



Verminderen van de gevoeligheid van
aardappel voor *Phytophthora infestans*
door behandeling van pootgoed met een
elektrisch veld.

Ing. J.R. Kalkdijk en dr. ir. H.T.A.M. Schepers

© 2002  eningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vervoelvoudigd, 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 is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.



In opdracht van Masterplan LTO Nederland

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Sector AGV

s : Edelhertweg 1, Lelystad
: Postbus 430, 8200 AK Lelystad
Tel. : 0320 291111
Fax : 0320 230479
E-mail : info@ppo.dlo.nl
Internet : www.ppo.dlo.nl

Inhoudsopgave

	pagina
1 Inleiding.....	5
2 Materiaal en methoden	7
2.1 Knollen	7
2.2 Behandelingen.....	7
2.3 Biotoets knolstaafjes.....	8
2.4 Biotoets blad.....	8
2.5 Proefomstandigheden	9
2.6 Waarnemingen	9
2.7 Statistiek	9
3 Resultaten	11
3.1 Biotoets op knolstaafjes	11
3.2 Opkomst	11
3.3 Biotoets op blad	11
3.4 Aantasting in het veld	13
3.5 Oogst.....	13
4 Conclusies en discussie	15
5 Literatuurlijst.....	17
Bijlage 1: Weersgegevens.....	19

1 Inleiding

In gangbare en biologische aardappelteelt is de bestrijding van *P. infestans* een groot probleem. De agressieve populatie en het voornemen de milieubelasting in de gangbare teelt terug te dringen, leidt er toe dat naar andere methoden van beheersing moet worden gezocht. Bovendien zijn er in de biologische teelt van aardappelen nog steeds geen effectieve methoden beschikbaar om de ziekte te beheersen. Russisch onderzoek aan de All Russian Plant Pathology Research Institute (VNIIF) (Filippov et al., 2000) heeft aangetoond dat knollen die behandeld waren met een elektrisch veld met lage frequentie en hoog voltage minder gevoelig werden voor een aantasting met *P. infestans* (1). Deze verminderde gevoeligheid was ook nog aanwezig in planten die zich uit de behandelde knollen ontwikkelden. Er wordt aangenomen dat de verminderde gevoeligheid het gevolg is van het versterken van de reeds aanwezige afweermechanismen in het ras dat behandeld wordt. Vandaar dat voor de proeven rassen worden gebruikt die uit zichzelf al een zekere mate van afweer bezitten (bijv. Santé). Het elektrisch veld wordt opgewekt door een instrument genaamd EPS (electro physical stimulator). Dit gepatenteerde apparaat wordt in Rusland op de markt gebracht door de firma Intelpro.

2 Materiaal en methoden

2.1 Knollen

Voor deze proef is het ras Santé (sorteermaat 35/50) gebruikt. Santé is matig vatbaar voor *P. infestans* in het loof (4,5) en weinig vatbaar voor *P. infestans* in de knol (7,5).

2.2 Behandelingen

De knolbehandeling vond 2 dagen voor het planten plaats. In Tabel 1 zijn de behandelingen weergegeven.

Tabel 1. Behandelingen in de veldproef.

behandeling	actieve stof	dosering
A onbehandeld	-	
B elektrisch veld	-	
C elektrisch veld + Agat 25k	<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	150 ml/ha

De knollen zijn gedurende 18 uur behandeld met een elektrisch veld (zie figuur 1). Dit gebeurde door stapels te maken van acht kiembakjes en in het onderste en het bovenste kiembakje een hoog geleidend materiaal (koper) te plaatsen met daarop een elektrische spanning. Deze elektrische spanning werd gecreëerd met behulp van een Electro Physical Stimulator (EPS). Dit instrument wordt van stroom voorzien middels een contactdoos van 220 Volt. Het vermogen van de EPS is 100 Watt. Naast de knolbehandeling met een elektrisch veld is in object C het bacteriepreparaat Agat-25 (*Pseudomonas aureofaciens*) op het gewas gespoten. De eerste bespuiting met Agat-25 is uitgevoerd toen de planten elkaar in de rij raakten op 21 juni. Daarna is nog gespoten op 2, 8 en 15 juli.



Figuur1. Op de aardappelen ligt een plaat waardoor een elektrisch veld geleid wordt door middel van een transformator.

2.3 Biotoots knolstaafjes

Van een aantal knollen welke “over” waren en niet geplant zijn, zijn aardappelstaafjes (frietjes) gemaakt met een frietsnijder. Per behandeling is van 15 knollen 1 aardappelstaafje in een sporensuspensie geïnoculeerd. Hiervoor is isolaat 98014 (een agressief isolaat) van *P. infestans* gebruikt. Inoculatie vond plaats door de onderkant (tegenovergestelde zijde van de schilkant) in 2 mm sporensuspensie te dippen (10000 sporangia per ml). Na inoculatie zijn de knolstaafjes in een klimaatcel (15 °C en relatieve luchtvochtigheid van > 95%) ter incubatie geplaatst. Deze biotoets is 7 en 10 dagen na de EPS behandeling uitgevoerd.

2.4 Biotoots blad

Van elk veldje is na opkomst twee keer blaadjes geplukt (vijf samengestelde bladeren in vier herhalingen) en in het laboratorium geïnoculeerd (biotoots). Voor de biotoets is isolaat 98014 (een agressief isolaat) van *P. infestans* gebruikt. Inoculatie vond plaats door op het geplukte blad een druppel (30 µl) inoculum (5000 sporangia per ml) achter te laten. Na inoculatie zijn de blaadjes in een klimaatcel (15 °C en relatieve luchtvochtigheid van > 95%) ter incubatie geplaatst.

De eerste biotoets vond plaats na één bespuiting met Agat-25 op 28 juni en de tweede biotoets vond plaats na twee bespuitingen met Agat-25 op 2 juli. Op deze wijze kon een indruk worden verkregen over de beschermende werking van de knolbehandeling en/of een gewasbespuiting met Agat-25 op het zich ontwikkelende blad.

De waarnemingen aan de blaadjes vonden één week na inoculatie plaats. Het aantal lesies en het percentage van het blad dat bedekt was door de lesie is bepaald voor ieder deelblaadje van de plant. Het percentage van het blad dat bedekt was door de lesie is geschat aan de hand van een index van 0 tot 5 waarbij 0 geen infectie was:

- 1 = lesie bedekt 1-10% van het blaadje
- 2 = lesie bedekt 10-25% van het blaadje
- 3 = lesie bedekt 25-50% van het blaadje
- 4 = lesie bedekt 50-90 % van het blaadje
- 5 = lesie bedekt >90% van het blaadje

De waarneming voor sporulatie van *P. infestans* op de lesies gebeurde zowel met het blote oog als met behulp van een stereomicroscoop (40x). Kwantiteit van de zoosporangia is niet bepaald.

2.5 Proefomstandigheden

De veldproef is op het PPO in Lelystad uitgevoerd. De proefomstandigheden staan vermeld in tabel 2. De weersomstandigheden tijdens de gewasgroei zijn weergegeven in Bijlage 1.

Tabel 2. Proefomstandigheden.

handeling	PPO
locatie	Lelystad
grondsoort	klei (IJsselmeergronden)
zuurgraad (pH)	6,7
koolzure kalk	5,2 %
organische stof	1,9 %
afslibbaar	21 - 28 %
lutum	16 %
N mineraal (0-60 cm)	17,2 kg/ha
Pw-getal	15
K-getal	20
voorvrucht	wintertarwe
rijenafstand	75 cm
afstand in de rij	33 cm
methode rugopbouw	frezen
stikstofbemesting 1	7 mei 180 kg N
knollen met elektrisch veld behandelen	26 mei
knollen poten	28 mei
onkruidbestrijding	3 juni
spuiten	21 juni, 2 juli, 8 juli en 15 juli
stikstofbemesting	24 juni 60 kg N
doodspuiten	17 juli

2.6 Waarnemingen

7 en 10 dagen na de EPS behandeling is een biotoets op aardappelstaafjes uitgevoerd. De aardappelstaafjes zijn beoordeeld (na incubatie periode van 5 dagen bij 18 °C en na 7 dagen bij 20 °C) op het aantal mm aangetast aardappelstaafje (lengte van de lesie).

De opkomst is bepaald door planten in het veldje te tellen. Na opkomst is elk veldje beoordeeld op de aanwezigheid van aantasting door *P. infestans*. De mate van aantasting wordt uitgedrukt in percentage aangetast blad. Tevens is in het groeiseizoen tweemaal een biotoets op het blad uitgevoerd waarin de aantasting op geplukte blaadjes is beoordeeld. Drie weken na loofvernietiging zijn van ieder veldje knollen geoogst, gewassen en beoordeeld op aantasting door *P. infestans*.

2.7 Statistiek

De behandelingen met de vier herhalingen zijn geloot als een gewarde blokkenproef. De uitkomsten zijn bewerkt in GENSTAT 5 Release 4.1 door middel van een variantie-analyse op het gemiddelde. Zonodig zijn de resultaten getransformeerd.

3 Resultaten

3.1 Biotoets op knolstaafjes

In tabel 3 zijn de resultaten weergegeven.

Tabel 3. Lesiegrootte in aantallen mm op twee momenten na EPS.

behandeling	7 dagen na EPS	10 dagen na EPS
A onbehandeld	20,80	28,3
B elektrisch veld	17,73	34,2
Isd ($\alpha=0,05$)	4,189	5,10
F-prob	0,14	0,03

Na zeven dagen is de aantasting (lesiegrootte) bij met EPS behandelde aardappelstaafjes (niet betrouwbaar) kleiner. Na tien dagen is dit verschil omgeslagen. De met EPS behandelde knollen vertoonden significant grotere lesies dan de onbehandelde aardappelstaafjes.

3.2 Opkomst

Gedurende de opkomst zijn tussen de verschillende behandelingen geen verschillen in mate van opkomst waargenomen.

3.3 Biotoets op blad

In tabel 4 en 5 zijn de waarnemingen weergegeven welke zijn uitgevoerd in de biotoets op twee data.

Tabel 4. Gemiddeld percentage lesies, gemiddelde grootte van de lesies en gemiddelde sporulatie van de lesies in de eerste serie geplukt op 28 juni.

behandeling	% lesies	lesiegrootte	% sporulatie
A onbehandeld	98,7	22,5	89,6
B elektrisch veld	97,5	22,5	94,7
C elektrisch veld + Agat-25	96,2	12,5	84,5
Isd ($\alpha=0,05$)	5,66	17,07	16,84
F-prob	0,62	0,35	0,42

Tabel 4 laat geen betrouwbare verschillen zien. Wel valt op dat object C minder lesies vertoont.

Tabel 5. Gemiddeld percentage lesies, gemiddelde grootte van de lesies en gemiddelde sporulatie van de lesies in de tweede serie geplukt op 2 juli.

behandeling	% lesies	lesiegrootte	% sporulatie
-------------	----------	--------------	--------------

A	onbehandeld	100	20,0	97,5
B	elektrisch veld	100	20,0	100
C	elektrisch veld + Agat-25	98,8	20,0	98,8
Isd ($\alpha=0,05$)		2,31	13,06	5,16
F-prob		0,41	1,0	0,57

Tabel 5 laat geen betrouwbare verschillen zien. In tabel 6 zijn de resultaten van beide waarnemingen samengevoegd en weergegeven.

Tabel 6. Gemiddeld percentage lesies, gemiddelde grootte van de lesies en gemiddelde sporulatie van de lesies in beide series.

behandeling	% lesies	lesiegrootte	% sporulatie
A onbehandeld	99,4	21,3	93,6
B elektrisch veld	98,8	21,3	97,4
C elektrisch veld + Agat-25	97,5	16,3	91,6
Isd ($\alpha=0,05$)	2,32	8,16	6,68
F-prob	0,08	0,83	0,01

In Tabel 6 zijn net geen betrouwbare verschillen te zien, maar er is wel een tendens dat object C minder aantasting laat zien.

3.4 Aantasting in het veld

Tabel 7 . Percentage aangetast blad bij waarneming in het veld op drie tijdstippen.

behandeling	datum	3 juli	10 juli	17 juli
A onbehandeld		1,4	14,3	52,5
B elektrisch veld		1,3	12,6	50,6
C elektrisch veld + Agat-25		1,5	12,6	50,6
Isd ($\alpha=0,05$)		0,35	5,48	4,90
F-prob		0,32	0,75	0,62

In Tabel 7 zijn geen betrouwbare verschillen te zien. Wel is er een lichte tendens dat object B en C iets minder aantasting in het loof geven.

3.5 Oogst

Direct na de oogst tijdens het wassen zijn de knollen beoordeeld maar is geen aantasting waargenomen. In tabel 8 zijn de resultaten van de knolbeoordeling 14 dagen na oogst op *P. infestans* weergegeven.

Tabel 8. Percentage aangetaste knollen beoordeelt 14 dagen na oogst.

behandeling	percentage aangetaste knollen (in grammen)	opbrengst (in grammen)
A onbehandeld	0,09	9970
B elektrisch veld	0,10	10048
C elektrisch veld + Agat-25	0,15	10693
Isd ($\alpha=0,05$)	0,29	719,5
F-prob	0,89	0,09

Uit Tabel 8 blijkt dat het percentage aangetaste knollen laag is en niet betrouwbaar verschilt. Wel is met een

betrouwbaarheid van 91% te zeggen dat object C een hogere opbrengst geeft.

4 Conclusies en discussie

In de literatuur zijn meerdere aanwijzingen te vinden waaruit blijkt dat een elektrisch veld een positieve invloed zou kunnen hebben op de weerstand van planten tegen schimmels. De knollen zijn behandeld door Filippov uit Rusland die hier een zogenaamde Electro Physical Stimulator voor heeft. Doordat Filippov pas eind mei in Nederland kwam zijn de aardappelen eind mei behandeld en geplant. In de praktijk zijn de aardappelen een aantal weken eerder geplant waardoor het gewas in de proef laat was. Door de vroege *P. infestans*-druk in de praktijk kreeg de proef al heel vroeg te maken met een enorme *P. infestans*-druk. In twee weken tijd ontwikkelde een hele lichte aantasting zich tot een zware aantasting.

Conclusies:

- 7 dagen na de EPS behandeling leek er in de knolstaafjes nog sprake te zijn van een enigszins verhoogde weerstand tegen *P. infestans*, echter tien dagen na de EPS behandeling leek dit effect juist omgekeerd en ontstaat er na een bepaalde tijd juist een lagere weerstand tegen *P. infestans*.
- Er waren geen verschillen in opkomst
- Er waren geen verschillen in aantasting in de biotoets op blad.
- Er waren geen verschillen in aantasting in het loof
- Er waren geen verschillen in knolaantasting. Ondanks de vele aantasting in het loof is in de knol heel weinig aantasting geconstateerd. Dit was ook te verwachten gezien het knolresistentiecijfer vermeld in de rassenlijst (2002).
- Er waren wel opbrengstverschillen te zien met een betrouwbaarheid van ruim 90%. Knollen behandeld met een elektrisch veld + Agat-25 vertoonden een hogere opbrengst dan onbehandelde knollen. Dit resultaat is in overeenstemming met behaalde resultaten uit onderzoek door Filippov et al. (2000).

Voor een goede beoordeling van de werkzaamheid van elektrisch veld is de *P. infestans*-druk te hoog geweest. Wellicht kan een elektrisch veld bij een lichte *P. infestans*-druk meer bescherming bieden. Het lijkt erop dat een knolbehandeling met een elektrisch veld + Agat-25 een hogere opbrengst geeft.

5 Literatuurlijst

Filippov, A.V., Kuznetsova, M.A., Rogozhin, A.N., Shirokova, E.A. and V.V. Kostjashov (2000) Systemic resistance of potatoes to late blight activated by pre-planting treatment of tubers with specially formed low-frequency pulse electric field. *Journal of the Russian Phytopathological Society*, Vol. 1.

S. Elansky, A. Smirnov, Y. Dyakov, A. Dolgova, A. Filippov, B. Kozlovsky, I. Kozlovskaya, P. Russo, C. Smart, W. Fry. (2001) Genotypic Analysis of Russian Isolates of *P. infestans* from the Moscow Region, Siberia and Far East. *J. Phytopathology* 149: 605-611.

Tigges, J., Röder, O. & K. Lindner (2002) E-ventus – ein praxisreifes, physikalisches Saatgutbehandlungsverfahren gegen samenbürtige Getreideschaderreger. *Gesunde Pflanzen* 54: 170-175.

Bijlage 1: Weersgegevens

maand	dag	maximum temperatuur (°C)	minimum temperatuur (°C)	minimale relatieve luchtvochtigheid	neerslag (mm)
5	1	12,2	8,1	61	0
5	2	20	6	48	0
5	3	14,1	8,4	69	1,8
5	4	10,7	6,5	73	2,4
5	5	10,6	4,8	55	0
5	6	14	6,9	51	0
5	7	15,2	6,9	46	0
5	8	14,2	6,1	55	0
5	9	22,6	9,5	36	0
5	10	25,5	11,5	31	0
5	11	25,1	11,1	26	0
5	12	24,5	11,8	27	0
5	13	25	11,8	31	0
5	14	21,5	13,1	59	9,2
5	15	17,7	10,6	66	1,8
5	16	17	12,3	70	17,2
5	17	15,6	9,2	49	2
5	18	13,3	9,4	75	3,4
5	19	14,6	9,2	66	0
5	20	16,4	7,6	50	0
5	21	16,4	7,9	53	0
5	22	19,5	7,4	46	0
5	23	21,4	9	38	0
5	24	19,9	10,4	51	0
5	25	20,7	8,6	37	0
5	26	21,6	8,8	47	0
5	27	17,1	12,1	78	0,6
5	28	19,2	16	78	0,2
5	29	18,5	14,3	59	0
5	30	20,9	9,3	47	0
5	31	16,2	10,6	67	3,8

Vervolg:

maand	dag	maximum temperatuur (°C)	minimum temperatuur (°C)	minimale relatieve luchtvochtigheid	neerslag (mm)
6	1	16,2	11,1	59	4,2
6	2	14,3	9,9	70	14,4
6	3	11,5	8,8	67	11,2
6	4	15,5	8,8	68	0
6	5	19,5	7,8	49	0
6	6	20,1	11,4	54	0,2
6	7	15	12,2	52	2,8
6	8	15,3	7,3	52	0
6	9	16,3	6,9	30	0
6	10	17,1	8,9	43	0
6	11	15,5	8,4	49	0,8
6	12	17,5	13,3	51	0
6	13	18	11	58	0
6	14	19,1	8,7	53	0
6	15	21,3	13,5	59	7,8
6	16	19,8	12,6	67	7,6
6	17	17,7	14,1	80	2,4
6	18	15,4	12,5	67	0,4
6	19	18,7	10,1	50	0
6	20	22,2	10,2	50	0
6	21	17,6	12,5	61	0
6	22	16,2	12,7	67	2,6
6	23	19,1	9	55	0
6	24	23,5	10,2	50	0
6	25	23,4	11	50	0
6	26	26,9	12,4	35	0
6	27	22,5	16,8	71	0
6	28	22,4	14,3	56	0
6	29	23,8	14,3	57	0
6	30	21,3	16,6	65	7,4

vervolg:

maand	dag	maximum temperatuur (°C)	minimum temperatuur (°C)	minimale relatieve luchtvochtigheid	neerslag (mm)
7	1	20,8	14,6	60	0
7	2	22,9	12,5	58	0
7	3	23,3	14,4	62	0
7	4	27,1	14,5	38	0
7	5	30,2	17,7	38	0
7	6	30,3	18,7	35	0
7	7	24	18,1	67	5
7	8	20,6	17,5	80	4,8
7	9	21,1	13,4	57	0
7	10	23,6	14,2	58	4,8
7	11	18,1	13,7	64	8,4
7	12	19,2	12,1	51	3,8
7	13	19	12	59	9,4
7	14	17,4	12,4	74	4,8
7	15	18,6	11	55	1,8
7	16	18,9	9,2	59	0
7	17	20,9	8,5	53	1
7	18	18,7	14,4	70	35,4
7	19	18,6	13,4	75	3,4
7	20	18,7	11,2	72	0,4
7	21	17,5	9,9	78	0,6
7	22	23,4	15,1	58	0,2
7	23	22,8	13,4	70	1
7	24	24,1	14,1	63	0
7	25	24	14	58	0
7	26	26,3	14,7	45	0
7	27	27,7	16,7	53	4,8
7	28	22,7	16,8	73	0,2
7	29	26,9	13,5	46	0
7	30	25,4	16,6	51	0
7	31	24,8	16,9	60	0