

Is *Erwinia* te beheersen?

Een literatuurstudie over rotproblemen in diverse gewassen om met deze kennis *Erwinia* in bolgewassen beter te kunnen aanpakken

Auteurs: Joop van Doorn en Jan van der Wolf

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector Bollen
Mei 2005
PPO nr. 320966

© 2004 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving 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 Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.



Projectnummer: 320966

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Bollen en Bomen

Adres : Prof. Van Slogterenweg 2, 2161 DW Lisse
: Postbus 85, 2160 AB Lisse
Tel. : 0252 – 46 21 21
Fax : 0252 – 46 21 00
E-mail : infobollen.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING	7
2 ERWINIA.....	9
3 SYMPTOMEN.....	11
3.1 Aardappel	11
3.2 Bolgewassen	11
3.2.1 Hyacint	12
3.2.2 Iris.....	13
3.2.3 Freesia, Brodeae (Triteleia).....	13
3.2.4 Zantedeschia.....	13
3.3 Lof.....	13
3.4 Ui.....	14
3.5 Andere gewassen.....	14
3.6 Symptoomontwikkeling	15
4 <i>ERWINIA</i> : INTERACTIE MET ANDERE PATHOGENEN	17
4.1 <i>Erwinia</i> als secundair pathogeen?	17
4.2 Schimmel- <i>Erwinia</i> combinaties.....	18
5 OVERLEVING VAN <i>ERWINIA</i>	21
5.1 Onder laboratoriumomstandigheden	21
5.2 In en op de knol	21
5.3 In <i>in vitro</i> materiaal.....	21
5.4 In grond	21
5.5 Overleving in compost.....	22
5.6 Overleving in aardappelopslag.....	22
5.7 Alternatieve waardplanten	22
6 VERSPREIDING	25
6.1 Interne infecties vanuit de (rottende) moederknol	25
6.2 Externe infecties vanuit de rottende moederknol.....	26
6.3 Verspreiding via insecten	26
6.4 Oppervlaktewater	27
6.5 Besmettingen na loofvernietiging.....	28
6.6 Via machines	28
6.7 Verspreiding via mest	28
7 DETECTIE EN BEHEERSING	29
7.1 Snelle vermeerderingstechnieken	29
7.2 Certificering.....	29
7.3 Veldinspecties.....	29
7.4 Controle tijdens de bewaring	30
7.5 Laboratoriumtoetsen	30
7.6 Teeltmaatregelen	31

7.7 Fysische en chemische behandelingen	31
7.8 Biologische bestrijding.....	33
7.9 Toekomstige strategieën?	34
7.10 Resistentie.....	34
8 CONCLUSIES	35
9 LITERATUUR.....	37

Samenvatting

Het meeste onderzoek aan *Erwinia*-bacteriën is uitgevoerd bij aardappel. In dit gewas worden drie ziekteverwekkende *Erwinia*-soorten gevonden: *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (Eca), *Erwinia chrysanthemi* (Echr) en *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc). Eca speelt in gematigde klimaatsgebieden de belangrijkste rol bij aardappel. Eca is echter relatief waardplant- specifiek en veroorzaakt behalve in aardappel, alleen economische schade in witlof en soms in *Zantedeschia*. Echr is een pathogeen dat een brede waardplantenreeks heeft, en zowel in aardappel als ook in bloembollen voorkomt. In Nederland blijkt momenteel de meeste schade in de bloembollenteelt door Echr veroorzaakt te worden. Ecc is een echte “alleseter” en wordt ook regelmatig uit rottend aardappel- en bloembolweefsel geïsoleerd. Mogelijk bestaan er agressieve en minder agressieve stammen van *Erwinia* in bloembollen, zoals ook gevonden is in aardappel. Het valt niet uit te sluiten, dat andere bacteriën (*Pseudomonas syringae*, *Clostridium*, *Bacillus*) ook een rol kunnen spelen, en dat in sommige gevallen een schimmel (o.a. *Fusarium*) vergelijkbare ziekteverschijnselen geeft.

Erwinia's worden in planten en plantenresten gevonden en komen verder in oppervlaktewater voor. Tijdens de oogst kunnen bacteriën via aerosolen in de hogere luchtlagen terecht komen en via regenwater weer in het gewas. In de grond en op materialen van gereedschappen en materialen sterven *Erwinia*'s vrij snel. Het is wel bekend dat contactbesmettingen tijdens teeltmaatregelen, oogsten, sorteren, bewaren en planten gemakkelijk kunnen optreden. Voor de symptoomontwikkeling is een bepaalde drempelwaarde (aantal bacteriën) in de plant noodzakelijk. Pas bij een hoge dichtheid worden enzymen aangemaakt die de celwanden van het gewas kunnen afbreken.

Bestrijding moet op verschillende niveaus gebeuren. Hierbij spelen goede waarnemings- en detectiemethoden een belangrijke rol. De eerste waarneming vindt plaats in het veld, de tweede na het rooien van het gewas. Op basis van de resultaten bij de monsternamen kan men besluiten probleempartijen langere tijd op het veld te laten staan om verdere aantasting via mechanische beschadiging in te perken. Bekend is dat een waterfilm rond de bollen, die zorgt voor zuurstofarme omstandigheden, een bepalende factor is voor ziekteontwikkeling; goed en snel drogen is dus belangrijk voor inperking van deze bacterie. In de bewaring moet de temperatuur niet hoger zijn dan 20 °C om speciaal Echr geen kans te geven.

Er zijn meer of minder gevoelige cultivars van waardplanten. Tolerantie of partiële resistentie kan gelden voor alle *Erwinia*'s, maar ook voor een bepaalde *Erwinia*-soort. Zo wordt, tot zover bekend, *Zantedeschia* niet door *Erwinia chrysanthemi* aangetast.

Erwinia kan als primair pathogeen optreden (vooral Echr), maar wordt ook vaak met andere organismen aangetroffen, waarvan sommigen ook rot-symptomen kunnen veroorzaken (*Fusarium*, *Pseudomonas* e.a.). Het is onduidelijk wat dan de eerste veroorzaker is.

Wat betreft de overleving en verspreiding van *Erwinia* bestaat geen eenduidigheid. Vooral Ecc kan lang in water en op plantenresten overleven. De aantallen zijn vaak gering (minder dan 1000 cfu). Vrij in de grond kunnen *Erwinia*'s minder dan een jaar overleven. Sommige tussengewassen of groenbemesters kunnen waardplant voor *Erwinia* zijn, zoals bepaalde koolsoorten. Vegetatief vermeerderd plantenmateriaal kan besmet zijn met *Erwinia*; hergebruik van reeds geteelde planten is dan ook af te raden. Hoewel verspreiding van *Erwinia* via aerosolen, regen, irrigatie, gewasresten en zelfs insecten kan plaatsvinden, moet vooral rekening gehouden worden met mechanische verspreiding als belangrijkste bron van besmetting. Machines, sorteerdors, ontsmettingsbaden en opslagruimtes zijn de belangrijke bronnen van overdracht, vooral als er tijdens teelt- en oogstmaatregelen knolbeschadigen ontstaan.

Voor Eca en Echr zijn serologische en PCR-detectie methoden voorhanden. Voor Ecc is alleen een PCR beschikbaar, maar deze is nog niet in de praktijk geëvalueerd. De gevoeligheid op laboratorium-niveau van PCR is hoog (tot op enkele bacteriën); in veldmonsters is de drempelwaarde ongeveer 1000 cellen per reactie. Door een goede detectie van *Erwinia* in bv. vermeerderingsstappen van uitgangsmateriaal of bij controles in de bedrijfsvoering (produktielijn) kan de incidentie van *Erwinia* beperkt worden. Beheersing van *Erwinia* moet zich richten op inperking van besmetting. Teeltmaatregelen kunnen zich richten op ontsmetting van bollen en knollen via bv. UV-belichting en stomen, bemesting (toevoeging van calcium en gips), wondbescherming, groeistimulatie van de plant en het toepassen van antagonisten. Ook het voorkomen van verdere infecties van *Erwinia* door afbraak van signaalstoffen die een rol spelen bij in het ziekteproces, en productie van antibiotica door antagonisten zijn strategieën die nader onderzoek behoeven om het rotprobleem het hoofd te bieden.

1 Inleiding

Erwinia veroorzaakt rot in bewaring en teelt van onder meer bloembollen. De laatste jaren is dit bacterieprobleem sterk toegenomen en wordt de economische schade steeds groter. Ook voor aardappel groeien de problemen en was vooral 2003 een slecht jaar; men heeft berekend dat de schade van *Erwinia* in 2003 in de aardappelteelt 17 miljoen euro bedroeg (**Oogst Landbouw, 21 mei 2004, p.34-35**).

In het voorjaar van 2004 is een project gestart dat onder meer de bestaande kennis van *Erwinia* betreffende symptoomontwikkeling en mogelijkheden voor detectie en beheersing in een literatuurstudie wil vastleggen. Naast PPO en PRI wordt hierin informatie verkregen vanuit PPO AGV (vollegrondsteelten), waar de nodige kennis bestaat over *Erwinia*-problemen in aardappel, lof, ui en andere gewassen.

Deze studie is voornamelijk gebaseerd op informatie uit de aardappelwereld, daar *Erwinia* van oudsher hier een groot probleem is en diengevolge veel onderzoek aan deze bacteriegroep is verricht (Van der Wolf 2004).

Informatie uit de bloembollenwereld is nog beperkt en zal worden opgenomen in de verslaglegging van het project "beheersing van rot (*Erwinia*) in bolgewassen" (PPO 320966, 2004-2007).

Deze literatuurstudie behandelt de drie belangrijkste *Erwinia* (sub-) soorten, de symptomen die zij teweegbrengen, hun overleving en verspreiding, detectiemogelijkheden en beheersing. *Erwinia raphontici* en *Erwinia herbicola* (*Pantoea agglomerans*) zijn buiten beschouwing gelaten gezien hun zeer beperkte rol in de huidige problemen. De gebruikte bronnen waren voornamelijk studies over *Erwinia* in aardappel, maar ook literatuur over problemen met *Erwinia* in andere gewassen (lof, chrysant, kool, Zantedeschia). Het doel van deze studie is, om gegevens over *Erwinia* toegankelijk te maken voor de bloembollenbranche en als uitgangspunt te dienen voor het onderzoek in het al eerder genoemde PPO-project.

2 Erwinia

Erwinia is familie van de enterobacteriaceeën, bacteriën zoals *E.coli* die bij de mens in de darm leven. *Erwinia* soorten zijn recentelijk opnieuw geïnclassificeerd. Tot voor kort werden ze onderscheiden in *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (Eca), *E. carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc) en *E. chrysanthemi* (Echr). Nu zijn pectinolytische *Erwinia*s ingedeeld in de genera *Pectobacterium* en *Dickeya* (Gardan *et al.*, 2003; Samson *et al.*, 2004). Eca en Ecc zijn herbenaamd tot resp. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* en *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. Echr was al opgedeeld in negen verschillende biovars, die verschilden in hun vermogen specifieke substraten, zoals suikers, af te breken. De zeven Echr biovars zijn nu in zes soorten ingedeeld binnen het genus *Dickeya*. In deze studie worden de oude namen nog gebruikt. Deze nieuwe indeling is van waarde om mogelijke verschillen in aantasting, verloop van de ziekte, en de gevoeligheid voor bepaalde behandelingen enz. te kunnen relateren aan bepaalde subgroepen (stammen, biovars en dergelijke).

*Erwinia*s zijn Gram-negatieve bacteriën die geen sporen vormen en daardoor temperaturen boven de 60 °C niet kunnen verdragen (Perombelon & Kelman, 1980).

*Erwinia*s zijn facultatief anaeroob en kunnen zich ook vermeerderen bij een lage zuurstofspanning, zoals wanneer knollen worden bedekt met vrij water. Het afweermechanisme van de plant is dan ernstig verzwakt, waardoor *Erwinia*s gemakkelijk binnen kunnen dringen.

Fimbriae (zweepvaren), die betrokken zijn bij de beweging van *Erwinia*s, zijn wel aanwezig bij een hoog percentage van de Ecc en Echr stammen, maar niet bij Eca. Dit kan mogelijk consequenties hebben voor de efficiëntie van de verspreiding van Ecc en Echr in de grond onder vochtige condities.

Ecc en Echr produceren bacteriocinen, antibiotica waarmee (verwante) concurrerende bacteriën kunnen worden uitgeschakeld. Eca produceert dergelijke bacteriocinen niet (Tabel 1).

*Erwinia*s produceren een scala aan celwandafbrekende enzymen waarbij de pectinesplitsende enzymen een dominante rol spelen. Hiermee kunnen ze de waardplantcelwanden (tussenlamel) afbreken en verder binnendringen. Van de belangrijkste enzymen worden verschillende vormen (isozymen) geproduceerd. Mogelijk kan hierdoor een specifieke stam onder verschillende omstandigheden en in verschillend type plantmateriaal rot veroorzaken. Genetische veranderingen van *Erwinia*s treden gemakkelijk op. Dit zal het introduceren van stabiele resistenties (bv. in aardappel) sterk compliceren.

Een belangrijke vondst was de ontdekking, dat *Erwinia*s bij hoge(re) celdichtheid ander gedrag kunnen gaan vertonen (De Boer 2003). Zij gaan dan bepaalde celwandafbrekende enzymen (pectinases) aanmaken en worden agressief. Er vindt dus een switch plaats van een symptoomloze infectie bij een lage dichtheid naar een symptomatische infectie bij hogere dichtheden.

*Erwinia*s komen wereldwijd voor in veel verschillende gewassen, maar de incidentie van ziekteproblemen veroorzaakt door de verschillende soorten verschilt sterk per gebied. De temperatuur speelt hierin een dominante rol. Eca, Ecc en Echr hebben verschillende temperatuuroptima. Echr heeft een relatief hoog groei-optimum en -maximum. Partijen, besmet met Echr vormen daarom een extra risico in landen met een (sub-) tropisch klimaat. Eca is serologisch en genetisch weinig divers. In Nederland komt er maar één serogroep van Eca voor (serogroep I). Echr is genetisch sterk variabel en hiervan zijn al meer dan 12 serogroepen gevonden (Régine Samson, INRA, persoonlijke mededeling). In Nederland zijn uit de aardappel drie verschillende biovars geïsoleerd: biovar 1 (*P. dianthicola*), biovar 5 (*P. chrysanthemi*) en biovar 7 (*P. dianthicola*). Recent zijn bij analyse van een aantal isolaten door de Plantenziektenkundige Dienst uit bolgewassen biovar 1, en 3 of 6 geïsoleerd. Onderzoek met een genetische vingervormingstechniek (PCR-RFLP van het *recA* gen); liet zien dat er binnen de Nederlandse Echr-isolaten in bolgewassen veel genetische variatie bestaat (Waleron *et al.*, 2002).

Tabel 1. Eigenschappen van *Erwinia* spp. (Ecc, Eca, Echr)

	Ecc	Eca	Echr
Symptomen	natrot	Zwartbenigheid (aardappel)	stengelnatrot
Productie pectinolytische enzymen (celwandafbraak)	+	+	+
Maximale groeitemperatuur in °C	28-42	27-35	34- > 45
Beweeglijkheid (flagellen, fimbriae)	+	-	+
Genetische variatie	Veel biovars	5 biovars	Veel biovars
Productie bacteriocinen (antimicrobiële verbindingen)	+	-	+
Antibioticumgevoeligheid (voor Erythromycine)	-	+	-
Overleving onder lab.omstandigheden In water	maanden	?	dagen
Verspreiding	Groot bereik	Beperkt bereik	?
Aantal waardplanten	> 100	Aardappel, sla, bloemkool, Zantedeschia, hyacint	> 100

(+ = eigenschap aanwezig; - = eigenschap afwezig; ? = onbekend)

Ecc bestaat uit veel verschillende isolaten (serotypen), die wel via uitplaten aangetoond kunnen worden, maar niet met snelle serologische technieken. Recent is er een DNA-test beschreven (Kang *et al.*, 2003), die ook in het onderzoek van PPO wordt gebruikt (zie ook 8.5).

Recentelijk is een nieuwe subspecies van *Erwinia carotovora* beschreven die zwartbenigheid in de aardappel kan veroorzaken, nl. *E. carotovora* subsp. *brasiliensis* (Ecb) (Duarte *et al.*, 2004). Ecb is nog alleen in Brazilië aangetroffen en geeft dezelfde symptomen in de aardappel als de andere *Erwinia*s. Ecb reageert niet met de antistoffen en primers die specifiek zijn voor Eca.

Eca veroorzaakt vooral problemen op de aardappel en sommige bol- en groentegewassen (v.b. Zantedeschia's en witlof). In hoeverre de Eca aardappelisolaten (genetisch) verschillen van isolaten die op andere gewassen gevonden worden, is niet bekend. Echr en Ecc kennen beide zeer veel waardplanten, zowel in gematigde streken als in (sub-) tropische gebieden (Perombelon & Kelman, 1980). Echr en Ecc zouden zich daardoor makkelijker op onkruiden kunnen handhaven. Er zijn aanwijzingen dat stammen van *Erwinia*s zich gespecialiseerd hebben op infectie van specifieke waardplanten (De Boer, 2003).

Bacteriën die levend knolweefsel kunnen laten rotten behoren niet alleen tot de *Erwinia*s; ook pectinolytische bacteriën uit de genera *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Clostridium* en *Flavobacterium* kunnen knolweefsel laten rotten (Perombelon & Kelman, 1980). *Erwinia*s zijn echter de primaire veroorzakers van symptomen in de bovengrondse delen van de plant. In sommige gevallen vermoedt men, dat andere pathogenen wegberijder zijn voor *Erwinia*. Bij hyacint is te velde vaak *Xanthomonas hyacinthi* eerst aanwezig, waarna de "witsnotbacterie" Ecc volgt (van Doorn, 2002).

3 Symptomen

3.1 Aardappel

Pectinolytische *Erwinia*-soorten zijn verantwoordelijk voor het ontstaan van de bacterieziekten zwartbenigheid en stengelnatrot in de aardappel. Deze ziekten geven grote economische schade zowel bij de pootgoedvermeerdering als in de consumptieteelt. Ook in andere gewassen kan deze bacterie huishouden.

Erwinia komt voor tijdens de teelt, oogstfase en naooogst (bewaring).

Infectie met pectinolytische *Erwinia*'s kan resulteren in een scala aan symptomen. Hoge infectieniveaus kunnen bij hoge vochtcondities in de grond leiden tot het afsterven van kiemen en het weggroten van de knol in de grond. Bij opkomst van geïnfecteerde planten wordt vaak een opeenvolging van symptomen waargenomen, die begint met chlorose gevolgd door verwelking van topbladeren, verwelking van stengels, zwartbenigheid en het afsterven van gedeeltes of van de hele plant (Helias *et al.*, 2000a). Op basis van de symptomen kan niet betrouwbaar worden vastgesteld welke soort *Erwinia* hiervoor verantwoordelijk is. Zowel Eca als Echr worden vaak uit planten met zwartbenigheid geïsoleerd. Echr wordt vaker met stengelverwelking geassocieerd. In welke mate Ecc verantwoordelijk is voor het ontstaan van bacterieziekten in Nederland in de praktijk is nog onduidelijk. Vooral in (sub-) tropische gebieden worden bacterieziekten veel door Ecc en Echr veroorzaakt (Graham *et al.*, 1985). Echr veroorzaakt bij warm weer en een hoge instraling slap hangende topbladeren, die vaak weer bijtrekken wanneer de temperatuur daalt. Onder warme, natte condities kan er stengelverwelking optreden en andere stengelsymptomen zichtbaar worden. De stengels lijken eerst aan de buitenkant gezond, maar zijn van binnen hol en rot en soms breekt bij de bladoksels het rot naar buiten. Ten slotte knikken stengels op deze plaatsen om en rotten verder. Ook kan er vergeling van de onderste bladeren optreden. Een hoog percentage van de geïnfecteerde planten laat geen uitwendige symptomen zien, maar wel inwendig symptomen. Bij het aansnijden van de stengelbasis worden holle stengels (afbraak van het merg) en een bruinverkleuring van de vaten waargenomen. Dit is onafhankelijk van het ras. Echr kan onder bepaalde condities ook Echr zwartbenigheid geven. Knollen tonen necrosen van de vaatbundels en zijn soms rot.

In de tropen worden soms lesies halverwege de stengel gevonden, waarboven de stengel afsterft (Turkensteen, 1986). De plant kan lager weer uitgroeien, waardoor het gewas zich herstelt.

3.2 Bolgewassen

Recente bevindingen over *Erwinia* in bolgewassen zijn gepubliceerd in BloembollenVisie (Vreeburg *et al.*, 2004a,b en c) en worden onderzocht binnen het onderzoeksproject "beheersing van *Erwinia* in bloembollen" (PT 11863).

Tabel 2 geeft een overzicht van de toe nu toe bekende *Erwinia*-soorten en –subspecies.

Tabel 2. *Erwinia*'s in bolgewassen

<i>Erwinia</i> -soort	symptoom	gewassen
Ecc	witsnot/stinkend zachtrot	hyacint, Zantedeschia, iris, Muscari
Eca	stinkend zachtrot	(hyacint, Zantedeschia(?))
Echr	ploffers knolrot verwelkingsziek	dahlia anemoon, hyacint begonia
<i>E. rhapontici</i>	inwendig neusrot	hyacint
<i>E. herbicola</i>	woekeringen	dahlia, lelie (?)

3.2.1 Hyacint

Erwinia vormt hier een groot probleem. Opvallend is, dat in oudere publicaties (Swings *et al*, 1993) melding wordt gemaakt van *Erwinia carotovora* subspecies *atroseptica*, en ook wel *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora*. Momenteel geeft vooral *Erwinia chrysanthemi* de meeste problemen, zeker in de bewaring van hyacintenbollen en ook bij verwante gewassen zoals Muscari en Scilla.

De symptomen in het veld laten wegval van planten zien (figuren 1,2). In de bewaring is het “leeglopen” van de bollen in gaasbakken of kuubskisten een kenmerkend symptoom (Fig.3)



Fig. 1. Hyacinten met *Erwinia*-aantasting



Fig. 2. Hyacint met Echr



Fig. 3. Leeglopende hyacintenbollen in de bewaring door Echr

3.2.2 Iris

Al enkele jaren wordt bij PPO onderzoek gedaan naar de sterk toegenomen zachttrot in iris. In de bewaring bij 30 °C kan de uitval tot wel 50% oplopen. Rooicondities, beschadiging en spoelen zijn onderzocht op hun effect op rotontwikkeling (dit is meestal Echr). Snelle droging bij lagere temperaturen (20 °C), voorkomen van beschadigingen, na rooien minstens een week laten rusten en zo min mogelijk spoelen werken gunstig op achterwegen blijven van symptomen (Groen *et al.*, 2004). Symptomen zijn leeglopende bollen, en wegvallende planten.

3.2.3 Freesia, Brodeae (Triteleia)

Over *Erwinia*-aantastingen bij deze siergewassen is nauwelijks iets over bekend. Uit binnengekomen monsters (PPO DiagnostiekService, 2004) werd in sommige gevallen in Freesia *E. chrysanthemi* aangetoond.

3.2.4 Zantedeschia

Dit siergewas mag zich in een steeds toenemende belangstelling verheugen. Deze wordt ook wel calla genoemd en is een knolgewas. Vooral in Nieuw-zeeland is jaren geleden al het nodige onderzoek verricht. Een aantal vertrouwelijke rapporten meldten ook onderzoek naar de aanwezigheid en effecten van *Erwinia*s. *Erwinia chrysanthemi* is niet aangetoond in de onderzochte monsters van rotte, of mogelijk latent geïnfecteerde knollen (tabel 2). Dit komt overeen met de gegevens uit 2004 van DiagnostiekService van PPO Bollen, verkregen uit bemonstering van aangetaste Zantedeschia's (van Doorn *et al.*, 2005).

Eca en Ecc (Gracia-Garza *et al.*, 2004) worden beide geïsoleerd uit aangetaste planten; Ecc verreweg het meest. De invalspoort lijkt de de onderkant van de knol en de voet van de bladsteel te zijn. Het fenomeen latente infectie werd aangetroffen; er werden *Erwinia*s aangetroffen in de buitenste 1-5 mm van de knol.

Hoewel bij veel gewassen vocht een bevorderend effect heeft op *Erwinia*-aantasting, is dit niet zo bij Zantedeschia. Dit is misschien niet verwonderlijk; *Z. aethiopica* is van afkomst een moerasplant. De zuurgraad en de hoeveelheid voedingselementen (nitraten, calcium e.a.) hebben wel invloed op *Erwinia*-aantasting in de plant, maar niet erg veel op de hoeveelheid bacteriën in de bodem.

Voor behandeling blijkt streptomycine goed te werken tegen *Erwinia*, maar dit antibioticum mag in de praktijk niet toegepast worden. Voor ontsmetting e.d. is formaline de beste oplossing. Warmwaterbehandeling is nauwelijks effectief; de temperatuur nodig om *Erwinia* te doden ligt in de buurt van de 50 °C gedurende 15-20 minuten. Dit is te riskant voor de teelt; bovendien kan *E. chrysanthemi* deze temperatuur waarschijnlijk verdragen.

Er worden pogingen gedaan om via resistentieveredeling de rotproblemen aan te pakken (Snijder 2004). De groep die het meest geteeld wordt (*Zantedeschia aestivalis*) bevat nauwelijks resistente cultivars; het genotype *aethiopica* wel, maar kruisingen zijn tot op heden niet gelukt.

Voor aardappel en ook calla's geeft men wel het advies om verwonding voorkomen en te oogsten onder droge (grond-) omstandigheden. Selectie van gezonde knollen, het planten in goed gedraineerde grond is raadzaam evenals het toedienen van calcium om rot te verminderen en het verbranden van planten en knollen met rotsymptomen.

3.3 Lof

Hier spelen enkele *Erwinia*-soorten een rol als veroorzaker van zachttrot. Men heeft gevonden dat in lof *Erwinia carotovora* subspecies *odorifera* vaak de verantwoordelijke rotbacterie is voor de gevonden problemen (De Boer, 2003). In Nederland wordt meestal natrot door Ecc en *Pseudomonas marginalis* veroorzaakt; in Frankrijk waarschijnlijk door Eca en *E. odorifera*. Naast de drie *Erwinia*s zijn ook *Pseudomonas marginalis* en *Clostridium* sp. betrokken bij zachttrot in lof.

De wortels van lof worden in het najaar geoogst, en “gebroeid” na een korte opslag bij lage temperatuur. De waterbroei vindt in het donker plaats; de eetbare “koppen” moeten voorzichtig geoogst worden, meestal na 4 weken. Beschadigingen e.d., vergelijkbaar met bol- en knolteelt, moeten voorkomen worden. Nederland was in de jaren negentig de derde lofproducent van de wereld; zo’n 130 miljoen gulden ging er in 1996-1997 op de veiling om. In de witlofteelt pleegt men pennenteelt, en de zg. jaarrondteelt. Twee deelseizoenen worden onderscheiden: oktober-januari, en januari-april/mei. Vroege rassen zijn gevoelig; bij veel stikstofgift kunnen veel problemen ontstaan. Latere rassen zijn veel minder gevoelig. Op het veld is weinig aan *Erwinia* te doen behoudens raskeuze en mate van stikstofgift. Voor de bewaring: (bij 1-3 °C of zelfs –1 °C) worden de wortels wel in CaCl₂ gedompeld (3-5%) vòòr de bewaring; dit zou minder makkelijk celwandafbraak door *Erwinia* bewerkstelligen. Reductie van ziekte via deze behandeling bedraagt wel 50%. Eenmaal uit de bewaring krijgen gevoelige pennen nogmaals CaCl₂, daarna verplaatst de teelt zich naar de trekruimte (18-20 °C). Dit is een vochtige ruimte (de pennen staan op water) waar fruitvliegjes voor verspreiding van rot zouden kunnen zorgen. Ook waterfilms in de bewaring kunnen zorgen voor snelle verspreiding van *Erwinia* (Schober, 1998).

3.4 Ui

Het probleem is hier klein. Na het sorteren vormt onze bacterie geen probleem! Rot is hier koprot (*Botrytis*) en witrot (*Fusarium*). Ui wordt geteeld via zaad en *Erwinia* is niet zaadovergaand. De *Erwinia* van belang is Ecc. In Indonesië is er een *Erwinia*-probleem in sjalotten die vegetatief worden vermeerderd. Bij de bewaring van ui (1-4 °C) zijn er geen echte *Erwinia*-problemen; na het oogsten bij 20 °C moet er wel gedroogd worden en kan eventueel uienvlieg verspreiding van *Erwinia* geven. Vaak is valse meeldauw of koprot de primaire infectie, waarna *Erwinia* (zie ook hoofdstuk 5) als secundair pathogeen toeslaat. Mechanisch kan hagel schade geven en zo zorgen voor een invalspoort. In Nederland is *Erwinia* geen probleem in de uienteelt wanneer er een goede bodemstructuur en drainage aanwezig is. Gegevens over sierui (*Allium*) ontbreken. Extreme bladgroei moet voorkomen worden (weinig stikstof geven), niet te veel beregenen, en oogsten onder droge omstandigheden (aug/sept). Er is geen doorteelt van uit zodat men eventuele *Erwinia*-problemen kwijtraakt. Rooien gaat makkelijk (uien “liggen” op de grond) en beschadigen zo minder makkelijk dan bollen. In warme landen echter is *Erwinia* wel een probleem!

Anaerobe omstandigheden destabiliseren de plantmembranen en zijn gunstig voor *Erwinia*. De opbouw van de bacterie-populatie vindt plaats in het veld. Een bepaalde dichtheid van bacteriën is nodig om pectinolytische enzymen te produceren; na maceratie van de celwanden van de ui verspreiden de bacteriën zich (pers. mededelingen, Arjen Veerman, AGV).

3.5 Andere gewassen

Het betreft hier vaak maar geringe problemen met meestal slechts een paar procent uitval.

Suikerbiet

Erwinia betavasculorum speelt hier een rol. Deze kan met zaad meegenomen worden.

Bloemkool, broccoli

Meestal veroorzaakt *Erwinia* niet meer dan 1% schade in Nederland. Er zijn wel meer problemen in warme landen. Vaak treedt zachtrot op na mechanische beschadiging of bevriezing van deze gewassen.

Cyclaam

De plant wordt geel en verwelkt snel. Ecc en vooral Echr kunnen deze problemen veroorzaken (Numansen, 2000).



Fig.4. Door *Erwinia chrysanthemi* aangetaste cyclamen

Chrysant, anjer

Het is niet verwonderlijk dat vooral Echr hier aantastingen geeft. Vaak is het blad aangetast; ook anjer kan worden aangetast. Daarbij is de verkeluring van de vaatbuddels bij een doorgesneden stengel karakteristiek

3.6 Symptoomontwikkeling

Symptoomontwikkeling wordt beïnvloed door cultivar, knolgrootte, onderwatergewicht, beschadiging van de plant, bacteriestam en omgevingsfactoren, waarvan temperatuur, vocht en bodemgesteldheid de belangrijkste zijn. De informatie hierover komt voornamelijk vanuit aardappel. De relatie tussen deze factoren en symptoomexpressie is complex. Hierdoor kan het ziektepercentage bij stammenvermeerdering in opvolgende jaren sterk verschillen. Dochterknollen van planten met vroeg in het seizoen symptomen, geven in het jaar daarna vaak meer bacteriezieke dan dochterknollen van symptoomloze planten. Bij planten die laat in het seizoen ziek worden, zijn de percentages gelijk (Perombelon & Kelman, 1980).

Een aardappelknol kan met één of meerdere *Erwinia*'s besmet zijn. Temperatuur is een belangrijke factor die bepaalt welke soort gaat domineren. Het omslagpunt ligt bij 20 °C bodemtemperatuur of 25 °C luchttemperatuur. Daaronder zal Echr zich niet vermeerderen, daarboven Eca niet. Zware neerslag zal vaak leiden tot het wegrotten van knollen in de grond. Bij matige vochtcondities bepaalt de temperatuur welk *Erwinia* verantwoordelijk is voor symptomen aan de bovengrondse delen van de plant.

Omdat veel van het Nederlandse aardappelpootgoed geëxporteerd wordt, is het belangrijk rekening te houden met de aard van de besmettingen. Besmettingen met Echr zullen tot veel problemen leiden in (sub-)tropische gebieden, terwijl Eca in koele, vochtige klimaten zoals bijv. Schotland veel schade kan geven. Vergelijking van met Eca kunstmatig besmet pootgoed uitgeplant in Israël en Schotland liet zien dat bij een besmetting van 1000 cfu per knol in Israël 12% bacterieziek werd gevonden tegenover 1% in Schotland (Graham *et al.*, 1985). Voor Echr zijn de verschillen nog groter, zoals is gebleken uit vergelijkend onderzoek in Cuba en Nederland (Turkensteen, 1986).

Symptoomexpressie wordt sterk gestimuleerd door anaerobe condities in de grond, waardoor eerst knolrot optreedt, en daarna symptomen aan de bovengrondse delen van de plant zichtbaar worden. Anaerobe condities treden gemakkelijk op bij sterke neerslag, maar ook bij "verslamping" van de grond. Vooral bij gronden die gevoelig zijn voor verslamping moet het gebruik van zware machines of een sterke beregening worden afgeraden.

4 *Erwinia*: interactie met andere pathogenen

De incidentie van deze bacterieziekte lijkt sterk gerelateerd met knolbeschadigingen. Verschillende pathogene schimmels zijn in staat de knol te beschadigen waardoor *Erwinia*'s kunnen toeslaan (Graham *et al.*, 1985; Perombelon & Kelman, 1980). De laatste jaren komen veel geluiden uit de praktijk dat *Erwinia* vaak voorkomt in combinatie met een *Pythium*-aantasting. Er zijn echter geen onderzoeksgegevens die dit vermoeden ondersteunen. Monsters vanuit de praktijk die aangeleverd zijn bij afdeling DiagnostiekService van PPO-Bloembollen geven aan dat *Pythium* en *Erwinia* frequent gezamenlijk in ziek plantmateriaal aanwezig zijn. In enkele gevallen is ook *Rhizoctonia solani* geconstateerd in combinatie met *Erwinia*. Welke van de pathogenen primair verantwoordelijk is voor infectie van *Zantedeschia* is niet duidelijk, evenmin de interactie tussen de pathogenen tijdens het ziekteproces. Er is nauwelijks gepubliceerd onderzoek bekend naar de interactie tussen nematoden en *Erwinia*'s; er zijn telers die een correlatie met *Pratylenchus* vermoeden.

In Israël werd meer bacterieziek gevonden met *Erwinia*-geïnfecteerde knollen (Ecc en Eca) op gronden geïnfecteerd met *Verticillium dahliae* dan op gronden die voor *Verticillium* ontsmet waren met natrium metham. Dit suggereert een interactie tussen deze twee pathogenen. In Amerika werd na coinoculatie van knollen met Eca en *Fusarium sambucinum* significant meer knolrot gevonden dan wanneer de pathogenen afzonderlijk werden geïnoculeerd.

Natrot (zachtrot) treedt ook vaak secundair op, bijvoorbeeld na een *Phytophthora*-aantasting van de knollen, na bevroren, na wateroverlast en dergelijke. Secundair natrot kan behalve door *Erwinia*-soorten ook worden veroorzaakt door andere soorten bacteriën en door schimmels van het geslacht *Pythium*.

De vraag is nu, of *Erwinia* als secundair pathogeen optreedt, of versterkt wordt door een interactie met een schimmel.

4.1 *Erwinia* als secundair pathogeen?

Een primaire ziekteverwekker is in staat om gezonde planten aan te tasten, onder normale groeiomstandigheden voor het gewas en zonder medewerking van andere ziekteverwekkers. Van secundaire aantasting is sprake als een ziekteverwekker pas optreedt nadat een andere ziekteverwekker als eerste schade heeft veroorzaakt. Die andere ziekteverwekker kan worden beschouwd als een 'helper-organisme'. Zonder het voorwerk van dit helper-organisme zou de ziekteverwekker géén schade veroorzaken. In een wat ruimere interpretatie van het begrip secundaire ziekte, omvat dit ook gevallen waarbij een ziekteverwekker aanzienlijk méér schade veroorzaakt met dan zonder een andere ziekteverwekker. Wanneer beide ziekteverwekkers profiteren van elkaars aanwezigheid waardoor beider aantasting wordt vergroot, spreekt men van synergie.

Erwinia staat bekend als een opportunist, die vaak toeslaat bij verzwakte planten (Pérombelon & Kelman, 1980). Dit valt niet onder het begrip secundaire ziekte. Verzwakte planten zijn in principe altijd vatbaarder voor allerlei soorten ziekteverwekkers. Er is onderzocht in hoeverre *Erwinia* kan toeslaan na wegbereiding door een ander pathogeen.

In de wetenschappelijke literatuur vanaf 1970 zijn een zestiental artikelen gevonden waarin onderzoek is beschreven naar secundaire infectie door *Erwinia spp.* (zie tabel 3). De mate van aantasting veroorzaakt door *Erwinia* kan aanzienlijk verergeren in aanwezigheid van een andere ziekteverwekker. In zo'n geval zal een eerste infectie door bijvoorbeeld een bodemschimmel die op zichzelf weinig of geen schade veroorzaakt de bacteriële infectie stimuleren. Doordat voedingsstoffen uit de plant beschikbaar komen, of doordat de resistentie van de plant wordt gecompromitteerd (Newton & Toth, 1985; Newton *et al.*, 2004) kan dit optreden. Het overgrote deel van de gevonden literatuur heeft betrekking op het gewas aardappel. Het is niet duidelijk of een secundaire aantasting door *Erwinia* in andere gewassen geen rol speelt of dat dit gewoonweg niet of nauwelijks is onderzocht.

Publicaties omvatten resultaten van zowel kas- als veldexperimenten, waarbij het toetsgewas is besmet met *Erwinia*, al of niet in combinatie met een bodemschimmel of aaltje. Vervolgens is gekeken naar de uiteindelijke symptoomontwikkeling die wordt toegeschreven aan *Erwinia*. Daar waar in Tabel 3 een plus staat onder type interactie, is waargenomen dat de schade door *Erwinia* groter was in aanwezigheid van het 'helper-organisme' dan zonder het helper-organisme. Hierbij is het helper-organisme soms voorafgaand en soms in combinatie met

Erwinia toegediend. Onder de helper-organismen zijn diverse *Fusarium spp.*, *Verticillium dahliae*, *Verticillium albo-atrum*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium butleri* en *Rhizoctonia solani*. Een voorbeeld: besmetting van aardappel met *E. carotovora* subsp. *carotovora* of met *Fusarium roseum* 'Sambucinum', resulteerde niet in opbrengstreductie. Maar besmetting met een combinatie van beide ziekteverwekkers had een opbrengstreductie van 46% tot gevolg door *Erwinia* zacht-rot (Davis *et al.*, 1985). Ook is een publicatie gevonden over secundaire aantasting door *Erwinia* na een infectie door *Meloidogyne arenaria* in ui (Alice *et al.*, 1996). Het percentage *Erwinia*-zachtrot was 53% zonder *Meloidogyne* en 100% in combinatie met het aaltje. In Tabel 3 is tevens te zien dat in een zestal publicaties *Erwinia* staat beschreven als helper-organisme voor andere ziekteverwekkers, zoals *Verticillium dahliae*, *Septoria spp.* en *Colletotrichum orbiculare*. *Erwinia* kan dus zowel primaire als secundaire aantasting veroorzaken, in combinatie met diverse bodemschimmels en aaltjes. In een enkel geval is een wederzijdse synergie geconstateerd, waarbij beide ziekteverwekkers in combinatie méér schade veroorzaakten dan individueel (Rahimian & Mitchell, 1981).

Door het optreden van synergie is het mogelijk dat ook niet-agressieve isolaten van *Erwinia* significante schade kunnen veroorzaken, terwijl deze isolaten zonder de interactie met een helper-organisme nauwelijks of geen schade zouden geven. Ook is gevonden dat (matig) resistente cultivars, die normaal gesproken weinig of geen schade ondervinden van *Erwinia*, in geval van synergie met een bodemschimmel wel worden aangetast door *Erwinia*. Deze interacties zouden van groot belang kunnen zijn bij de resistentieveredeling en het screenen van bestrijdingsmiddelen (Newton *et al.*, 2004).

In enkele publicaties wordt melding gemaakt van interactie tussen insecten en *Erwinia*. Infectie door *Erwinia amylovora* correleerde met schade veroorzaakt door een cicade (*Magicicada septendecim*) in fruitbomen (Van der Zwet *et al.*, 1997). De cicade zou een invalspoort voor *Erwinia* verschaffen. Een vergelijkbare correlatie is gevonden tussen de larve van de wortelvlieg (*Psila rosae*) en aantasting door *E. herbicola* in wortel (Cole *et al.*, 1990), en tussen de larve van de cassave fruit vlieg (*Anastrepha spp.*) en stengelaantasting door *E. carotovora* subsp. *carotovora* in cassave.

4.2 Schimmel-*Erwinia* combinaties

Zoals de aanwezigheid van een helper-organisme de schade door *Erwinia* kan stimuleren, zo kan ook bestrijding van het helper-organisme de schade door *Erwinia* beperken. Aangevoerd is dat door de toepassing van fungiciden indirect de bacteriële infectie kon worden verminderd (Davis, 1973; Davis *et al.*, 1985; Stanghellini & Russell, 1971). Ook door biologische bestrijding van de helper-schimmel, zoals de inzet van *Pseudomonas sp.* tegen *Fusarium roseum* 'Sambucinum', kon de schade door *Erwinia* in aardappel worden beperkt (Stanghellini & Russell, 1971).

Indien wordt aangenomen dat *Erwinia* alom aanwezig is, is de verspreiding van de bacterie via insecten niet relevant. Als echter wordt aangenomen dat verspreiding wel een rol kan spelen, kan in de bestrijdingsstrategie daarmee rekening worden gehouden door de vector te bestrijden of bij de cultivarkeuze rekening te houden met gevoeligheid voor de vector (Van der Zwet *et al.*, 1997; Weinzierl R, 1995).

Tabel 3. Overzicht van publicaties over interacties tussen *Erwinia* en diverse bodemschimmels en aaltjes.

Ziekteverwekker	Helper organisme	Type interactie	Gewas	Publicatie
<i>Eca</i>	<i>Fusarium roseum</i> 'Sambucinum'	+	aardappel	Davis <i>et al.</i> , 1983, 1985
<i>Ecc</i>	<i>Fusarium roseum</i> 'Sambucinum'	0	aardappel	Davis <i>et al.</i> , 1983
<i>Ecc</i>	<i>Verticillium dahliae</i>	+	aardappel	Rahimian & Mitchell, 1984
<i>Eca</i> <i>Ecc</i>	<i>Verticillium dahliae</i>	+	aardappel	Kritzman <i>et al.</i> , 1985
<i>Eca</i> <i>Ecc</i>	<i>Fusarium sulphureum</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium solani</i>	+	aardappel	Zink & Secor, 1982
<i>Ec</i>	<i>Fusarium roseum</i> 'Sambucinum' <i>F. solani</i> f. <i>pisi</i> <i>F. solani</i> f. <i>phaseoli</i> <i>F. oxysporum</i> f. <i>vasinfectum</i> <i>Verticillium albo-atrum</i> <i>Pythium aphanidermatum</i>	+	aardappel	Stanghellini & Russell, 1971
<i>Ecc</i>	<i>Pythium butleri</i>	+	aardappel	Abo-el-Dahab, 1978
<i>Ecc</i>	<i>Meloidogyne arenaria</i>	+	ui	Alice <i>et al.</i> , 1996
<i>E. chrysanthemi</i>	<i>Fusarium solani</i>	+	aardappel	Duarte & Clark, 1993
<i>Erwinia</i> spp.	<i>Rhizoctonia solani</i>	+	aardappel	Davis, 1973
<i>Colletotrichum orbiculare</i>	<i>Erwinia tracheiphila</i>	+	komkommer	Moran, 2001
<i>Septoria nodorum</i>	<i>Erwinia amylovora</i> *	+	tarwe	Dewey <i>et al.</i> , 1999
<i>Septoria tritici</i>	<i>Eca</i>	+	graan	Newton <i>et al.</i> , 2004
<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Eca</i> , <i>Ecc</i>	-	aardappel	Davis <i>et al.</i> , 1983
<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Ecc</i>	+	aardappel	Rahimian & Mitchell, 1981, 1984
<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Eca</i>	+	aardappel	Tsrer <i>et al.</i> , 1987, 1990

* *E. amylovora* stimuleerde schimmelinfectie op graanbladeren *in vitro*, maar kan zelf graan niet aantasten.
(+ = méér schade door de ziekteverwekker in aanwezigheid van het helper organisme; 0 = geen effect van het helper organisme op de schade door de ziekteverwekker; - = minder schade door de ziekteverwekker in aanwezigheid van het 'helper' organisme; *Ecc* = *E. carotovora* subsp. *carotovora*; *Eca* = *E. carotovora* subsp. *atroseptica*).

5 Overleving van *Erwinia*

De meeste gegevens komen wederom van onderzoek, uitgevoerd aan aardappel.

5.1 Onder laboratoriumomstandigheden

Bij experimenten overleefden isolaten van Eca in (kraan-) water bij 50 °C slechts enkele minuten; Ecc ongeveer 5 min. en Ehr het langst: 7.5 minuten.

5.2 In en op de knol

Eca kan op het oppervlak van intacte, ontvelde en beschadigde knollen 222 dagen overleven (De Vries & Van Vuurde, 1993). Echter, op intacte knollen zijn al na twee dagen 99% van de cellen dood, terwijl op ontvelde en beschadigde knollen de populatiedichtheden in de eerste twee dagen juist toenemen. Na 222 dagen overleeft op zowel beschadigde als intacte knollen uiteindelijk slechts een betrekkelijk klein aantal cellen op beschermde plaatsen op of in de knol.

Grote knollen beschadigen makkelijker bij het rooien, in schuren en sorteren en vanuit dit gezichtspunt is het gebruik hiervan dus riskanter. Grote knollen zijn ook minder snel weggerot, waardoor ze een groter risico geven op versmering bij oogst en na-oogst handelingen.

5.3 In *in vitro* materiaal

Eca kan onopgemerkt (latent) persisteren in lage aantallen (10^2 - 10^3 cellen/ml) in *in vitro* planten geproduceerd van planten die besmet waren met Eca (Grimm & Baumann, 1991; Weber & Schenk, 1988). Weber & Schenk vonden 4 van de 170 onderzochte lijnen besmet met Eca zonder dat groeireductie van de planten of contaminatie van het medium optrad. Er werd geen groei van bacteriën gevonden bij incubatie van het materiaal in een rijk medium gedurende 5 weken. Er werd gespeculeerd dat de cellen gebonden zijn aan plantenweefsel waardoor groei uitblijft.

5.4 In grond

Erwinia's lijken niet lang genoeg in grond te overleven om in een rotatie van 1 op 3 of 1 op 4 in een volgend gewas besmettingen te kunnen veroorzaken. Echter, de detectiemethoden staan slechts analyse van relatief kleine volumes grond toe, terwijl de verdeling van bacteriën niet homogeen is. Zelfs met de beste detectiemethoden ligt de grens op ca. 1000 cfu per gram grond. Ook bij lagere dichtheden kan de bouwvoor enorme aantallen *Erwinia*'s bevatten, die een wortelstelsel, zouden kunnen infecteren. Een goede beoordeling blijft moeilijk.

Erwinia's missen het vermogen om energierijke componenten te produceren, zoals glycogeen, waardoor ze in de grond, waar weinig voedingsstoffen beschikbaar zijn, verhongeren. *Erwinia*'s concurreren ook slecht met andere micro-organismen in de grond. *Erwinia*'s zijn weinig aangetroffen in de rhizosfeer van aardappelplanten, waaruit wellicht blijkt dat herinfecties vanuit grond weinig voorkomen. Overigens werd in de rhizosfeer van kruisbloemigen, tabak en lupines en ook van kasgroenten (komkommer en tomaat) wel regelmatig *Erwinia*'s gevonden. Alleen bij Brassica's (kool) werden meer bacteriën in de rhizosfeer aangetroffen dan in de vrije grond en werd ook een hoog percentage van de planten (27 – 77%) besmet gevonden (Roozen, 1991a). Mogelijk zijn zeer lage dichtheden (beneden de detectiedrempels) van *Erwinia*'s betrokken bij herinfecties vanuit de grond. In Japans onderzoek konden *Erwinia*'s niet in grond gedetecteerd worden, maar zodra koolbladeren in contact

kwamen met de grond vond herbesmetting plaats. Of hier ook besmettingen vanuit de lucht een rol hebben gespeeld, is niet bekend. Er is weinig bekend over de overleving van *Erwinia's* in diepere grondlagen, waar competitie afwezig is. Ten slotte is niet bekend of *Erwinia's* ook in een zgn. viable but non culturable (levend, maar niet kweekbaar) toestand voorkomen. Cellen in deze toestand zijn waargenomen bij verwante bacteriën in de groep van de Enterobacteriaceae (*Shigella*, *Salmonella*). Bij het gebruik van detectiemethoden die gebaseerd zijn op het kweken van *Erwinia's* (uitplaatmethoden) kunnen deze bacteriën mogelijk aan de aandacht ontsnappen. De overleving is sterk afhankelijk van een combinatie van omgevingsfactoren, waarvan temperatuur en vochtigheid dominant lijken (Perombelon & Kelman, 1980; Roozen, 1990). In Schotland overleefden Ecc en Eca vrij in grond bij 20 °C gedurende 3-6 weken, waarbij Ecc langer overleefde dan Eca. Bij 30 °C en bij temperaturen beneden de 0 °C was de overleving nog korter. De maximum gerapporteerde periode van overleving is ca. 200 dagen. Ook met gevoelige periode kon, in de herfst geïnfecteerde gronden, vlak voor poten Eca niet meer vrij in de grond gedetecteerd worden. In Australië was in het voorjaar 25% van alle grondmonsters besmet; meer dan 90% van de isolaten was Ecc, 9% was Eca, terwijl Ehr slechts incidenteel werd aangetroffen. Eca overleeft beter in waterverzadigde gronden dan in luchtgedroogde gronden.

Voor aardappel-isolaten van Ehr zijn er geen gegevens bekend over de overleving in gronden (Van der Wolf, 1994). In tropische en subtropische klimaten fluctueerden de overlevingsperiodes voor Ehr tussen de 7 dagen en 6 maanden. De overleving van Ehr is afhankelijk van temperatuur, vochtigheid en pH. In experimenten met maïs-isolaten in Hongarije werd een overlevingsperiode van 38 dagen bij 8 °C, 22 dagen bij 20 °C en 12 dagen bij 30 °C gevonden. Bij extreme temperaturen (< 0 °C, > 30 °C) en bij snelle temperatuurswisselingen werden aanzienlijk kortere overlevingsperiodes gevonden. Voor Ehr werden bij lage vochtcondities (30%) juist langere overlevingsperiodes gevonden dan bij hoge vochtcondities (>60%). Ehr overleeft langer in neutrale of licht alkalische gronden dan bij een lage pH (4.8), langer in een klei dan in een zandgrond en langer in een minerale grond dan in veenachtige grond. Ehr overleefde twee keer zo lang in een steriele dan een niet-steriele grond; hierin wordt de rol van bodemorganismen zichtbaar (predatie en antibiose). Merkwaardig genoeg werd een overlevingsperiode van 12 maanden gevonden in potgrond in de kas. Mogelijk speelt de afwezigheid van sterk fluctuerende omstandigheden hierbij een rol.

De overleving van Ehr kan sterk worden bevorderd door de aanwezigheid van resten van waardplanten. Ehr overleefde in aanwezigheid van maïs-residuen 270 dagen tegenover 90 dagen in vrije grond.

5.5 Overleving in compost.

Erwinia's lijken compostering niet te overleven. Bij een juiste wijze van composteren stijgen de temperaturen tot 70 °C. Ecc bleek bij die temperaturen na 15 min al niet meer detecteerbaar (Elorrieta *et al.*, 2003).

5.6 Overleving in aardappelopslag

Aardappelopslag, ontstaan door niet geoogste knollen of door achtergebleven botanisch zaad, is een bekende drager van aardappelvirussen. Aangenomen wordt dat ook *Erwinia's* in aardappelopslag zich langdurig kunnen handhaven, maar hiervoor is weinig wetenschappelijk bewijs. Het kan zijn dat het opslag "uitziekt" tijdens de vermeerdering. Wel bekend is dat *Erwinia's* slechts overleven in de rhizosfeer van aardappelopslagplanten (Perombelon en Hyman, 1989). Ook de wortels van aardappelopslag bevatten zelden Ecc of Eca. Er is gesuggereerd dat dit komt door de aanwezigheid van antagonistische micro-organismen (Roozen, 1990).

5.7 Alternatieve waardplanten

Erwinia's zijn vaak geïsoleerd uit de rhizosfeer van onkruiden en gewassen die in rotatie met de aardappel worden geteeld (Graham *et al.*, 1985). Een hoog percentage (>50%) van de onkruidwortels in Schotland en de VS waren besmet, maar de dichtheden zijn over het algemeen laag. Populaties worden tijdens het groeiseizoen opgebouwd, mogelijk door besmettingen via regen en aerosolen en dalen na de zomer. Vooral meerjarige waardplanten kunnen een rol spelen bij de overleving van *Erwinia's* en initiële besmettingen van schoon stammenmateriaal. In Schotland domineerde Ecc in onkruiden; Eca maakte ca. 8% van de populatie uit. In Schotland werden alleen bij brassica's (koolachtigen) meer *Erwinia's* in de rhizosfeer gevonden dan in de vrije

grond. Overleving was ook het best bij brassica's, matig op grassen en granen en het slechts op aardappelopslagplanten en onkruiden. In kasproeven werd wel een betere overleving van *Erwinia*'s in de rhizosfeer gevonden van onkruiden dan vrij in de grond (Graham *et al.*, 1985). Er zijn geen gegevens bekend over overleving van Echr in onkruiden of de verspreiding van Echr vanuit onkruiden. Echr heeft een brede waardplantenreeks en het is dus waarschijnlijk dat Echr zich gemakkelijk kan handhaven in een aantal onkruiden. Verder is het waarschijnlijk dat de overleving afhankelijk zal zijn van de Echr biovar (of soort). In Nederland is Echr niet gevonden in maïs, maar wel in een aantal siergewassen (Janse & Ruissen, 1988; Perombelon *et al.*, 1988; recente resultaten PPO Bollen).

6 Verspreiding

*Erwinia*s hebben wonden of natuurlijke openingen nodig om zich te kunnen vestigen in een plant. Wonden kunnen veroorzaakt worden tijdens gewasbeschadigingen tijdens teeltmaatregelen in het veld, bij oogst en sortering, maar ook door hagel, wind, insecten en tijdens vorming van zijwortels (Underberg, 1992). Een diagram met mogelijke routes van verspreiding van *Erwinia* is weergegeven in fig.5. Verder spelen lenticellen die tijdens vochtige periodes ontstaan een belangrijke rol bij knolinfecties.

6.1 Interne infecties vanuit de (rottende) moederknol

Als de bewaarcondities niet optimaal zijn, kunnen al tijdens de bewaring *Erwinia*-populaties toenemen. Deze populatietoename leiden niet altijd tot symptomen. Een snelle droging van natte knollen tijdens de inschuring is essentieel (Kushalappa & Zulfiqar, 2001). Bij hogere temperaturen (16 – 20 °C) kunnen er op natte knollen na 6 uur nieuwe infecties met *Erwinia*s plaatsvinden.

*Erwinia*s kunnen vanuit de geïnfecteerde moederknol de vaten direct bereiken en vandaar uit naar de stengel worden getransporteerd (Helias *et al.*, 2000b). Na vacuüm infiltratie van knollen bleek het vaatweefsel van de stengel onder de stengelsymptomen altijd *Erwinia*s te bevatten. Stolonen bleken van alle plantendelen het meest frequent geïnfecteerd te zijn. Het vaatweefsel aan het naveleinde is dan ook vaker geïnfecteerd schilweefsel (De Boer, 2002).

Bij lenticelinfecties kunnen de vaten alleen na afbraak van parenchymweefsel bereikt worden. Hiervoor moet de omgevingsfactoren gunstig zijn voor vermenigvuldiging van de bacteriën, zoals anaerobe omstandigheden. Maceratie van het knolweefsel kan alleen bij een hoge dichtheid ($> 10^8$ cellen/ml) tot stand komen. De bacteriën moeten vervolgens de overgang van knol naar stengel passeren. Er zijn verschillende aanwijzingen dat rasverschillen in gevoeligheid voor *Erwinia*s gebaseerd is op stengelbasisresistentie (Allefs *et al.*, 1996). Mogelijk spelen hierbij lignificatie van plantencellen in het overgangsgebied tussen knol en stengel een rol. Bij sommige rassen vindt wel een makkelijke knolrot plaats, maar worden de bovengrondse delen van de plant niet makkelijk gekoloniseerd.

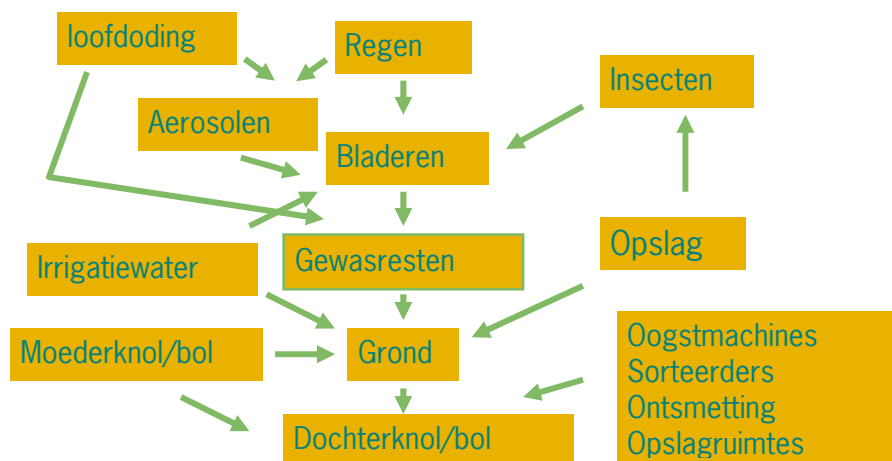


Fig. 5. Verspreiding van *Erwinia* op het veld.

Bacteriecellen kunnen na vacuüminfiltratie van knollen al snel in de stengels worden waargenomen (Allefs *et al.*, 1996). Echter, symptoomexpressie van de bovengrondse delen vindt alleen plaats bij knolrot. Symptoomexpressie van de bovengrondse delen van de plant is afhankelijk van interacties tussen ras, stam en omgevingsfactoren. Overigens verschillen de gemiddelde dichtheden in stengels met en zonder symptomen weinig (Roozen, 1991b). Verder kunnen populaties in één dag met een factor 10^6 toenemen (Roozen, 1991b)! Bacteriecellen kunnen vanuit de stengels via stolonen naar de dochterknollen migreren. Wanneer dit plaatsvindt in het groeiseizoen is niet bekend. In zowel Frans als Canadees onderzoek aan besmettingen met Eca, werd een hoger percentage infecties aan het naveleinde dan gevonden dan schil (lenticel) infecties (De Boer, 2002). Voor Echr, dat als een vaatpathogeen wordt gezien lijkt de interne infectieroute nog waarschijnlijker. Bemonstering van naveleinde voor controle op *Erwinia's* samen met toetsen op de bruinrot- en ringrotbacterie lijkt daarom een bruikbare optie. Voor bollen moeten hier nog data voor verzameld worden.

6.2 Externe infecties vanuit de rottende moederknol

Erwinia's kunnen zich vanuit de rottende moederknol via de grond verspreiden en werden 1-3 meter van de bron gedetecteerd (Roozen, 1990). De mate van verspreiding is afhankelijk van de hoeveelheid vrij water en dochterknollen lijken alleen bij veel regen via de grond geïnfecteerd te kunnen raken. Interacties met bodemschimmels (zie hoofdstuk 5) en ook nematoden lijken voor de hand te liggen, maar hierover zijn weinig gegevens bekend.

Er is wel gesuggereerd dat het snijden van pootgoed juist gunstig werkt, omdat hierdoor de moederknol snel wegroet en er vooral bij de oogst minder kans op versmering is. Aan de andere kant kan er tijdens het snijden juist versmering van *Erwinia's* en andere (quarantaine) bacteriën optreden. Bovendien ontstaat er, bij zware infecties, een mogelijk extra risico op uitvallers door rot. Onduidelijk is of voorkiemen van knollen een voordeel kan hebben. Tijdens voorkiemen kunnen de *Erwinia's* zich al vermeerderen. Verder kan er kiembeschadiging en versmering plaatsvinden tijdens het afkiemen. Een voordeel kan zijn dat symptomen beter zichtbaar worden, zodat er een betere selectie mogelijk wordt. Voorkiemen leidt ook tot een snellere opkomst van het gewas, waardoor mogelijk lage infecties juist minder kans krijgen.

6.3 Verspreiding via insecten

Uit onderzoek blijkt dat insecten natuurlijk besmet kunnen zijn met Eca en Ecc en verse wonden kunnen infecteren. Verder maken insecten zelf ook wonden, die uitvalspoorten kunnen zijn voor infecties vanuit andere bronnen (Roozen, 1990). De betekenis voor (initiele) besmettingen van pootgoed in de Nederlandse praktijk is echter niet bekend. Door na te gaan hoe vaak er "aerial stem rot" optreedt, kan hierin een beter inzicht verkregen worden.

Er zijn geen gegevens over de risico's van transmissie via insecten voor Echr. In aardappelteeltgebieden in zowel Schotland als Colorado was tot 14.5% van de vliegen besmet met *Erwinia's* (Roozen, 1990); (Anoniem, 1989). In andere studies in Schotland werd tot 6% van de vliegen die gevangen waren bij aardappel afvalhoppen besmet met *Erwinia's* (Anoniem, 1989). In Colorado werd aan het begin van het groeiseizoen vooral Ecc gevonden en aan het einde voor al Eca. Dichtheden van $2 \cdot 10^6$ cellen per insect konden worden gemeten direct na besmetting van insecten. Na 48-72 uur werden 10^3 cellen per ml gevonden. In deze periode kunnen vliegen zich maximaal 20 km tegen de wind in verplaatsen. Insecten worden door wonden aangetrokken en kunnen deze gemakkelijk besmetten tot 10 uur na kunstmatige verwonding. Gemiddeld 5% van de door insecten geïnfecteerde wonden resulteerde in aerial stem rot. Beheersing van plaaginsecten zal schade aan het gewas beperken en daarmee het risico van besmetting van bovengrondse delen van de plant. Verder zal insectenbestrijding het risico op transmissie van *Erwinia's* via besmette insecten doen afnemen.

6.4 Oppervlaktewater

Besmettingen van het oppervlaktewater kunnen bij irrigatie leiden tot initiële infecties van het gewas. Verder kunnen er voornamelijk bij golfslag besmette aerosolen ontstaan die tijdens regenbuien percelen kunnen besmetten. Als *Erwinia*s in contact komen met wondweefsel of natuurlijke openingen van de aardappelplant, zijn onder gunstige condities voor de ziekteverwekker 10 cellen al voldoende voor een infectie (Roozen, 1991b). Rechtstreekse infectie van dochterknollen met besmet water via de grond lijkt minder waarschijnlijk omdat hiervoor 10^6 cellen per ml nodig zijn (Roozen, 1991b).

Over de overleving van *Erwinia*s in oppervlaktewater zijn geen exacte gegevens bekend. Echr kan in steriel gedestilleerd water gedurende een periode van 211 dagen bij 16 °C overleven. Bekend is dat de aanwezigheid van andere micro-organismen de overlevingstijd voor plant pathogene bacteriën reduceert.

Van 1988 tot 1991 is door Van Vuurde en De Vries onderzoek gedaan naar de aanwezigheid van *Erwinia*s (Eca en Echr) in oppervlaktewater (sloten) in de IJsselmeerpolders in Nederland (Van Vuurde & De Vries, 1992). In het voorjaar konden geen *Erwinia*'s worden aangetoond. *Erwinia*s lijken de winter niet te overleven. *Erwinia*-populaties beginnen pas toe te nemen in water bij een temperatuur van 10-15 °C. In het najaar werden op de meeste locaties zowel Eca als Echr gevonden. Besmettingen waren niet gerelateerd aan de aanwezigheid van aardappelpercelen. Er zijn geen dichtheden in dit onderzoek bepaald. Een relatief groot aantal sloten was besmet met Echr na een groeiseizoen dat relatief gunstig was voor ziekteontwikkeling door Echr. Echter, bij karakterisering van twee Echr-isolaten bleken deze tot biovar 3 te behoren (warmteminnend, niet geassocieerd met aardappelinfecties).

De NAK bemonsterde het beregeningswater van pootgoedtelers die weinig problemen hadden met bacterieziekten en vond in juli 62% van de monsters besmet met Eca en 32% met Echr in een concentratie van 10^2 - 10^3 bacteriën per ml water (Roozen, 1990). Deze dichtheden komen overeen met die gevonden in oppervlaktewater in Schotland (Graham *et al.*, 1985).

In studies uitgevoerd in het buitenland blijkt Ecc te domineren terwijl Eca 0.6 – 10% van de *Erwinia*-populaties uitmaken. Dichtheden fluctueerde van 1 – 400 cfu per ml (Roozen, 1990). Serogroepen die voorkwamen in het water, kwamen echter niet voor in de stengels van geïnfecteerde planten. Echr is in Australië uit rivierwater geïsoleerd, ver verwijderd van een besmet gewas.

Ook Echr is verschillende malen op verschillende locaties uit meren geïsoleerd, waarvan het water werd gebruikt voor irrigatie (Van der Wolf, 1994). In Japan werd irrigatiewater besmet door geïnfecteerde irisplanten. Het gebruik van dit water resulteerde in besmetting van rijst. In de Verenigde Staten gaf overhead irrigatie van mais, met water dat besmet was met Echr, 10% dode planten.

Er zijn gegevens uit Schotland en Zweden dat de wortels van waterplanten *Erwinia*'s kunnen bevatten (Graham *et al.*, 1985). In de wortels van meerjarige onkruiden zouden *Erwinia*'s tijdens de winter kunnen overleven. In Zweden werd Echr (voor het eerst) ontdekt in bitterzoet (Graham *et al.*, 1985). Verder is gesuggereerd dat *Erwinia*'s kunnen overleven op algen en in het sediment van rivieren en meren. Tijdens de temperatuursverhoging in het voorjaar zouden de bacteriën zich weer gaan vermeerderen en vanuit waardplanten en sediment aan het water worden afgegeven.

Eca en Ecc zijn ook gevonden in zeewater (Atlantische- en Grote Oceaan) tot minimaal 2 km landinwaarts (Graham *et al.*, 1985). Van de zeewatermonsters was 50 – 80% besmet, i.h.a. met lage aantallen. Van de 250 stammen die geïdentificeerd werden, was 6 – 14% Eca, de overigen Ecc. Eca en Ecc kunnen 5% zout tolereren (Graham *et al.*, 1985).

Ook in regenwater kan *Erwinia* zich handhaven. Van het regenwater, verzameld in Oregon (USA) op verschillende tijdstippen en in verschillende maanden was 92 – 100% besmet (Graham *et al.*, 1985). Van de stammen was 25% Eca en 75% Ecc.

Aerosolen kunnen een potentiële bron zijn. Besmette aerosolen kunnen ontstaan bij opspattend (zee-) water, bij een (hevige) regenbui waarbij druppels van besmet loof opspatten en bij mechanische loofvernietiging, vooral bij een vochtig gewas (Graham *et al.*, 1985; Roozen, 1990). Bij een hoge luchtvochtigheid (99%) kon in Oregon *Erwinia*s in aerosolen worden gedetecteerd, maar niet bij een lage luchtvochtigheid. Bij een luchtvochtigheid van 65% is na 30 min 98% van de populatie afgestorven. Gecontamineerde aerosolen worden dan ook vooral gedurende de nacht en ochtend gevonden na regenval en als het weer vochtig en koel is. Besmette aerosolen worden ook gevonden als er geen aardappelgewas in de buurt is. Lage dichtheden bacteriezieke planten in het veld geven al hoge dichtheden bacteriën ($>10^3$ cellen per ha).

6.5 Besmettingen na loofvernietiging

Uit onderzoek in Nederland is gebleken dat na vacuüm infiltratie van knollen met *Erwinia*s, in symptoomloze planten populatiedichtheden van gemiddeld 4×10^6 cellen per ml werden waargenomen (Roozen, 1991a). De dichtheden waren voor Eca en Echr gelijk. Niet geïnoculeerde knollen bevatten $10 - 10^3$ cellen/ml. Vanuit het gehakselde loof wordt Eca de grond ingeregend en kunnen tot 10 cm diepte worden aangetroffen in dichtheden van < 500 cellen per gram grond. Echr kon in dit onderzoek niet betrouwbaar worden gedetecteerd door aanwezigheid van kruisreacties. Dochterknollen kunnen dus in principe door besmet loof worden geïnfecteerd. In Brits onderzoek werden ook in dichtheden van $10^6 - 10^7$ cellen per gram gevonden in een geïnfecteerd gewas na loofklappen (Burgess *et al.*, 1994). In deze studie werden verschillende manieren van loofvernietiging met elkaar vergeleken: spuiten, klappen, een behandeling met zwavelzuur en natuurlijke afsterving. De behandeling met zwavelzuur gaf de laagste dichtheden, maar deze wijze van loofvernietiging is in Nederland niet toegestaan. Er werden sterke aanwijzingen gevonden dat epifytische (op het blad aanwezige) *Erwinia* populaties een sterke rol speelde bij de populatieopbouw na loofvernietiging, in het bijzonder die laag in het gewas voorkomen (Graham *et al.*, 1985).

Behandeling van het gewas met een bactericide of met een antagonist die zich sterk kan vermenigvuldigen in het geklapte loof vlak voor loofvernietiging kan mogelijk besmettingen reduceren. Belangrijk is dat het vernietigde loof tussen de rijen terecht komt.

6.6 Via machines

De periode waarin *Erwinia*'s overleven op machines varieert van uren tot 100 dagen afhankelijk van de mate waarin de cellen zijn beschermd tegen uitdrogen (Graham *et al.*, 1985; Roozen, 1990). De mate van uitdroging wordt bepaald door wind, temperatuur en de luchtvochtigheid. De overleving is vaak voldoende om tijdens teeltmaatregelen en oogst het pathogeen te verspreiden.

Bij de huidige wijze van ziekte- (*Phytophthora*) en plaagbestrijding in aardappel wordt per teeltseizoen 4-12 keer met een tractor en spuit door het pootgoedgewas gereden. Daarbij wordt in totaal 10-15% van de planten beschadigd (Turkensteen, 1995). Raken wielen besmet met de bacterie dan wordt deze effectief verspreid. Tijdens de oogst wordt vaak een hoog percentage ($< 25\%$) van de knollen gekneusd (Perombelon & Kelman, 1980). De aanwezigheid van rotte moederknollen, die vaak niet te vermijden zijn, geven een sterke versmering binnen de beschadigde partijen. Oogst onder zeer droge omstandigheden geeft op de klei harde kluiten, die voor beschadiging kunnen zorgen. Natte omstandigheden leiden tot een sterke versmering. Het sorteren geeft grote risico's, omdat sorteerder moeilijk goed te reinigen zijn en een slechte afstelling al snel verwonding van knollen geeft. Tijdens het sorteren kan één rotte knol in 100 kg aardappelen de helft van de knollen met 10.000-100.000 cellen per knol besmetten.

Tijdens de bewaring zullen lenticellen in de eerste twee weken een dikkere suberine laag vormen, waardoor deze minder permeabel worden (Tyner *et al.*, 1997). Ook krijgen knollen meer gelegenheid om af te harden. Het lijkt daarom wenselijk de aardappels pas twee weken na bewaring te sorteren.

6.7 Verspreiding via mest

Erwinia's zijn wel uit mest geïsoleerd en zou een bron kunnen zijn voor initiële besmettingen (Roozen, 1990). Eca kan bij 4 °C minstens 18 weken en Echr minstens 21 weken in knolweefsel in de rundermengmest overleven (Roozen, 1990). Bij hogere temperaturen en vrij levend in mest zijn overlevingsperiodes korter.

7 Detectie en beheersing

Strategieën voor de bestrijding van bacterieziekten veroorzaakt door *Erwinia's* zijn gebaseerd op het uitsluiten of elimineren van infectiebronnen, het minimaliseren van de kansen op verspreiding van het pathogeen, en het beperken van ziekteontwikkeling en schade aan het gewas bij teelt en oogst en bewaring. Het gebruik van snelle vermeerderingstechnieken, certificering en het toepassen van de adequate teeltmaatregelen worden als het meest effectief beschouwd.

7.1 Snelle vermeerderingstechnieken

Gebruik van *in vitro* materiaal en miniknollen voor productie van stammenmateriaal heeft in verschillende landen tot een sterke reductie van bacterieziekten geleid (Graham *et al.*, 1985).

De exacte bijdrage van het gebruik van *in vitro* materiaal is echter moeilijk te bepalen, omdat in dit onderzoek uitsluitend naar het effect op symptoomexpressie en niet naar latente infecties is gekeken. In Schots onderzoek was van vierdejaars stammen afkomstig van in weefselkweekmateriaal slechts ca 0.005% planten symptomatisch. In Amerikaans onderzoek werden in tweedejaars stammen afkomstig uit weefselkweekmateriaal consequent veel minder knollen met bacterieziek gevonden dan van traditionele stammen. Echter, planten van miniknollen en weefselkweekmateriaal groeien minder snel en het langere groeiseizoen geeft in potentie een hoger risico op herbesmetting.

In Colorado werden acht partijen stammen 3 jaar na productie uit *in vitro* materiaal vergeleken met 4 partijen die via klassieke stamselectie waren verkregen. Het percentage partijen besmet met Ecc uit de snelle vermeerdering lagen tussen de 0 en 22% (ca. 2000 stengels werden bemonsterd). Eca kwam nauwelijks voor. Er werden geen bacteriezieke planten gevonden. De partijen uit de stamselectie waren 11-92% besmet; Eca percentages waren hoger dan 50%. Bacterieziekte incidentie varieerde van 2 tot 18% (Graham *et al.*, 1985). I.h.a. bleef het snelle vermeerderingsmateriaal gedurende 2-3 jaar vrij van bacterieziek.

In Canada, na de introductie van *in vitro* vermeerderings technieken werd een substantiële verlaging van bacterieziek gevonden. Precieze cijfers zijn niet bekend. Er werd geen vermindering in besmettingen met Ecc gevonden (Graham *et al.*, 1985).

7.2 Certificering

Omdat moederknolinfecties beschouwd worden als de belangrijkste bron van inoculum is een start van zo schoon mogelijk uitgangsmateriaal essentieel. Bij de productie van schoon pootgoed is een deugdelijke controle op besmettingsniveaus via veldinspecties en laboratoriumtoetsen vereist.

Dit heeft zeker zin omdat er een positieve relatie gevonden is tussen besmettingsniveaus, de symptoomontwikkeling en de besmetting van de dochterknollen (Toth *et al.*, 2003). Knollen van de cultivars Hermes en Morene werden vacuüm geïnfiltreerd met 0 , 10^3 (laag), 10^5 (matig) en 10^7 (hoog) cellen per ml. De ziekte-ontwikkeling en besmettingsniveaus werden gedurende drie opeenvolgende jaren tijdens het groeiseizoen vastgesteld. De ziekte-incidentie was laag bij de lage en matige besmettingen (5-15%) en hoog bij de hoge (30-50%) besmettingen. De besmettingen van de dochterknollen waren relatief hoog bij de matige en hoge concentraties en relatief laag bij de lage concentraties. Gewas dat laat geoogst werd, had substantieel een hoger infectieniveau dan vroeg geoogste gewassen. In dit onderzoek werd met de hand gerooid, zodat het effect van versmering op oogstmachines niet is meegenomen.

7.3 Veldinspecties

Veldinspecties zijn essentieel om besmette partijen te kunnen traceren. Bij laboratoriumtoetsen kan slechts een beperkte steekproef worden geanalyseerd, terwijl bij veldinspecties een groot deel van het gewas snel beoordeeld kan worden. Echter, expressie van de ziekte vindt niet altijd plaats. Ook is er een sterke variatie in symptoomexpressie tijdens het groeiseizoen waardoor een juiste beoordeling wordt bemoeilijkt. Hierdoor worden

besmettingen via veldinspecties *niet altijd* opgespoord of de incidentie van de infecties (zwaar) onderschat. Een potentieel hulpmiddel voor het detecteren van nog niet zichtbare infecties of het bevestigen van onduidelijke symptomen in het veld is het gebruik van "laser induced fluorescence" (LIF) (Cervantes-Martinez *et al.*, 2002). Met LIF konden vroegtijdige infecties van *Erwinia*s in *Agave tequilana* opgespoord worden. Dergelijke technieken zullen niet erg specifiek zullen zijn en geen onderscheid kunnen maken in de reactie van de plant op biotische en abiotische stressfactoren. Gerobotiseerde monitoringsystemen zijn wel volop in ontwikkeling.

7.4 Controle tijdens de bewaring

Met *Erwinia* besmette aardappelen produceren tijdens de bewaring (95%, 10 °C) typische vluchtige organische componenten, met o.a. ammonia, trimethylamine, sulfides en een aantal niet gekarakteriseerde alkanen, alkenen en aldehyden. Deze stoffen worden niet geproduceerd in aanwezigheid van andere bacteriesoorten worden geproduceerd (Costello *et al.*, 1999). In ander onderzoek werden de vluchtige stoffen gevangen in een absorberend materiaal en daarna met gaschromatografie geanalyseerd (Lyew *et al.*, 2001). Al na 24 uur konden er al verschillen gemeten worden in de hoeveelheid en samenstelling vluchtige stoffen tussen geïnfecteerde en niet-geïnfecteerde partijen. M.b.v. een elektronische neus die gevoelig is voor deze specifieke stoffen zou tijdens de bewaring een indruk verkregen kunnen worden van partij-infecties. Het is de vraag of deze technieken iets registreren bij latente infecties. Misschien kan een afgerichte snuffelhond uitkomst bieden.....?

7.5 Laboratoriumtoetsen

Voor het opsporen van latente infecties is de beschikbaarheid van een gevoelige, specifieke en kwantitatieve toets noodzakelijk die op praktijkschaal met grote aantallen monsters betrouwbaar ingezet kan worden. Bij de NAK worden voor detectie van Eca en Ehr nu verrijking-ELISA methoden gebruikt, waarbij de *Erwinia* bacteriën eerst in een semi-selectief vloeibaar groeimedium worden opgehoopt en daarna m.b.v. ELISA worden gedetecteerd (Alarcon *et al.*, 1995). Deze serologische techniek is gebaseerd op antistoffen. In Nederland kan deze betrouwbaar worden ingezet omdat alleen serogroep I van Eca en serogroep O₁ van Ehr zijn gedetecteerd (Van Beckhoven *et al.*, 2001).

Door 20 monsters van 10 knollen te toetsen wordt een beeld gekregen van de incidentie van de ziekte in een partij. Echter, dichtheden bacteriën in de knol kunnen zo niet bepaald worden, omdat de mate van verrijking niet gecontroleerd kan worden. Voor een deugdelijke risico-analyse is het wel belangrijk initiële dichtheden te weten, omdat er een relatie is tussen dichtheid en besmetting van de dochterknollen (Toth *et al.*, 2003). Initiële dichtheden kunnen wel bepaald worden met behulp van immunofluorescentie-kolonie kleuring (IFC) (Van Vuurde & Roozen, 1990). IFC heeft ongeveer dezelfde gevoeligheid als een verrijkings-ELISA, maar is duurder omdat meer antistoffen worden gebruikt en een visuele beoordeling van de preparaten nodig is. Een verrijkings-ELISA is i.t.t. IFC goed te automatiseren.

De serologische toetsen kunnen betrouwbaar worden toegepast, zolang we in Nederland maar één serogroep hebben van Eca en Ehr. In 2001 is er binnen Plant Research International een uitgebreide survey uitgevoerd. In totaal 206 bacteriezieke planten werden getoetst. Van de 684 isolaten die gekarakteriseerd werden, was globaal 50% Ehr, 25% Eca en 25% Ecc (Van Beckhoven *et al.*, 2001). Alle Ehr isolaten behoorden tot serogroep O₁, alle Eca isolaten tot serogroep I. Deze isolaten worden gedetecteerd met de antisera die door de NAK gebruikt worden. In andere Europese landen varieert het percentage serogroep I isolaten van Eca van 60% tot 97%. Een regelmatige controle op de distributie van de serogroepen in Nederland is gewenst. Voor andere gewassen moet dit nog uitgezocht worden.

Als er andere serogroepen van Eca of Ehr in Nederland worden geïntroduceerd, of als men ook toetsing op Ecc wenselijk acht, kunnen er specifieke moleculaire technieken, zoals polymerase chain reaction (PCR) gebruikt worden. De kosten van het gebruik zijn hoger dan bij ELISA. Ook is PCR gevoeliger voor vals-positieve reacties door kruisbesmettingen. Tenslotte blijkt de gevoeligheid van de PCR onder praktijk-omstandigheden tegen te vallen, zelfs als ervaren onderzoekers de assay uitvoeren (Helias *et al.*, 2000b).

Voor detectie van alle pectinolytische *Erwinia*s in de aardappel, is er een PCR ontwikkeld op basis van 16S rDNA sequenties (Toth *et al.*, 1999). Hiermee kon men in *in vitro* planten tussen de $2 \cdot 10^2$ en $2 \cdot 10^4$ cellen per microplant aantonen. Voor specifiek Eca zijn er twee PCR assays beschikbaar die beide betrouwbaar de verschillende serologische varianten van Eca kunnen detecteren (De Boer & Ward, 1995; Frechon *et al.*, 1998). Voor Ehr is er één betrouwbare PCR assay beschikbaar (Nassar *et al.*, 1996). Voor Ecc is er recentelijk een methode gepubliceerd, deze is nog niet voldoende geëvalueerd (Kang *et al.*, 2003). PCR kan ook gecombineerd

worden met een verrijkingssassay (Hyman *et al.*, 1997). Ook zijn zg. real time PCR-technieken gevoeliger dan standaard PCR en hebben voordelen (multiplex toepassing) ondanks hun hogere kostprijs.

Een nieuwe ontwikkeling in de diagnostiek zijn de zgn. multiplexmethoden, waarmee meerdere pathogenen tegelijk kunnen worden aangetoond. Zo is er al een oligonucleotide array (bv. een glasplaatje met hierop gespot een groot aantal DNA-stukjes) voor de identificatie van verschillende bacteriële pathogenen van de aardappel, inclusief *Erwinia*-soorten (Fessehaie *et al.*, 2003). De gevoeligheid van een array-detectiesysteem is nu nog laag ($> 10^5$ cellen per ml). *Erwinia*s kunnen alleen gevoelig op een array gedetecteerd worden na een amplificatie- (PCR) reactie.

7.6 Teeltmaatregelen

Een optimale bemesting is ook belangrijk om symptoomexpressie te voorkomen. Zowel te hoge als een te lage stikstofgift kan symptoomexpressie stimuleren (Anoniem, 1989).

Verder blijkt het calciumniveau van invloed te zijn op vooral de mate waarin knollen gevoelig zijn voor zachtrot (Graham *et al.*, 1985; Velvis, 2001). Calcium heeft een direct effect op de gevoeligheid van de middenlamel voor celwandsplitsende enzymen. Verder kan het de biosynthese van phytoalexinen, antimicrobiële plantenmetabolieten, stimuleren. Tenslotte heeft calcium een rol bij de inductie van virulentiegenen, zoals endopolygalacturonasen.

Een hoog calciumgehalte in de schil en medulla leidde tot een geringere gevoeligheid voor knolrot door Eca bij toetsing in een mistkamer (McGuire & Kelman, 1984). Dit effect kon ook, maar in mindere mate met andere tweewaardige kationen (Mg^{2+} en Sr^{2+}) verkregen worden, maar niet met éénwaardige kationen. Deze gegevens zijn echter niet gerelateerd aan stengelinfecties. Verder onderzoek liet zien dat de relatie tussen gevoeligheid en calciumgehalte waarschijnlijk complex is. Mogelijk speelt de combinatie van calciumgehalte en droge stofgehalte een belangrijke rol met de vatbaarheid (Tzeng *et al.*, 1990). Er is ook een interactie van calciumgehalte met ras en neerslag gevonden (Bartz *et al.*, 1992; Pagel & Heitefuss, 1989). In ander onderzoek werd geen relatie tussen calciumgehalte in de periderm en de aantasting door Echr gevonden (Cothier & Cullis, 1992).

Grondbewerking met kalk (gips, $CaSO_4$) resulteerde in Schots onderzoek in tragere knolrot en een minder snelle ontwikkeling van bacterieziekte (Bain *et al.*, 1996). Dit effect was later in het seizoen niet meer zichtbaar.

Dochterknollen bevatten een hoger calcium gehalte en waren minder vatbaar voor knolrot, hoewel dit effect niet consistent was in alle proeven. Er zijn gegevens over een positieve werking van calcium op de weerstand van calla tegen zachtrot (*Erwinia*) uit Nieuw-Zeeland (Funnell *et al.*, 1993).

*Erwinia*s hebben buiten de aardappelplant geen sterk competitief vermogen. Om de verspreiding van *Erwinia*s vanuit rottende moederknollen te beperken lijkt een microbiële verrijking van gronden met organisch materiaal positief te kunnen werken. Hierover zijn geen literatuurgegevens bekend. Compost kan wel met *Erwinia*s gecontamineerd zijn en dient hierop gecontroleerd te worden (Serfontein *et al.*, 1991).

7.7 Fysische en chemische behandelingen

Behandeling van pootgoed met warm water, hete vochtige lucht of met droge hitte zijn de bekendste fysische behandelingsmethoden en gaven in verschillende studies een goed behandelingseffect. Met name hete lucht en stoom zijn interessant, omdat dan de knollen niet teruggedroogd hoeven te worden. Echter, dieper liggende knolinfecties kunnen niet worden bereikt zonder de knol te beschadigen. Essentieel is het snel terugdrogen van de knol, om vermeerdering van overblijvende infecties te voorkomen. Apparatuur voor warmwaterbehandeling, ontwikkeld voor bloembollen, kan mogelijk ook voor pootgoed worden gebruikt. Andere interessante fysische methoden zijn behandeling met UV-straling en electronen.

In Schots onderzoek leidde behandeling van pootgoed gedurende 5 min bij 53 °C, gevolgd door een snelle droging al tot een verlaging van het percentage bacterieziekte door Eca aan het einde van het groeiseizoen van 63 tot 13%, zonder beschadiging van de knol. De opbrengst nam toe met 30%. Verdere verhoging van de temperatuur resulteerde in kiemschade en een verminderde opbrengst. In ander onderzoek werd bij een behandeling van 10 min bij 55 °C een goed bestrijdingsresultaat gevonden zonder aantasting van kiemkracht (Graham *et al.*, 1985). Bij droge hitte moet pootgoed minstens 30 minuten bij 60 °C behandeld worden (Graham *et al.*, 1985).

Naast warm water behandeling en droge lucht kan ook stoom voor ontsmetting van pootgoed gebruikt worden. In een opgeschaald systeem waarin 100 knollen gelijktijdig behandeld konden worden gaf behandeling van knollen met stoom van 70 °C bij 2 atmosfeer gedurende 5 seconden een reductie van bacterieziekte in het veld van 26

naar 3% (Afek & Orenstein, 2002). Ook voor andere pathogenen zoals *Helminthosporium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum coccodes*, *Fusarium*, *Streptomyces* en *Spongospora* bleek de stoombehandeling effectief. Naast een bactericide of fungicide effect zou de stoombehandeling ook de knolresistentie kunnen verhogen door veranderingen in het niveau van fenolen, coumarinen, ligninen en de enzymatische activiteit in de knol. Een stoombehandeling in combinatie met waterstofperoxide (10% Compound P) gaf ook een sterke reductie van zachtrot tijdens de bewaring te zien van 26 naar 4% (Afek *et al.*, 1999).

Het is de vraag of warm-water behandeling toepasbaar is voor beheersing van Echr. Een temperatuursbehandeling van Echr in een vloeibaar groeimedium gaf bij 56 °C na 2 min een reductie van 95%, terwijl hetzelfde effect bij Ecc al na 2 min bij 50 °C werd verkregen. Eca was nog gevoeliger voor warmte. Een lange behandelingsduur van pootgoed voor eliminatie van Echr zal zeker leiden tot kiemschade en een slechte opkomst van het gewas.

UV straling bleek effectief bij het voorkomen van bewaarziekten door *Erwinia*'s (Ranganna *et al.*, 1997). Bij een relatief milde dosis, die de kiemkracht van de knollen niet aantastte werd een volledig bestrijdingsresultaat verkregen. De effectiviteit werd vergroot door knollen voor de behandeling 6 uur bij 37 °C te incuberen. In het onderzoek werd echter alleen gewerkt met kunstmatig besmette knollen.

Ontsmetting van pootgoed met chemische middelen leidt slechts tot een (beperkte) reductie van het percentage bacteriezieke planten. Er zijn chemische middelen bekend die een bacterie-dodende of remmende werking hebben, maar ook middelen die de resistentie van de plant induceren.

Het gebruik van natuurlijke gewasbeschermingsmiddelen is een interessante mogelijkheid voor de biologische aardappelteelt. Een voordeel van middelen is, dat men niet afhankelijk van de biologische activiteit van een levend organisme.

Toepassing van Kasugamycine (5%), Hydroxychinoline (8HQ, 0.375%), Mancozeb (20%), Formaldehyde (1%), Streptomycine (0.125%), , Copperoxychinolate (2%), Kopersulfaat (1%) toegevoegd aan een middel tegen *Rhizoctonia* (Solacol) tijdens planten in aanwezigheid van rotte knollen gaf geen reductie. Koperoxychloride (1%) werkte wel, maar matig, en was fytotoxisch (Graham *et al.*, 1985). Vergelijkbare resultaten met koper werden gevonden bij de bestrijding van *Erwinia* zachtrot in *Zantedeschia* spp. (Gracia-Garza *et al.*, 2002).

Ook in ander Amerikaans onderzoek was het effect van het antibioticum kasugamycine al dan niet in combinatie met gechloreerd water niet of matig effectief voor het reduceren van zachtrot tijdens de bewaring van aardappelknollen (Bartz, 1999).

Behandeling van knollen met koper-houdende producten in Canada gaf geen reductie van bacterieziek (Grazia-Garza *et al.*, 2002). Tijdens de teelt, als het middel via irrigatie werd toegediend, werd wel een bestrijding gevonden, maar ook schade aan het gewas.

Behandeling van knollen met chloor (NaOCl) in dampvorm was alleen effectief na een behandeling van minstens 10 dagen bij hoge concentraties chloor (200 mg/l). Bij die concentraties werd de kieming geremd. In ander onderzoek werd slechts een 40% reductie in verlies door zachtrot tijdens de bewaring bereikt door behandeling van aardappelknollen met chloorgas (chloordioxide) (Tsai *et al.*, 2001). Chloor reageert snel met organisch materiaal van de knollen, waardoor de effectiviteit wordt gereduceerd (Olsen *et al.*, 2003).

De toepassing van wateroplosbare, geoxideerde teergronden in Zuid-Afrika (oxifulvine zuur met koper of ijzer) bleek sterk antibacteriële werking (ook tegen *Erwinia*'s) *in vitro* te hebben (Aveling *et al.*, 1999). De toepasbaarheid op aardappelknollen is niet onderzocht.

Voor bestrijding van *Erwinia*'s in Agave werd met succes het bactericide beta-hydroxyethylhydrazine toegepast dat effect heeft op de polyamine biosynthese. In welke mate deze stof ook op aardappelen of bloembollen zal werken is onbekend.

Erwinia's blijken gevoelig voor vluchtige terpenen in thijmolie (Basim *et al.*, 2000). Dit is potentieel voor de biologische teelt interessant. Praktische toepassing lijkt ver weg vanwege de hoge kosten van een behandeling. *Erwinia*'s zijn i.t.t. veel andere bacteriën gevoeliger voor thijmolie geëmulgeerd in water dan voor een thijmbehandeling in dampvorm.

Ook waterige extracten van Allium, Euphorbia en Piper soorten bleken actief tegen *Erwinia*'s en zouden voor behandeling van biologisch pootgoed ingezet kunnen worden (Lirio *et al.*, 1998).

Behandeling van pootaardappelen met acetyl salicylzuur (aspirine) gaf m.n. als het pootgoed voor de behandeling beschadigd werd, al bij lage concentraties 0.0125% een goed behandelingsresultaat (Lopez *et al.*, 2001). De behandelingen werden in kasexperimenten beoordeeld. Er werden geen fytotoxische effecten gevonden.

Nog verder weg van een praktijktoepassing ligt het gebruik van bacteriocinen, Dit zijn macromoleculaire toxinen die door *Erwinia*-stammen worden gemaakt die zelf ongevoelig zijn voor de toxinen, maar verwante *Erwinia* stammen lyseren en soms ook een bredere groep van plant-geassocieerde bacteriën (Tovkach, 1998a; Tovkach, 1998b). Bacteriocinen zouden kunnen worden geïsoleerd van niet-pathogene Ecc's om daar mee Eca en Echr te kunnen bestrijden. De productie van bacteriocinen is echter kostbaar, de bewaarbaarheid van het product

problematisch. Waarschijnlijk zullen niet alle *Erwinia* stammen gevoelig zijn.

Een andere methode gebruikt een zuurbehandeling. Zes minuten incubatie van Ecc met 0.3% azijnzuur was voldoende om deze bacterie te doden (Liao *et al.*, 2004); er zijn voor deze methode helaas geen data voor toepassing op praktijkmateriaal zoals aangetaste bollen. Bij *Zantedeschia* is in enkele experimenten dit zuur niet heel effectief gebleken. Azijnzuur is echter in Amerika algemeen geaccepteerd als veilig en toegestaan als voedseltoevoeging en desinfectant (U.S Food and Drug Administration).

7.8 Biologische bestrijding

Biologische bestrijding van *Erwinia*s is in verschillende studies slechts in beperkte mate effectief gebleken.

Toepassing van antagonisten wordt verhinderd door de regelgeving. Een registratiedossier dat voor toepassing noodzakelijk is, vraagt een investering van vele miljoenen euro's. Antagonisten die naast een bestrijdingseffect ook op een andere wijze de kwaliteit van het plantmateriaal verbeteren, zoals via groeistimulatie, hebben duidelijk een meerwaarde. Behandelingen met antagonisten kunnen worden uitgevoerd bij snelle vermeerderingstechnieken, voor het poten, maar ook bij groenrooien en inschuren. Echter, voor behandeling van bulk pootgoed is een relatief groot volume antagonisten nodig. Dit zal de behandeling kostbaar maken.

Er zijn antagonisten geïsoleerd waarvan de activiteit is gebaseerd op productie van antibiotica, productie van sideroforen die betrokken zijn bij competitie om ijzer, en het uitschakelen van signaalstoffen die betrokken zijn bij inductie van virulentiefactoren. In het algemeen wordt er geen relatie gevonden tussen *in vitro* en *in vivo* activiteit van antagonisten en de effectiviteit in het veld.

Groenrooien biedt mogelijkheden om antagonisten toe te dienen op een belangrijk tijdstip voor knolinfectie met en de opbouw van *Erwinia*s (Kastelein *et al.*, 1996; Kastelein *et al.*, 1999). Verschillende bacteriën en *Trichoderma* soorten bleken in staat wonden te beschermen tegen infecties met *Erwinia*s. Ook toepassing van antagonisten bij het inschuren bleek een redelijke mate van wondbescherming op te leveren.

*Erwinia*s produceren een aantal virulentiefactoren, zoals pectinolytische enzymen alleen bij het bereiken van een hoge populatiedichtheid. (quorum sensing). Deze dichtheid wordt door de bacterieel gedetecteerd door het produceren van specifieke extracellulaire signaalstoffen (homoserine lactonen (HSLs) die gemakkelijk door het milieu kunnen diffunderen. Er verschillen groepen bacteriën gevonden die deze signaalstoffen enzymatisch kunnen afbreken waardoor het infectieproces niet op gang komt (Dong *et al.*, 2001; Uroz *et al.*, 2003). Ook heeft men al *Pseudomonas* bacteriën die in hoge dichtheden in het wortelmilieu van de aardappelplant voorkomen, voorzien van het erfelijk materiaal dat codeert voor het enzym dat HSLs kan afbreken. Hierdoor werd de plant weerbaar tegen *Erwinia*-infectie (Molina *et al.*, 2003). De behandeling met de *Pseudomonas* bacterie werkte ook nog 2 dagen na toediening van de *Erwinia*s. Het voordeel van deze benadering is dat er geen selectiedruk op *Erwinia*s wordt uitgeoefend, omdat de bacterie niet gedood wordt. Hierdoor zal er naar verwachting niet snel resistentie optreden tegen deze enzymen. Inmiddels zijn er homoserine-afbrekende enzymen gevonden in de volgende genera: *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Comamonas*, *Variovarax*, *Pseudomonas* en *Ochrobactrum* (Dong *et al.*, 2001; Uroz *et al.*, 2003). Met isolaten uit de genera *Bacillus*, *Rhodococcus* en *Ochrobactrum* zijn al goede bestrijdingsresultaten geboekt bij de aardappel. Interessant is dat ook de bodembacterie *Bacillus thuringiensis* infecties van *Erwinia*s in aardappel kon stoppen, omdat voor dit organisme al een toelating voor insectenbestrijding bestaat in Nederland (Dong *et al.*, 2004).

Naast het toedienen van antagonisten die het quorum sensing mechanisme van *Erwinia*s verstoren, zouden ook gezuiverde producten toegediend kunnen worden. Men heeft bijvoorbeeld chemische analogen van de signaalstoffen gemaakt waarmee het ziekteproces geremd kan worden. Ook zijn er componenten uit een rode alg, *Delisea pulchra* geïsoleerd die het quorum sensing mechanisme blokkeren (Manefield *et al.*, 2001).

Voor bestrijding van Ecc in meloen werd een *Pseudomonas fluorescens* geïsoleerd die naast een antagonistische werking ook de totale eiwitconcentratie in de zaailingen verhoogde (El-Hendawy *et al.*, 1998).

In Amerikaans onderzoek bleek behandeling van knollen met een *Bacillus* of *Pseudomonas* de ziekte-incidentie sterk te reduceren (Graham *et al.*, 1985).

Voor bestrijding van Ehr in tomaat werd in kasexperimenten met een niet-gekaracteriseerde bacterie-isolaat een bestrijdingsresultaat van 74% geboekt (Aysan *et al.*, 2003). Getrimde wortels van zaailingen waren eerst geïncubeerd in de antagonist en daarna in een Ehr-suspensie. Het isolaat remde Ehr nauwelijks *in vitro* en lijkt dus geen antibioticum te produceren.

Een *Bacillus subtilis* stam, die een breedwerkend antibioticum produceerde was in staat infectie met *Erwinia*s te verhinderen of te reduceren na co-inoculatie van getrimde wortels of in een aardappelschijventoets (Sharga & Lyon, 1998). In onderzoek naar beheersing van (lak)schurft (*Rhizoctonia*), werd een verbeterd behandelingsresultaat verkregen door de antagonistische *Bacillus subtilis* stam eerst te formuleren in water-

oplosbare granules voor behandeling van het pootgoed (Schmiedeknecht *et al.*, 1998) . Dit zou ook voor de bestrijding van *Erwinia*s interessant kunnen zijn.

Aardappelplanten bevatten bacteriën die gespecialiseerd zijn in het koloniseren van het vaatweefsel (endofyten). Vooral endofyten die bij stamselectie meevermeerderd kunnen worden zijn potentieel interessant. Indien pootgoed bij vermeerdering niet telkens opnieuw behandeld hoeft te worden, zou de noodzaak van een registratiedossier vermeden kunnen worden. Endofyten zouden relatief eenvoudig aan miniknollen en weefselkweekvloeistof toegevoegd kunnen worden via de voedingsvloeistof of het voedingsmedium.

De endofyten die in de aardappel gevonden zijn behoorden tot verschillende bacterieklassen en waren voor een deel niet cultiveerbaar. Infecties met *Erwinia*s resulteerden in een toename van de diversiteit van de endofyten, mogelijk door beschadiging van plantenweefsel waardoor nutriënten vrijkomen en ingangspoorten voor nieuwe micro-organismen worden gecreëerd (Reiter *et al.*, 2002). Sommigen endofyten beschermden de plant tegen schade door Eca (Reiter *et al.*, 2002). In eerder onderzoek was al gevonden dat de meest actieve antagonistische endofyten te vinden zijn op plaatsen waar zich ook het pathogeen bevindt (Sturz *et al.*, 1999). Opvallend was dat geen van deze endofyten Eca in vitro remden en dus geen effectieve antibiotica tegen Eca lijken te produceren. De beschermende werking zou anders verklaard kunnen worden door competitie om nutriënten, geïnduceerde resistentie of interactie met het quorum sensing mechanisme van het pathogeen. Endofyten kunnen ook ingezet kunnen worden om de moederknol snel te laten weggroten.

Er zijn berichten over een effectieve behandeling door het dompelen van bollen of knollen in een suspensie van antagonistische werkende *Erwinia herbicola* (*Pantoea agglomerans*)

(www.hortnet.co.nz/publications/science/jvann2.html).

7.9 Toekomstige strategieën?

Met bacteriofagen zijn in verleden en heden met wisselend succes behandelingen uitgevoerd. Bacteriofagen zijn virussen die bacteriën doden. Deze bacteriofagen zijn vaak zeer specifiek, en kunnen effectief bacterie-kweken decimeren. Nadeel is, dat ze alleen groeiende bacteriën kunnen doden, niet goed in grond kunnen werken, en deze fagen gevoelig zijn voor bv. UV-straling. (Godridge, 2004). Er worden soms goede resultaten bereikt, bv. tegen *Xanthomonas* in tomaat. Er zijn ook fagen die specifiek *Erwinia*s aanpakken bv. tegen *E. amylovora* (Gill *et al.*, 2003).

Nieuwe ideeën en mogelijkheden zullen wellicht opduiken uit databases met genetische informatie over *Erwinia* naar aanleiding van het genoomproject.

Zowel het genome van Ecc (<http://www.scri.sari.ac.uk/TiPP/Erwinia.htm>) als Ech

(<http://www.ahabs.wisc.edu/~pernalab/Erwinia/publications.html>) worden momenteel of zijn al gesequenced. Uit deze gegevens, in combinatie met zg. microarrays waar bepaalde functionele profielen van deze microben (bv. welke genen zijn actief tijdens infectie, en hoe kan je die dan effectief remmen?) onderzocht kunnen worden, kunnen mogelijke slimme ideeën worden opgedaan ter betere controle van deze pathogenen!

7.10 Resistentie

Er zijn geen cultivars bekend die volledig resistent zijn voor *Erwinia*s, maar cultivars verschillen wel aanzienlijk in gevoeligheid. Tolerante cultivars zullen in de regel minder schade geven dan vatbare cultivars. Echter, bij veldinspecties worden infecties ook minder snel opgemerkt waardoor ongezien een opbouw van hoge populaties kan plaatsvinden. Onder condities die gunstig zijn voor symptoom-expressie kan dan toch nog aanzienlijke schade worden veroorzaakt.

Een recente studie naar resistentie-veredeling bij *Zantedeschia* (Snijder, 2004) leverde geen concrete resultaten op.

De kans dat er via klassieke veredeling een resistentie tegen *Erwinia*s zal worden verkregen, wordt niet groot geacht. De enige betrouwbare wijze om op resistentie te screenen is in het veld. Er kan dus maar een beperkt aantal nieuwe lijnen worden getoetst. Dit is aan het einde van het veredelingsproces, waardoor kans op het vinden van resistente of tolerante lijnen klein is.

Genetische modificatietechnieken geven wel mogelijkheden voor het inbouwen van resistentie tegen *Erwinia*s. Zo is bijvoorbeeld het gen dat codeert voor een enzym dat de signaalstoffen van *Erwinia*s afbreekt in tabak ingebouwd. Hierna waren de lijnen in hoge mate resistent. Acceptatie door de consument is een belangrijk probleem bij de introductie van GMO lijnen. In deze literatuurstudie wordt niet verder ingegaan op alle mogelijkheden voor het creëren van resistente GMO's.

8 Conclusies

Deze literatuurstudie heeft tot doel om inzichten over *Erwinia*, afkomstig uit andere teelten, te benutten om tot een betere beheersing van deze bacterie te komen in de bollenteelt.

De meeste informatie komt uit de aardappelteelt. Een belangrijk verschil met bollenteelt is, dat Eca niet of nauwelijks een probleem vormt voor hyacint, Zantedeschia of andere bolgewassen. Echr blijkt een lastige, steeds meer voorkomende *Erwinia*-soort. Duidelijk is, dat handelingen met plantgoed die leiden tot stress of beschadiging ook bij een minimale besmetting met Ecc of Echr tot rot kunnen leiden. Mogelijk kunnen andere pathogene organismen zoals schimmels (*Pythium*, *Fusarium*) wegbereider zijn voor *Erwinia*; er zijn ook aanwijzingen dat met name Echr ook zelf primair pathogeen kan zijn.

Overleving is een onduidelijk aspect van infectie. Men neemt aan dat plantenresten en waardplanten als onkruid of tussengewassen de bacteriedichtheid plaatselijk in het veld hoog kunnen houden. Er moet onderzocht worden welke onkruiden *Erwinia*'s in gevaarlijke hoeveelheden bevatten. Kunnen groenbemesters/gewassen als bladrammenas *Erwinia* huisvesten.

Verspreiding kan langs vele natuurlijke wegen, maar lijkt in de praktijk slechts langzaam tot opbouw van bacteriepopulaties te leiden. Beschadiging van gewassen geven veel grotere kans op infecties; de meeste verspreiding vindt kunstmatig plaats via machines e.d.

Wat betreft detectie en beheersing van *Erwinia*'s vormt vooral Ecc een diverse groep die voor kort niet goed detecteerbaar was. Kang en medewerkers hebben een PCR gepubliceerd die ogenschijnlijk isolaten van Ecc goed aantonen. Toch zijn er aanwijzingen dat dit nog niet sluitend is (Speksnijder 2004, persoonlijke mededeling). Ook bleek uit onderzoek van PPO, dat niet in alle gevallen *Erwinia* in rotsymptomen van hyacint aantoonbaar was. Dit kan echter ook betekenen, dat (naast het niet goed uitvoeren van de toets) er nog andere organismen zijn die rot veroorzaken. Onderzoek naar het beter aantonen van isolaten van Ecc en ook Echr en onderzoek naar het bestaan van agressievere stammen of biovars in de bollenteelt is gewenst. Het voorkomen van andere soorten *Erwinia* moet niet vergeten worden. *Erwinia rhapontici* kan soms in andere teelten een probleem zijn, maar kan tot op heden niet goed worden gedetecteerd. De rol van latent aanwezige *Erwinia*'s (bv. in Zantedeschia) verdient de nodige aandacht.

Beheersing ligt op het vlak van preventie en goed analyseren (soms ondersteund met diagnostiek van plantenmonsters) van de productieketen. Minder beschadigen, extra bemesting en toepassing van nieuwe generaties antagonisten kan allemaal bijdragen tot het beperken of voorkomen van rot. Misschien kunnen bacteriofagen in sommige gevallen helpen de concentratie *Erwinia* laag te houden.

Gezien het feit dat er vanuit de Zantedeschia teelt en -broeierij aanwijzingen zijn dat er mogelijk sprake is van een interactie tussen *Erwinia* en bodemschimmels, zoals *Pythium*, *Rhizoctonia* en mogelijk *Fusarium*, lijkt het zinvol om te onderzoeken of een dergelijke interactie daadwerkelijk een rol speelt bij de omvang van de schade die tot dusverre wordt toegeschreven aan *Erwinia*. Indien blijkt dat het optreden van een bodemschimmel de schade door *Erwinia* verergert, zou dit mogelijkheden bieden tot verbetering van de bestrijdingsstrategie. Het voorkomen of bestrijden van de schimmelaantasting zou kunnen bijdragen aan de beperking van de schade door *Erwinia*. Hierbij kan worden gedacht aan teeltmaatregelen, toepassing van fungiciden en/of de teelt van ongevoelige cultivars (m.b.t. de helper-schimmel). Ook de teelt van een voorvrucht, die waardplant is voor het helper-organisme, kan de schade door *Erwinia* in een volgteelt bevorderen (Newton *et al.*, 2004).

Meer publikaties over *Erwinia* in speciaal bolgewassen zullen de komende jaren verschijnen in het kader van het PPO-onderzoek aan deze schadelijke bacteriën.

9 Literatuur

- Abo-el-Dahab MK, Ed-Goorany MA and El-Masry MH (1978). Association of *Erwinia carotovora* var. *carotovora* and *Pythium butleri* in causing blackleg symptoms on potato stems. Third International Congress of Plant Pathology, Munich, p. 77
- Afek U, Orenstein J and Nuriel E (1999). Fogging disinfectants inside storage rooms against pathogens of potatoes and sweet potatoes. *Crop Protection* 18, 111-114.
- Afek, U and Orenstein, J (2002). Disinfecting potato tubers using steam treatments. *Canadian Journal of Plant Pathology-Revue Canadienne De Phytopathologie* 24, 36-39.
- Alarcon B, Gorris MT, Cambra M and Lopez MM (1995). Serological characterization of Potato isolates of *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica* and subsp *carotovora* using polyclonal and monoclonal antibodies. *Journal of Applied Bacteriology* 79, 592-602.
- Alice D, Sivaprakasam K and Seetharaman K (1996). Interaction between *Meloidogyne arenaria*, *Fusarium solani* and *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* on onion wilt and bulb rot syndrome. *Indian Journal of Plant Protection* 24(1&2), 122-123
- Allefs J, VanDooijeweert W, Prummel W, Keizer LCP and Hoogendoorn J (1996). Components of partial resistance to potato blackleg caused by pectolytic *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica* and *E. chrysanthemi*. *Plant Pathology* 45, 486-496.
- Anoniem (1989). Bacterieziekten bij pootaardappelen. *Brochure van de werkgroep Bacterieziekten*, 8 pages.
- Aveling TAS, Kritzing Q and Malan CF (1999). Effect of oxifulvic acid supplemented with copper and/or iron on growth of bacterial and fungal plant pathogens. *South African Journal of Botany* 65, 244-246.
- Aysan Y, Karatas A and Cinar O (2003). Biological control of bacterial stem rot caused by *Erwinia chrysanthemi* on tomato. *Crop Protection* 22, 807-811.
- Bain, RA, Millard P and Perombelon MCM (1996). The resistance of potato plants to *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica* in relation to their calcium and magnesium content. *Potato Research* 39, 185-193.
- Bartz JA, Locascio SJ and Weingartner DP (1992). Calcium and Potassium Fertilization of Potatoes Grown in North Florida .2. Effect on the Bacterial Soft Rot Potential in the Tubers. *American Potato Journal* 69, 39-50.
- Bartz JA (1999). Suppression of bacterial soft rot in potato fibers by application of kasugamycin. *American Journal of Potato Research* 76, 127-136.
- Basim H, Yegen O and Zeller W (2000). Antibacterial effect of essential oil of *Thymbra spicata* L. var. *spicata* on some plant pathogenic bacteria. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* 107, 279-284.
- Belotti A, Pen JE and Brekelbaum T (1978). Studies on the cassava fruit fly *Anastrepha spp.* In : Lozano CJ (ed.) Proceedings cassava protection workshop CIAT, Colombia 7-12 November 1977, p. 203-208

- Burgess PJ, Blakeman JP and Perombelon MCM (1994). Contamination and subsequent multiplication of soft rot *Erwinia*'s on healthy potato leaves and debris after haulm destruction. *Plant Pathology* 43, 286-299.
- Cervantes-Martinez J, Hernandez R, Rodriguez-Garay B and Santacruz-Ruvalcaba F (2002). Detection of bacterial infection of agave plants by laser-induced fluorescence. *Applied Optics* 41, 2541-2545.
- Cole RA, Rollason SA, Hardman JA and Ellis PR (1990). The incidence of seed-borne bacteria in carrots and their association with damage caused by the larvae of the carrot fly (*Psila rosae*). Brighton Crop Protection Conference, Pests and Diseases 1: 343-347
- Costello B, Evans P, Ewen RJ, Gunson HE, Ratcliffe NM and Spencer-Phillips PTN (1999). Identification of volatiles generated by potato tubers (*Solanum tuberosum* CV-Maris Piper) infected by *Erwinia carotovora*, *Bacillus polymyxa* and *Arthrobacter* sp. *Plant Pathology* 48, 345-351.
- Cotter EJ and Cullis BR (1992). The influence of tuber position on periderm Calcium content and its relationship to soft rot susceptibility. *Potato Research* 35, 271-277.
- Davis JR (1973). Seed and soil treatments for control of *Rhizoctonia* and blackleg of potato. *Plant Disease Reporter* 57 (9): 803-806
- Davis JR, Sorensen LH and Corsini GS (1983). Interaction of *Erwinia* spp. and *Fusarium roseum* 'Sambucinum' on the 'Russet Burbank' potato. *American Potato Journal* 60 (6): 409-421
- Davis JR, Sorensen LH and Corsini GS (1985). Synergistic effect of *Fusarium sambucinum* on the expression of infection by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on potato. In: Graham DC and Harrison MC (eds) Report of the International Conference on Potato Blackleg Disease, Edinburgh 26-29 Juni 1984. p. 23
- De Boer SH (2002). Relative incidence of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in stolon end and peridermal tissue of potato tubers in Canada. *Plant Disease* 86, 960-964.
- De Boer SH (2003). Characterization of pectolytic *Erwinia*'s as highly sophisticated pathogens of plants. *European Journal of Plant Pathology* 109, 893-899.
- Duarte V and Clark CA (1993). Interaction of *Erwinia chrysanthemi* and *Fusarium solani* on sweet potato. *Plant Disease* 77: 733-735
- De Vries PM (1990). Stengelnatrotskytomen in aardappelplanten. *Aardappelwereld* 4, 15-18.
- De Vries PM and Van Vuurde JWL (1993). Overleving van *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* op aardappelpootgoed. In *Gewasbescherming*, pp. 103-108.
- De Boer SH and Ward LJ (1995). PCR Detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* associated with potato tissue. *Phytopathology* 85, 854-858.
- Dewey FM, Li Wong Y, Seery R, Hollins TW and Gurr SJ (1999). Bacteria associated with *Stagonospora* (*Septoria*) *nodorum* increase pathogenicity of the fungus. *New Phytologist* 144: 489-497
- Dong YH, Wang LH, Xu JL, Zhang HB, Zhang XF and Zhang LH (2001). Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an N-acyl homoserine lactonase. *Nature* 411, 813-817.

- Dong YH, Zhang XF, Xu JL and Zhang LH (2004). Insecticidal *Bacillus thuringiensis* silences *Erwinia carotovora* virulence by a new form of microbial antagonism, signal interference. *Applied and Environmental Microbiology* 70, 954-960.
- Duarte V, De Boer SH, Ward LJ and de Oliveira AMR. (2004). Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *Journal of Applied Microbiology* 96, 535-545.
- El-Hendawy HH, Zeid IM and Mohamed ZK (1998). The biological control of soft rot disease in melon caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* using *Pseudomonas fluorescens*. *Microbiological Research* 153, 55-60.
- Elorriota MA, Suarez-Estrella F, Lopez MJ, Vargas-Garcia MC and Moreno J (2003). Survival of phytopathogenic bacteria during waste composting. *Agriculture Ecosystems & Environment* 96, 141-146.
- Frechon D, Exbrayat P, Helias V and other authors (1998). Evaluation of a PCR kit for the detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on potato tubers. *Potato Research* 41, 163-173.
- Funnell KA and MacKay BR (1993). Advances in calla research-producing tubers avoiding soft rot, and evaluating cultivars. *Proceedings of the calla research update for Agr. N.Z. consultants*, Dept. Plant Sci, Massey University, N.Z.
- Gardan L, Gouy C, Christen R and Samson R (2003). Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp nov., *Pectobacterium betavascularum* sp nov and *Pectobacterium wasabiae* sp nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53, 381-391.
- Gill JJ *et al* (2003). Bacteriophages of *Erwinia amylovora*. *Applied and environmental Microbiology* 69, 2133-2138.
- Godridge LD (2004). Bacteriophage biocontrol of plant pathogens: fact or fiction? *Trends in Biotechnology* 22: 384-385.
- Gracia-Garza JA, Blom TJ, Brown W and Allen W (2002). Pre- and post-plant applications of copper-based compounds to control *Erwinia* soft rot of calla lilies. *Canadian Journal of Plant Pathology-Revue Canadienne De Phytopathologie* 24, 274-280.
- Graham DC, Harrison MD (eds) (1985). Report of the international conference on potato blackleg disease. 95 pages.
- Grimm F and Baumann B (1991). Studies on the Detection of Latent Contamination of In vitro Potato Plants by *Erwinia carotovora* var *atroseptica* (Vanhall) Dye. *Potato Research* 34, 47-55.
- Groen N en Paardekooper N (2004). *Erwinia* in iris: wachten met verwerken na het rooien. *BloembollenVisie* 38: 26-27.
- Helias V, Andrivon D and Jouan B (2000a). Development of symptoms caused by *Erwinia carotovora* ssp *atroseptica* under field conditions and their effects on the yield of individual potato plants. *Plant Pathology* 49, 23-32.
- Helias V, Andrivon D and Jouan B (2000b). Internal colonization pathways of potato plants by *Erwinia carotovora* ssp *atroseptica*. *Plant Pathology* 49, 33-42.

- Hyman LJ, Dewasmes V, Toth IK and Perombelon MCM (1997). Improved PCR detection sensitivity of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in potato tuber peel extract by prior enrichment on a selective medium. *Letters in Applied Microbiology* 25, 143-147.
- Janse JD and Ruissen MA (1988). Characterization and classification of *Erwinia chrysanthemi* strains from several hosts in the Netherlands. *Phytopathology* 78, 800-808.
- Kang HW, Kwon SW and Go SJ (2003). PCR-based specific and sensitive detection of *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* by primers generated from a URP-PCR fingerprinting-derived polymorphic band. *Plant Pathology* 52, 127-133.
- Kastelein P, Bouman A, Mulder A, Turkensteen LJ and VanVuurde JWL (1996). The effect of green crop lifting on the contamination of seed potato tubers by pathogenic *Erwinia* spp. *Potato Research* 39, 31-42.
- Kastelein P, Schepel EG, Mulder A, Turkensteen LJ and Van Vuurde JWL (1999). Preliminary selection of antagonists of *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica* (Van Hall) Dye for application during green crop lifting of seed potato tubers. *Potato Research* 42, 161-171.
- Kritzman G, Zutra D, Nachmias A and Ben-Yephet Y (1985). Interaction of *Verticillium dahliae* and *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* or *E. carotovora* subsp. *carotovora* pathogens of potato. In: Graham DC and Harrison MC (eds) Report of the International Conference on Potato Blackleg Disease, Edinburgh 26-29 Juni 1984. p. 22
- Kushalappa AC and Zulfiqar M (2001). Effect of wet incubation time and temperature on infection, and of storage time and temperature on soft rot lesion expansion in potatoes inoculated with *Erwinia carotovora* ssp *carotovora*. *Potato Research* 44, 233-242.
- Langeslag JJJ (1985). Spread of blackleg caused by application of liquid fungicides against *Rhizoctonia solani* at planting. In: Graham DC and Harrison MC (eds) Report of the International Conference on Potato Blackleg Disease, Edinburgh 26-29 Juni 1984. p. 27-28
- Liao CH and LM Shollenberger (2004). Enumeration, resuscitation, and infectivity of the sublethal injured *Erwinia* cells induced by mild acid treatment. *Phytopathology* 94, 76-81.
- Lirio LG, Hermano ML and Fontanilla MQ (1998). Antibacterial activity of medicinal plants from the Philippines. *Pharmaceutical Biology* 36, 357-359.
- Lopez MM, Lopez-Lopez MJ, Marti R, Zamora J, Lopez-Sanchez J and Beltra R (2001). Effect of acetylsalicylic acid on soft rot produced by *Erwinia carotovora* subsp *carotovora* in potato tubers under greenhouse conditions. *Potato Research* 44, 197-206.
- Lyew D, Garipey Y, Raghavan GSV and Kushalappa AC (2001). Changes in volatile production during an infection of potatoes by *Erwinia carotovora*. *Food Research International* 34, 807-813.
- Manefield M, Welch M, Givskov M, Salmond GPC and Kjelleberg S (2001). Halogenated furanones from the red alga, *Delisea pulchra*, inhibit carbapenem antibiotic synthesis and exoenzyme virulence factor production in the phytopathogen *Erwinia carotovora*. *FEMS Microbiology Letters* 205, 131-138.
- McGuire RG and Kelman A (1984). Reduced severity of *Erwinia* soft rot in potato tubers with increased calcium content. *Phytopathology* 74, 1250-1256.

- Molina L, Constantinescu F, Michel L, Reimann C, Duffy B and Defago G (2003). Degradation of pathogen quorum-sensing molecules by soil bacteria: a preventive and curative biological control mechanism. *Fems Microbiology Ecology* 45, 71-81.
- Moran PJ (2001). The effects of wilt symptom development and peroxidase induction on interactions between vascular wilt bacteria and cucumber beetles. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98: 149-156
- Nassar A, Darrasse A, Lemattre M, Kotoujansky A, Dervin C, Vedel R and Bertheau Y (1996). Characterization of *Erwinia chrysanthemi* by pectinolytic isozyme polymorphism and restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified fragments of pel genes. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 2228-2235.
- Newton AC and Toth IK (1985). Helper bacteria and pathogenicity assessments. *New Phytologist* 144: 385-386
- Newton AC, Toth IK, Neave P and Hyman LJ (2004). Bacterial inoculum from a previous crop affects fungal disease development on subsequent nonhost crops. *New Phytologist* 163: 133-138
- Numansen A (2000). Preventie en beheersing van wortelziekten in de teelt van cyclamen (rapport 1638). *Proefstation voor Bloemisterij en glasgroente*, Aalsmeer.
- Olsen NL, Kleinkopf GE and Woodell LK (2003). Efficacy of chlorine dioxide for disease control on stored potatoes. *American Journal of Potato Research* 80, 387-395.
- Pagel W and Heitefuss R (1989). Calcium content and cell-wall polygalacturonans in potato-tubers of cultivars with different susceptibilities to *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 35, 11-21.
- Perombelon MCM and Kelman A (1980). Ecology of the soft rot *Erwinia*'s. *Annual Review of Phytopathology* 18, 361-387.
- Pérombelon MCM, 2002. Potato disease caused by soft rot *Erwinia*'s: an overview of pathogenesis. *Plant Pathology* 51: 1-12
- Perombelon MCM, Lopez MM, Carbonell J and Hyman LJ (1988). Effects of contamination by *Erwinia carotovora* subsp *carotovora* and *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica* of potato seed tubers and of cultivar resistance on blanking or non-emergence and blackleg development in Valencia, Spain. *Potato Research* 31, 591-599.
- Rahimian MK and Mitchell JE (1981). The colonization of potato stems by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 71 (8): 901
- Rahimian MK and Mitchell JE (1984). Relationship of *Verticillium dahliae* and *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* in the early dying disease of potato. *Phytopathology* 74 (3): 327-332
- Ranganna B, Kushalappa AC and Raghavan GSV (1997). Ultraviolet irradiance to control dry rot and soft rot of potato in storage. *Canadian Journal of Plant Pathology-Revue Canadienne De Phytopathologie* 19, 30-35.
- Reiter B, Pfeifer U, Schwab H and Sessitsch A (2002). Response of endophytic bacterial communities in potato plants to infection with *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica*. *Applied and Environmental Microbiology* 68, 2261-2268.

- Roozen NJM (1990). Besmetting van *Erwinia*-vrij pootgoed vanuit diverse bronnen. Een literatuuroverzicht. *Intern rapport PAGV Lelystad*, 18 pages.
- Roozen NJM (1991a). Zwartbenigheid in de aardappelteelt; op welke grond te doorgronden. *Themaboekje Themadag "Bodemgebonden plagen en ziekten van aardappelen"*, PAGV, 22 november 1991, 37-43.
- Roozen NJM (1991b). Identificatie van *Erwinia*-bacteriën in aardappelen. *Intern rapport PAGV Lelystad*, 58 pages.
- Samson R, Legendre JB, Christen R, Achouak W and Gardan L (2004). Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Brenner *et al.* 1973) Hauben *et al.* 1998 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *D. chrysanthemi* comb. nov. and *D. paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species: *D. dadantii* sp. nov., *D. dianthicola* sp. nov., *D. dieffenbachiae* sp. nov. and *D. zaeae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, in press.
- Schmiedeknecht G, Bochow H and Junge H (1998). Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. II. Biological control of potato diseases. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* 105, 376-386.
- Serfontein S, Logan C, Swanepoel AE, Boelema BH and Theron DJ (1991). A potato wilt disease in South-Africa caused by *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. *Plant Pathology* 40, 382-386.
- Sharga BM and Lyon GD (1998). *Bacillus subtilis* BS 107 as an antagonist of potato blackleg and soft rot bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 44, 777-783.
- Schober BM (1998). A study on bacterial softrot in witloof chicory. Thesis, University of Wageningen.
- Snijder C (2004). Genetics of *Erwinia* resistance in *Zantedeschia*: impact of plastome-genome incompatibility. Thesis, University of Wageningen.
- Sturz AV, Christie BR, Matheson BG, Arsenault WJ and Buchanan NA (1999). Endophytic bacterial communities in the periderm of potato tubers and their potential to improve resistance to soil-borne plant pathogens. *Plant Pathology* 48, 360-369.
- Swings JG and Civerolo EL (1993). *Xanthomonas*. *Chapman & Hall, London*, 400 pages.
- Toth IK, Hyman LJ and Wood JR (1999). A one step PCR-based method for the detection of economically important soft rot *Erwinia* species on micropropagated potato plants. *Journal of Applied Microbiology* 87, 158-166.
- Tovkach F. I. (1998a). Biological properties and classification of *Erwinia carotovora* bacteriocins. *Microbiology* 67, 636-642.
- Tovkach, FI (1998b). Relationship between the lytic activity of macromolecular carotovoricins and bacteriocin sensitivity of producer strains of *Erwinia carotovora*. *Microbiology* 67, 643-648.
- Tsai LS, Huxsoll CC and Robertson G (2001). Prevention of potato spoilage during storage by chlorine dioxide. *Journal of Food Science* 66, 472-477.
- Tsror LL, Nachmias A and Pérombelon MCM (1987). Interaction of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* with *Verticillium dahliae* pathogenesis on potatoes. Proceedings of the triennial Conference of the European Association for Potato Research, p. 34-35

- Tsrer LL, Nachmias A, Livescu L, Pérombelon MCM and Barak Z (1990). *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* infection promotes *Verticillium* wilt development in potato in Israel. *Potato Research* 33, 3-11.
- Turkensteen LJ (1986). Verslag van een bezoek aan Cuba naar aanleiding van klachten over pootgoed met stengelnatrot - 15 tot 23 april., 3 pages.
- Turkensteen LJ (1995). Achtergrond-document over bruinrot. *Intern rapport Plant Research International*, 13 pages.
- Tyner DN, Hocart MJ, Lennard JH and Graham DC (1997). Periderm and lenticel characterization in relation to potato cultivar, soil moisture and tuber maturity. *Potato Research* 40, 181-190.
- Tzeng KC, McGuire RG and Kelman A (1990). Resistance of tubers from different potato cultivars to soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *American Potato Journal* 67, 287-305.
- Underberg HR (1992). Ecological model studies on the colonization patterns and population dynamics of *Erwinia chrysanthemi* Burkholder, Mc Fadden and Dimock 1953 in the rhizosphere of potato. In *Facultät für Biologie*, pp. 117. Tübingen: Eberhard-Karls-Universität Tübingen.
- Uroz S, D'Angelo-Picard C, Carlier A, Elasri M, Sicot C, Petit A, Oger P, Faure D and Dessaux Y (2003). Novel bacteria degrading N-acylhomoserine lactones and their use as quenchers of quorum-sensing-regulated functions of plant-pathogenic bacteria. *Microbiology-Sgm* 149, 1981-1989.
- Van Beckhoven J, Van Hoof R, De Raaij G, Bonants P and van der Wolf JM (2001). Eindverslag survey naar serogroepen van *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* en *E. chrysanthemi* in aardappel in Nederland. *Intern rapport Plant Research International*, 18 pages.
- Van der Wolf JM (1994). *Erwinia chrysanthemi* as a plant pathogen: a review. In: *Evaluation of serological methods for detection of Erwinia chrysanthemi in potato peel extracts* Thesis, 1-43.
- Van der Wolf, JM (2004). Naar een *Erwinia*-vrijew pootgoedteelt. *Intern rapport Plant Research International*, 85, Wageningen, 40 pages.
- Van der Wolf JM, Van der Zouwen PS, van Beckhoven J, Speksnijder AGCL, De Haan E G, Boons C C A and Van den Bovenkamp GW (2003). *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* als primaire veroorzaker van zwartbenigheid in de aardappel. *Intern rapport Plant Research International*, 38 pages.
- Van der Zouwen PS, De Haan EG, Boons CCA, Van den Bovenkamp GW and Van der Wolf JM (2002). Noodzaak en mogelijkheden voor toetsing in pootaardappelen op *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *Intern rapport Plant Research International*, 38 pages.
- Van der Zwet T, Brown EW and Estabrook P (1997). Effect of periodical cicada injury and degree of fire blight severity on Asian pear cultivars. *Fruit Varieties Journal* 51, 35-39
- Van Doorn, J (2002). Thesis, Vrije Universiteit Amsterdam. Type IV fimbriae of *Xanthomonas hyacinthi*. characterization and application for the detection of yellow disease in hyacinths.

- Van Doorn J, Hollinger T, Vreeburg P, van Leeuwen P and Breedevelt M (2005). *Erwinia chrysanthemi* veel aangetroffen. *BloembollenVisie* 53, 22-23.
- Van Vuurde JWL and De Vries PM (1992). Detectie van pathogene *Erwinia* spp. van aardappel in oppervlaktewater in de periode 1988 - 1991. *IPO-DLO rapport* nr. 92-01, 9 pages.
- Van Vuurde JWL and Roozen NJM (1990). Comparison of immunofluorescence colony-staining in media, selective Isolation on pectate medium, Elisa and immunofluorescence cell staining for detection of *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica* and *Erwinia chrysanthemi* in cattle manure slurry. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 96, 75-89.
- Velvis H (2001). Calcium in aardappel. In *Nota 89*, pp. 22 pages, Plant Research International.
- Vreeburg P (2004a). *Erwinia* in hyacint: praktijkervaringen, symptomen en teelt. *BloembollenVisie* 33, 20-21.
- Vreeburg P (2004b). Alle aandacht voor verantwoord rooien en drogen van hyacint. *BloembollenVisie* 34, 23.
- Vreeburg P (2004c). Juiste bolverwerking kan leegloop beperken. *BloembollenVisie* 35, 20-21.
- Waleron M, Waleron K, Podhajska AJ and Lojkowska E (2002). Genotyping of bacteria belonging to the former *Erwinia* genus by PCR-RFLP analysis of a *recA* gene fragment. *Microbiology-Sgm* 148, 583-595.
- Weber J and Schenk G (1988). Symptomlose Ausbreitung des Nassfauleeregers *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (van Hall) Dye an in-vitro Pflanzen der Kartoffel. *Ach Phytopathol Pflanzenschutz* 5, 395-402.
- Weinzierl R (1995). The role of insect management in controlling insect-vectored diseases. *Transactions of the Illinois State Horticultural Society* 129: 52-57
- Zink RT and Secor GA (1982). Interaction of fungal wilt pathogens and potato blackleg. *Plant Disease* 66, 1053-1056