. (1964). Methods for extraction of *Heterodera* cysts from not previously dried soil samples. *Nematologica* **10**: 87-94.
- Seinhorst, J.W. (1988). The estimation of densities of nematode populations in soil and plants, Växtskyddsrapporter, Jordbruk no. **51**, Sveriges Lantbruksuniversitet.