

# Rhizomanie-onderzoek 1990 - 1993

## Perceelsbemonstering en schaderelatie

*Rhizomania research 1990-1993; soil sampling and the level of damage*

ir. L.W. Ebbers, PAGV

### Inleiding

Het BNYV-virus, de veroorzaker van rhizomanie bij suikerbieten, wordt overgebracht door de in de grond tot 15 jaar persistente schimmel *Polymyxa betae* Keskin. Voor de praktijk zijn er geen mogelijkheden om de ziekte te bestrijden. Tijdelijke verbetering wordt soms verkregen door diepploegen. Verder gelden vroege zaai, een goede structuur en goede ontwatering als mogelijkheden om de schade te beperken. Grondontsmetten heeft geen zin vanwege de hoge reproductiesnelheid van de schimmel. Bedrijfshygiëne blijft van belang om de snelheid van verspreiding van bedrijf naar bedrijf te remmen. De enige maatregel die kan worden genomen op perceelsniveau is de inzet van zogenaamde partieel-resistente rassen, die echter op niet besmette grond zo'n 10% lagere opbrengst geven dan moderne vatbare rassen. Een bemonsteringssysteem zou de teler kunnen ondersteunen bij de rassenkeuze.

Het BLGG bood vanaf teeltseizoen 1990 een mogelijkheid van kwalitatieve bemonstering zonder verdere advisering. Mede door de vrij hoge kostprijs was er vanuit de praktijk weinig belangstelling. In overleg met het BLGG en IRS te Bergen op Zoom is het rhizomanie-onderzoek van het PAGV met name gericht geweest op het verkennen van de mogelijkheden van bemonstering en de schaderelatie. Gezocht werd naar een basis voor advies over de rassenkeuze bij rhizomaniebesmetting.

Voor het bemonsteringsonderzoek zijn twee methoden beproefd: grondbemonstering en systematische gewasbemonstering. Voor het bepalen van de besmetting in grondmonsters was de recent ontwikkelde MPN-methode (Tuitert, 1990) beschikbaar. Voordelen van grondbemonstering zijn: onafhankelijkheid van een bietenteelt en de mogelijkheid van kwantificering. Een nadeel is de arbeidsintensieve verwerking, waardoor de methode duur wordt. Voor gewas-

bemonstering was er de keuze tussen systematische bemonstering (ongeacht symptomen) en gericht zoeken naar symptoomplanten. Voor het onderzoek is de eerste gekozen omdat deze meer kwantitatieve informatie oplevert. Een gewasbemonstering is goedkoper uit te voeren dan een grondanalyse en biedt mogelijkheden voor het verschaffen van informatie over de ruimtelijke verdeling van de besmetting.

Voor de grondbemonstering is nagegaan welke variaties in de uitslagen te verwachten zijn bij extensivering van het bemonsteringsgrid. Het verbetert de toepasbaarheid in de praktijk vanwege de kosten wanneer per monster een groter oppervlak kan worden beoordeeld. De bruikbaarheid van de systematische gewasbemonstering is nagegaan door deze te correleren met de uitslagen van grondbemonsteringen voor en na de teelt en met de gewasaantasting.

In het schaderelatie-onderzoek is de gewasschade gerelateerd aan de grondbemonsteringen en is de omvang van seizoensbepaalde fluctuatie in de schaderelatie in een drietal jaren nagegaan. Het was reeds bekend dat schade door rhizomanie wordt beïnvloed door temperatuur- en vochtcondities (Büttner, 1991; Schaüfele, 1990), maar niet hoe groot de fluctuatie bij vergelijkbare bodembesmettingen kan zijn.

Het schaderelatie-onderzoek werd onder andere uitgevoerd op Proefbedrijf de OBS in de Noordoostpolder waar Hofmeester (1990) in 1989 reeds een schade-relatieproef had gedaan.

Deze proef is voortgezet met een vatbaar en een partieel-resistent ras. De verhouding tussen de schade-ontwikkeling in de Noordoostpolder tot gebieden met andere grondsoorten is onderzocht door middel van een proef met een vijftal Nederlandse grondsoorten op PD-tuin in Emmeloord.

## Materiaal en methoden

### Perceelsbemonstering

Voor de grondbemonsteringen is als uitgangspunt genomen het reeds door het BLGG gehanteerde schema van 60 steken met de bouwlandboor op 1/3 ha, samengevoegd tot een mengmonster. Het mengmonster werd aan de lucht gedroogd en gezeefd (maaswijdte 0.5 cm). Met de pure grond werden zes potjes van 171 ml gevuld, waarin een twee weken oud bietplantje werd verspeend. Op dezelfde wijze werd van de pure grond die stoffijn werd vermalen, een verdunningsreeks met verdunningsfactor 10 met gepasteuriseerd rivierzand ingezet. Na zes weken werd geoogst en werd met een ELISA-test op het plantsap bepaald of er sprake was van virusinfectie. Aan de hand van de verhouding tussen zieke en gezonde plantjes werd het aantal infectieuze eenheden in het uitgangsmoeder de zogenaamde MPN (Most Probable Number) geschat (Tuitert, 1990).

In 1991 is in het voorjaar op de OBS het bietenperceel van 4 ha (257 m bij 144 m) in twaalf stukken van 1/3 ha verdeeld en met de volgende grids en herhalingen bemonsterd: 4 ha 12 maal, 2 ha 6 maal, 1 ha 3 maal, 1/3 ha 2 maal. De 1 ha-stroken lagen in de lengterichting van het veld en waren onderverdeeld in 3 x 1/3 ha gedeelten. Bij de 1/3 ha-monsters is de herhaalde bemonstering op dezelfde punten gestoken, bij de overige werd bij elke herhaling het grid verschoven, zodanig dat de prikpunten tussen die van de vorige herhaling in lagen.

In augustus 1991 zijn naast het bietenperceel van de OBS bij vijf bietenpercelen in de Noordoostpolder systematische gewasbemonsteringen uitgevoerd. Bij de deze percelen werd in het voorjaar voorafgaand aan de teelt de 1/3 ha-bemonstering (methode BLGG) toegepast in drie herhalingen met een verschuivend grid. Bij de gewasbemonstering zijn op vaste afstanden verdeeld over 1/3 ha 60 bieten opgetrokken, waarvan de bietpunten werden verzameld. Op het perssap van de punten werd een Elisa-test voor het BNYV-virus uitgevoerd. Het oppervlak werd half beteeld met een vatbaar ras en de andere helft met een partieel resistent ras. In het voorjaar na

de teelt is opnieuw de bodembesmetting bepaald in beide helften, met zestig steken op 1/6 ha. De gewasopbrengsten werden geschat door proefrooiingen in het gewas in september, waarbij op de bemonsterde 1/3 ha 24 maal een lengte van 4 meter van een gewasrij werd geoogst. De resultaten van de gewasbemonstering werden gerelateerd aan de grondbemonsteringen en aan de gewasschade.

### Schaderelatie in veld en ringtoets

#### OBS

In de jaren 1989, 1991 en 1992 zijn in het bietenperceel van de OBS 72 veldjes van 6 m x 10 m uitgezet, waarvan grondmonsters werden gestoken (60 steken met een bouwlandboor). In een voorscreening door middel van een biotoets in de kas werd gezocht naar een selectie van 32 veldjes met een zo breed mogelijke reeks van besmettingen. Van de selectie is vervolgens in een uitgebreide biotoets de hoogte van de besmetting nauwkeurig bepaald. Van de geselecteerde veldjes is bij de oogst het bruto bietengewicht bepaald en zijn er vier monsters van twintig bieten op de gebruikelijke oogstparameters onderzocht door het IRS. In het jaar 1989 werd slechts het vatbare ras Accord geteeld, in 1991 en 1992 werden naast Accord de partieel resistente rassen Rima respectievelijk Stratos geteeld. De verhouding tussen de opbrengsten van het vatbare en het partieel-resistente ras zijn eveneens een indicatie voor de ziektedruk.

#### Grondsoorten

In 1992 is op de PD-tuin in Emmeloord een proef gestart naar het vóórkomen van verschillen in de schaderelatie tussen grondsoorten. Het betrof de volgende grondsoorten: zand van de ROC Kooyenburg te Marrewijksoord in Drente; kleigrond van ROC Westmaas in Zuid-Holland; dalgrond van ROC 't Kompas te Valthermond in Drente, kleiig zand van de PD-tuin te Emmeloord en een lössgrond uit Klimmen in Limburg. Van de gronden werd in vijf herhalingen 20 liter gebracht in een ring van 30 cm Ø en 30 cm diep. De ingegraven ringen waren open aan de onderkant. Op elke ring werden drie bietplanten opgetrokken. De vocht- en temperaturomstandigheden zijn zoveel mogelijk geoptimaliseerd voor de ontwikkeling van de schimmel die het virus overbrengt. Er is laat gezaaid (4 juni) bij voldoende hoge

bodemtemperatuur (>15 °C). De minerale stikstofvoorraad in de grond werd aangevuld tot 6 gram per ring (160 kg/ha). De vochtspanning in de ringen werd gevolgd met pF-meters en met watergiften verlaagd naar rond de 50 mbar als een waarde van rond de 100 mbar werd overschreden. De watergift vond drie keer in de week plaats, de vochtspanning kon afhankelijk van neerslag en verdamping tussentijds oplopen tot gemiddeld 180 mbar en maximaal 900 mbar. Op 17 september werd geoogst, de bodemtemperatuur was toen gedaald tot beneden 15 °C.

## Resultaten

### Perceelsbemonsteringen

De schattingen van de besmetting uitgedrukt in MPN in tabel 143 zijn gemiddelden per 4 ha. Deze variëerden van 10 bij 2 ha bemonsteringen tot 38 bij 1/3 ha. De laboratoriumfout is uitgedrukt in een variatiecoëfficiënt (VC) die varieerde van 61.2 tot 131.8. De laboratoriumfout is door de gevolgde methode in theorie ongeveer 60% (Cochran, 1950) bij 6 potjes per verdunningsstap. Bij 1/3 ha en 2 ha lag de laboratoriumfout redelijk in deze buurt. Bij 1 en 4 ha was de laboratoriumfout echter een stuk hoger, wat de vergelijking van de methoden bemoeilijkt.

In de VC-veld uit tabel 143 zijn zowel de fout in het laboratorium als de fout die ontstaat door de monstername verdisconteerd. Van 1/3 ha tot 4 ha werd het grid van de herhaalde bemonstering steeds sterker verschoven. De VC-veld neemt dan ook toe van 66.3 bij 1/3 ha naar 148.1 bij 4 ha. Alleen bij 1 ha is de VC hoger dan bij 2 ha, wellicht veroorzaakt door de hoge VC laboratorium bij 1 ha.

De relatie tussen de bodembesmetting in het voorjaar van 1991 op zeven percelen en een bemonstering van het gewas in augustus 1991 is weergegeven in figuur 16. De relatie tussen de gewasbemonstering en de resulterende bodembesmetting bij vijf telers in het volgende voorjaar is weergegeven in figuur 17. In beide figuren is er een positieve correlatie tussen bodembesmetting en de gewasinfectie.

Van het vatbare ras is bij een vergelijkbare bodembesmetting een hoger percentage van de planten aantoonbaar virusziek dan van een partieel-resistent ras.

Een toename van de gewasinfectie van het vatbare ras ging eveneens gepaard met een afname van de suikeropbrengst (Ebberts, 1993).

### Schaderelatie

#### OBS

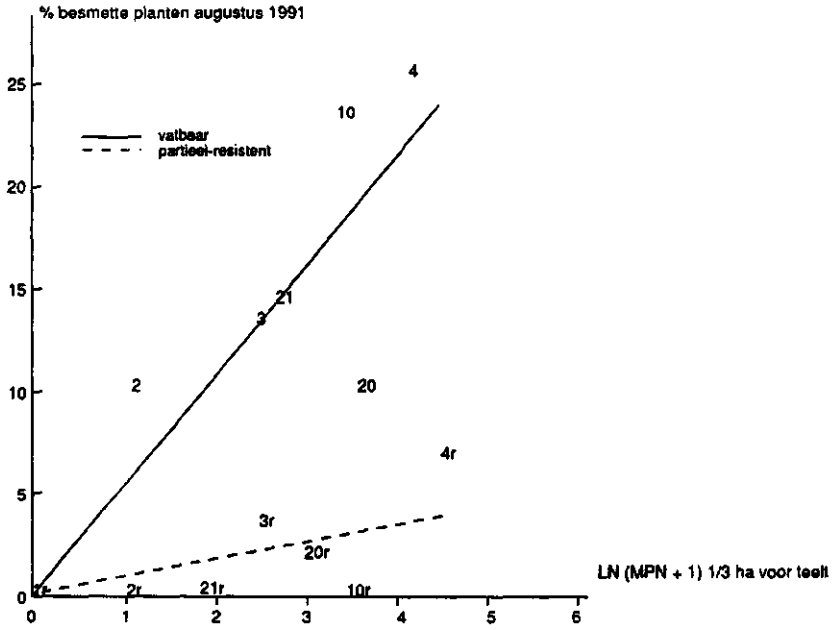
In figuur 18 is het verband tussen de bodembesmettingen in het voorjaar voor de teelt en de suikeropbrengsten bij de septemberoogst in 1989, 1991 en 1992 aangegeven. In het jaar 1992 was per ras de reeks van besmettingsniveaus en opbrengstniveaus klein, daarom is het gemiddelde van de vier waarnemingen per ras aangegeven met een punt.

In 1989 was er een brede reeks van besmettingsniveaus en bleek vooral bij de zeer lage besmettingen reeds een sterke daling van de suikeropbrengst op te treden. Bij toename van de besmetting vanaf  $LN(MPN+1) = 1$  trad geen verdere opbrengstdaling meer op. In de volgende twee jaren werden op de percelen geen besmettingen in het lage traject meer aangetroffen. In 1991 waren er geen rasverschillen, terwijl in 1992 de opbrengst van het vatbare ras veel lager was dan van het partieel-resistente ras. De schade aan het gewas bij vergelijkbare besmettingen

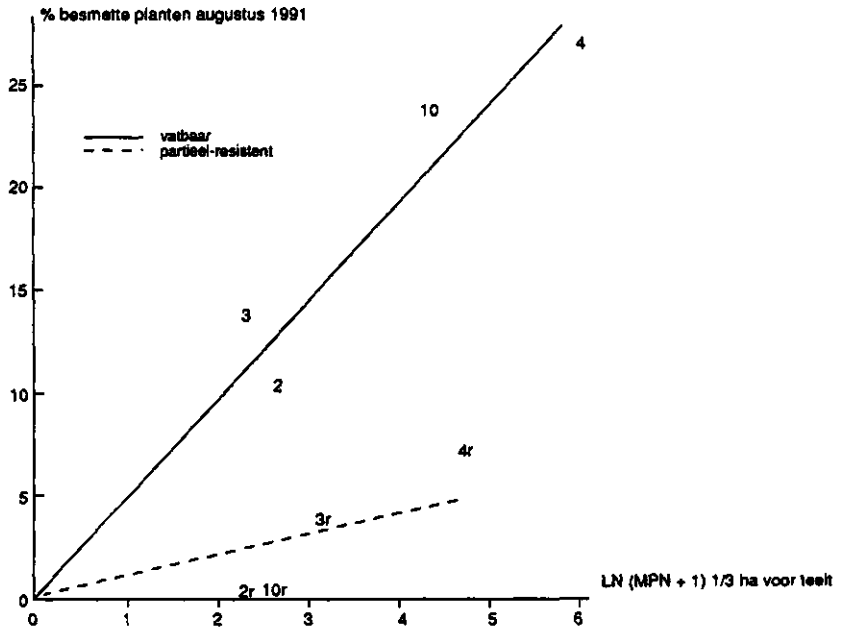
**Tabel 143.** Schatting van de perceelsbesmetting en bronnen van variatie met hun bijdragen uitgedrukt in variatiecoëfficiënt bij analyse van grondmonsters met de biotoets.

oppervlak	N X Hh	MPN/100ml 4ha	VC-laboratorium	VC-veld
1/3 ha	12 X 2	38	61.2	66.3
1 ha	4 X 3	14	131.8	94.7
2 ha	2 X 6	10	69.9	84.2
4 ha	1 X 12	33	103.6	148.1

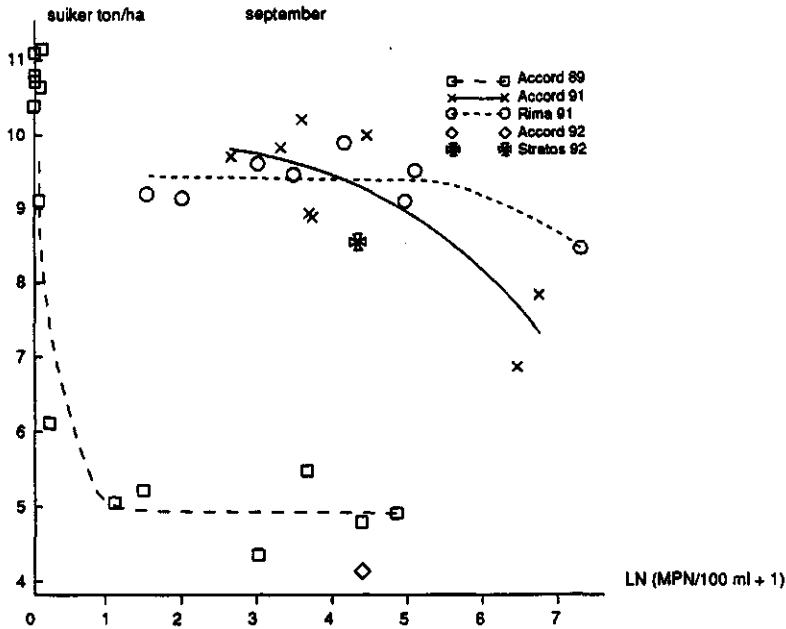
N = aantal velden; Hh = aantal herhalingen; VC = variatiecoëfficiënt in procenten; MPN 4 ha = gemiddelde schattingsgetal van de perceelsbesmetting.



Figuur 16. Bodembesmetting in het voorjaar en infectie van een vatbaar en een partieel-resistent suikerbietenras in augustus op zeven percelen in de Noordoostpolder in het jaar 1991.



Figuur 17. Gewasinfectie in augustus 1991 en bodembesmetting in het voorjaar na de teelt op vijf percelen in de Noordoostpolder.



Figuur 18. Suikeropbrengst in afhankelijkheid van de bodembesmetting in drie jaren op OBS-proefbedrijf te Nagele.

fluctueerde sterk als gevolg van jaarsinvloeden.

## Discussie

### Grondsoorten

De schaderelaties van de bietengewassen geteeld op verschillende grondsoorten verschilden niet significant. Alleen de betreffende lössgrond verschilde ten opzichte van de andere grondsoorten bij 0.1% en bij 1% besmetting ten opzichte van zandgrond (tabel 144). Deze lössgrond heeft bij toeval een lage pH en dit is ongunstig is voor de ontwikkeling van de schimmel (Abe, 1987). Reeds bij 0.1% besmette grond (LN(MPN+1) = 0.7) is de opbrengstderiving significant (vergelijk figuur 18).

### Perceelsbemonsteringen

#### Grondbemonstering

De variatie in de uitslagen van de grondbemonsteringen is voor een groot deel te verklaren uit variatie die ontstaat bij het analyseren van een monster. De analysetechniek behoeft verbetering. Een probleem hierbij is dat het moeilijk is om directe telling van het inoculum te realiseren; schatting aan de hand van uitslagen van een biotoets is voorlopig de enige mo-

Tabel 144. Suikeropbrengst in gram gemiddeld per ring in relatie tot het aandeel kunstmatig aangebrachte besmette grond bij vijf grondsoorten.

grondsoort	(pH)	0% 0 <sup>a</sup>	0.01% 0.1	0.1% 1	1% 10
zand	(7.3)	338	296	197	61
klei	(7.4)	253	243	136	78
dalgrond	(6.1)	255	183	143	74
kleilig zand	(5.5)	280	318	177	86
löss	(4.6)	249	252	272	111

LSD binnen grondsoort = 91, LSD-interactie = 129, a = MPN/100ml

gelijkheid.

De laboratoriumfout blijkt erg variabel. Dit is te verklaren uit de gemakkelijke contaminatie van monsters gedurende de verwerking, met het infectieproces interacterende organismen, licht- en temperatuurcondities in de kas en problemen met de storingsgevoelige ELISA-test.

Door de grote achtergrondvariatie zijn de bijdragen van de veldvariatie moeilijker in te schatten. Wel blijkt dat bij toename van het bemonsterde oppervlak de veldvariatie snel toeneemt. Het gehanteerde oppervlak van 1/3 ha zal niet veel kunnen worden verruimd. Kwantificering van de besmetting met een grondbemonstering en biotoets dient met ruime marges te worden geïnterpreteerd.

#### Gewasbemonstering

De variatie in de uitslagen van de gewasbemonstering wordt voor tweederde deel verklaard uit de uitgangsbesmetting. De resulterende grondbesmetting wordt voor een iets groter deel verklaard door de gewasinfectie. Hiermee biedt gewasbemonstering een perspectief voor perceelsbeoordeling, mede gezien de samenhang tussen gewasbesmetting en gewasschade. In de schaderelatieproef op de OBS kon de relatie tussen bodembesmetting en gewasbesmetting worden bevestigd. Hier bleek echter, gepaard aan de schade, een grote variatie in de aantoonbaarheid van het virus in het gewas tussen jaren. Het percentage aantoonbaar zieke planten varieerde bij vergelijkbare bodembesmettingen van enkele procenten tot 100 procent. Een gewasbemonstering als uitgangspunt voor een schatting van de perceelsbesmetting is alleen bruikbaar indien het algemene beeld van de ontwikkeling van rhizomanie in een bepaald jaar erbij wordt betrokken. Dit laatste is echter moeilijk te kwantificeren.

#### Schaderelatie

##### OBS

De grote fluctuatie in de ontwikkeling van de gewaschade bij vergelijkbare bodembesmettingen maakt het vrijwel onmogelijk om een voorspelling over de te verwachten schade te doen. De fluctuatie is te verklaren uit verschillen in de symptoomontwikkeling, zoals die ook in het landelijke beeld in die jaren naar voren kwam. Het jaar 1991 had een koud voorjaar

en weinig symptomen; de jaren 1989 en 1992 hadden een warm voorjaar en veel symptoomontwikkeling.

##### Advisering

Bij constatering van een besmetting zou de teler uit kunnen gaan van het slechtste geval. Dit betekent dat op een bepaald besmet oppervlak het telen van een partieel resistent ras voordelig is ten opzichte van een vatbaar ras. Het is dan van belang om de omvang van het oppervlak te weten waar het virus voorkomt in relatie tot het totale perceelsoppervlak. Een gewasbemonstering met kartering van de virusbevattende planten zou deze informatie kunnen verschaffen. Bij een besmet aandeel van naar schatting 10% à 20% van het perceel of meer zal een volveldse teelt van een partieel-resistent ras in jaren met veel ziekte-expressie voordelig zijn.

##### Rentabiliteit

Bij hogere besmettingen ondervinden partieel-resistente rassen ook schade, zij het in beduidend mindere mate. Verder is de vermeerdering van de besmetting bij deze rassen onder praktijkomstandigheden niet aantoonbaar lager dan bij een vatbaar ras. Bij voortgaande teelt zal de besmetting dus verder oplopen en zal de schade toenemen. De ervaring in het rassenonderzoek is dat de schade bij de partieel-resistente rassen niet zodanig toeneemt dat geen renderende teelt meer mogelijk zou zijn (IRS, persoonlijke mededeling).

##### Grondsoorten

Er is geen aanleiding om onderscheid te maken tussen gebieden op basis van grondsoort, voorzover temperatuur- en vochtcondities niet in het geding zijn. Het waargenomen effect bij lössgrond vormt vanwege de lage pH van de verzamelde grond geen aanleiding tot een andere advisering voor de betreffende streek.

#### Conclusie

Door een combinatie van factoren is toepassing in de praktijk van een grondbemonstering met een kwantitatieve biotoets niet haalbaar. Bemonstering moet beperkt blijven tot niet veel meer dan 1/3 ha,

de analysetechniek levert slechts een ruwe schatting van de besmetting en de methode vergt veel arbeid en is daarom duur. Door sterke seizoensbepaalde fluctuatie van de schade zijn de gevolgen van een besmetting moeilijk in te schatten. Inschatting van een perceelsbesmetting is mogelijk met een gewasbemonstering, waarbij tevens de omvang en ruimtelijke verdeling kan worden geschat. Bij de advisering is voornamelijk onderscheid naar grondsoort niet nodig.

## Samenvatting

In een veldproef op proefbedrijf de OBS in Nagele werd in 1991 door herhaalde bemonstering de betrouwbaarheid van grondbemonsteringen op rhizomaniebesmetting onderzocht. Het bleek dat de analysemethodiek voor het schatten van de zogenaamde MPN reeds een grote variatie kent. Bij toenemen van het oppervlak per standaard grondmonster van 1/3 ha naar 4 ha nam de variatiecoëfficiënt toe van het theoretische minimum van 60% tot 150%.

Bij een vijftal telers in de Noordoostpolder is in 1991, door bodembesmettingen voor en na de suikerbieten teelt te relateren aan de gewasinfectie, de mogelijkheid van gewasbemonstering onderzocht. De variatie in de gewasinfectie in augustus kon voor 66.4% worden verklaard uit de grondbesmetting voor de teelt. De variatie in de bodembesmetting kon voor 73.4% worden verklaard uit de gewasinfectie. Ook was de gewasinfectie significant gecorreleerd met de gewasschade.

In drie jaren werd op proefbedrijf de OBS op veldjes van 60 m<sup>2</sup> de bodembesmetting (MPN) gerelateerd aan de opbrengst. Er bleek een grote fluctuatie tussen de jaren in de schade tengevolge van rhizomanie bij vergelijkbare bodembesmettingen.

In een onderzoek naar grondsoorteffecten op de schade-ontwikkeling door rhizomanie konden geen significante verschillen worden aangetoond, afgezien van een lössgrond met een toevalligerwijs voor de virusvector ongunstige lage pH.

Over dit onderzoek is een PAGV-verslag verschenen.

## Literatuur

Abe H. Studies on the ecology and control of *Polymyxa betae* Keskin as fungal vector of the causal virus (BNYVV) of rhizomania disease of sugar beet. Proefschrift Hokkaido Exp. Station no 60 (Japan) (1987), 65 p.

Büttner G. Was tun wenn Rizomania neu auftritt?. Pflanzenschutzpraxis 1/1991 (1991), p 40-43.

Cochran W.G. Estimation of bacterial densities by means of the 'most probable number'. Biometrics 6 (1950), p. 105-116.

Ebbers L.W. Rhizomanieonderzoek 1990 -1993 PAGV-verslag nr. 160 (1993).

Hofmeester Y. Rhizomanieonderzoek 1987 - 1989. PAGV verslag nr. 115 (1990).

Schäufele W.R. Tolerante Zuckerrübensorten - Hilfe in Rizomania-Befallsgebieten. Agrar Übersicht 3/1990 (1990).

Tuiter G. Assessment of the inoculum potential of *Polymyxa betae* and beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) in soil using the most probable number method. Netherlands Journal of Plant Pathology 96 (1990), p. 331-341.

## Summary

*The reliability of soil sampling for Rhizomania was tested on a plot at the OBS experimental farm in Nagele. A large percentage of the variation in the MPN was due to the method of analysing the soil samples. Increasing the surface per sample from 1/3 hectare to 4 hectares meant a further increase in the coefficient of variation from the theoretical minimum of 60% to 150%.*

*In 1991, the possibility of crop sampling for the assessment of rhizomania infestation was investigated by relating soil infestation at seven locations in the Noordoostpolder to crop infection in August. The variation in crop infection was accounted for by 66.4% of soil infestation before the beet crop. The variation in soil infestation after the beet crop was accounted for by 73.4% of crop infection. The crop infection was also significantly correlated with the*

yield increase.

*On plots of 60 m<sup>2</sup> at the OBS experimental farm, the soil infestation (MPN) was related to the yield in three years. There appeared to be a large fluctuation in the yield reduction due to Rhizomania between years on comparable soil infestation levels.*

*In an experiment concerning interaction of five soil types with the development of yield reduction, there were no significant effects, except in the case of a loess soil with a low pH which is unfavourable for the virus vector.*

*This research is reported in a PAGV publication.*