



Uireka is een uniek ketenproject waarin de gehele uienketen participeert. De eerste 3 jaar van het project (2017-2019) was het projectdoel met onderzoek de kwaliteit en daarmee het versterken van de exportpositie van de Nederlandse ui te verbeteren. Vanaf 2020 richt Uireka zich op het versterken van de duurzaamheid en weerbaarheid van de uienteelt. Het project is een initiatief van de Holland Onion Association en wordt mede ondersteund door Topsector Agri & Food, BO Akkerbouw en meer dan 70 ketenpartners.

Uireka draait om innovatie, verbetering en verduurzaming van de teelt, droogtechnieken en bewaring. Het project levert een pakket aan handvatten en oplossingen die ketenpartners in staat stelt de kwaliteit van de Nederlandse ui nog beter te borgen. Uiteindelijk zorgt dit voor een sterkere exportpositie en daarmee een versteviging van het verdienmodel van alle partners in de uienketen.

De gezamenlijke organisaties hebben deze publicatie met de meeste zorg samengesteld. Zij zijn niet aansprakelijk voor schade die ontstaat door het uitvoeren van informatie uit deze publicatie.

Stengelaaltjes: populaties, extractie en ontwikkelen pottoets

Rapportage proefjaar 2020

Uitgevoerd door: Pella Brinkman¹, Anja Kombrink² en Misghina Goitom Teklu³
(¹WUR-Open teelten, ²Hilbrands laboratorium, ³WUR-Agrosysteemkunde)

Uireka rapportnummer: 2021-05

Datum: juni 2021

Inhoudsopgave

Samenvatting

1	Inleiding en doel	8
2	Karakterisering van bodemeigenschappen in relatie tot <i>Ditylenchus dipsaci</i> besmetting en verzamelen populaties	9
2.1	Materiaal en methodes	9
2.2	Resultaten	10
2.3	Discussie en interpretatie	11
3	Optimaliseren extractie stengelaaltjes uit grondmonsters	13
3.1	Materiaal en methodes	15
3.2	Resultaten	15
3.3	Discussie en interpretatie	16
4	Ontwikkelen pottoetsmethode ter bepaling waardplantstatus	17
4.1	Materiaal en methoden	17
4.2	Resultaten	19
4.3	Discussie en interpretatie	22
5	Conclusies en aanbevelingen	24
6	Literatuur	25
Bijlagen 1-3 Oproepen tot melden van populaties		

Samenvatting

Stengelaaltjes vormen een lastig probleem, doordat ze een brede waardplantreeks hebben, al in lage dichtheden voor schade kunnen zorgen en het niet goed voorspelbaar is wanneer er problemen kunnen optreden. Ook bestaan er verschillende ‘stengelaaltjesrassen’ die morfologisch niet te onderscheiden zijn en deels verschillende waardplanten kennen. Hierdoor is het niet mogelijk om een sluitend advies te geven welke gewassen veilig kunnen worden geteeld. Dit project beoogt informatie te krijgen over verschillende onderwerpen:

- bodemeigenschappen die besmetting met stengelaaltjes bevorderen of in stand houden,
- optimaliseren van extractie van het ruststadium van stengelaaltjes uit grond,
- het ontwikkelen en uiteindelijk uitvoeren van een pottoets met verschillende stengelaaltjesrassen.

In dit rapport zijn de voorlopige resultaten van het onderzoek in 2020 beschreven.

In 2020 zijn twee valplekken in uien gevonden, maar er zijn geen bodemeigenschappen bepaald. Dit was in afwachting van de resultaten van het literatuuronderzoek naar randvoorwaarden voor vestiging van stengelaaltjes. De plek van de valplekken is vastgelegd, zodat later eventueel bodemonsters kunnen worden genomen.

In 2020 zijn vijf van de dertig beoogde populaties stengelaaltjes verzameld, afkomstig van verschillende gewassen uit verschillende regio's. De vijf populaties waren afkomstig uit ui (3), tulp (1) en narcis (1). In 2021 zal extra aandacht worden gevraagd om actieve besmettingen uit het veld te melden.

Voor extractie van het ruststadium van stengelaaltjes uit grond is een begin gemaakt, door de extractie van actieve stengelaaltjes uit een watersuspensie met twee methoden te vergelijken: Oostenbrinktrechter en zonale centrifuge. Met de eerste methode kunnen alleen actieve aaltjes worden geëxtraheerd, met de tweede methode mogelijk ook inactieve stadia. De terugwinning met de Oostenbrinktrechter was 75% en met de zonale centrifuge 60%. De uitdaging is nu om de methoden te vergelijken bij extractie van het ruststadium, zonder daarbij de aaltjes te activeren. De methode is immers bedoeld om ook de aaltjes die moeilijk geactiveerd kunnen worden te extraheren.

Voor het ontwikkelen van de pottoets is een literatuurstudie uitgevoerd en zijn een aantal preliminaire toetsen uitgevoerd. In de literatuur bestaat geen consensus over het uitvoeren van een pottoets ter bepaling van de waardplantstatus. Planten worden geïnoculeerd na een bepaalde tijd of in een bepaald groeistadium, het inoculum wordt direct op de plant aangebracht of in de grond, er wordt een mengsel van verschillende stadia van de nematode gebruikt of alleen J4, er worden verschillende groeimedia, temperaturen en groeiduur aangehouden. Ook verschilt de beoordeling van infectie: er wordt bepaald hoeveel aaltjes de plant binnendringen (na korte groeiduur), of de aaltjes zich vermeerderen (na langere groeiduur) en of de planten symptomen vertonen. De preliminaire toetsen leverden de volgende inzichten:

- Stengelaaltjes uit tulp waren goed te vermeerderen op tuinboon na inoculatie van de bladoksel;
- In tuinboon zijn stengelaaltjes voornamelijk te vinden in zwarte stengeldelen en nauwelijks in groene stengeldelen of het blad;
- Stengelaaltjes overleven wel wanneer een tuinboonplant wordt afgeknipt, maar vermeerderen zich niet sterk in de opnieuw uitlopende plant;
- Niet alleen het vierde juveniele stadium (J4), maar ook andere stadia zijn in staat om uien te infecteren;

- Bij inoculeren via de grond zijn uien bestand tegen een hogere inoculumdichtheid dan bij inoculeren via de plant;
- Kweek van stengelaaltjes in knoflookteentjes onder steriele omstandigheden (volgens een beschreven methode voor *Ditylenchus destructor*) lukte niet.

1 Inleiding en doel

Aanleiding

De schade door stengelaaltjes (*Ditylenchus dipsaci*) neemt de laatste jaren sterk toe. Stengelaaltjes zijn een probleem in meerdere belangrijke gewassen zoals ui, aardappel, suikerbiet, tulp en narcis. Voor individuele bedrijven kunnen de financiële gevolgen van een besmetting met stengelaaltjes groot zijn. Per december 2019 is de Quarantaine status van *Ditylenchus dipsaci* veranderd in die van een Regulated Non Quarantine Pest (RNQP), met als consequentie dat na een vondst voortaan wel de partij besmet wordt verklaard maar het perceel niet meer. Dit brengt als risico met zich mee dat bij verhuur de verhuurder niet op de hoogte is van het voorkomen van stengelaaltjes op een perceel of dat telers het risico nemen en uitgangsmateriaal of gevoelige gewassen blijven telen op besmette percelen. Dit kan verdere verspreiding tot gevolg hebben.

Ondanks de RNQP-status en de grote problemen met dit aaltje is er maar beperkte kennis beschikbaar over de levenswijze, vestiging en natuurlijke sterfte en zijn er weinig beheersmaatregelen voorhanden. Besmettingen voorkomen, vroegtijdig detecteren en het monitoren van gevonden besmettingen wordt steeds belangrijker.

Vanwege de brede waardplantenreeks zijn oplossingen binnen de vruchtwisseling moeilijk te vinden. Complicerende factor daarbij is dat deze aaltjessoort een twintigtal verschillende rassen kent die verschillen in waardplantenreeks. Morfologisch zijn ze niet te onderscheiden en moleculaire diagnostische technieken zijn niet beschikbaar.

De mogelijkheden voor chemische bestrijding staan onder druk en hun effectiviteit is onzeker. Niet-chemische oplossingen zijn gewenst.

Doel en relevantie

- Het doel van dit programma is een start te maken met het ontwikkelen van praktische tools om stengelaaltjes op bedrijfsniveau te beheersen.
- De projecten binnen het programma moeten de telers handelingsperspectief bieden bij de preventie en beheersing van stengelaaltjes besmettingen. Misoogsten, afgekeurde partijen en kwaliteitsverlies moeten worden beperkt.

Toelichting bij dit onderzoek

De brancheorganisatie akkerbouw heeft het initiatief genomen een samenhangend onderzoeksprogramma te ontwikkelen met als doel de telers van gereedschap te voorzien om besmetting te voorkomen of schade te beperken. Er is een stuurgroep opgericht die dit onderzoek gaat begeleiden.

Leendert Molendijk en Hans Hoek (WUR|OT) hebben in augustus 2018 een eerste aanzet gegeven hoe onderzoek aan stengelaaltjes systematisch op te zetten. Naar aanleiding daarvan is hen gevraagd samen met specialisten op aaltjesgebied een samenhangend programma te ontwikkelen. Een deel van dit plan wordt uitgevoerd binnen Uireka. In dit rapport zijn de eerste resultaten van drie deelprojecten beschreven: 1) karakteriseren bodemeigenschappen en verzamelen populaties, 2) optimaliseren bemonstering en 3) ontwikkelen pottotoets ter bepaling van de waardplantstatus. Het deelproject literatuuronderzoek naar randvoorwaarden voor vestiging, dat ook onderdeel is van dit project, is afgerond en de bevindingen zijn in een afzonderlijk rapport beschreven (Teklu en Brinkman, 2021).

2 Karakterisering van bodemeigenschappen in relatie tot *Ditylenchus dipsaci* besmetting en verzamelen populaties

Met dit deelproject willen we inzicht krijgen in de bodemeigenschappen van percelen waar *D. dipsaci* wordt aangetroffen. Dit is belangrijk voor het kunnen voorspellen van gevoeligheid van percelen voor besmetting met *D. dipsaci*. Deze kennis kan bijvoorbeeld worden gebruikt voor het nemen van preventieve maatregelen om besmetting in de toekomst te voorkomen.

Een besmetting met stengelaaltjes kan zowel voorkomen als een 'nest' met één of enkele besmette planten, als duidelijk afgebakende valplek of als volvelds besmetting. Voor de vraagstelling welke bodemeigenschappen karakteristiek zijn voor een besmetting met stengelaaltjes is alleen een afgebakende valplek interessant. Hierbij kunnen bodemeigenschappen worden vergeleken van de plek waar de stengelaaltjes vóórkomen met het gebied daar direct buiten. Er worden meerdere valplekken bemonsterd, maar alleen binnen en buiten de valplek.

Daarnaast worden monsters van de besmette percelen gebruikt voor het aanleveren van dertig populaties uit vijf regio's ten behoeve van de karakterisering van *D. dipsaci* rassen. Het doel is om populaties te verzamelen uit de volgende regio's:

1. Zeeland (uienras/bietenras),
2. Friesland (uienras),
3. Flevoland (uien/tulpenras),
4. de Zijpe NH (narcissenras/hyacintenras),
5. Wieringermeer (tulpenras).

2.1 Materiaal en methodes

De besmette percelen, die zowel voor het vaststellen van valplekken als voor het verzamelen van populaties nodig zijn, worden via de reguliere laboratoria en andere kanalen opgespoord. In mei/juni 2020 is een oproep gedaan aan telers en erfbetreders (o.a. Agrifirm, de Groene Vlieg) om besmettingen met stengelaaltjes te melden (Bijlage 1). In diverse bijeenkomsten is genoemd dat we op zoek zijn naar stengelaaltjes (Uireka, Nematodenwerkgroep). Daarnaast hebben Uireka (Nieuwsbrieven juni, september en november) en BO Akkerbouw (Nieuwsbrief oktober 2020) extra publiciteit gegeven aan deze oproep (Bijlagen 2 en 3).

Karakteriseren bodemeigenschappen

In tien percelen met een duidelijk afgebakende valplek zullen bodemeigenschappen worden bepaald binnen en buiten de valplek. Deze metingen zullen gedaan worden binnen en buiten de valplekken die in dit project worden gevonden. Gedurende de zomer van 2020 werd nog gewerkt aan een inventarisatie van onderzoek dat in het verleden is gedaan aan dit onderwerp. In afwachting van de resultaten daarvan zijn de twee valplekken die in 2020 in uienpercelen zijn gevonden nauwkeurig vastgelegd, zodat we op een later moment nog grondmonsters kunnen nemen voor onderzoek.

Populaties uit plantmateriaal

Om de kans te vergroten dat de stengelaaltjes in de populatie niet teveel van elkaar afwijken, wordt materiaal van een klein oppervlak verzameld. Gedurende de zomer van 2020 zijn vijf populaties stengelaaltjes uit plantmateriaal verzameld, afkomstig van ui (3), tulp (1) en narcis (1). De populaties komen uit verschillende gebieden in Nederland. Zo komen de uienpopulaties uit

Friesland en Flevoland en de populaties uit tulp en narcis uit Noord-Holland. De aaltjes zijn geëxtraheerd uit het plantmateriaal door dit in kleinere delen te snijden en ze in petrischaaltjes met water (HLB) of in de mistkast (WUR|OT) te zetten.

Het aantal stengelaaltjes dat uit het plantmateriaal werd geëxtraheerd, was meestal niet groot genoeg om te gebruiken voor verder onderzoek. Daarom werden de stengelaaltjes eerst vermeerderd. De populaties uit ui en tulp zijn vermeerderd op tuinboon (zie Hoofdstuk 4), waarna een deel van de aaltjes naar het WU Laboratorium voor Nematologie is gebracht voor moleculaire karakterisering. De rest werd gedroogd en bewaard voor gebruik in de nog te ontwikkelen pottoets. De populatie uit narcis was met ca. 20 kg besmet bolmateriaal geleverd. De bollen zijn gehakseld en in de kas bij ca. 20°C gedroogd.

Populaties uit grond

Symptomen in bloembolgewassen bleken moeilijk waarneembaar, waardoor verzamelen van voldoende populaties stengelaaltjes met plantmateriaal niet haalbaar werd geacht. Daarom is voor het verzamelen van deze 'bollen'-populaties grond verzameld van tien besmette percelen, waarvan zeven percelen recent problemen hadden in narcis, twee in ui en één in hyacint. Er werd besloten om niet te proberen de stengelaaltjes in handen te krijgen door ze op te spoelen uit de grond, maar door dit met vangplanten te doen. Wanneer infectie van de vangplanten via de grond lukt, is immers een zuivere populatie voor handen, in tegenstelling tot het opspoen van grond waarbij ook allerlei andere soorten nematoden worden geëxtraheerd. Als vangplanten werden ui en tuinboon gekozen, die beide een brede waardplantreeks hebben en stengelaaltjes goed kunnen vermeerderen.

Bij HLB zijn op deze grond begin oktober plantuien geplant en tuinbonen gezaaid. De planten werden opgekweekt in de kas en beoordeeld op symptomen van infectie met stengelaaltjes. Na ongeveer 14 weken werden delen van de plant in kleine stukjes geknipt en in petrischalen met water gelegd om te bekijken of de planten waren geïnfecteerd met stengelaaltjes.

Bij WUR|OT zijn op een selectie van drie van de gronden half oktober plantuien geplant en tuinbonen gezaaid in potten van 5 L. Vijf uien of zaden per pot werden op de gangbare diepte in de grond gebracht en vijf iets dieper, omdat er aanwijzingen waren dat de kans op infectie verhoogd zou worden bij dieper planten. De planten werden daarna in de kas opgekweekt. Na 8 weken zijn bruin verkleurde delen van de stengel van tuinboon gedurende 5 dagen in de mistkast gezet om mogelijk aanwezige stengelaaltjes te extraheren. Na 14 weken zijn de uien geoogst en onderverdeeld in bolbodem, bol, hals en loof. Het loof werd verdeeld in delen die mogelijk besmet of symptomeloos waren. De delen werden afzonderlijk in de mistkast gezet. De grond werd in drie delen volledig opgespoeld met een half-geautomatiseerde Cobb's methode, de suspensie over drie gestapelde 45 µm zeven gegoten en het materiaal van de zeven 48 uur op filter gezet.

2.2 Resultaten

Karakteriseren bodemeigenschappen

Er zijn twee valplekken gevonden, maar in afwachting van resultaten uit het literatuuronderzoek zijn er nog geen bodemkarakteristieken bepaald. Uit het literatuuronderzoek kwamen sterke aanwijzingen naar voren, dat bodemmicro-organismen en/of biomoleculen invloed hebben op de activiteit van stengelaaltjes (Teklu en Brinkman, 2021). Deze metingen vallen buiten het bereik van dit project. Er waren geen aanwijzingen dat andere bodemchemische en/of -fysische metingen een aanwijzing zijn voor verschillen in activiteit van stengelaaltjes tussen plekken in een perceel. In

overleg met de stuurgroep Plan van Aanpak stengelaaltjes is besloten (2 juni 2020) om dit deel van het onderzoek niet voort te zetten, maar te concentreren op het vinden van voldoende populaties.

Populaties

Van de 30 beoogde populaties stengelaaltjes zijn in 2020 de eerste 5 populaties uit plantmateriaal verzameld (Tabel 1). De stengelaaltjes die uit ui werden geëxtraheerd, moesten binnen een paar dagen worden vermeerderd (door inoculeren op tuinboon, zie hoofdstuk 4) of ingevroren voor moleculaire analyse. Stoffen uit ui die bij de extractie in de nematodensuspensie terecht komen, zijn namelijk dodelijk voor de stengelaaltjes. Het is wel mogelijk om besmette uien enkele weken koel te bewaren en daarna stengelaaltjes te extraheren. De verzamelde populaties zijn vermeerderd op tuinboon en het plantmateriaal is gedroogd om te bewaren voor later gebruik in de moleculaire karakterisering en een pottoets.

Het is niet gelukt stengelaaltjespopulaties uit grond te isoleren door het planten van plantuien of zaaien van tuinboon op deze besmette gronden. Tuinboon vertoonde geen symptomen en er werden geen stengelaaltjes geëxtraheerd. De symptomen op ui waren niet duidelijk en het materiaal bleek geen stengelaaltjes te bevatten. Alleen de uien die waren geplant op grond waar het afgelopen jaar een zeer zware besmetting was gevonden (de narcis-populatie), werden geïnfecteerd met stengelaaltjes.

Tabel 1. Verzamelde stengelaaltjespopulaties in 2020

Regio (verwacht ras)	Doel	Realisatie
Zeeland (uienras/bietenras)	6	0
Friesland (uienras)	6	1
Flevoland (uien/tulpenras)	6	2
de Zijpe NH (narcissenras/hyacintenras)	6	1
Wieringermeer (tulpenras)	6	1 ¹

¹ Deze populatie uit tulp kwam uit een andere regio in Noord-Holland

2.3 Discussie en interpretatie

Met plantmateriaal kunnen vrij zuivere populaties stengelaaltjes worden verkregen. De aantallen in het materiaal zijn meestal niet hoog genoeg om voor zowel moleculaire karakterisering als een pottoets te kunnen gebruiken. Hiervoor moeten de stengelaaltjes eerst worden vermeerderd door ze te inoculeren op een goede waardplant, zoals tuinboon. Vermeerderen van stengelaaltjes kan invloed hebben op de genetische samenstelling van een populatie (Sturhan, 1969). We kiezen er daarom voor, om de aaltjes alleen te vermeerderen indien nodig en zo mogelijk de basispopulatie te bewaren.

Het is zowel bij HLB als bij WUR-OT niet gelukt om de stengelaaltjes in de kas te isoleren uit grond door het kweken van plantuien of tuinboon. Het is onbekend wat de reden hiervan is.

Vanwege het extreem droge voorjaar was het moeilijk om actieve populaties te vinden, ondanks de inspanningen om, zowel via contacten intern (collega's van HLB en WUR|OT) als extern, informatie over besmettingen in percelen te krijgen. Komend jaar zal de inspanning vergroot moeten worden om meer populaties te verzamelen. Dit is cruciaal om de karakterisatie van verschillende populaties te kunnen realiseren. We hebben hierbij hulp van de werkgroep en de stuurgroep gevraagd om contact te leggen met mensen die rondlopen in de sector en regelmatig

bij boeren op het erf komen. Daarnaast zullen zowel Uireka als BO Akkerbouw hier aandacht voor vragen in hun nieuwsbrieven van juni.

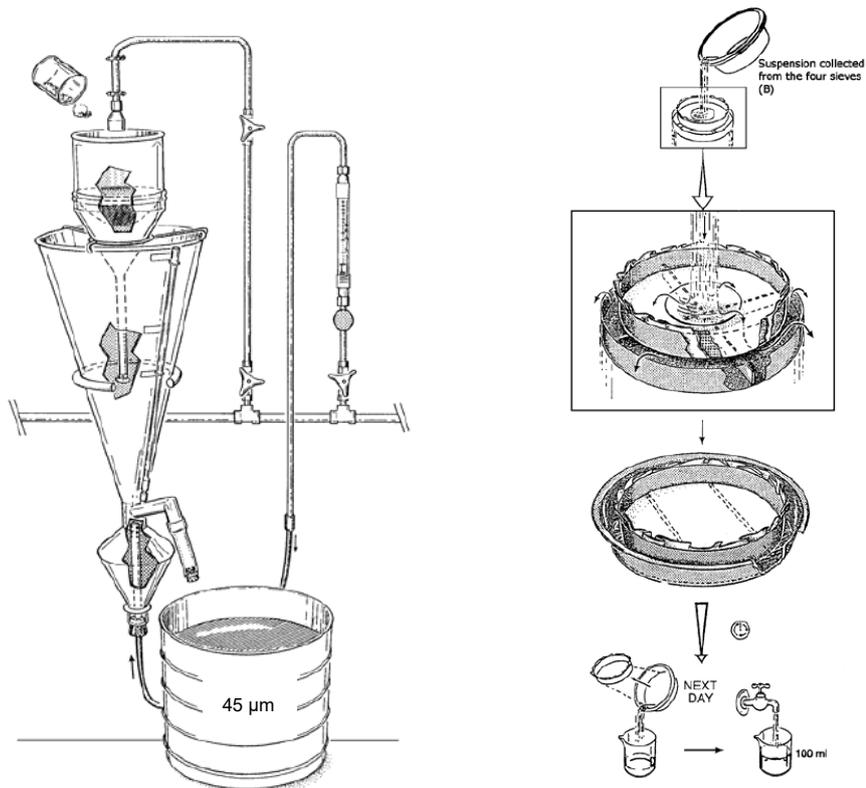
3 Optimaliseren extractie stengelaaltjes uit grondmonsters

Er wordt aangenomen dat *D. dipsaci* vaak als een (ingedroogde) inactieve overlevingsstructuur in de grond voorkomt. Met de klassiek gebruikte Oostenbrink-methode worden alleen actieve aaltjes geëxtraheerd. De aaltjes worden daarbij eerst opgespoeld met een Oostenbrinktrechter, opgevangen op een set gestapelde zeven en daarna verder gezuiverd door het materiaal op een filter in water te zetten (Figuur 1). Alleen de aaltjes die actief door het filter kruipen, worden daarbij gevonden. Aaltjes die in rust zijn, blijven op het filter achter. Dit kan een oorzaak zijn dat *D. dipsaci* met deze methode moeilijk aan te tonen is in grond.

In dit deelproject wordt onderzocht of *D. dipsaci* in grondmonsters kan worden aangetoond door middel van de zonale centrifuge methode (Figuur 2). In tegenstelling tot de Oostenbrink-methode, sluit deze methode het aantonen van inactieve nematoden niet uit. Actieve en latente besmetting met *D. dipsaci* zouden met de centrifuge met meer zekerheid kunnen worden aangetoond in grondmonsters.

De test op de bruikbaarheid van de zonale centrifuge zal worden aangevuld door een combinatie hiervan met een droog- en bevochtigingsstap. Uit preliminaire experimenten is gebleken dat wanneer besmet materiaal eerst gedroogd wordt, er daarna meer aaltjes gevonden kunnen worden.

Wanneer de extractie met de zonale centrifuge lukt, zal een PCR-methode, die nu wordt toegepast op incubatiemonsters na extractie met de Oostenbrinkmethode, worden geoptimaliseerd voor toepassing op de monsters na extractie met de zonale centrifuge. Het voordeel van de PCR methode is dat ook zeer lage aantallen stengelaaltjes kunnen worden aangetoond die met visuele beoordeling sneller gemist zullen worden, zeker wanneer het monsters betreft waar veel andere aaltjes in aanwezig zijn.



Figuur 1. Principe van extractie van aaltjes uit de grond met de Oostenbrinkmethode. Links de Oostenbrinktrecther en een set zeven, rechts het overbrengen van het materiaal dat is opgevangen op de zeven op een filter (uit: van Bezooijen, 2006).



Figuur 2. Zonale centrifuge. Op de onderste carousel worden de monsters in 1 L-bekerglazen naar de centrifuge geleid, op de bovenste carousel worden de monsters na extractie in 150 mL-bekerglazen opgevangen. De kom van de centrifuge is uit veiligheidsoverwegingen in een houder aangebracht. De $MgSO_4$ wordt door leidingen in de kom van de centrifuge gebracht. Foto: WUR Open teelten.

3.1 Materiaal en methodes

Om te bepalen of de terugwinning van stengelaaltjes met de zonale centrifuge goed genoeg is om verder te gaan met deze methode, vergeleken we deze met de terugwinning na spoelen met de Oostenbrink-methode. Een watersuspensie met een bekend aantal actieve stengelaaltjes (ca. 900 J4 = juveniel stadium vier) uit narcisbollen werd met beide methodes verwerkt. Het is belangrijk om te bepalen wat de terugwinning is bij de verschillende stappen in de extractie.

Bij de Oostenbrink-methode werd eerst bepaald welk deel van de aaltjes na het opspoelen werd opgevangen op de set van $3 \times 45 \mu\text{m}$ zeven. Daarna werd bepaald hoeveel aaltjes in de vervolgstap, waarbij de aaltjes actief door een filter moeten kruipen, werden gevonden. Dit werd bepaald na 24 en na 42 uur in tien herhalingen.

Bij zonale centrifuge wordt slechts de helft van de suspensie opgezogen en gecentrifugeerd, waarna de suspensie wordt gezeefd met een $25 \mu\text{m}$ zeef. Er werd daarom zowel het aantal stengelaaltjes in de suspensie die niet werd opgezogen als het aantal aaltjes dat na het centrifugeren (gevolgd door zeven) werd teruggewonnen. Tijdens het centrifugeren wordt MgSO_4 toegevoegd om de stengelaaltjes van de grond te kunnen scheiden. Het is nodig daarna de suspensie te zeven om de MgSO_4 te verwijderen, omdat dit de PCR-reactie verstoort. Daarom werd ook het aantal aaltjes dat bij het zeven van de suspensie verloren gaat bepaald.

3.2 Resultaten

De terugwinning van J4 stengelaaltjes uit een watersuspensie was hoger bij de Oostenbrink-methode dan bij zonale centrifuge (Tabel 2). Bij de Oostenbrink-methode trad het grootste deel van het verlies op in de extractie met de trechter en het zeven (ca. 19%), gevolgd door een kleiner verlies in de filterstap (ca. 5%). Zoals ingesteld en verwacht, werd de helft van de suspensie door de zonale centrifuge opgezogen. Bij de extractie met de zonale centrifuge was het verlies ca. 40%. Een deel daarvan kwam voor rekening van het zeven na centrifugeren (ca. 14%), de overige ca. 26% in de zonale centrifuge zelf.

Tabel 2. Terugwinning (als percentage van beginaantal) en variatiecoëfficiënt bij extractie van een watersuspensie met ca. 900 stengelaaltjes (actieve J4) met de Oostenbrinkmethode en de zonale centrifuge. Zie tekst voor uitleg van de verschillende stappen.

Methode	Terugwinning (%)	Variatiecoëfficiënt
Oostenbrink		
Na $3 \times 45 \mu\text{m}$ zeven	80,8	11,1
Na zeven en filter (24 uur)	71,4	5,4
Na zeven en filter (42 uur)	75,7	6,8
Zonale centrifuge		
Suspensie niet opgezogen in de centrifuge	49,6	3,5
Centrifugeren en zeven ($25 \mu\text{m}$) ¹	59,4	15,7
Alleen zeven ($25 \mu\text{m}$)	86,2	13,8

¹ Gecorrigeerd voor extractie van de helft van de suspensie.

3.3 Discussie en interpretatie

Het verlies bij de extractie uit een watersuspensie van actieve stengelaaltjes (J4) met de zonale centrifuge is hoger dan bij extractie met de Oostenbrink-methode. De volgende stap is om de extractie-efficiëntie van het ruststadium van stengelaaltjes te bepalen. Afhankelijk van het verschil in terugwinning van het ruststadium kan bepaald worden welke extractiemethode het beste werkt. De methoden moeten ook nog worden vergeleken bij extractie van een bekend aantal stengelaaltjes uit grond.

4 Ontwikkelen pottoetsmethode ter bepaling waardplantstatus

In het deelproject 'Moleculaire karakterisering van stengelaaltjesrassen', dat voorjaar 2021 is begonnen, zullen verschillende populaties stengelaaltjes afkomstig van verschillende gewassen moleculair worden gekarakteriseerd. Vervolgens zal een pottoets worden uitgevoerd om stengelaaltjesrassen te onderscheiden, waarbij verschillende populaties op onderscheidende plantensoorten worden aangebracht. In de toekomst is deze pottoets ook nodig om de waardplantstatus van belangrijke cultuurgewassen te bepalen. Een voorwaarde hiervoor is, dat het mogelijk wordt om stengelaaltjesrassen betrouwbaar vast te stellen.

Voor het uitvoeren van een pottoets is het van belang om te weten hoe het uitgangsmateriaal kan worden verkregen en bewaard, hoe de planten kunnen worden geïnoculeerd en onder welke omstandigheden het experiment het beste kan worden uitgevoerd. In dit hoofdstuk zijn een aantal preliminaire toetsen beschreven.

4.1 Materiaal en methoden

We hebben een aantal verschillende methoden gebruikt om inzicht te krijgen in het vermeerderen van stengelaaltjes, hetgeen nodig is om steeds voldoende aaltjes te hebben om een pottoets uit te kunnen voeren. We hebben stengelaaltjes afkomstig van verschillende gewassen gebruikt, afhankelijk van het materiaal dat op dat moment voor handen was. Dit is ook relevant voor de te ontwikkelen pottoets, omdat daarin ook met stengelaaltjes afkomstig van verschillende gewassen zal worden gewerkt.

Inoculatie van tuinboon met stengelaaltjes geëxtraheerd uit verschillende delen van tulp

Stengelaaltjes werden geëxtraheerd uit delen van de stengel, het blad en de rok van de bol van een geïnfecteerde tulp, waarbij het gewicht van het plantmateriaal niet werd bepaald. Dit leverde respectievelijk ca. 400, 200 en 500 stengelaaltjes op. De stengelaaltjes uit de stengel waren niet actief en veel lagen gestrekt, de aaltjes uit het blad waren wel actief en uit de schub zeer actief. Uit elk onderdeel van de plant werden de aaltjes afzonderlijk geconcentreerd in ca. 0,5 mL water. Met een pipet werd het bovenstaande vocht afgezogen en bij de voet van een ca. 10-20 cm grote tuinboon gepipetteerd. De resterende ca. 100 µL werd in een bladoksel halverwege de stengel van de tuinboon gepipetteerd. De stengel in de bladoksel werd vooraf licht beschadigd om de infectie van de stengelaaltjes te vergemakkelijken. De planten werden ca. 7 weken in potgrond opgekweekt in de kas. Daarna werd het aantal stengelaaltjes in de plant die was geïnoculeerd met stengelaaltjes uit de bol bepaald. De plant werd opgedeeld in verschillende secties: verbruinde stengeldelen (A, B, C), overgang naar groene stengel (G), groene stengel (H), blad (D, E, F; Figuur 3). De stengelaaltjes uit de verschillende secties werden afzonderlijk geëxtraheerd en geteld. Ca. 10.000 van de geëxtraheerde stengelaaltjes werden verdeeld over petrischalen met een zwart filter en bij drie verschillende temperaturen gedroogd: kamertemperatuur, droogcel (20°C) en koelcel (6°C).



Figuur 3. Indeling in secties voor extractie van stengelaaltjes uit een tuinboon geïnfecteerd met stengelaaltjes uit de bol van een tulp.

Inoculatie van uienplanten van verschillende grootte

Voor een eerste test om vermeerdering op uienplanten in de kas te verkennen werden twee uienplanten van verschillende grootte geïnoculeerd met stengelaaltjes die waren vermeerderd op tuinboon. De gebruikte stengelaaltjes zijn geëxtraheerd uit de tuinboon zoals hierboven beschreven. Eén ui had bladeren van 2-5 cm, de andere plant was ongeveer 20 cm groot. Bij beide planten zijn druppels van een stengelaaltjessuspensie tussen de bladeren gepipetteerd, waarbij in totaal ca. 500 aaltjes per plant werden aangebracht.

Inoculatie van ui via blad en grond

Uienzaailingen van ca. 5 weken oud werden in Jiffy substraat voor uien met een pH van 5,8 geplant. Er werden stengelaaltjes uit tulp gebruikt om de planten te inoculeren. Een deel van de planten werd via het blad geïnoculeerd, een ander deel via de grond. De stengelaaltjes werden in carboxymethylcellulose aangebracht, wat de viscositeit van de suspensie verhoogt en afdruppelen van vocht voorkomt. Per plant werd een mengsel van verschillende stadia geïnoculeerd, waaronder 200 individuen J4. De aantallen van de andere stadia werden niet bepaald.

Continuweek op tuinboon

Tuinbonen van ca. 3 weken oud werden in de bladoksel geïnoculeerd met een druppel water met ca. 150 stengelaaltjes (alle stadia) afkomstig uit ui. De planten werden in de kas opgekweekt in zilverzand en wekelijks bemest met 150 mL Kristalon (2 g/L). Na ca. 6-7 weken werden de planten afgeknipt en de bovengrondse delen werden bij kamertemperatuur gedroogd. Eén pot bleef in de kas staan en de planten liepen opnieuw uit. Na 7 weken werden de planten geoogst, het wortelmateriaal uitgespoeld en stengel- en wortelmateriaal fijngeknipt in de mistkast gezet om stengelaaltjes te extraheren.

Kweek op knoflookteentjes

Kweken van stengelaaltjes op tuinboon is technisch goed mogelijk, maar geeft een lage vermeerdering. Sommige laboratoria kweken daarom grotere aantallen stengelaaltjes onder steriele omstandigheden op wortelschijfjes, maar er zijn aanwijzingen dat dit niet langdurig mogelijk is en steriliteit is niet overal te waarborgen. Kweken op knoflook zou eenvoudiger steriel te houden zijn door aanwezigheid van allicine en andere zwavelhoudende stoffen met een antimicrobiële werking. Dit is aangetoond voor de verwante *Ditylenchus destructor* (Yoshiga, 2020). We hebben dit protocol gevolgd als poging om stengelaaltjes te kweken, met als aanpassing een lagere temperatuur (niet 25°C, maar 20°C).

Knoflookteentjes werden gedesinfecteerd met hypochloride (bleek). Stengelaaltjes (J3 en J4) werden in de mistkast uit narcis geëxtraheerd. De suspensie werd verscheidene keren afgetapt om een zo schoon mogelijke suspensie te verkrijgen. De stengelaaltjes werden met 1 mL PSN (Penicilline 50 mg/L, Streptomycine 50 mg/L en Neomycine 100 mg/L) in 99 mL suspensie gedurende 24 uur gedesinfecteerd. De knoflookteentjes werden aan de voet ingesneden. Er werden ca. 200 (10 teentjes) of 400 stengelaaltjes (5 teentjes) in 20 µL per teentje geïnoculeerd. De teentjes werden afzonderlijk in gesteriliseerde 100 mL potten met 10 mL 1% wateragar gebracht. Vijf knoflookteentjes werden niet geïnoculeerd als controle. De flessen werden bij 20°C geïncubeerd. Na 7 weken werd de vermeerdering beoordeeld. De knoflookteentjes werden in stukjes gesneden en gedurende twee dagen in de mistkast gezet om aaltjes te extraheren. Daarna werd de suspensie gecontroleerd op aanwezigheid van stengelaaltjes.



Figuur 4. Inoculatie van knoflookteen met stengelaaltjes.

4.2 Resultaten

Inoculatie van tuinboon met stengelaaltjes geëxtraheerd uit verschillende delen van tulp

Stengelaaltjes geëxtraheerd uit tulp konden zich vermeerderen op tuinboon. Inoculatie van tuinboon met stengelaaltjes uit de stengel van tulp verliep minder goed dan infectie met stengelaaltjes uit het blad of de schub van een tulpenbol (Figuur 5; één waarneming). Uit één bonenplant werden 7 weken na inoculatie ca. 31.000 stengelaaltjes geïsoleerd. De aaltjes bevonden zich vooral in de bruine stengeldelen (Tabel 3).



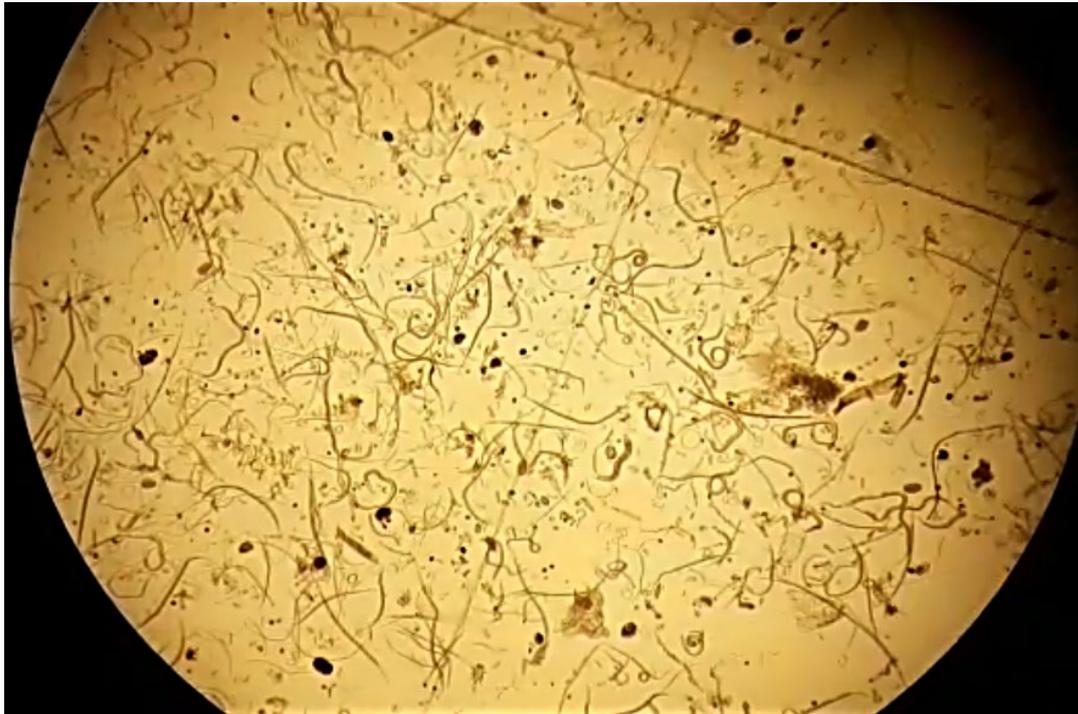
Figuur 5. Tuinboon geïnfecteerd met stengelaaltjes uit de stengel (links), het blad (midden) en de schub (rechts) van een tulpenbol (na ca. 5½ week).

Tabel 3. Aantal stengelaaltjes geëxtraheerd uit verschillende secties van een tuinboon die via de bladoksel was geïnfecteerd met ca. 500 stengelaaltjes uit de schub van een tulpenbol (zie Figuur 4).

Sectie	Aantal aaltjes
A (stengel)	11050
B (stengel)	9750
C (stengel)	7450
D (blad)	1
E (blad)	1
F (blad)	14
G (stengel)	3450
H (groene stengel)	4

Inoculatie van uienplanten van verschillende grootte

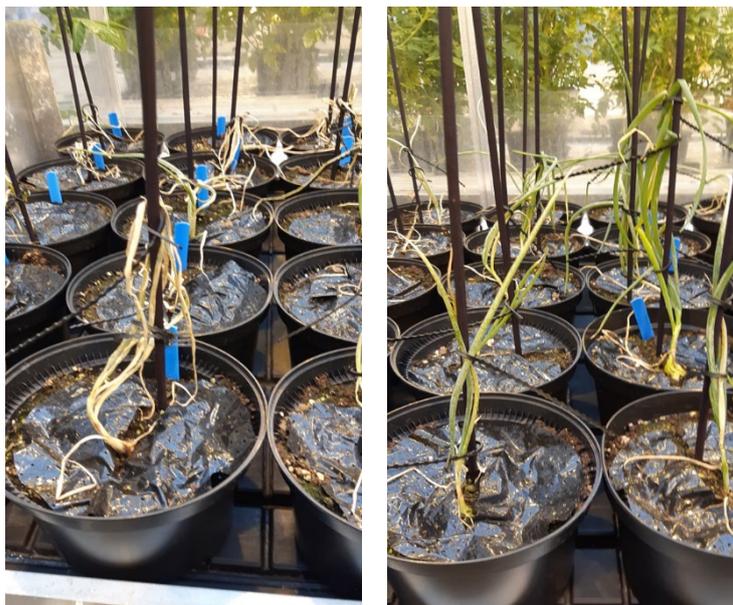
De infectie van stengelaaltjes op uienplanten in de kas door druppels suspensie tussen het blad te pipetteren, resulteerde in uien waarbij het loof bij de aanzet draaide, een symptoom van stengelaaltjesbesmetting (kroef). Stukjes van de buitenste rokken van de uien zijn na 8 weken in water gelegd en stengelaaltjes zijn geëxtraheerd. Aangezien de verdeling van stengelaaltjes in een geïnfecteerde plant niet bekend is, werd het niet zinvol geacht om het aantal te bepalen. Een schatting is dat er per cm² honderden aaltjes werden geëxtraheerd. De overige delen van de ui zijn ingedroogd om te kijken of we de stengelaaltjes ook in ui kunnen bewaren. Een maand na het indrogen van uienrokken konden levende stengelaaltjes worden geëxtraheerd (Figuur 6).



Figuur 6. Beeld van stengelaaltjes die een maand na indrogen werden geëxtraheerd uit een stukje van de rok van een besmette ui.

Inoculatie van ui via blad en grond

De uienzaailingen die via het blad werden geïnoculeerd, gingen eerder dood dan zaailingen die via de grond werden geïnoculeerd (Figuur 7).



Figuur 7. Uienzaailingen geïnoculeerd met stengelaaltjes via het blad (links) of de grond (rechts).

Continukweek op tuinboon

Na afknippen van tuinboonstengels liepen de planten opnieuw uit, maar werden ze minder groot. Na zeven weken was een deel van het wortelstelsel verbruind (Figuur 8). Waarschijnlijk zijn dit afgestorven wortels van de afgeknipte plant. Er werden stengelaaltjes uit zowel de stengels als de wortels geïsoleerd, maar dit waren lage aantallen (enkele honderden).



Figuur 8. Wortelstelsel van afgeknipte tuinboon die opnieuw is uitgelopen.

Kweek op knoflookteentjes

Na 7 weken werden er geen stengelaaltjes gevonden in de knoflookteentjes.

4.3 Discussie en interpretatie

De stengelaaltjes uit de tulpenstengel waren minder actief dan die uit het blad of de bol. Er moet worden opgemerkt, dat dit een waarneming is van één tulpenbol, waarmee dit resultaat niet gegeneraliseerd kan worden. Door tuinboon te inoculeren met stengelaaltjes uit tulp werd een vermeerdering van ca. 100 × bereikt. De vermeerdering in tuinboon vond vooral plaats in de stengeldelen die bruin waren verkleurd en niet in de groene stengeldelen of het blad. Ook werden er slechts lage aantallen aangetroffen in het wortelstelsel. Wanneer tuinbonen werden afgeknipt en opnieuw uitlopen, vond er nauwelijks vermeerdering van stengelaaltjes plaats. Het is op deze manier niet mogelijk een continukweek op te zetten.

Jonge zaailingen van ui kunnen niet met een hoog aantal stengelaaltjes worden geïnoculeerd met als doel vermeerdering van stengelaaltjes, omdat de planten dan te snel dood gaan (met als gevolg geen of een lage vermeerdering). Uit ander onderzoek is gebleken dat niet alleen de J4, maar ook andere stadia de plant kunnen infecteren (o.a. Storelli et al., 2021). Waarschijnlijk is de hoeveelheid inoculum onderschat door alleen de J4 te tellen. Bij inoculatie via de grond is een

hoger aantal stengelaaltjes nodig om hetzelfde effect te bereiken als bij inoculatie op de plant. Dit is ook gebleken bij experimenten met suikerbiet (Storelli et al., 2021).

Het lukte ons niet om stengelaaltjes te vermeerderen op knoflook volgens een protocol dat wordt gebruikt voor de verwante soort *D. destructor* (Yoshiga, 2020). Het is onbekend of knoflook ongeschikt is voor de kweek van *D. dipsaci* of dat de methode aanpassing behoeft.

5 Conclusies en aanbevelingen

Omdat dit rapport een tussenrapportage is en geen afgerond onderzoek betreft waar al conclusies en aanbevelingen aan verbonden kunnen worden, volgen hieronder de vervolgstappen van het onderzoek per onderdeel.

Karakteriseren van bodemeigenschappen en verzamelen van stengelaaltjes populaties

In een afzonderlijk rapport is literatuuronderzoek naar bodemeigenschappen die bepalend zijn voor vestiging en verspreiding van stengelaaltjes in een perceel beschreven. Hieruit bleek, dat de belangrijkste aanwijzing voor verschillen in activiteit van stengelaaltjes tussen percelen of perceeldelen gezocht moet worden in bodemmicro-organismen of biomoleculen. Het valt buiten het bereik van dit project om deze bepalingen te doen. De twee valplekken in de uienpercelen van seizoen 2020 waren vastgelegd met de gedachte hier later bodemeigenschappen aan te bepalen, maar er is besloten dit deel van het onderzoek te laten vallen.

Voor het verzamelen van populaties is in 2020 veel actie ondernomen om bij telers en erfbetreders kenbaar te maken dat we op zoek zijn naar percelen met stengelaaltjes besmettingen. Bij een perceel met een besmetting uit het verleden is de kans op het extraheren van stengelaaltjes uit de grond te klein. Daarom is het belangrijk dat er sprake is van een actieve populatie en hebben we bij voorkeur besmette planten nodig. Tegen en in het groeiseizoen 2021 zal opnieuw aandacht worden gevraagd voor het melden van stengelaaltjesschade in verschillende gewassen. Zowel Uireka als BO Akkerbouw zullen dit melden in hun nieuwsbrieven van juni 2021. Daarnaast worden erfbetreders van o.a. Agrifirm en de Groene Vlieg weer gevraagd om uit te zien naar besmettingen.

Optimaliseren extractie stengelaaltjes uit grondmonsters

De efficiëntie van de zonale centrifuge methode voor het extraheren van inactieve stengelaaltjes zal worden onderzocht. Hiertoe moeten we een methode ontwikkelen om stengelaaltjes in deze 'rusttoestand' te verkrijgen zonder dat ze in water meteen actief worden. Op basis van literatuuronderzoek zullen verschillende manieren van indrogen getest worden om dit te bereiken. Door het testen van de extractie van inactieve stengelaaltjes met de zonale centrifuge zal duidelijk worden of deze methode verder ontwikkeld kan worden voor het extraheren van inactieve stengelaaltjes uit grondmonsters.

Ontwikkeling van de pottoets

Bij het vermeerderen van de populaties die uit het veld zijn verzameld, is een aantal preliminaire methoden beproefd.

Daarnaast is literatuuronderzoek gedaan naar de opzet van waardplantexperimenten. In de literatuur bleek geen consensus te bestaan over de gebruikte methode. Planten worden geïnoculeerd na een bepaalde tijd of in een bepaald groeistadium, het inoculum wordt direct op de plant aangebracht of in de grond, er wordt een mengsel van verschillende stadia van de nematode gebruikt of alleen J4, er worden verschillende groeimedia, temperaturen en groeiduur aangehouden. Ook verschilt de beoordeling van infectie: er wordt bepaald hoeveel aaltjes de plant binnen dringen (na korte groeiduur), of de aaltjes zich vermeerderen (na langere groeiduur) en of de planten symptomen vertonen. Op basis van het literatuuronderzoek en de eigen bevindingen zal een keuze worden gemaakt voor de opzet van een pottoets.

6 Literatuur

- Bezooijen, J. van, (2006). *Methods and techniques for nematology*: Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. <https://onlinelibrary-wiley-com.ezproxy.library.wur.nl/doi/pdfdirect/10.1111/epp.12077>
- Storelli, A., Keiser, A., Kiewnick, S., Daub, M., Mahlein, A.-K., Beyer, W., & Schumann, M. (2021). Development of a new in vivo protocol through soil inoculation to investigate sugar beet resistance towards *Ditylenchus dipsaci* penetration. *Nematology*, 1-10. (Online advance article) doi:10.1163/15685411-bja10069
- Sturhan, D. (1969). Das Rassenproblem bei *Ditylenchus dipsaci*. *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft*, (136), 87-98.
- Teklu, M.G. & Brinkman, P. (2021). *Effect van bodemgesteldheid op de activiteit en de infectieusiteit van stengelaaltjes (Ditylenchus dipsaci)*. Rapport Uireka.
- Yoshiga, T. (2020). In vitro culture method of *Ditylenchus destructor* (Tylenchida: Anguinidae) using garlic. *Applied Entomology and Zoology*, 55(4), 435-437. doi:10.1007/s13355-020-00701-x

Bijlage 1

Oproep aan telers en erfbetreders

Help mee met onderzoek naar stengelaaltjes!

Stengelaaltjes (*Ditylenchus dipsaci*) kunnen in meerdere belangrijke gewassen zoals ui, aardappel, suikerbiet, tulp en narcis grote schade geven. Er is een sterke toename van besmette percelen, waar de schade per jaar enorm kan verschillen. Ondanks de grote problemen is er weinig kennis over dit aaltje en de mogelijke beheersmaatregelen. Besmettingen voorkomen, het vroegtijdig opsporen en monitoren van gevonden besmettingen wordt steeds belangrijker. Hiervoor is wel meer kennis nodig! Daarom zijn we komend groeiseizoen:

op zoek naar percelen met schade door stengelaaltjes!

Wat willen we doen? Bij schade door stengelaaltjes willen we grondmonsters nemen voor onderzoek naar de verspreiding van deze aaltjes binnen het perceel. Daarnaast willen we monsters nemen van het besmette gewas om de aaltjespopulatie in het laboratorium verder te onderzoeken.

Waarom meedoen? Praktijkpercelen met actieve stengelaaltjesbesmettingen zijn onmisbaar voor dit onderzoek. Help ons daarom bij het vinden van locaties! Onderzoeksresultaten van het perceel worden met de betreffende teler gedeeld, maar verder uiteraard vertrouwelijk behandeld.

Hoe kan ik meedoen? Bent u teler en hebt u een zichtbare stengelaaltjesaantasting op uw perceel, neem dan direct contact op met HLB; Anja Kombrink of Egbert Schepel (tel nr: 0593-582828).

Ziet u als erfbetreder een besmet perceel? Attendeer dan de teler op dit onderzoek of vraag ons om contact op te nemen. Wij zijn natuurlijk ook bereikbaar voor het geven van aanvullende informatie.

Wie zijn bij het onderzoek betrokken? Het onderzoek is een initiatief van de Brancheorganisatie Akkerbouw. De uitvoering gebeurt door HLB/de Groene vlieg, WUR OT (Lelystad), WUR AGRO, WU Nematologie en is mede gefinancierd door de Brancheorganisatie Akkerbouw.

Bijlage 2

Nieuwsbrief BO Akkerbouw oktober 2021

Met verwijzing naar de website van Uireka <https://uireka.nl/onderzoek/stengelaaltjes/>



Projectgroep zoekt stengelaaltjes in suikerbieten, uien of aardappelen

De projectgroep stengelaaltjes van de PPS Uireka is op zoek naar populaties stengelaaltjes (*Ditylenchus dipsaci*). Vooral meldingen vanuit de suikerbietenteelt zijn van harte welkom, meldt Pella Brinkman van WUR Open Teelten. Daarnaast kan de projectgroep ook besmette uien en aardappelknollen uit de bewaring gebruiken. “Zo kunnen wij onderzoek doen met een grotere diversiteit aan populaties.”

Stengelaaltjes kunnen in uien, aardappel, suikerbiet, tulp en narcis grote schade geven. Helaas is er weinig kennis over het aaltje en de mogelijke beheersmaatregelen. De projectgroep doet daar onderzoek naar. Heeft u dus een zichtbare stengelaaltjesaantasting, mail dan naar pella.brinkman@wur.nl.

[Lees meer](#)

Bijlage 3

Nieuwsbericht Uireka 12-11-2020

Fors budget beschikbaar om stengelaaltjes aan te pakken

Naast het budget in de PPS Uireka is met de onlangs goedgekeurde PPS Moleculaire karakterisering aanvullend een fors bedrag van 5 ton beschikbaar gekomen om de beruchte ziekteverwekker, het stengelaaltje (*Ditylenchus dipsaci*) aan te pakken.

Om het onderzoek naar stengelaaltjes goed uit te voeren zijn beide onderzoeksteams op zoek naar percelen met schade door stengelaaltjes. De onderzoekers zijn zich bewust dat het opgeven van een besmet perceel een hoge drempel heeft, daarom garanderen ze anonimiteit. Bent u teler en heeft u een zichtbare stengelaaltjesaantasting op uw perceel gehad of komt u als erfbetreder in de praktijk besmette percelen tegen? Neem dan contact op met HLB (zie laatste paragraaf).

Tijd voor een duurzame oplossing voor stengelaaltjes

De schade door stengelaaltjes (*Ditylenchus dipsaci*) neemt de laatste jaren sterk toe. Helaas is er weinig kennis over het aaltje en de mogelijke beheersmaatregelen. Het is de hoogste tijd dat er een duurzame oplossing komt voor dit probleem, dat steeds vaker exportmarkten op slot gooit vanwege strenge fytosanitaire eisen waar Nederland niet meer aan kan voldoen.

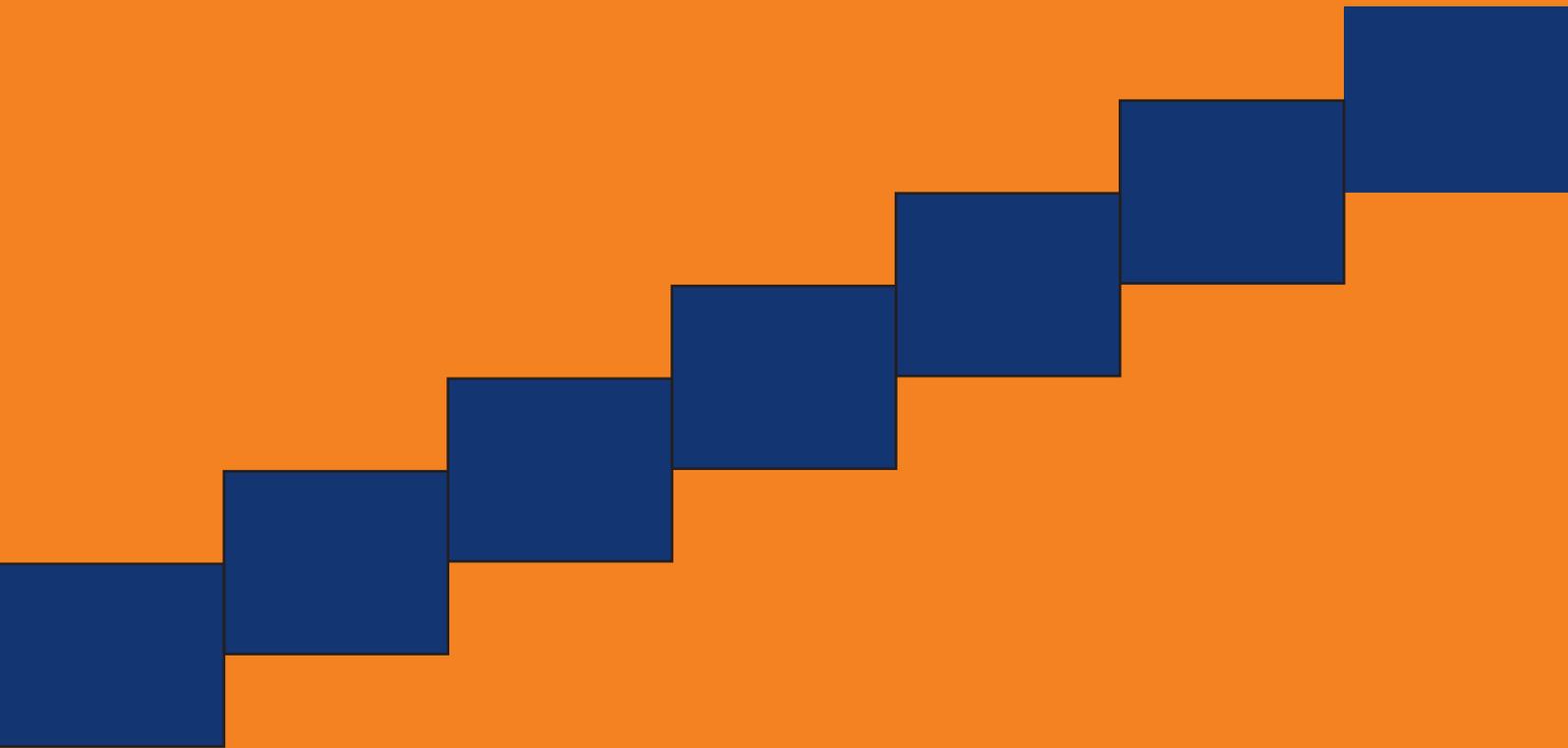
Vertrouwelijk behandelen van besmette percelen

Praktijkpercelen met actieve stengelaaltjesbesmettingen zijn onmisbaar voor het onderzoek. Bij schade door stengelaaltjes op een aangemeld perceel worden grondmonsters genomen voor onderzoek naar de verspreiding van deze aaltjes binnen het perceel. Daarnaast worden gewasmonsters genomen om de aaltjespopulatie in het laboratorium verder te onderzoeken. Onderzoeksresultaten van het perceel worden met de betreffende teler gedeeld, maar verder strikt vertrouwelijk behandeld.

Hoe kunt u meedoen?

Bent u teler en heeft u een zichtbare stengelaaltjesaantasting op uw perceel, neem dan direct contact op met HLB; Anja Kombrink of Egbert Schepel (telefoonnummer: 0593-582828).

Ziet u als erfbetreder een besmet perceel? Attendeer dan de teler op dit onderzoek of vraag ons om contact op te nemen. Wij zijn natuurlijk ook bereikbaar voor het geven van aanvullende informatie.



Dit is een uitgave van Uireka, een initiatief van de Holland Onion Association.

Holland Onion Association
Louis Pasteurlaan 6
2719 EE Zoetermeer
Tel. + 31 79 368 11 00



is part of



www.uireka.nl

Uireka wordt mede mogelijk gemaakt door:



+ meer dan 70 ketenpartners!

