

Onderzoek naar bemonsteringsmethodiek in het fabrieksaardappelgebied voor het witte aardappelcysteeltje, *Globodera pallida* Stone, 1973

Research into sampling methods in industrial potatoes for the white potato cyst nematode *Globodera pallida* Stone, 1973

ir. A. Mulder, HLB, ir. W. van den Berg, PAGV en ing. J. Doornbos, NAK N.O.-Nederland

Inleiding

Door het vrijwel uitsluitende gebruik van aardappelrassen met resistentie tegen het gele aardappelcysteeltje *Globodera rostochiensis* is in de tachtiger jaren de plaats van dit aaltje in het fabrieksaardappelgebied vrijwel geheel ingenomen door het witte aardappelcysteeltje *G. pallida* (Mulder en Veninga, 1988). Door het geheel andere karakter van dit aaltje en doordat de huidige, voor *G. pallida* resistente aardappelrassen zich gedragen als 'slechte waard' (eng. 'poor host') nemen lage populaties van *G. pallida* op deze rassen toe en hoge populaties af (Mulder, 1988; Mulder et al., 1990). Het gevolg is dat de besmettingen met *G. pallida* een veel regelmatig verspreidingspatroon over de percelen tonen dan vroeger voor *G. rostochiensis* het geval was.

Doel van het onderzoek is het bepalen van de nauwkeurigheid van de schatting van de populatiedichtheid van het witte aardappelcysteeltje in afhankelijkheid van de bemonsteringsintensiteit, het tijdstip van bemonsteren en het gebruik van een 5 cm lange 'TBM-boor' of een 20 cm lange boor.

Materialen en methoden

Wijze en intensiteit van bemonsteren

Zes percelen of perceelsgedeelten van 2 ha werden bemonsterd naar 24, 6, 3, 2 en 1 monster(s) per ha. Elk monster werd samengesteld uit 60 regelmatig over de te bemonsteren oppervlakte verdeelde stekken, zoals aangegeven in het in tabel 42 weergegeven bemonsteringsschema. Voor de bemonsteringen zijn twee typen boren gebruikt; met één (de TBM-boor) wordt grond midden uit de bouwvoor genomen (totaal ± 250 cc grond), met de andere wordt bouwvoordiep, 20 - 25 cm (totaal ± 800 cc grond) bemonsterd. De bemonsteringsintensiteit van drie monsters per ha werd ook uitgevoerd met 120 stekken per monster.

De monstergrootten bedragen in dat geval ± 480 respectievelijk ± 1600 cc grond. De monsternamen vond op zodanige wijze plaats dat bij de bouwvoordiepe en de ondiepe bemonstering de afzonderlijke stekken van nagenoeg dezelfde plaats werden genomen.

Tabel 42. Bemonsteringsschema.

methode	aantal monsters per 2 ha	oppervlakte per monsterveld		opp. per steek in m ²	afstand in m tussen		aantal stekken per monster	aantal stekken per ha
		are	br x l (m)		looplijnen	stekken		
A	48	4,15	16,6 x 25	6,9	2,77 (6)	2,50 (10)	60	1440
B	12	16,65	33,3 x 50	27,5	5,50 (6)	5,00 (10)	60	360
C1	6	33,30	33,3 x 100	55,8	6,70 (5)	8,33 (12)	60	180
C2	6	33,30	33,3 x 100	27,5	5,50 (6)	5,00 (20)	120	360
D	4	50,00	50,0 x 100	83,3	8,30 (6)	10,00 (10)	60	120
E	2	100,00	100 x 100	156,3	12,50 (8)	12,50 (8)	64	64

Tabel 43. Besmetting op bemonsterde percelen in aantallen cysten en levenskrachtige eieren en larven per 100 gram grond, en het aantal eieren en larven per cyste, gemiddeld over de methoden A t/m E.

perceel	cysten per 100 gram grond	eieren en larven per 100 gram grond	eieren en larven/cyste
1	62,67	371	6,29
2	34,84	1158	40,32
3	119,91	527	4,74
4	23,01	756	36,69
5	15,86	688	40,28
6	112,71	3052	27,82
gemiddeld	61,50	1092	26,01

Verwerking van de monsters

Na de monsternamen (in papieren zakken) werden de monsters in de namiddag/avond in de droogcel gebracht en circa 14 dagen aan de lucht gedroogd bij ± 20 °C. De luchtdroge monsters zijn gewogen en vervolgens in hun geheel met een 'Schuiling-centrifuge en -opspoelkan' gespoeld. Na drogen en acetone- ren van de spoelrest werden de cysten onder de microscoop verder van organische materiaal ge- scheiden, verzameld en geteld. Voor de bepaling van hun levende inhoud worden de droge cysten gedu- rende één week bij 7 °C in leidingwater geweekt, waarna de cysten in een potterbuis met enig water voorzichtig worden stukgewreven (Huijsman, 1957).

Het water met de nu vrijgekomen cyste-inhoud wordt in een bekerglas gespoeld en aangevuld tot 100 cc. Onder het doorblazen van lucht, waardoor de eieren en larven 'random' over de oplossing worden verdeeld, worden (in duplo) deelmonsters van 10 cc genomen, waarin de levenskrachtige eieren en lar- ven worden geteld. De verkregen data worden ver-

volgens verwerkt tot aantallen cysten en levende eieren en larven per 100 gram grond.

Resultaten

Verschillen in besmettingsniveau tussen percelen

Het gemeten verschil tussen najaars- en voorjaars- bemonsteringen is klein en praktisch niet van belang. Met de 5 cm lange TBM-boor werden gemiddeld meer cysten per 100 gram grond gevonden dan met de 20 cm boor. Ook in dit geval waren de verschillen gering en niet van praktisch belang.

Invloed van bemonsteringsintensiteit op de nauwkeurigheid

De nauwkeurigheid van de bemonsteringen wordt weergegeven als variatiecoëfficiënt van het ha- gemiddelde. De variatiecoëfficiënten zijn berekend per

Tabel 44. De betrouwbaarheid van de monsteruitslag in cysten per eenheid grond, weergegeven als variatiecoëfficiënt van 1 ha-gemiddeld- den per methode, diepte en tijdstip van bemonsteren.

methode	aantal steken/ ha	variatiecoëfficiënten cysten				
		totaal	tijdstip		diepte	
			najaar	voorjaar	5 cm	20 cm
A	1440	5,8	3,3	5,6	3,0	7,3
B	360	12,7	10,6	16,2	13,4	13,6
C1	180	13,0	12,6	15,1	11,4	14,7
C2	360	19,7	11,6	22,3	22,1	18,7
D	120	22,7	13,3	32,2	23,1	25,3
E	64	26,7	20,6	36,7	26,6	31,9

Tabel 45. De betrouwbaarheid van de monsterruitslag in levende eieren en larven per eenheid grond, weergegeven als variatiecoëfficiënt van 1 ha-gemiddelden per methode, diepte en tijdstip van bemonsteren.

methode	aantal steken/ha	variatiecoëfficiënten eieren en larven				
		totaal	tijdstip		diepte	
			najaar	voorjaar	5 cm	20 cm
A	1440	13,2	12,3	15,4	9,4	18,3
B	360	18,9	20,3	24,2	20,0	22,7
C1	180	24,4	28,5	28,2	28,2	28,9
C2	360	25,9	24,6	33,9	25,7	32,0
D	120	24,8	23,8	30,7	29,6	25,8
E	64	35,1	44,9	32,1	39,2	32,0

methode van bemonstering (A, B, C1, C2, D, en E), en per diepte en tijdstip van bemonsteren, voor zowel het aantal cysten als het aantal levende eieren en larven per 100 gram luchtdroge grond (Russell en Bradley, 1958; Aitchison en Brown, 1969). De regressielijnen in figuur 4 en 5 zijn berekend met behulp van het directive fitcurve, 'optian: curve = linear divided by linear' (Payne et al, 1989).

$$y_i = \frac{\beta}{1 + \delta \cdot x_i} + e_i \quad (1)$$

Hierbij is Methode C2 buiten de analyse gehouden.

Variatiecoëfficiënt cysten per eenheid grond

De variatiecoëfficiënt (VC) per methode van bemonstering is vermeld in tabel 44, onder de kolom totaal. De VC loopt op van 5,8 bij 1440 steken per ha (methode A) tot 26,7 bij 64 steken per ha (methode E). De VC is in figuur 4A grafisch uitgezet tegen het aantal steken per ha. Aan de berekende regressielijn in figuur 4A is te zien dat de VC daalt wanneer meer steken per ha worden genomen, maar minder snel naarmate meer steken worden genomen. De VC neemt van methode E naar C1 met 13,7 % af, waarvoor 116 extra steken per ha nodig zijn. Van C1 naar A neemt de VC met 7,2 % af; hiervoor zijn echter nog eens 1260 extra steken per ha nodig. De VC's zijn ook uitgesplitst naar de twee tijdstippen van bemonsteren (tabel 44 en figuur 4B). Zowel in voor-

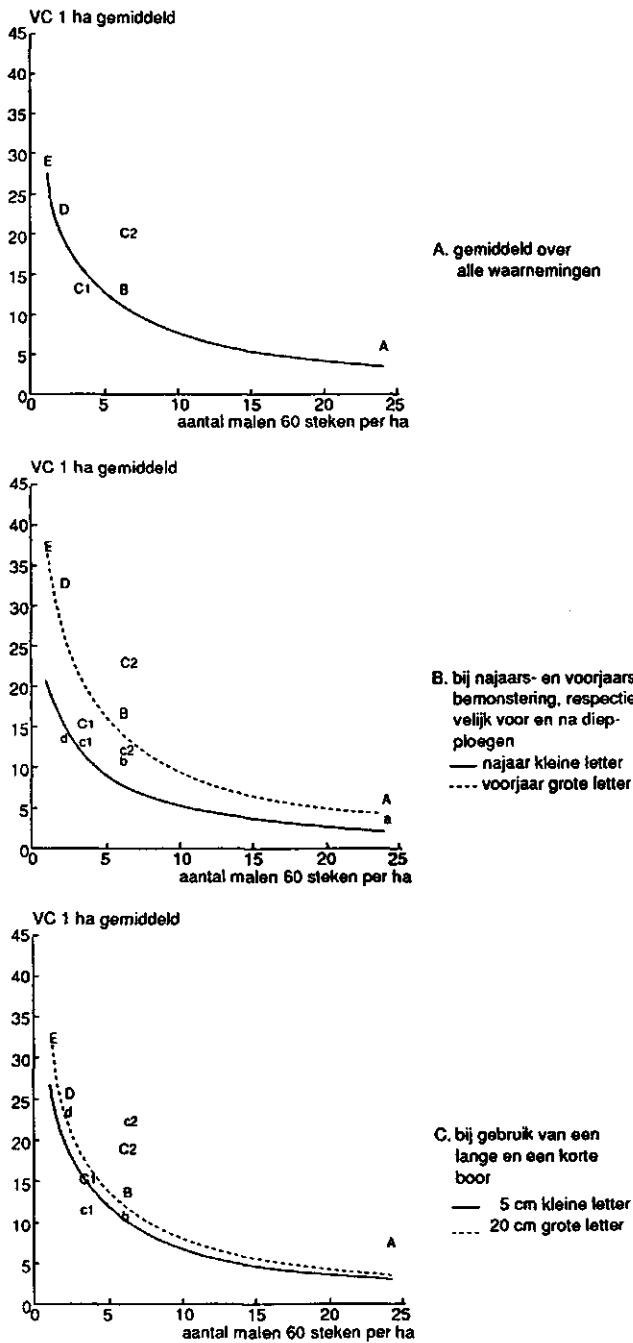
als najaar nam de VC af bij toename van het aantal steken. Bij alle zes methoden was de VC in het najaar lager dan in het voorjaar. Tenslotte werden de VC's nog uitgesplitst naar diepte van bemonstering (tabel 44 en figuur 4C). Opvallend is dat het gebruik van een 20 cm lange boor geen duidelijk verbetering geeft ten opzichte van de 5 cm lange 'TBM-boor'.

Variatiecoëfficiënt eieren en larven per eenheid grond

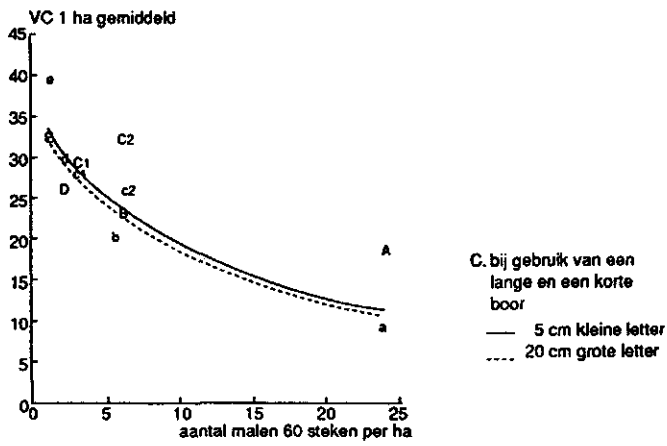
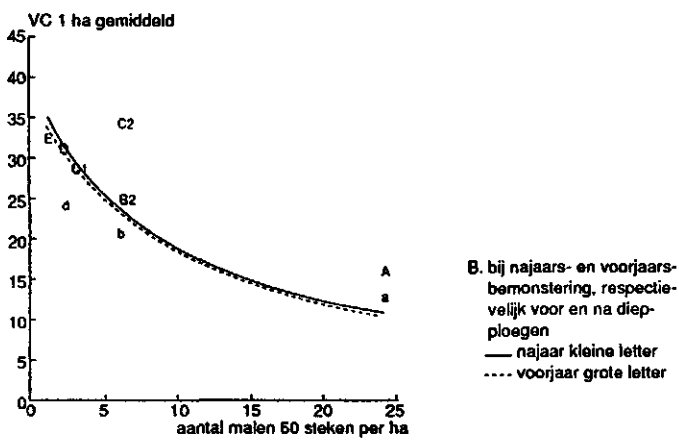
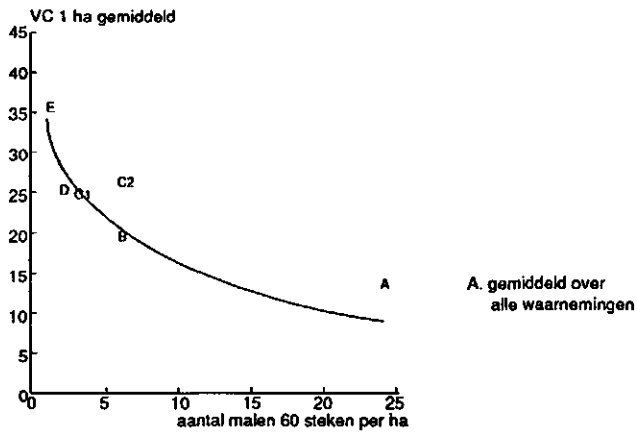
Ook bij het aantal eieren en larven per 100 gram grond daalt de VC bij toename van het aantal steken per ha (tabel 45 en figuur 5). Van methode E naar C1 daalt de VC met 10,7 % (116 extra steken). Van methode C1 naar A daalt de VC met 11,2 % (1260 extra steken). Bij methoden A, B, C2 en D is de VC in het najaar lager dan in het voorjaar, bij methode C1 is de VC in najaar en voorjaar nagenoeg gelijk, respectievelijk 28,5 en 28,2. Alleen bij methode E is de VC in het voorjaar duidelijk lager dan in het najaar. Afgezien van methode D en E is de VC bij bemonstering met de 5 cm lange TBM-boor steeds lager dan bij bemonstering met een 20 cm lange boor. Per methode van bemonstering ligt de VC voor het aantal eieren en larven per eenheid grond steeds hoger dan voor het aantal cysten.

Discussie

Opvallend is dat de variatiecoëfficiënt van het aantal cysten en van het aantal eieren en larven per eenheid grond bij methode C2 hoger is dan bij methode B, terwijl het aantal steken per ha voor beide metho-



Figuur 4. Effect van bemonsteringswijze/intensiteit op de betrouwbaarheid van de monsteruitslag in cysten per eenheid grond, weergegeven als de variatiecoëfficiënt.



Figuur 5. Effect van bemonsteringswijze/intensiteit op de betrouwbaarheid van de monsteruitslag in aantal eieren + larven per eenheid grond, weergegeven als de variatiecoëfficiënt.

den gelijk is. Het aantal steken per monster was bij methode C2 120 en bij de andere vijf methoden 60. Mogelijk is, als gevolg van de tweemaal zo grote monsters, bij methode C2 de laboratoriumfout groter geweest.

Dat met de 20 cm lange boor de VC niet lager is dan bij de 5 cm lange TBM-boor kan eveneens veroorzaakt zijn doordat bij de lange boor de te verwerken hoeveelheid grond per monster driemaal zo groot was als bij de korte boor. Een andere oorzaak kan zijn dat, in dit onderzoek, de nauwkeurigheid sterker is bepaald door het aantal steken dan door de hoeveelheid verzamelde grond per oppervlakte-eenheid. Een derde verklaring voor de goede resultaten verkregen met de TBM-boor kan zijn dat deze boor zo is geconstrueerd dat grond uit de middelste, meer representatieve, lagen van de bouwvoor wordt verzameld.

De variatiecoëfficiënt van het aantal levenskrachtige eieren en larven per eenheid grond blijkt aanzienlijk groter dan de variatiecoëfficiënt van het aantal cysten. Dit verschil wordt veroorzaakt door de grote spreiding in het aantal levenskrachtige eieren en larven per cyste. Müller (1988) kwam op grond van resultaten van onderzoek naar bemonsteringstechniek voor bietencysteaaltjes in de aangrenzende Duitse zandgebieden tot gelijke bevindingen.

De gepresenteerde variatiecoëfficiënten zijn laag, omdat deze gebaseerd zijn op 1 ha gemiddelden en per 60 steken met de 5 cm TBM-boor ongeveer 500 gram grond werd verzameld en met de 20 cm boor ongeveer 1200 gram grond. In het onderzoeksverslag HLB 93-1 wordt hierop uitgebreid ingegaan.

Conclusies

- Voor cysten is de betrouwbaarheid van de bemonstering na de aardappelooft (voor het diepploegen) groter dan van de bemonstering na het diepploegen als hoofdgrondbewerking.
- Bij toenemende bemonsteringsintensiteit neemt de nauwkeurigheid van de bepaling toe; vooral vanaf 180 steken per ha (60 steken per 1/3 ha) moeten echter steeds meer extra steken worden genomen om de variatiecoëfficiënt van de bepaling 1 % verder te verlagen.

- De bepaling van het aantal levende eieren en larven per eenheid grond is minder nauwkeurig dan de bepaling van het aantal cysten. Dit is vooral het gevolg van de grote spreiding in het aantal eieren en larven per cyste.

Samenvatting

De nauwkeurigheid van de schatting van de populatiedichtheid van het witte aardappelpocysteaaltje werd vastgesteld aan verzamelmonsters, bestaande uit 60 regelmatig verdeelde steken van 1/24, 1/6, 1/3, 1/2 en 1 ha, bij gebruik van een 5 cm lange 'TBM-boor' (± 4 cc) of een 20 cm lange boor (± 13 cc), voor en na het ploegen als hoofdgrondbewerking in respectievelijk najaar en voorjaar. Bemonsterd werden zes percelen of perceelsgedeelten van 2 ha.

De onderzochte meetmethoden vertoonden geen verschillen in gemeten besmettingsniveau. Voor cysten is de betrouwbaarheid van de bemonstering na de aardappelooft (voor het diepploegen) groter dan van de bemonstering na het diepploegen als hoofdgrondbewerking. Bij toenemende bemonsteringsintensiteit neemt de nauwkeurigheid van de bepaling toe; vooral vanaf 180 steken per ha (60 steken per 1/3 ha) moeten echter steeds meer extra steken worden genomen om de variatiecoëfficiënt van de bepaling 1 % verder te verlagen.

De bepaling van het aantal levende eieren en larven per eenheid grond is minder nauwkeurig dan de bepaling van het aantal cysten. Dit is vooral het gevolg van de grote spreiding in het aantal eieren en larven per cyste.

Literatuur

Aitchison, J. and Brown, J.A.C. The lognormal distribution. Cambridge University Press, Cambridge (1969).

Huijsman, C.A. Veredeling van de aardappel op resistentie tegen *Heterodera rostochiensis* Wollenweber. Wageningen, Stichting voor Plantenveredeling, Mededeling 14 (1957), 85 p.

Mukder, A. Bodemziekten en -plagen, een bron van voortdurende zorg. In: Verslag van het Symposium: Bodemziekten en bodembescherming in Noordoost Nederland. Assen, SIO, Hil-

brands Laboratorium voor Bodemziekten, Verslag nr. 88-3 (1988), p. 9-16.

Mulder, A. en Veninga, G. Praktijkonderzoek naar het verloop van het besmettingsniveau van het aardappelpycysteaaltje en haar pathotypen in het Noordoostelijk Zand- en dalgrondgebied. Eindverslag van het Federatieonderzoek over de periode 1968-1986. Assen, SIO, Hilbrands Laboratorium voor Bodemziekten, Verslag nr. 88-2 (1988), 17 p.

Mulder, A., Js. Roosjen en G. Veninga. Duurzame landbouw op de zand- en dalgronden van Noordoost Nederland. Mogelijkheden en onmogelijkheden voor de beheersing van bodemgebonden ziekten en plagen in het kader van het Meerjarenplan Gewasbescherming. Assen, SIO, Hilbrands laboratorium voor Bodemziekten, Verslag nr. 90-2 (1990), 52 p.

Müller, J. Varianzquellen bei der Bodenuntersuchung auf *Heterodera schachtii* und deren Bedeutung für Probenahme und Extraktionstechnik. Nematologica 34 (1988), p. 357-368.

Payne, R.W., P.W. Lane, A.E. Ainsley, K.E. Bicknell, P.G.N. Digby, S.A. Harding, P.K. Leech, H.R. Simpson, A.D. Todd, P.J. Verrier, and R.P. White. Genstat 5 Reference Manual. Oxford, England, Clarendon Press (1989).

Russell, T.S. and R.A. Bradley. One-way variances in a two-way classification. Biometrika 45 (1958), p. 111-129.

Summary

The accuracy of estimating the population density of the white potato cyst nematode was determined on the basis of collected samples, consisting of 60 regularly distributed cores of 1/24, 1/6, 1/3, 1/2 and 1 ha, using a 5 cm long TBM-soil core sampler (± 4 cc) or a 20 cm long bore (± 13 cc), before and after ploughing as the main soil tillage in autumn and spring respectively. Tests were carried out on six plots or parts of plots, covering 2 ha.

The testing methods investigated showed no differences in the measured level of infection. Where cysts are concerned, the reliability of sampling after the potato harvest (before deep ploughing) is greater than sampling after deep ploughing as the main soil tillage. The more intensive the sampling, the more accurate the determination. However, upwards of 180 samples per ha in particular (60 samples per 1/3 ha), an increasing number of extra samples needs to be taken in order to reduce the variation coefficient of this determination by a further 1%.

The determination of the number of viable eggs and larvae per unit soil is less accurate than determining the number of cysts. This is largely due to the wide variation in the number of viable eggs and larvae per cyst.