



*Deltaplan Erwinia*  
*Deel C*  
*Pootaardappelen*

**Veldproef Effect van  
teeltvervroeging op de  
ontwikkeling van Erwinia**

Henk Velvis

## Inhoud

<b>1. Inleiding</b> .....	<b>3</b>
<b>2. Uitvoering</b> .....	<b>3</b>
Keuze van het pootgoed. ....	3
Voorkiemen.....	4
Vroege en late poot .....	4
Opzet van het proefveld, stikstofbemesting.....	4
Waarnemingen aan opkomst, gewasontwikkeling en ziektesymptomen .....	4
Bemonstering van stengels en knollen .....	4
Analyse van monsters op Erwinia besmetting.....	5
<b>3. Resultaten</b> .....	<b>6</b>
Gewasontwikkeling .....	6
Aantasting van planten .....	7
Besmetting van stengels vlak voor loofvernietiging .....	8
Besmetting van dochterknollen .....	8
Verdwijnen van moederknollen en besmetting hiervan .....	9
<b>4. Conclusies</b> .....	<b>11</b>

## 1. Inleiding

In het project Deltaplan Erwinia (deel C), uitgevoerd in de jaren 2009 t/m 2012, zijn i.v.m. de Erwinia problemen in de pootaardappelteelt veel zaken onderzocht betreffende detectie, initiële besmetting, versmering en bewaring (zie Eindrapport Deltaplan Erwinia, 2012). De aanbevelingen zouden in de praktijk worden geïmplementeerd middels een Demonstratieproject. Vooruitlopend op de start van dit project is in 2013 een aantal veldproeven uitgevoerd, waarin enkele aanvullende vragen zijn onderzocht. Uitgangspunt was dat het moest gaan om toegepast onderzoek, waarin verdere optimalisatie van teeltmaatregelen ter reductie van Erwinia centraal zou staan.

Eén van de maatregelen die zouden kunnen bijdragen aan de reductie van Erwinia is teeltvervroeging. Mogelijke gunstige effecten van teeltvervroeging:

a. het eerder afkappen van de Erwinia opbouw (m.n. van) in het loof door een vroeger loofdodingstijdstip. Uit eerder onderzoek bleek dat het Erwinia type dat momenteel het meest voorkomt in de pootgoedteelt, *Pectobacterium wasabiae* (afgekort: Pwas; dit type was eerder aangeduid als virulente *P. carotovorum* ssp. *carotovorum* (vPcc)), relatief laat in het seizoen symptomen geeft. Door een vroeger tijdstip van loofdoden zou de opbouw van de populatie wellicht kunnen worden gereduceerd.

b. meer tijd voor het laten verdwijnen van moederknollen, en

c. meer tijd voor het afharden van knollen, waardoor minder kans op beschadiging bij het rooien;

d. met als gevolg: minder versmering bij het rooien door een combinatie van b en c..

Door eerder te rooien wordt bovendien de kans op gunstige weersomstandigheden bij het rooien vergroot.

Teeltvervroeging is te bereiken door: eerder poten, voorkiemen, en een verlaging van de N-gift (eerder afrijpen).

Een combinatie van deze factoren is onderzocht in een veldproef op proefboerderij de Kollumerwaard van de SPNA.

## 2. Uitvoering

### ***Keuze van het pootgoed.***

Voor de uitvoering van de proef waren partijen met Erwinia besmet pootgoed nodig. Gezien het late tijdstip waarop tot uitvoering van dit onderzoek werd besloten, was het lastig om nog aan voldoende besmet materiaal te komen. Uit een groot aantal partijen van HZPC dat in het najaar van 2012 op Erwinia was onderzocht, kon nog tijdig een paar partijen worden aangetrokken waarvan voldoende materiaal beschikbaar was dat voldeed aan de voorwaarden van lichte tot matige besmetting met Erwinia en verschillende rijpheidsklasse. Het betrof een partij Fabula's (laat; klasse SE) en een partij Liseta's (vroeg, klasse A). De partij Fabula had een potmaat 35/55, de partij Liseta 45/55. Dit verschil was niet ideaal, maar gezien het late tijdstip was er weinig keus meer.

M.b.v. de 'vacuümverrijkingmethode', gevolgd door DNA-extractie en Taqman-PCR, is de besmetting van de partijen bepaald. De bepaling werd uitgevoerd op een steekproef van 200 knollen per partij, verdeeld in 20 pools van 10. De methode van vacuümverrijking is als volgt. De 10 aardappelknollen in een plastic zak gedaan. Na toevoegen van 50 ml leidingwater worden de zakken vacuüm getrokken in een vacuümmachine van het type Henkovac Gastrovac Pro. De zakken worden vervolgens gedurende 7 dagen geïncubeerd bij 25°C. Van het ontstane rottingsvocht wordt 500 µl ingevroren, om later te worden getoetst. In beide partijen werd alleen besmetting met vPcc/Pwas aangetoond (zie tabel 1). De partijen Fabula en Liseta zijn respectievelijk te klassificeren als matig en licht besmet met vPcc/P. wasabiae.

Tabel 1. Aanvangsbesmetting pootgoedpartijen.

Berekening incidentie			<i>P. atrosepticum</i>		<i>Dickeya</i> spp.		<i>P. wasabiae</i> (vPcc)	
Partij	Monster-grootte	Aantal pools	Aantal positief	Incidentie (%)	Aantal positief	Incidentie (%)	Aantal positief	Incidentie (%)
FABULA	200	20	0	0,0	0	0,0	9	5,8
LISETA	200	20	0	0,0	0	0,0	5	2,8

### **Voorkiemen**

De partijen aardappels waren vanaf binnenkomst opgeslagen bij 4°C. Ongeveer 5 weken vóór de pootdata van de 'vroeg' en de 'late' poot (zie onder) is een aantal knollen bij kamertemperatuur in het licht te voorkiemen gezet. De niet voorgekiemde knollen zijn tot een dag vóór het poten bij 4°C bewaard.

### **Vroege en late poot**

Er is gekozen voor twee poottijdstippen, een 'vroeg' en een 'late' poot. Aanvankelijk was het de opzet om deze begin april en begin mei te doen plaatsvinden. Door het koude voorjaar is dit enigszins verlaat, en uiteindelijk uitgevoerd op respectievelijk 18 april en 14 mei.

### **Opzet van het proefveld, stikstofbemesting**

De diverse behandelingen zijn per blok van vroeg en laat poten random verdeeld, waarbij ook rekening gehouden is met twee niveaus van stikstofbemesting. Het totaal aantal behandelingen binnen elk blok was als volgt: 2 rassen x 2 kiemsituaties x 2 N-niveaus = 8 behandelingen. Van elke behandeling werden 4 veldjes van 300 knollen aangelegd, elk met 4 rijen van 75 knollen per veldje. Het aantal veldjes per blok was dus 32, en het totaal aantal veldjes 64. Een schema van het proefveld is als bijlage bijgevoegd. De stikstofbemesting is na het (handmatig) poten en trekken van de ruggen aangebracht. Op advies van het proefbedrijf is gekozen voor giften van 40 en 100 kg N per hectare.

### **Waarnemingen aan opkomst, gewasontwikkeling en ziektesymptomen**

Vanaf week 21 (de week v.a. maandag 20 mei) werd wekelijks de opkomst beoordeeld en de maximale gewashoogte bepaald, gemeten aan de hoogte van de hoogste plant in een veldje. Ook werd het gewas telkens beoordeeld op aantasting door *Erwinia*.

### **Bemonstering van stengels en knollen**

Het tijdstip van loofdoding is bepaald aan de hand van de maat van de dochterknollen. De potermaat van de Liseta's was gemiddeld groter dan die van de Fabula's. Liseta had daardoor meestal wat meer en wat kleinere dochterknollen dan Fabula. Als vuistregel werd gehanteerd dat de loofdoding kon plaatsvinden wanneer > 70% van de knollen in de maat 35/55 viel. Tussen de eerste en de laatste loofdoding zat vier weken verschil (Tabel 2).

Vlak vóór het doodspuiten werden stengelmonsters genomen uit de middelste twee rijen van het veldje. Een veldje werd in 4 vakken verdeeld, waaruit later op vier tijdstippen knolmonsters genomen zouden worden. In elk vak werden monsters genomen van 2 pools van 12 stengels, van 12 verschillende planten (1 pool uit rij 2 en 1 pool uit rij drie). Totaal dus 8 pools van 12 stengels = 96

Tabel 2. Week waarin het loof werd doodgespoten.

Ras	Poten	Voorkiemen	N-gift	wk 29	wk 30	wk 31	wk 32	wk 33
Fabula	vroeg	Niet voorgekiemd	100		■			
Fabula	vroeg	Niet voorgekiemd	40		■			
Fabula	vroeg	Voorgekiemd	100	■				
Fabula	vroeg	Voorgekiemd	40	■				
Fabula	laat	Niet voorgekiemd	100					■
Fabula	laat	Niet voorgekiemd	40					■
Fabula	laat	Voorgekiemd	100			■		
Fabula	laat	Voorgekiemd	40			■		
Liseta	vroeg	Niet voorgekiemd	100			■		
Liseta	vroeg	Niet voorgekiemd	40			■		
Liseta	vroeg	Voorgekiemd	100		■			
Liseta	vroeg	Voorgekiemd	40			■		
Liseta	laat	Niet voorgekiemd	100				■	
Liseta	laat	Niet voorgekiemd	40					■
Liseta	laat	Voorgekiemd	100				■	
Liseta	laat	Voorgekiemd	40				■	

stengels per veldje. Van elke stengel werd een segment van ca. 10 cm lengte geknipt van de bovengrondse stengel, vanaf ongeveer 2 cm boven het grondoppervlak. Na iedere pool werd de snoeischaar waarmee de segmenten waren geknipt schoongemaakt en in 70% alcohol ontsmet. De monsters werden in extra sterke plastic zakjes (dikte 100 µm) meegenomen naar het lab. Per pool van 12 segmenten werd 50 ml PEB verrijkmingsmedium toegevoegd. (PEB = pectate enrichment broth, met de volgende samenstelling: 0,3 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 1,0 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 1,31 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.3 H<sub>2</sub>O; 1,5 g Polygalacturonic acid, sodium salt (Sigma); en 1 l gedemineraliseerd water; pH 7,2.) De zakjes werden vervolgens vacuüm getrokken als boven vermeld, en daarna gedurende 3 dagen geïncubeerd bij 25°C. Van het extract werd 500 µl ingevroren en in een later stadium getoetst op besmetting met Erwinia.

Op de tijdstippen 1, 3, 6 en 9 weken na loofdoding werden knolmonsters genomen. Op elk tijdstip werden in één van de vier vakken ruim 20 planten opgerooid. De keuze van welk vak op welk tijdstip werd bemonsterd was random verdeeld. Een mengmonster van 100 knollen van deze planten werd meegenomen naar het lab. Ook werd van elke plant de toestand van de moederknol bepaald. De moederknollen of restanten daarvan werden als één monster per veldje meegenomen naar het lab. De dochterknollen werden 'vacuümverrijkt' als boven vermeld. Het monster van moederknollen werd 'gesopt' in 100 ml leidingwater, waarbij rotte knolresten in suspensie werden gebracht. Van dit extract werd eerst 2 ml overgebracht in een leeg epje. Na 10 minuten uitzakken werd van de bovenstaande vloeistof 160 µl overgebracht in een 2 ml epje, gevuld met 1440 µl PEB verrijkmingsmedium. De afgesloten epjes werden gedurende 3 dagen geïncubeerd bij 20°C, en vervolgens ingevroren om later te worden geanalyseerd op Erwinia besmetting.

### **Analyse van monsters op Erwinia besmetting**

Alle monsters werden m.b.v. PCR onderzocht op besmetting met Erwinia. Eerst werd het DNA uit de verrijkte monsters geëxtraheerd m.b.v. een King Fisher extractie-apparaat, waarop 96 extracten tegelijk kunnen worden verwerkt. De DNA-extracten die hier uit kwamen werden vervolgens onderworpen aan een Taqman-PCR, waarbij op 384 monsters tegelijk een multiplex PCR wordt uitgevoerd voor alle drie relevante Erwinia types.

### 3. Resultaten

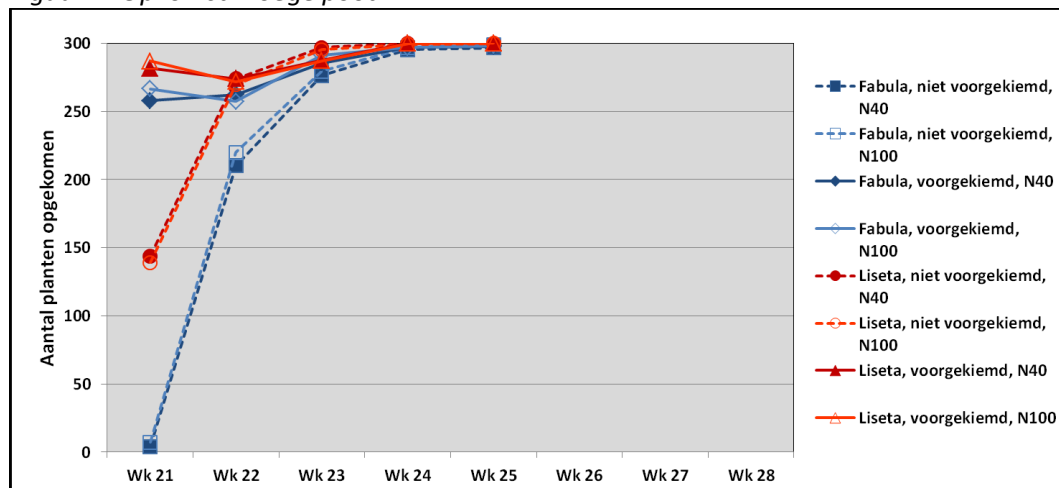
#### Gewasontwikkeling

De vroeg gepote planten hebben in het begin te lijden gehad van koudeschade, wat zich manifesteerde in geelverkleuring van het blad. De voorgekiemde Fabula's hadden daar nog het meeste last van.

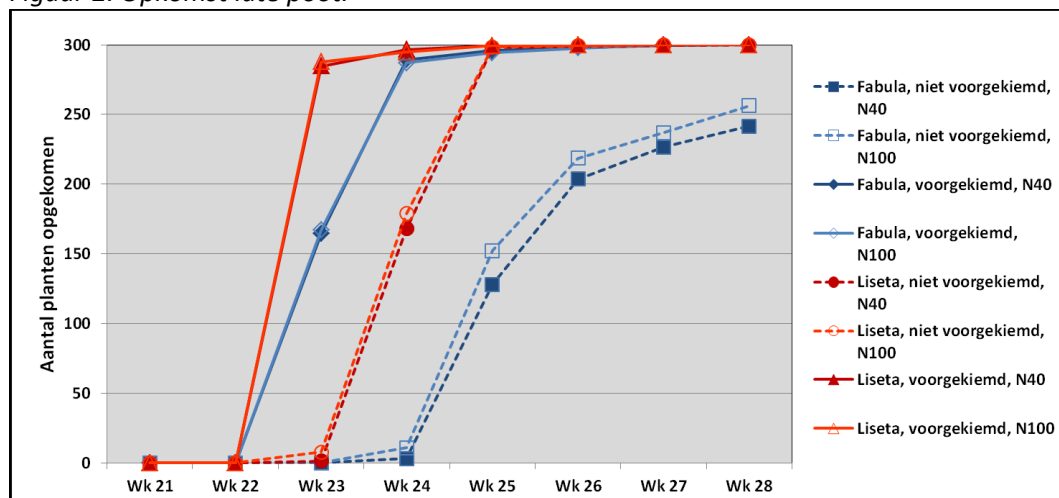
Het verloop van de opkomst en verdere gewasontwikkeling is weergegeven in de figuren 1 t/m 4 (eerste waarnemingsdatum: 22 mei, week 21). Daaruit kunnen een paar zaken worden afgeleid.

- Allereerst dat zowel bij de vroege als de late poot de niet voorgekiemde aardappelen zo'n week tot twee weken later opkwamen dan de voorgekiemde.
- De Liseta's kwamen sneller boven dan de Fabula's.
- De laat gepote aardappelen kwamen zo'n 2 à 3 weken later op dan de vroeg gepote.
- Er is geen verschil in opkomst gevonden tussen de twee stikstofniveau's.
- Een andere opvallende waarneming is dat de niet voorgekiemde Fabula's van de late poot niet allemaal opgekomen zijn. Bij de voorgekiemde Fabula's was dit wel het geval. De poters die niet opgekomen waren vertoonden niet de voor Erwinia karakteristieke vorm van (natte) rot. De oorzaak is dus waarschijnlijk niet Erwinia. Het meest waarschijnlijk is dat het lange bewaren in de koelruimte met ventilatie de kiemkracht heeft aangetast. De kwaliteit van de poters ging ook zienderogen achteruit.

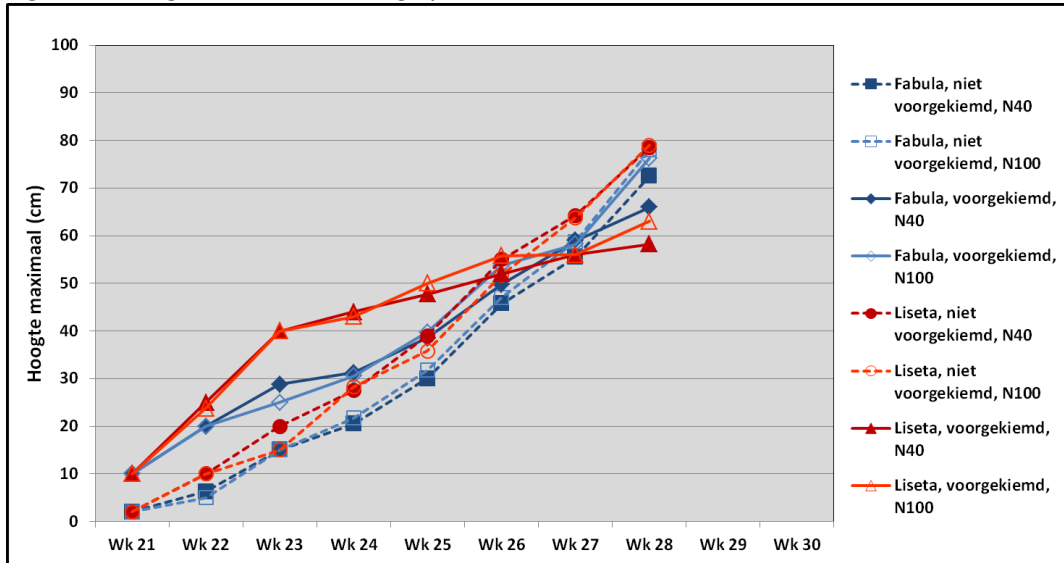
Figuur 1. Opkomst vroege poot.



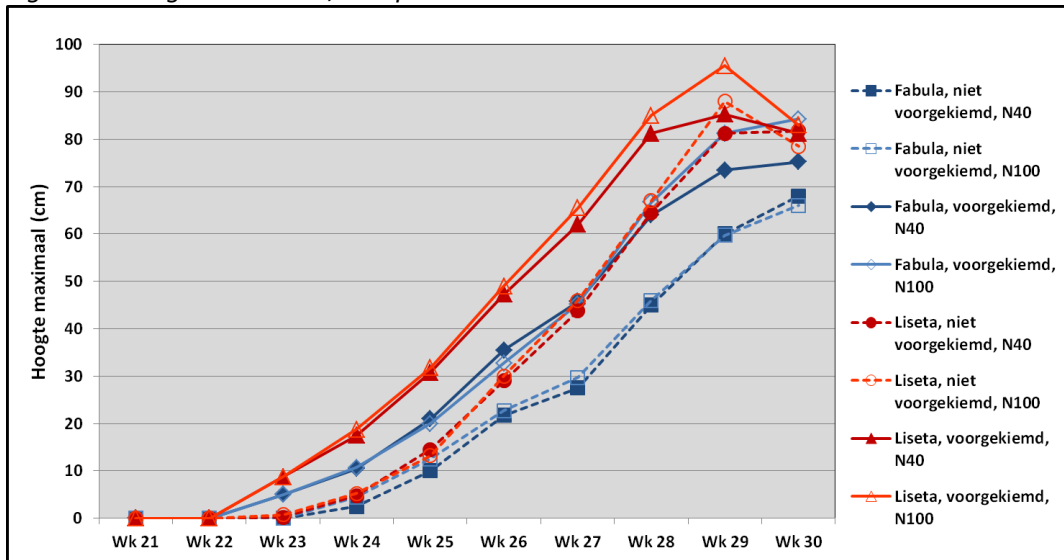
Figuur 2. Opkomst late poot.



Figuur 3. Hoogte maximaal, vroege potot.



Figuur 4. Hoogte maximaal, late potot.



Uit de metingen van de maximale gewashoogte (Figuren 3 en 4) kan worden afgeleid dat de gewasontwikkeling bij de niet voorged knollen nog geruime tijd achterbleef bij de voorged. Hier valt op dat bij de vroeg gepote Liseta's de planten uit niet voorged poters zich verder doorontwikkelde dan de planten uit voorged poters, waar de groei al vrij snel stagneerde. Dit deed zich niet voor bij de laat gepote Liseta's. De afname van de gewashoogte aan het eind bij de laat gepote werd veroorzaakt door een inzakkend gewas.

De Liseta's, zowel van de vroeg als de laat gepote aardappelen, vertoonden tegen het eind van de groeiperiode veel aantasting door Sclerotinia, waardoor de waarneming van Erwinia aantasting sterk bemoeilijkt werd.

### Aantasting van planten

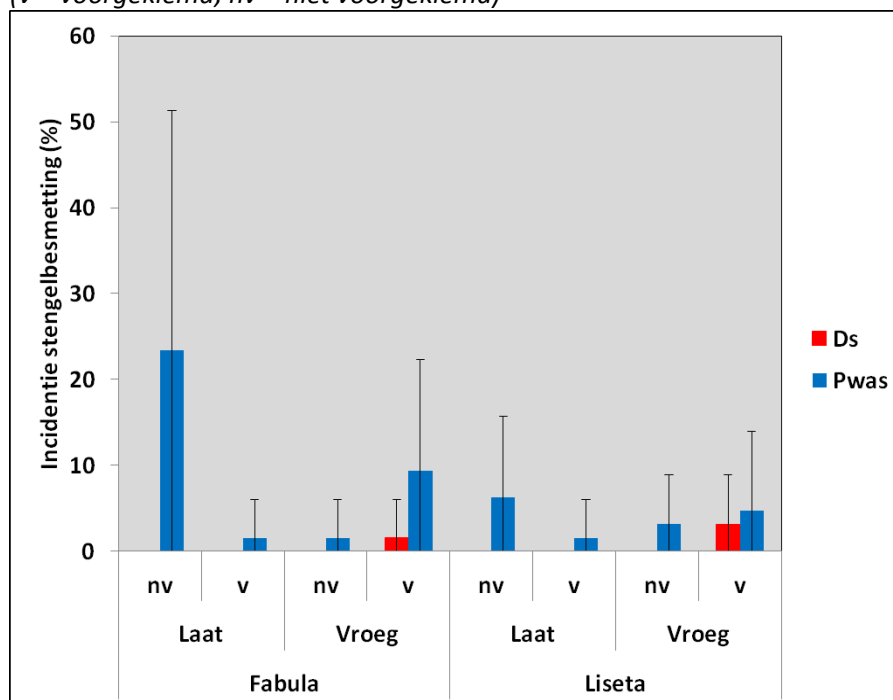
Gedurende de groei van het gewas werd zeer weinig aantasting gevonden. In totaal lieten slechts 8 van de 19200 uitgezette planten duidelijke symptomen van Erwinia aantasting zien. Hieruit kunnen geen conclusies worden getrokken over het effect van vroege of late gewasontwikkeling.

### Besmetting van stengels vlak voor loofvernietiging

Verreweg de meeste besmetting was van het Erwinia type Pwas (Figuur 5). Besmetting met Ds werd slechts incidenteel gevonden. De hier gemaakte opmerkingen hebben dan ook betrekking op de besmetting met Pwas. De factor stikstof is ter wille van het overzicht uit de resultaten weggelaten; hiervan is geen effect gevonden. Evenmin als van het ras trouwens.

Wat opvalt is de grote variatie in besmetting binnen één behandeling. Dit maakt het moeilijk om significante verschillen aan te tonen. Er is geen significant effect van poottijdstip of van voorkiemen op zich gevonden, maar wel een significant effect bij de interactie poottijdstip / voorkieming. Bij de niet voorgekiemde planten van de late poot is de besmetting significant hoger dan bij de voorgekiemde. Bij de vroege poot is de trend andersom, vooral bij de Fabula's: méér besmetting bij de voorgekiemde planten van de vroege poot. Maar dit is niet significant. Voor deze verschillen is niet echt een duidelijke verklaring. Wel is opvallend is dat juist ook de laat gepote en niet voorgekiemde Fabula's heel slecht opkwamen (zie boven). En ook dat bij de vroeg gepote partijen vooral de voorgekiemde Fabula's het meest te lijden gehad hebben van koudeschade. Je zou hieruit voorzichtig kunnen afleiden dat zowel een té vroege opkomst (meer kans op koudeschade) als een té late opkomst (achteruitgang van de poterkwaliteit door laat te poten) risico geeft op meer besmetting. Dit zou nader onderzoek verdienen.

Figuur 5. De besmetting van stengelsegmenten vlak voor loofdoding (v = voorgekiemd; nv = niet voorgekiemd)

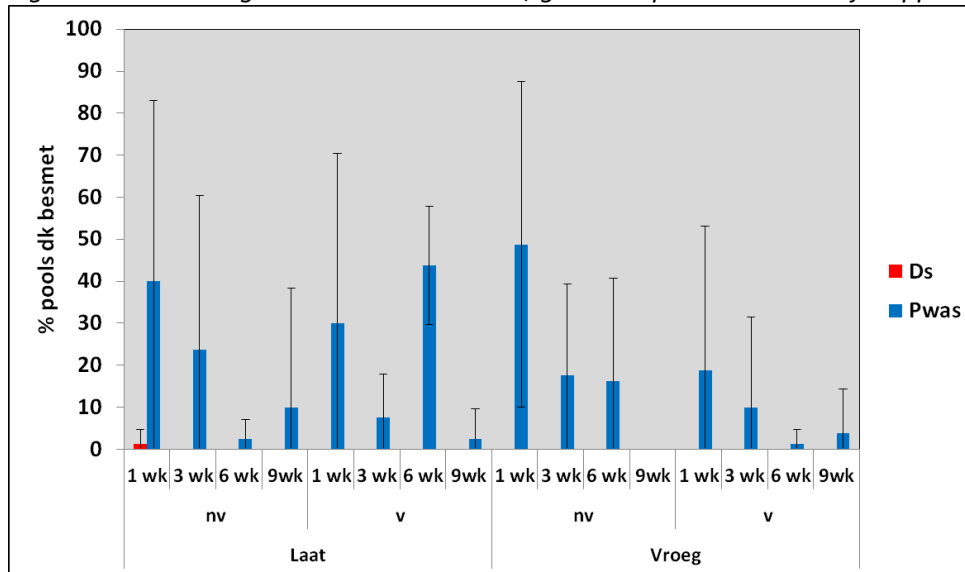


### Besmetting van dochterknollen

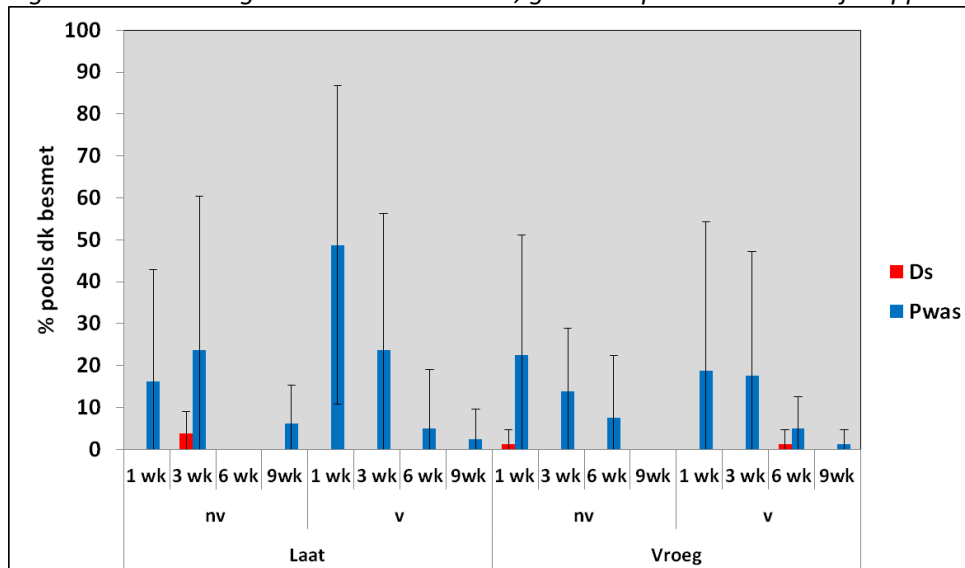
Ook bij de dochterknollen, die op verschillende tijdstippen na loofdoding zijn geroid, was er een grote variatie in besmettingspercentages binnen één behandeling (Figuren 6 en 7). Evenals bij de stengels kwam Ds maar sporadisch voor, en wordt de aandacht geconcentreerd op de besmetting met Pwas. Ook bij de dochterknollen is geen effect gevonden van poottijdstip of voorkiemen op de besmetting met Pwas. Maar ook niet van de interactie poottijdstip / voorkieming, zoals bij de stengels. Wel was er een zeer significant effect ( $p < 0,001$ ) van het rootijdstip. Hoe later geroid hoe minder Pwas: gemiddeld 30,5 %, 17,2 %, 10,2 % en 3,3 % besmetting na 1, 3, 6 en 9 weken rooien.



*Figuur 6. Besmetting dochterknollen Fabula, geroid op verschillende tijdstippen na loofdoding*



*Figuur 7. Besmetting dochterknollen Liseta, geroid op verschillende tijdstippen na loofdoding*



### **Verdwijnen van moederknollen en besmetting hiervan**

Bij het rooien van de dochterknollen werden de moederknollen of resten daarvan beoordeeld en verzameld. Er werd onderscheid gemaakt tussen moederknollen die: - nog min of meer intact waren, - in vergaande mate verrot waren, - waarvan slechts een velletje over was, of - niet teruggevonden werden. De eerste twee categorieën kunnen bij het rooien nog echt voor versmering zorgen. De aantallen die nog intact of verrot op de verschillende rooitijdstippen werden aangetroffen zijn weergegeven in de figuren 8 en 9 (Fabula) en 10 en 11 (Liseta).

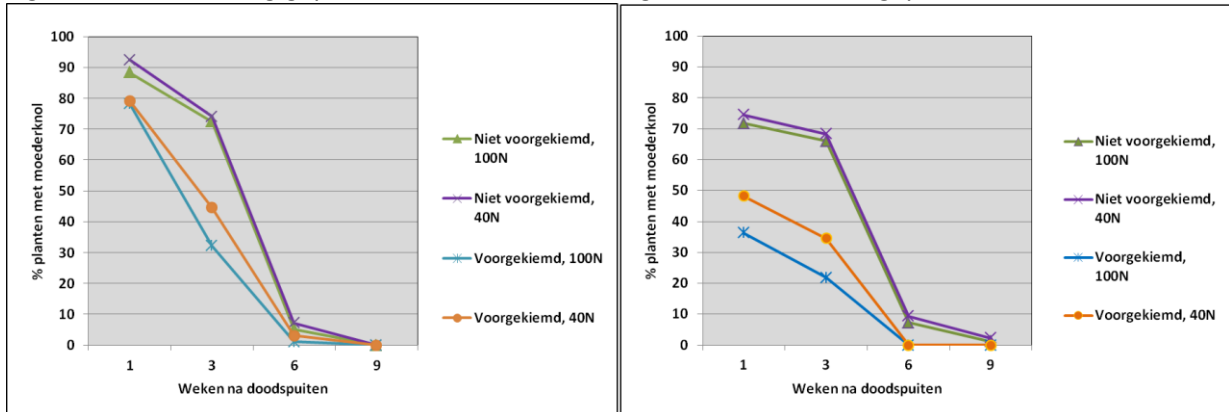
Tussen de twee rassen is er een verschil in snelheid waarmee de moederknollen verdwijnen. Dat hoeft niet te verbazen, de gepote knollen van Fabula waren gemiddeld kleiner dan die van Liseta en verdwijnen ook sneller als moederknol. De stikstofbemesting heeft geen effect gehad. Bij de laat gepote Fabula's zijn 1 week na doodspuiten minder moederknollen aanwezig dan bij de vroeg gepote. Bij Liseta is dat verschil er niet. Overigens is er ook bij Fabula 6 weken na doodspuiten geen verschil meer. Voorkiemen heeft een duidelijk positief effect op het verdwijnen van de moederknollen. Bij Fabula zijn na 6 weken de meeste en na 9 weken vrijwel alle moederknollen

verdwenen. Bij Liseta zijn dan nog steeds moederknollen terug te vinden, m.n. bij de niet voorgekiemde. Bij beide rassen konden ook na 9 weken nog wel vaak de velletjes van de moederknollen worden teruggevonden.

*Figuren afname van moederknollen in de periode na loofdoding*

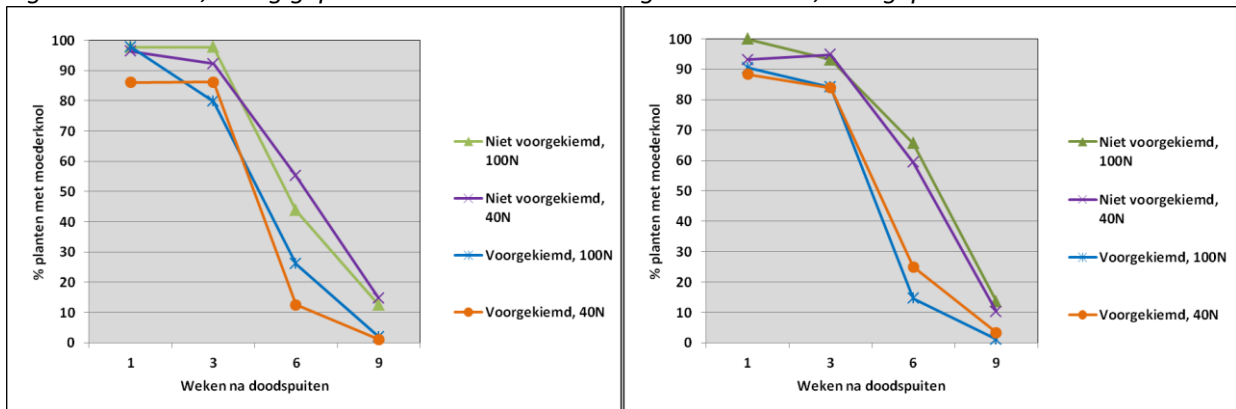
*Figuur 8. Fabula, vroeg gepoot.*

*Figuur 9. Fabula, laat gepoot.*



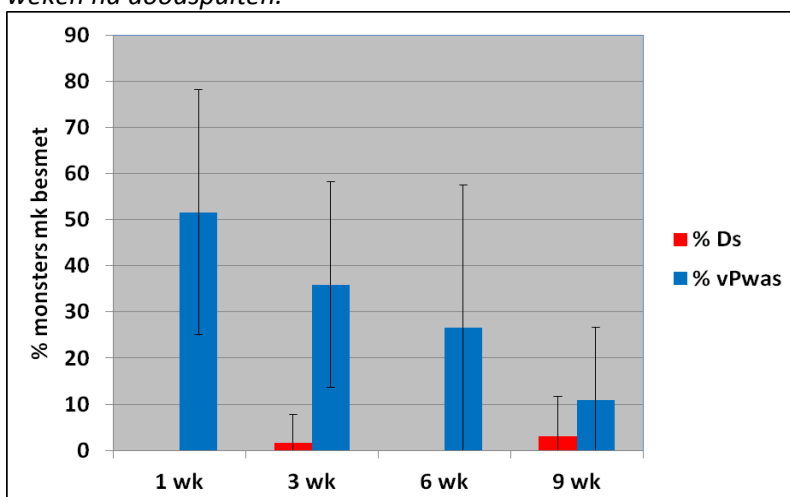
*Figuur 10. Liseta, vroeg gepoot.*

*Figuur 11. Liseta, laat gepoot.*



Bij het bepalen van de Erwinia besmetting zijn ook de velletjes steeds meegenomen. Gemiddeld genomen neemt de besmetting van de moederknolresten in de loop van de tijd af (Figuur 12), al is de variatie ook hier erg groot. Omdat er na 9 weken nog vooral velletjes aanwezig zijn, zal het risico op versmering dan sterk gereduceerd zijn.

*Figuur 12. Gemiddelde besmetting van moederknolresten 1, 3, 6 en 9 weken na doodspuiten.*



## 4. Conclusies

Het doel van de proef was om na te gaan of een vervroeging van de teelt, en daardoor een eerder tijdstip van loofvernietiging, zou kunnen leiden tot minder Erwinia. En daarnaast of er door het langer uitstellen van het rooien, mogelijk gemaakt door teeltvervroeging, ook minder kans op verspreiding van de besmetting zou zijn.

Uit de resultaten kunnen de volgende conclusies worden getrokken:

- Het vervroegen van de teelt, door het eerder poten, door voor te kiemen, door een verminderde stikstofgift, of door een 'vroeger' ras te gebruiken, heeft in dit onderzoek niet geleid tot een significant lagere besmetting van het 'Erwinia' type *Pectobacterium wasabiae* in het loof vlak vóór loofvernietiging, en
- heeft evenmin geleid tot een significant lagere besmetting van de dochterknollen.
- Het effect dat wél gevonden is op de stengelbesmetting, het gecombineerde effect van poottijdstip en voorkieming, heeft waarschijnlijk meer te maken met afgeleide factoren zoals de verminderde poterkwaliteit bij laat poten van niet voorgekiemde knollen, en het kwetsbaarder zijn voor koudeschade bij vroeg gepoot voorgekiemd materiaal.
- Het aantal zichtbaar aangetaste planten in het veld was te laag om daar conclusies aan te verbinden.
- Er is wel een sterk significant effect gevonden van het tijdstip van rooien na loofvernietiging op de besmetting van de dochterknollen met *P. wasabiae*. Hoe langer gewacht wordt met rooien, hoe lager de besmetting.
- Bij de in deze proef gebruikte potermaten (tot 55 mm) duurde het, onder de vigerende proefomstandigheden, tot 9 weken na loofvernietiging voordat vrijwel alle moederknollen verdwenen waren. Door voorkiemen wordt dit proces weliswaar versneld, maar een periode van 9 weken lijkt een veilige marge.
- Ook de besmetting van de moederknolresten met *P. wasabiae* neemt in de periode na de loofvernietiging geleidelijk aan af.

De eindconclusie is, dat teeltvervroeging zeker zin heeft in de beheersing van Erwinia. Door een combinatie van vroeg poten en voorkiemen wordt bereikt dat er eerder loofvernietiging kan plaatsvinden. Dat schept ruimte voor een langere periode tussen loofvernietiging en rooien, waarin: a) de moederknollen kunnen verdwijnen, b) ook de besmettingsgraad van de moederknolresten afneemt, en c) (wellicht mee ten gevolge hiervan) de besmettingsgraad van de dochterknollen bij de rooi afneemt. Het is verstandig daarbij te streven naar een marge van 9 weken tussen loofvernietiging en rooien.