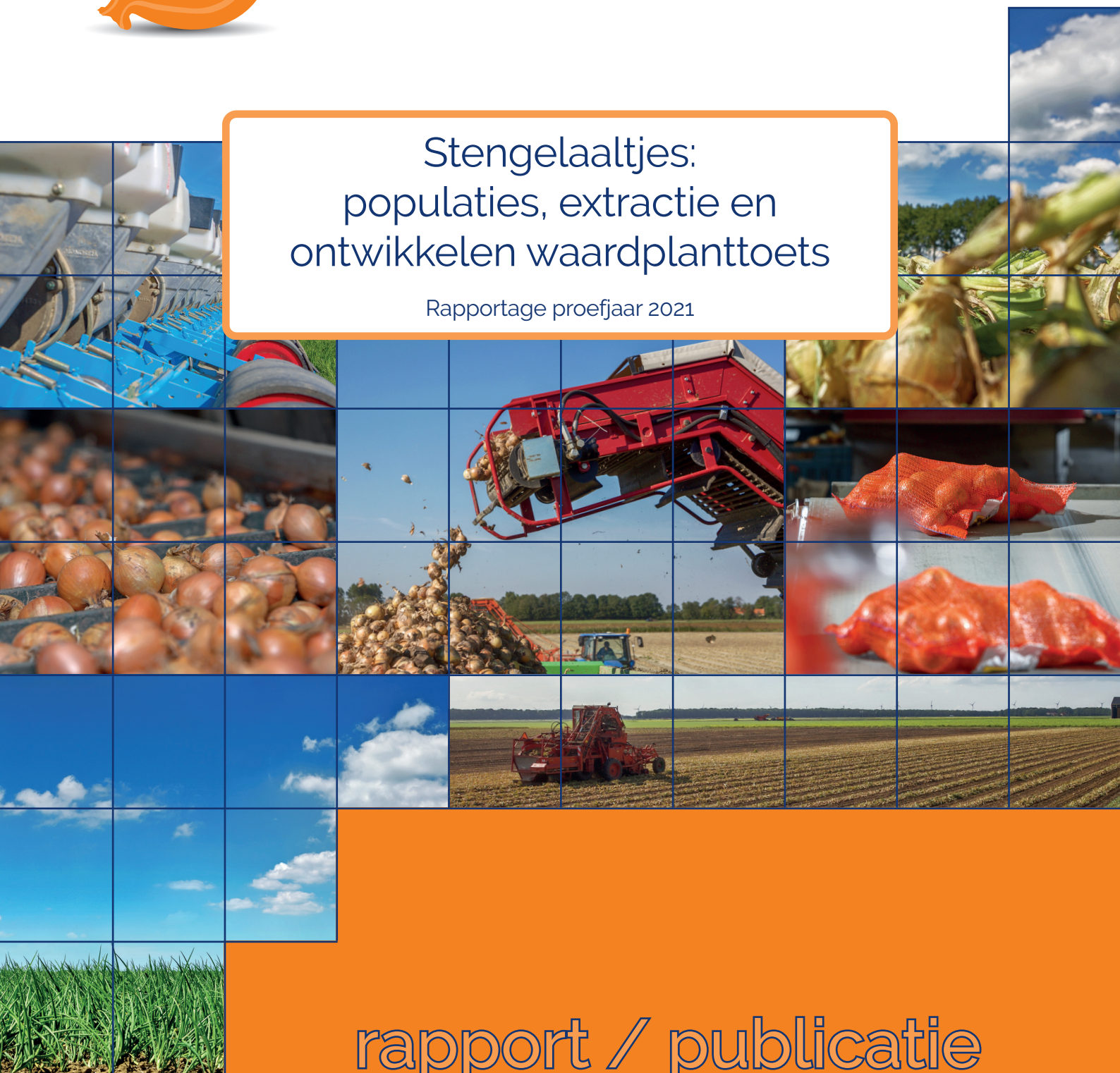




Stengelaaltjes:
populaties, extractie en
ontwikkelen waardplanttoets

Rapportage proefjaar 2021



rapport / publicatie

2022-04



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 waardplanttoets

Rapportage proefjaar 2021

Uitgevoerd door: Pella Brinkman¹, Anja Kombrink², Misghina Goitom Teklu³ en
Leendert Molendijk¹
(¹WUR-Open teelten, ²Hilbrands laboratorium, ³WUR-Agrosysteemkunde)

Uireka rapportnummer: 2022-04

Datum: juni 2022

Inhoudsopgave

Samenvatting	6
1 Inleiding en doel	8
2 Verzamelen populaties	9
2.1 Algemeen	9
2.2 Resultaten	10
2.3 Proefopzet	10
3 Optimaliseren extractie stengelaaltjes uit grondmonsters	12
3.1 Materiaal en methoden	13
3.2 Resultaten	14
3.3 Discussie en interpretatie	16
4 Ontwikkelen waardplanttoets: klimaat	18
4.1 Materiaal en methoden	18
4.2 Resultaten	19
4.3 Discussie en interpretatie	23
5 Ontwikkelen waardplanttoets: inoculatie	24
5.1 Materiaal en methoden	24
5.2 Resultaten	26
5.3 Discussie en interpretatie	28
6 Conclusies en aanbevelingen	30
Literatuur	31
Bijlage I. Oproep aan telers en erfbetreders	32
Bijlage II. Gegevens waardplanttoets klimaat	33
Bijlage III. Samenstelling kunstgrond	36
Bijlage IV. Gegevens kiemproef	37

Bijlage V.	Gegevens proef vochtgehalte grond	38
Bijlage VI.	Plantgegevens dichtheidproef	39
Bijlage VII.	Gegevens extractieduur	42
Bijlage VIII.	Nematodengegevens dichtheidsproef	43
Bijlage IX.	Gegevens inoculatiemethode	45

Samenvatting

Stengelaaltjes vormen een lastig probleem, doordat ze een brede waardplantreeks hebben. De aaltjes kunnen al in lage dichtheden, die lastig zijn te detecteren, voor schade zorgen. Verder zijn de omstandigheden waaronder de aaltjes actief worden onvoldoende bekend en is het daardoor niet goed voorspelbaar 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. In de PPS LWV19010 – Uireka: naar een integraal duurzame uienteelt in de periode 2020-2023 is onderzoek naar stengelaaltjes opgenomen. Het werkpakket stengelaaltjes beoogt informatie te krijgen over de volgende onderwerpen:

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

In dit rapport zijn de resultaten van het onderzoek in 2021 beschreven.

In twee jaar tijd zijn 19 populaties uit Nederland verzameld: in 2020 zijn 5 populaties uit plantmateriaal verzameld en in 2021 nog 14 populaties. De populaties zijn afkomstig van ui (7), suikerbiet (7), aardappel (1), tulp (2) en narcis (2). In 2022 zal opnieuw extra aandacht worden gevraagd om actieve besmettingen uit het veld te melden.

Voor extractie van het ruststadium van stengelaaltjes uit grond zijn twee methoden vergeleken: Oostenbrinktrechter en zonale centrifuge. Met de eerste methode kunnen alleen actieve aaltjes worden geëxtraheerd, met de tweede methode mogelijk ook inactieve stadia (bijvoorbeeld dauerlarven). Bij extractie van natuurlijk besmette grond met de Oostenbrinktrechter werden alleen beweeglijke (levende) stengelaaltjes gevonden, met de zonale centrifuge ook niet beweeglijke (dode en mogelijk dauerlarven) exemplaren. Dit biedt perspectief dat ook dauerlarven met de zonale centrifuge kunnen worden geëxtraheerd.

- Met de zonale centrifuge worden zowel beweeglijke (levende) als niet beweeglijke (dode en mogelijk dauerlarven) stengelaaltjes geëxtraheerd;
- Wanneer de suspensie met aaltjes na extractie met de zonale centrifuge over een 25 µm zeef wordt gegoten, levert dit geen problemen op voor een PCR-analyse;
- Visuele en moleculaire analyse van een suspensie levert vergelijkbare conclusies over aanwezigheid van stengelaaltjes. Discrepanties bij zeer lage natuurlijke besmetting kunnen te wijten zijn aan foutieve visuele identificatie of verlies van een aaltje in het PCR-proces.

Voor het uitvoeren van een toets om de waardplantstatus van gewassen voor verschillende rassen stengelaaltjes te bepalen, is een methode nodig om de aaltjes te vermeerderen. De gebruikte methode van vermeerderen op veldboon via bladokselinoculatie werkte niet even goed voor alle populaties. Er zal dus moeten worden gezocht naar alternatieven. De vermeerdering van stengelaaltjes bij inoculatie in de bladoksel van veldboon was hoger wanneer de planten in de kas bij 20°C/16°C werden opgekweekt dan bij 15°C/8°C in een klimaatcel. Daarom werd er voor gekozen om verdere toetsen onder kasomstandigheden uit te voeren. Het is niet bekend of dit ook de beste omstandigheden zijn voor inoculatie en infectie via de grond. Een methode waarbij de stengelaaltjes in het plantgat van gekiemd zaad werden gepipetteerd, werkte alleen voor ui, maar niet voor peen en veldboon. Bij ui was het aantal aaltjes per zaad belangrijk: bij een laag aantal was de slagingskans van de infectie laag, terwijl bij een hoog aantal een deel van de planten

dood ging en daardoor niet bruikbaar was voor de toets. Om een waardplanttoets uit te voeren, is het nodig dezelfde methode van inoculatie te gebruiken voor verschillende plantensoorten. In een volgende toets wordt een reeks dichtheden geïnoculeerd in de grond, een methode die aansluit bij gangbare toetsen met andere plantparasitaire aaltjessoorten.

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 Quarantaine 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 mogelijk niet op de hoogte is van het vóórkomen 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 hardnekkige 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 van elkaar te onderscheiden en moleculaire diagnostische technieken zijn nog 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 gereedschappen om stengelaaltjes op bedrijfsniveau te beheersen. Daarmee moeten misoogsten, afgekeurde partijen en kwaliteitsverlies worden beperkt, zonder terug te vallen op synthetische middelen.

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 Plan van Aanpak Stengelaaltjes 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 andere specialisten op aaltjesgebied een samenhangend programma te ontwikkelen. Een deel van dit plan wordt uitgevoerd binnen de PPS LWV19010 – Uireka: naar een integraal duurzame uienteelt in de periode 2020-2023. In dit rapport zijn de resultaten van onderzoek uitgevoerd in 2021 binnen drie deelprojecten beschreven: 1) verzamelen populaties, 2) optimaliseren bemonstering en 3) ontwikkelen van een waardplanttoets. 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, Brinkman en Molendijk, 2022).

2 Verzamelen populaties

Om de diversiteit van besmettingen met stengelaaltjes tussen gewassen en percelen in kaart te brengen, is binnen dit project als doel gesteld om dertig populaties uit vijf regio's te verzamelen:

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

2.1 Algemeen

De besmette percelen worden via de reguliere laboratoria en andere kanalen opgespoord. In mei/juni 2021 is een oproep gedaan aan telers en erfbetreders (o.a. Agrifirm, de Groene Vlieg) om besmettingen met stengelaaltjes te melden (Bijlage I). In diverse bijeenkomsten met erfbetreders is hulp gevraagd in de zoektocht naar stengelaaltjes (Uireka, Nematodenwerkgroep). Daarnaast hebben Uireka (Nieuwsbrieven juni, augustus en oktober 2021) en IRS (Nieuwsbrief november 2021) extra publiciteit gegeven aan deze oproep. Ook zijn er, deels op initiatief van BO Akkerbouw, drie artikelen verschenen in Nieuwe Oogst (Tönjes, 2021; Dodde, 2021a, b) en één op de website van Akkerwijzer (Gerbrandy, 2021). Daarnaast is, vooral door onderzoekers in het aanpalende project Moleculaire karakterisering van stengelaaltjes, contact gezocht met onderzoekers in het buitenland met de vraag populaties te delen.

Populaties uit plantmateriaal

Om de kans te vergroten dat de stengelaaltjes in de populatie genetisch niet teveel van elkaar afwijken, wordt plantmateriaal van een klein oppervlak verzameld. 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 | Laboratorium voor Nematologie) te zetten. Sommige monsters resulteerden niet in een nieuwe populatie, omdat het materiaal al teveel was aangetast.

Het aantal stengelaaltjes dat uit het plantmateriaal werd geëxtraheerd, was niet altijd groot genoeg om te gebruiken voor verder onderzoek. Daarom werden de stengelaaltjespopulaties 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. Daar wordt een deel van de aaltjes bewaard bij -80°C en een deel gedroogd en bewaard voor gebruik in de nog te ontwikkelen waardplanttoets.

Populaties uit grond

Van elf percelen waarin problemen met stengelaaltjes waren opgetreden, werd oppervlakkig grond uit het veld verzameld of grond die bij het zeven van de bollen in de schuur werd opgevangen. De grond werd bewaard in de koelcel. Na 1-1,5 jaar werd van elke grond ca. 5 L in een lage bak van ca. 30×40 cm gedaan. In elke bak werden ca. 150 uienzaden (Hybelle IC) gezaaid. De bakken werden in een klimaatcel bij 15°C/8°C (16 uur licht/8 uur donker; RV ca. 98%) geplaatst en afgedekt met plastic. Na opkomst van de planten werd het plastic verwijderd. Na twee weken werd de temperatuur verhoogd naar 20°C/16°C (16 uur licht/8 uur donker; RV ca. 70%). Acht weken na het zaaien werden de planten geoogst. Het loof werd in stukjes van 0,5 cm geknipt en in zeefjes in de mistkast gezet. Na 3 dagen werden de suspensies afgeschonken en de aaltjes geteld.

2.2 Resultaten

Populaties uit plantmateriaal

Van de 30 beoogde populaties stengelaaltjes zijn in 2020 de eerste 5 populaties uit plantmateriaal verzameld en in 2021 nog 14 populaties. De populaties zijn afkomstig van ui (7), suikerbiet (7), aardappel (1), tulp (2) en narcis (2). De populaties komen uit verschillende gebieden in Nederland. Zo komen de uienpopulaties uit Flevoland en Zeeland, de suikerbietpopulaties uit Flevoland, Friesland en Noord-Brabant en de populaties uit bloembollen uit Noord- en Zuid-Holland. De indeling van stengelaaltjespopulaties uit verschillende gewassen en regio's bleek niet zo strikt als bedacht: uit Friesland werden bijvoorbeeld ook stengelaaltjes in suikerbiet gevonden. Het is nog niet gelukt om stengelaaltjes uit tulp uit de Wieringermeer te vinden. Wel is er een populatie uit knoflook uit Tsjechië verkregen van een onderzoeker ter plaatse. Sommige meldingen leverden geen nieuwe populatie op, omdat het materiaal al teveel was aangetast. Na extractie van stengelaaltjes was de suspensie dan teveel gecontamineerd om te kunnen gebruiken voor verder onderzoek.

De stengelaaltjes die uit ui werden geëxtraheerd, moesten binnen een paar dagen worden vermeerderd (door inoculeren op tuinboon, zie hoofdstuk 4), ingevroren voor moleculaire analyse of gedroogd voor bewaring. 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 waardplanttoets.

Populaties uit grond

De poging om dauerlarven uit besmette grond te isoleren door het zaaien van uien als vanggewas leverde geen nieuwe populaties op. Na acht weken werden in de geëxtraheerde uienplanten meestal geen of slechts enkele stengelaaltjes aangetroffen. Dit was niet voldoende om als populatie te bewaren. In één geval werden in totaal 6.300 stengelaaltjes geëxtraheerd uit de uienplanten die in de bak met grond van één locatie hadden gegroeid. Dit was grond met een hoge besmettingsgraad, waaruit we de populatie al via besmet plantmateriaal hadden verkregen.

2.3 Proefopzet

Vanuit plantmateriaal kunnen vrij zuivere populaties stengelaaltjes worden verkregen. De aantallen in het materiaal zijn niet altijd hoog genoeg om voor zowel moleculaire karakterisering als een waardplanttoets 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.

Verkrijgen van een populatie uit besmette grond door uien als vanggewas te zaaien, bleek alleen mogelijk wanneer de grond zwaar besmet was. Het is niet onderzocht of de methode wel bruikbaar is wanneer de grond direct na de oogst van een gewas wordt verwerkt.

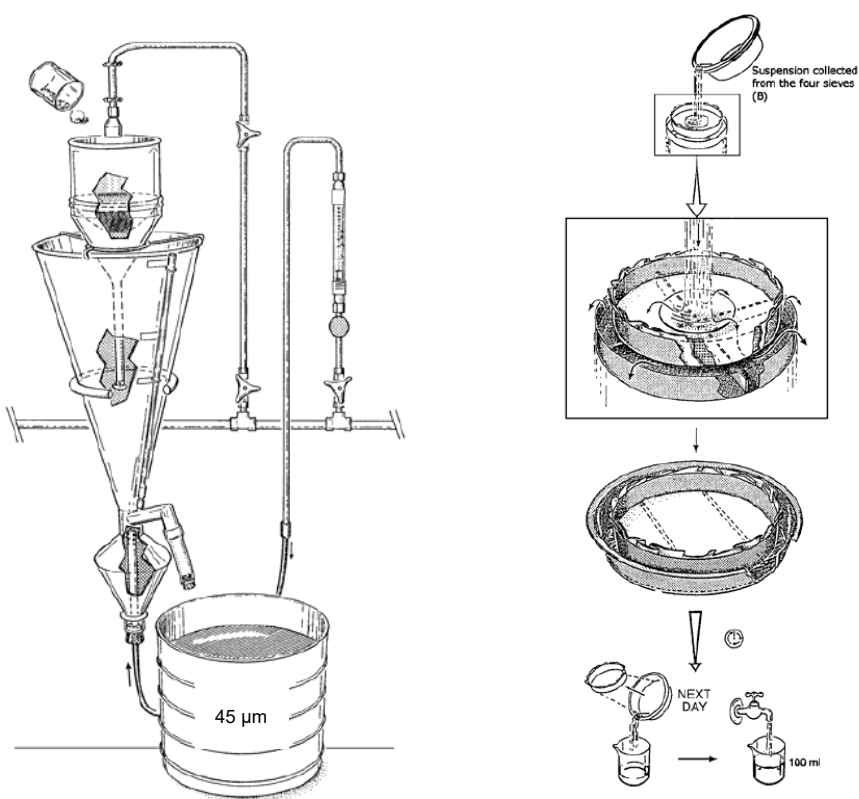
In twee jaar zijn 19 van de beoogde 30 populaties stengelaaltjes verzameld, geëxtraheerd en bewaard. Een deel van de monsters resulteerde niet in een populatie doordat 1) plantmateriaal te sterk was vergaan en gecontamineerd of 2) het niet mogelijk was om stengelaaltjes uit vermoedelijk besmette grond te isoleren. Vanwege het extreem droge voorjaar in 2020 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. Het jaar 2021 was natter en leverde meer populaties op, maar nog niet voldoende. Komend jaar zal opnieuw aandacht worden gevraagd om populaties aan te leveren. Dit is cruciaal om de karakterisering 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 telers op het erf komen. Daarnaast zullen zowel Uireka als BO Akkerbouw hier aandacht voor vragen in hun nieuwsbrieven.

3 Optimaliseren extractie stengelaaltjes uit grondmonsters

Er wordt aangenomen dat *D. dipsaci* vaak als een ingedroogde inactieve overlevingsstructuur (dauerlarve) 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 3.1). 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 reden 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 3.2). In tegenstelling tot de Oostenbrink-methode, sluit deze methode het aantonen van inactieve nematoden niet uit. Bij de zonale centrifuge wordt de te tellen suspensie direct verkregen zonder een filterstap. Actieve en latente besmetting met *D. dipsaci* zouden zo beide met de centrifuge met meer zekerheid kunnen worden aangetoond in grondmonsters.



Figuur 3.1. Principe van extractie van aaltjes uit de grond met de Oostenbrinkmethode.

Links de Oostenbrinktrechter en een set zeven, rechts het overbrengen van het materiaal dat is opgevangen op de zeven op een filter (uit: van Bezooijen, 2006).



Figuur 3.2. 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 methoden

Stengelaaltjes indrogen

Om er zeker van te zijn dat de inactieve dauerlarven kunnen worden geëxtraheerd met de zonale centrifuge, moeten ze gedurende langere tijd (ca. 24 uur) inactief blijven. Wanneer de dauerlarven al binnen de tijd die nodig is voor het maken van suspensies, extractie en tellen actief worden, is immers niet duidelijk of actieve J4 of inactieve dauerlarven zijn geëxtraheerd. Er is geprobeerd dit te bereiken door stengelaaltjes versneld in te laten drogen. Uit eerder onderzoek is gebleken dat de relatieve luchtvochtigheid (RV) tijdens het indrogen een grotere invloed heeft op de snelheid waarmee de aaltjes actief worden wanneer ze in contact komen met water dan de RV tijdens het bewaren (Wharton en Aalders, 1999).

Langzaam opnieuw indrogen van *D. dipsaci* uit gedroogde narcisstukjes

Stengelaaltjes voor deze proef werden verkregen uit gedroogd plantmateriaal. Er werd eerst gevolgd hoe snel deze aaltjes actief werden bij toevoegen van water vóór ze opnieuw werden ingedroogd. Gedroogde narcisstukjes met stengelaaltjes (populatie N1, 9 maanden na indrogen) werden in de namiddag in water gelegd en de beweeglijkheid van de aaltjes werd gevolgd. De suspensie werd bij kamertemperatuur tot de volgende dag bewaard, waarna de aaltjes werden geteld.

Vervolgens werden de aaltjes opnieuw ingedroogd. De suspensie met stengelaaltjes werd vervolgens verdeeld over een aantal petrischaaltjes en een urinebeker en werd gedurende 2 dagen bij kamertemperatuur ingedroogd. Daarna werden de ingedroogde suspensies en de urinebeker met een restje water in een afgesloten bak met een zakje silica gezet (0% RV). Vijf dagen na het indrogen werd water toegevoegd aan de ingedroogde stengelaaltjes. Er werd gevolgd hoe snel de aaltjes weer actief werden.

Snel indrogen op kamertemperatuur bij 0% luchtvochtigheid

Stengelaaltjes werden uit gedroogde narcis geëxtraheerd (populatie N1). Druppels water met 20-50 stengelaaltjes werden op een petrischaal gebracht. Het water werd zover verdampt tot de aaltjes nog net

vochtig waren. De petrischaal werd overgebracht in een afgesloten bak met silicagel (0% RV). Na 5 dagen werd er water bij de stengelaaltjes gedaan en werd gevolgd hoe snel de aaltjes weer actief werden.

Bovenstaande procedure werd herhaald met actieve stengelaaltjes uit vers plantmateriaal (narcis) en de gedroogde populatie N1. Het water van de druppeltjes werd zoveel mogelijk met filtreerpapier verwijderd, waarna de petrischalen zo snel mogelijk in 0% RV werden geplaatst. Na 5 dagen werd er water bij de stengelaaltjes gedaan en werd gevolgd hoe snel de aaltjes weer actief werden.

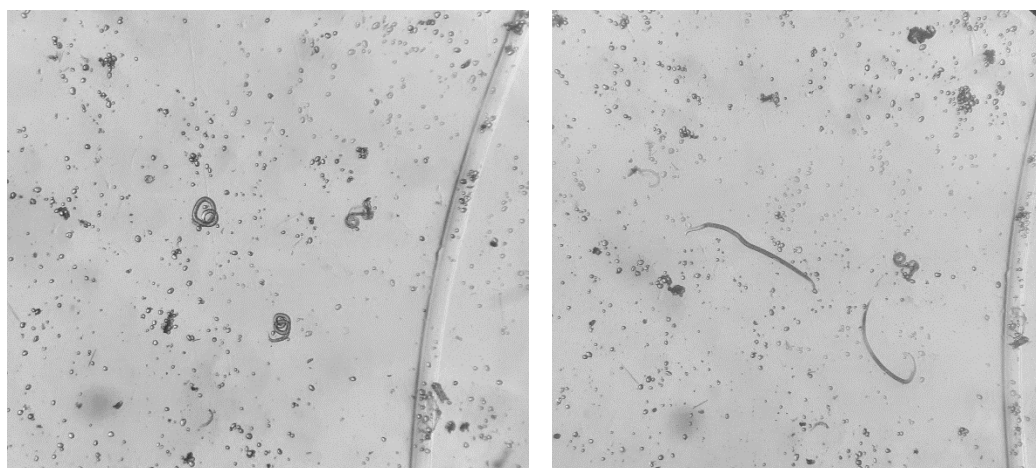
Extractie uit besmette grond

Grond van vijf percelen waar eerder problemen met stengelaaltjes waren opgetreden en een besmetting met stengelaaltjes werd verondersteld, werd gedurende twee jaar bewaard bij 4°C. Na deze bewaring werd aangenomen dat aanwezige stengelaaltjes in ruststadium zouden verkeren. De grond was afkomstig van percelen waar de volgende gewassen hadden gegroeid: tulp (T2), hyacint (H1) en narcis (N1, N5 en N6). De grond van elk perceel werd gemengd en daarna werden twee grondmonsters genomen: 100 ml voor extractie met de Oostenbrinktrechter en 200 ml voor extractie met de zonale centrifuge. Na extractie met de Oostenbrinktrechter werd het materiaal dat op de zeven was verzameld overgebracht op een dubbel filter (Tork Heavy duty cleaning cloth 530137) en in een schotel met water gezet bij 20°C (Figuur 3.1). Na 72 uur werd de suspensie met de nematoden die door het filter waren gekropen afgeschonken en de aaltjes werden geteld onder een microscoop. Bij extractie met de zonale centrifuge wordt de helft van de grond opgezogen en geëxtraheerd met $MgSO_4$ (Figuur 3.2). Na extractie werd de suspensie over een 25 µm zeef geschonken om de $MgSO_4$ te verwijderen en de nematoden werden overgebracht in een potje met water en geteld onder een microscoop. Vanwege het lage aantal stengelaaltjes werd de hele suspensie geteld. Na het tellen werden de aaltjes terug geschonken in de potjes. Ter vergelijking met de visuele telling werden stengelaaltjes bepaald met een PCR-methode. De PCR-analyse werd ongeveer 2,5 week na de extractie uitgevoerd.

3.2 Resultaten

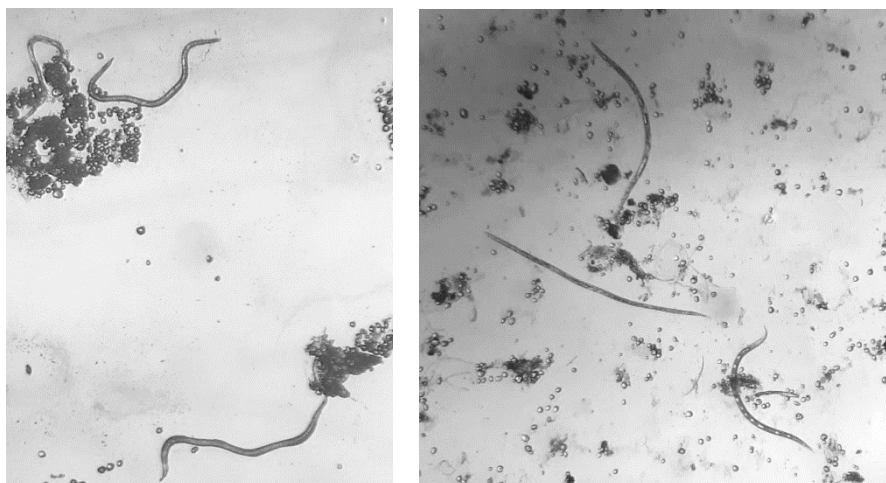
Langzaam opnieuw indrogen van *D. dipsaci* uit gedroogde narcisstukjes

Na toevoegen van water kwam de activatie van de stengelaaltjes in het gedroogde plantmateriaal (narcis populatie N1), die later opnieuw werden ingedroogd, snel op gang. De stengelaaltjes begonnen na 45 minuten in water actief te worden (Figuur 3.3). Na een nacht in water was nog slechts 5% van de aaltjes inactief (actief J4: 220; actief J2-3: 175; inactief J4 (dauerlarve): ~5%).



Figuur 3.3. Dauerlarven van stengelaaltjes wanneer ze net in water zijn gebracht (links) en na 45 minuten (rechts).

Een uur na toevoegen van water na 5 dagen indrogen bij 0% RV bewoog ~ 80% van de stengelaaltjes weer. De darminhoud van de aaltjes vertoonde een vlekkerig patroon, maar de beweging was normaal (Figuur 3.4).



Figuur 3.4. Dauerlarven 2 dagen na indrogen bij kamertemperatuur (links) en een uur na toevoegen van water na 5 dagen indrogen bij 0% RV (rechts).

Snel indrogen van *D. dipsaci* op kamertemperatuur bij 0% luchtvochtigheid

Na toedienen van water aan de ingedroogde stengelaaltjes was de eerste beweging na anderhalf uur zichtbaar. Na 4 uur was ongeveer 90% van de aaltjes actief, al bewogen ze traag, en 10% inactief. Bij de herhaling waarbij vóór het indrogen het water werd weggezogen met filtreerpapier, was 80% van de aaltjes binnen 5 uur na opnieuw toedienen van water weer actief, al was de beweging traag.

Extractie van besmette grond

De dichtheid stengelaaltjes in de grond was zeer laag vergeleken met de niet-plantparasieten, wat het tellen van de stengelaaltjes bemoeilijkte (Tabel 3.1). De uitslag van de visuele telling en de PCR-bepaling kwam niet altijd overeen, wat deels door de lage aantallen zal zijn veroorzaakt. In grond N1 werden met beide methoden stengelaaltjes gevonden; met de Oostenbrinkmethode alleen beweeglijke (levende), maar met de zonale centrifuge zowel beweeglijke als niet beweeglijke (dode en mogelijk dauerlarven) aaltjes. Hierbij moet worden opgemerkt dat het onderscheid tussen dode en inactieve (dauerlarve) stengelaaltjes niet altijd goed is te maken. In grond T2 werden met de visuele telling met beide extractiemethoden stengelaaltjes aangetoond, maar met de PCR-methode slechts in één monster. Dit resultaat was tegengesteld aan de verwachting dat met PCR lagere aantallen beter zouden worden aangetoond. Mogelijk zijn ergens in het proces aaltjes verloren gegaan, bijvoorbeeld door kleven aan de rand van een buisje. In grond H1 en N5 werden wel één of meerdere stengelaaltjes geteld na extractie met de zonale centrifuge, maar niet met de Oostenbrinkmethode. In grond N5 was de determinatie niet zeker en in grond H1 waren veel aaltjes die mogelijk op stengelaaltjes leken. Dit zou kunnen verklaren waarom de uitslag van de PCR-analyse negatief was.

Tabel 3.1. Aantal stengelaaltjes (levend en dood) en niet-plantparasitaire aaltjes geëxtraheerd uit grond van vijf percelen met twee methoden (Oostenbrinktrechter en zonale centrifuge) en uitslag van een PCR-analyse aan dezelfde suspensies.

Grond [‡]	Extractie	Aantal aaltjes per 100 ml grond			Uitslag PCR-analyse
		Stengelaaltjes levend	Stengelaaltjes dood	Niet-plantparasiet	
T2	Oostenbrink	3	0	3917	Negatief
T2	Zonaal	3	0	2820	Licht positief
H1	Oostenbrink	0	0	1303	Negatief
H1	Zonaal	11	0	1781	Negatief
N1	Oostenbrink	24	0	2213	Positief
N1	Zonaal	32	31	1133	Positief
N5	Oostenbrink	0	0	408	Negatief
N5	Zonaal	1 [#]	0	908	Negatief
N6	Oostenbrink	0	0	1131	Negatief
N6	Zonaal	0	0	1140	Negatief

[#] Determinatie onzeker

[‡] Grond van percelen met problemen met stengelaaltjes in tulp (T2), hyacint (H1) en narcis (N1, N5 en N6).

3.3 Discussie en interpretatie

Het indrogen van de stengelaaltjes bij 0% RV had niet het gewenste effect, omdat een te groot deel van de aaltjes al weer na 4-5 uur actief was. Eerdere experimenten lieten zien dat na 5 dagen indrogen bij 0% RV en opnieuw toevoegen van water, na ongeveer 10 uur 50% van de aaltjes actief was (Wharton en Aalders, 1999). Indrogen van stengelaaltjes uit vers of gedroogd materiaal, dwz. actieve aaltjes of geactiveerde dauerlarven, gaf in ons experiment geen verschil. Deze methode is dus niet bruikbaar om dauerlarven te verkrijgen die lang genoeg inactief blijven voor een vergelijking van extractie met de Oostenbrinktrechter en de zonale centrifuge.

Uit de literatuur is bekend dat er morfologische veranderingen optreden na indrogen en opnieuw opnemen van water door dauerlarven van stengelaaltjes. Vetdruppeltjes in de darmen smelten samen, wat de aaltjes een vlekkelig voorkomen geeft (Wharton et al., 1985). De vetdruppeltjes vormen voedselreserves voor dit stadium van de nematode dat zich niet voedt en kunnen de nematode beschermen tegen inkrimpen bij het indrogen (Wharton et al. 1985).

Het feit dat uit één grondmonster met de zonale centrifuge niet alleen levende, maar ook dode stengelaaltjes werden geëxtraheerd, biedt perspectief voor de extractie van dauerlarven die niet snel actief worden bij contact met water. Er zijn meerdere verschillen tussen actieve en inactieve stengelaaltjes. Er is verschil in doorlaatbaarheid voor water van de cuticula (buitenste laag) van stengelaaltjes in verschillende stadia. De doorlaatbaarheid van de cuticula neemt tijdens uitdrogen snel af, terwijl de doorlaatbaarheid van de cuticula van uitgedroogde stengelaaltjes wanneer ze met water in contact komen groter is dan die van volledig gehydrateerde aaltjes (Wharton et al., 2008). In tegenstelling tot de cuticula van levende stengelaaltjes is die van dode stengelaaltjes volledig doorlaatbaar voor water (Perry, 1977b). Inwendig treden er onder andere veranderingen op in het spierweefsel (Wharton en Lemmon, 1998). Het is niet bekend wat de invloed van het waterverlies is op de dichtheid (massa per volume-eenheid) van de aaltjes, wat wel van belang is voor de extractiemethoden die gebaseerd zijn op het verschil in dichtheid tussen aaltjes en grond. De dichtheid van eiwitten en suikers is hoger en van vetten lager dan de dichtheid van water, dus zal de onderlinge verhouding tussen de stoffen bepalen wat de dichtheid van ingedroogde nematoden is.

Tijdens de experimenten met inoculatie van stengelaaltjes op planten (Hoofdstuk 5) bleek dat de populatie uit narcis (N1) ca. 16 maanden na indrogen moeilijker werd te activeren bij contact met water. Dit biedt perspectief om deze populatie te gebruiken voor het vergelijken van extractie met de Oostenbrinkmethode en de zonale centrifuge.

4 Ontwikkelen waardplanttoets: klimaat

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 de vermeerdering van verschillende populaties stengelaaltjes op een reeks plantensoorten worden bepaald, waarmee de waardplantstatus van deze plantensoorten voor de getoetste populaties wordt vastgesteld. Het doel is om vast te stellen of er een verband is tussen verschillen op moleculair niveau en in waardplantreeks. In de toekomst is deze waardplanttoets ook nodig om de waardplantstatus van andere belangrijke cultuurgewassen te bepalen. Een voorwaarde hiervoor is, dat het mogelijk wordt om het stengelaaltjesras betrouwbaar vast te stellen.

Voor het uitvoeren van een waardplanttoets 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 de literatuur is geen overeenstemming over de optimale klimaatomstandigheden voor infectie: sommige auteurs houden een lage temperatuur aan (Whitehead *et al.* 1987; Storelli *et al.* 2021), andere auteurs werken bij een kasttemperatuur van ca. 20°C (Webster 1964; Elgin *et al.* 1975; Yavuzaslanoğlu 2020). Een lage temperatuur wordt wel aangehouden om beter aan te sluiten bij de omstandigheden rond infectie van gewassen in het voorjaar, maar het is niet duidelijk of dit noodzakelijk is om infectie te bewerkstelligen. In dit hoofdstuk is de invloed van temperatuur op de vermeerdering van een drietal populaties op veldboon beschreven. De resultaten zullen zowel voor het bepalen van omstandigheden voor de waardplanttoets worden gebruikt als voor het bepalen van een methode voor vermeerdering.

4.1 Materiaal en methoden

De proef werd geïnoculeerd op 6 juli 2021 en geoogst op 3, 17 en 31 augustus 2021. Er werden drie populaties stengelaaltjes gebruikt, die uit verschillende gewassen waren verkregen:

- N1 (herkomst narcis) werd direct geëxtraheerd uit gedroogde narcis.
- T1 (herkomst tulp) was vermeerderd op veldboon en ui en uit gedroogd materiaal geëxtraheerd. Uit het stuk gedroogde veldboonstengel werden 150 aaltjes geëxtraheerd, uit de gedroogde ui 25500.
- U2 (herkomst ui) was vermeerderd op tuinboon en werd uit de gedroogde stengel geëxtraheerd.

Er werden 141 stengelaaltjes ($P_i = 141$ voor N1 en U1, 145 voor T1) in een druppel water in de bladoksel van tuinboon geïnoculeerd (Fig. 4.1). De stengel werd bij het inoculeren licht aangeprikt met de pipet. De planten waren 10 dagen oud, hadden één volgroeid blad en ontwikkelden nieuwe bladeren in de top. De assimilatieverlichting was de eerste 2 dagen na inoculatie uit, behalve bij de inoculatie van populatie tulp (drie dagen na narcis en ui). De luchtvochtigheid werd de eerste week in de klimaatcel hoog gehouden en daarna verlaagd. Er werden drie temperatuurregimes aangehouden, waarbij overdag gedurende 16 uur assimilatieverlichting werd gebruikt:

- Klimaatcel: 2 weken 15°C/8°C (RV ca. 98%), daarna 20°C/16°C (RV ca. 70%)
- Klimaatcel: 2 weken 15°C/8°C (RV ca. 98%), daarna kas 20°C/16°C (RV ca. 70%)
- Kas: 20°C/16°C (eerste 3 dagen bedekt met plastic zak, RV ca. 70%)

Om de vermeerdering in de tijd te volgen, werden planten geïnoculeerd met populatie N1 geoogst na 4, 6 en 8 weken. Planten geïnoculeerd met populaties T1 en U2 werden alleen geoogst na respectievelijk 7,5 en 8 weken.



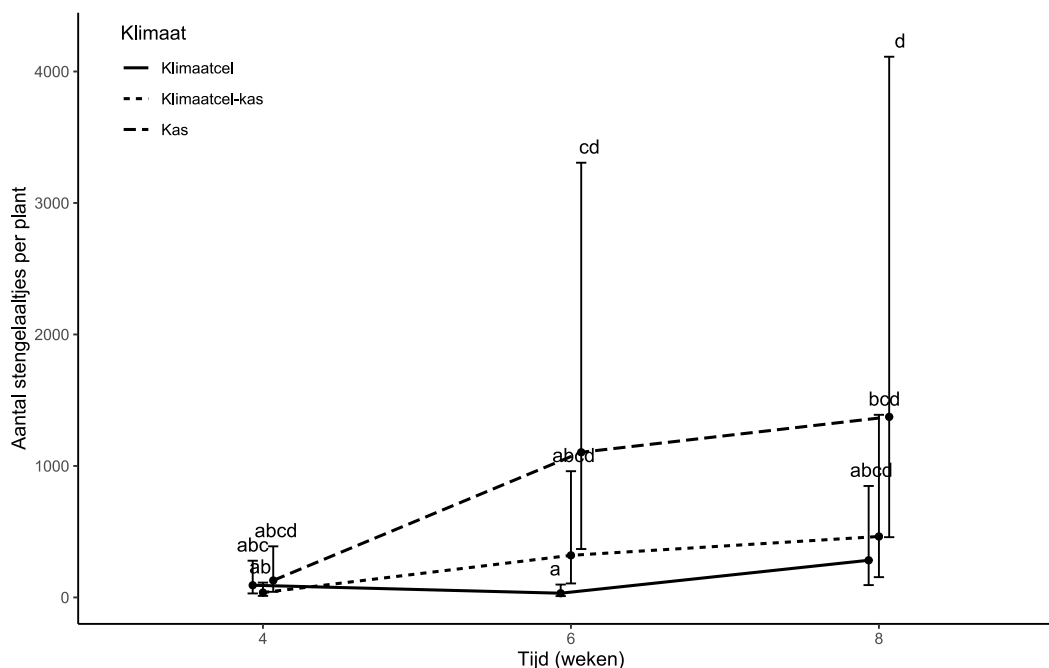
Figuur 4.1. Inoculatie van stengelaaltjes in een druppel water in de bladoksel van veldboon.

Bij de oogst werd het aangetaste (bruin verkleurde) deel van de stengel afgeknippt en gewogen. De stengel werd in stukjes van ca. 1 cm lang geknipt. De stengeldelen werden in afzonderlijke zeefjes in de mistkast gezet. Na 72 uur werden de nematoden afgetapt. Bij de telling na 4 en 6 weken werd het hele monster geteld. Bij de telling na 7,5-8 weken werd 1 ml uit 100 ml suspensie geteld. Plant nr. 33 en 70 (ui) werden een week eerder geoogst vanwege een fout met water geven met verdroging tot gevolg. Wel of niet opnemen van deze waarnemingen gaf dezelfde uitkomst van de statistische analyse. De gegevens werden geanalyseerd met een 2-weg Anova met $\log_{10}(x+1)$ -getransformeerde waarden voor aantal stengelaaltjes.

4.2 Resultaten

Tijdreeks

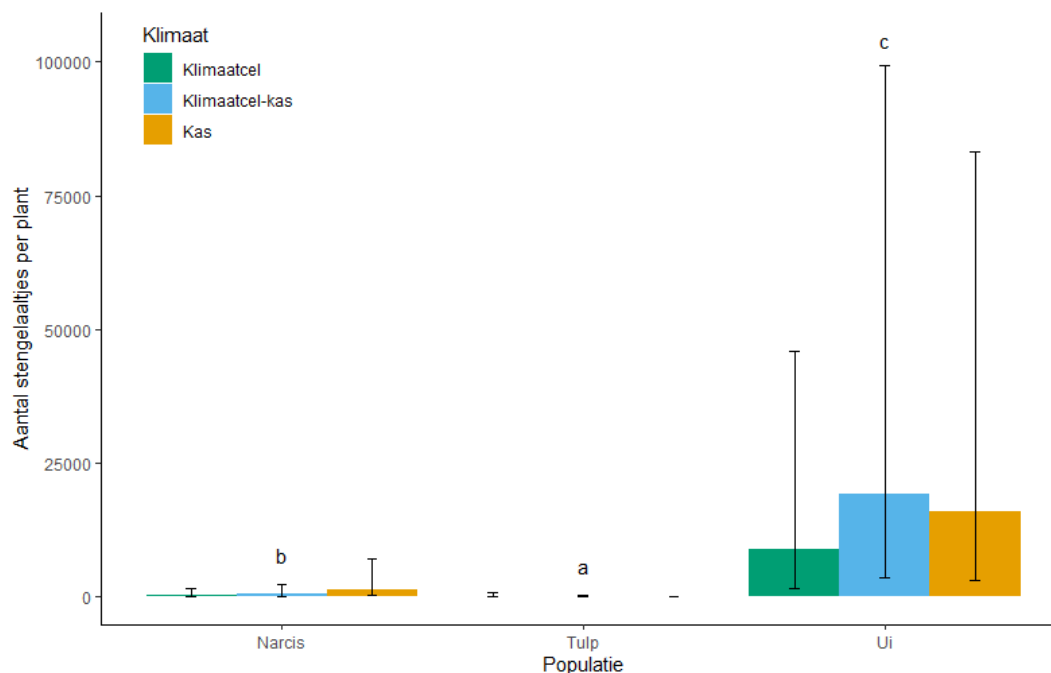
Bij het volgen van de vermeerdering van stengelaaltjes in de tijd was er een significante interactie tussen klimaat (ruimte) en tijd (Figuur 4.2; Bijlage II). Dit betekent dat het effect van klimaat afhankelijk was van het tijdstip waarop de planten werden geoogst. De variatie in eind aantallen was groot. Daardoor waren er binnen de oogsttijdstippen nauwelijks significante verschillen aan te geven. Na 4 weken was er nog geen toename in het aantal stengelaaltjes. Alleen na 6 weken was het aantal stengelaaltjes van populatie narcis significant hoger wanneer de planten in de kas werden opgekweekt dan in de klimaatcel. Na 8 weken waren de verschillen niet significant.



Figuur 4.2. Aantal (teruggetransformeerd gemiddelde $\pm$ betrouwbaarheidsinterval) stengelaaltjes per plant 4, 6 en 8 weken na inoculatie van 141-145 J4 (populatie N1 van narcis) in één bladoksel van veldboon ($n=5$). De planten werden opgekweekt onder drie condities: in de kas ($20^{\circ}\text{C}/16^{\circ}\text{C}$), eerst 2 weken in de klimaatcel ($15^{\circ}\text{C}/8^{\circ}\text{C}$) en daarna in de kas, of de hele periode in de klimaatcel (2 weken $15^{\circ}\text{C}/8^{\circ}\text{C}$, daarna $20^{\circ}\text{C}/16^{\circ}\text{C}$). Punten met verschillende letters verschillen significant van elkaar.

Populaties

Er waren grote verschillen in eind aantal stengelaaltjes per plant tussen de drie populaties ($P < 0.001$; Figuur 4.3; Bijlage II). De populatie uit ui vermeerderde het sterkste, de populatie uit narcis minder sterk en de populatie uit tulp vermeerderde nauwelijks. Dit kunnen werkelijke verschillen tussen populaties zijn, maar bij de populatie uit tulp kunnen ook andere factoren een rol hebben gespeeld. Misschien waren de condities tijdens het inoculeren minder gunstig, omdat de populatie uit tulp een aantal dagen later werd geïnoculeerd en de lampen boven de planten inmiddels aan waren. Verder zijn er van populatie tulp eigenlijk te weinig aaltjes geteld voor een goede bepaling (1ml uit 100 ml). Dit heeft invloed op de variatie tussen de waarnemingen, maar zal weinig invloed hebben gehad op het eind aantal. Het uitgangsmateriaal dat gebruikt werd voor inoculatie van populatie T1 geeft wel een indicatie dat het effect is toe te schrijven aan de populatie. De populatie was verkregen uit tulp en vermeerderd op veldboon en ui, waarna het materiaal was gedroogd om te bewaren. Uit het stukje gedroogde veldboon werden weinig stengelaaltjes geëxtraheerd vergeleken met het stukje gedroogde ui, dus het is waarschijnlijk dat deze populatie inderdaad niet goed kan vermeerderen op veldboon. Er was geen significant effect van de klimaatomstandigheden ($P=0.90$) of een interactie met populatie ($P=0.135$) op het eind aantal stengelaaltjes per plant. Dit betekent dat er geen verschil was in invloed van de kweekomstandigheden op de vermeerdering van de verschillende populaties. Er waren ook grote verschillen tussen de drie populaties in het eind aantal stengelaaltjes per gram aangetaste stengel; dit was vergelijkbaar met het effect op het aantal stengelaaltjes per plant (gegevens niet weergegeven).

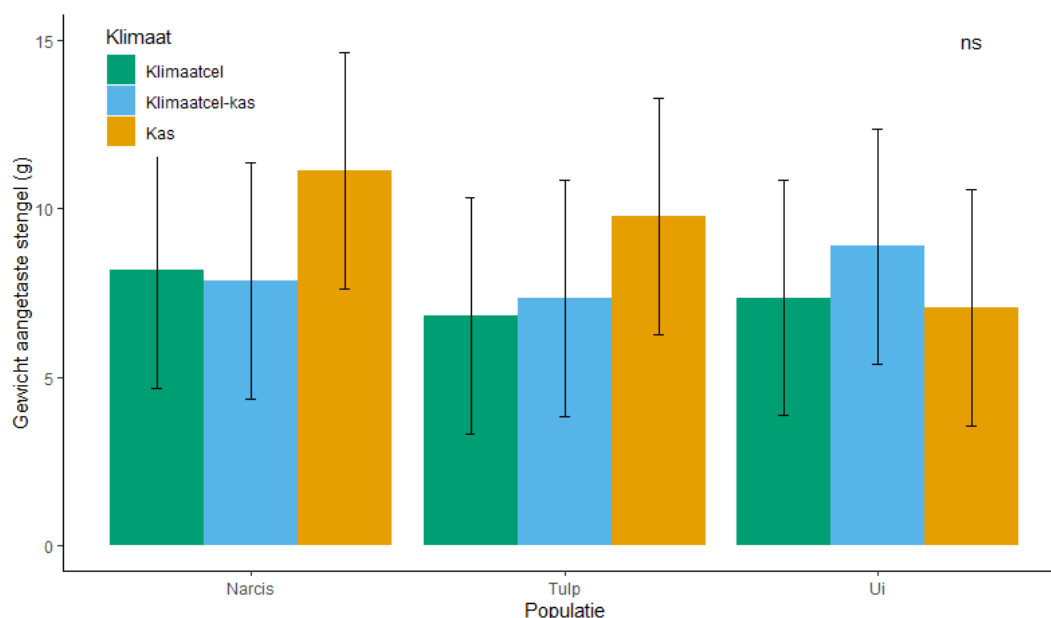


Figuur 4.3. Aantal stengelaaltjes (populaties narcis N1, tulp T1 en ui U2; terug getransformeerd gemiddelde $\pm$ betrouwbaarheidsinterval) per pot 8 weken na inoculatie met 141-145 stengelaaltjes in één bladoksel van veldboon (n=5). De planten werden onder drie condities opgekweekt: in de kas (20°C/16°C), eerst 2 weken in de klimaatcel (15°C/8°C) en daarna in de kas, of de hele periode in de klimaatcel (2 weken 15°C/8°C, daarna 20°C/16°C). Populaties met verschillende letters verschillen significant van elkaar.

Er was geen significant verschil in gewicht van de aangetaste stengeldelen tussen planten die met verschillende populaties waren geïnoculeerd en onder verschillende omstandigheden waren opgekweekt (Figuur. 4.4, 4.5; Bijlage II), terwijl er wel verschillen waren in aantal stengelaaltjes per plant (Figuur.4.3). Het gewicht van de aangetaste stengeldelen is dus niet bruikbaar als indicatie voor het aantal stengelaaltjes dat in een aangetaste plant kan worden gevonden.



Figuur 4.4. Aangetaste deel van de stengel bij inoculatie met drie populaties stengelaaltjes (van links naar rechts controle zonder aaltjes, populatie ui, narcis en tulp) 8 weken na inoculatie met 141-145 stengelaaltjes in één bladoksel van veldboon ($n=5$). De planten werden in de kas opgekweekt ($20^{\circ}\text{C}/16^{\circ}\text{C}$). Symptomen van de infectie zijn de bruine stengeldelen rondom de plek van inoculatie.



Figuur 4.5. Versgewicht (g) van het aangetaste deel van de stengel bij inoculatie met drie populaties stengelaaltjes (narcis, tulp en ui; gemiddelde $\pm$ standaardfout) 8 weken na inoculatie met 141-145 stengelaaltjes in één bladoksel van veldboon ($n=5$). De planten werden onder drie condities opgekweekt: in de kas ($20^{\circ}\text{C}/16^{\circ}\text{C}$), eerst 2 weken in de klimaatcel ($15^{\circ}\text{C}/8^{\circ}\text{C}$) en daarna in de kas, of de hele periode in de klimaatcel (2 weken $15^{\circ}\text{C}/8^{\circ}\text{C}$, daarna $20^{\circ}\text{C}/16^{\circ}\text{C}$).

4.3 Discussie en interpretatie

De vermeerdering van stengelaaltjes op veldboon via bladokselinoculatie was hoger onder kasomstandigheden (20°C/16°C) dan in een klimaatcel met lagere temperatuur (15°C/8°C) gedurende de eerste weken. Mogelijk is temperatuur minder van invloed bij deze manier van infectie dan wanneer de aaltjes de nematoden via de grond moeten infecteren, zoals in de methode van Storelli *et al.* (2021). Er wordt wel genoemd dat de tragere kieming en groei van de plant bij lagere temperatuur de aaltjes uit de grond meer gelegenheid geeft om de plant te infecteren.

Het aantal stengelaaltjes nam toe in de tijd, maar de toename vlakke af bij 8 weken. Een hogere vermeerdering zal dus maar gedeeltelijk kunnen worden bereikt door de planten langer te laten groeien. Inoculatie in meerdere bladoksels (van grotere planten) zou de efficiëntie van inoculumproductie mogelijk kunnen vergroten.

Er waren grote verschillen in vermeerdering op veldboon tussen de populaties van verschillende herkomst. De populatie van ui vermeerderde sterk, die van narcis matig en die van tulp nauwelijks. Deze methode van vermeerderen op veldboon is dus niet voor alle populaties geschikt. Het is bekend dat ook de vermeerdering van verschillende populaties afkomstig van dezelfde waardplantsoort kan variëren (Vreeburg *et al.* 2014). Bovendien was ook de variatie tussen de herhalingen (planten met dezelfde behandeling) groot, wat betekent dat er geen stabiele en betrouwbare vermeerdering optreedt. Er zal moeten worden gezocht naar alternatieve waardplanten of andere vermeerderingsmethodes, zoals peenschijfjes (Kühnhold *et al.* 2006). Deze methode wordt getoetst in het aanpalende project LWV20.26 'Moleculaire karakterisering waardplantenstatus van stengelaaltjesrassen' bij het Laboratorium voor Nematologie in Wageningen. Nadeel van de laatste methode is dat deze onder steriele omstandigheden uitgevoerd moet worden en soms onderhevig is aan schimmelgroei door inwendige infectie van de peen (Vreeburg *et al.* 2014). Deze steriele omstandigheden zijn lastig te bereiken in een laboratorium waarin met grond wordt gewerkt.

5 Ontwikkelen waardplanttoets: inoculatie

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 de vermeerdering van verschillende populaties stengelaaltjes op een reeks plantensoorten worden bepaald, waarmee de waardplantstatus van deze plantensoorten voor de getoetste populaties wordt vastgesteld. Het doel is om vast te stellen of er een verband is tussen verschillen op moleculair niveau en in waardplantreeks. In de toekomst is deze waardplanttoets ook nodig om de waardplantstatus van andere belangrijke cultuurgewassen te bepalen. Een voorwaarde hiervoor is, dat het mogelijk wordt om het stengelaaltjesras betrouwbaar vast te stellen.

Voor het uitvoeren van een waardplanttoets 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. Er zijn verschillende methoden om stengelaaltjes te inoculeren. Sommige auteurs gaan uit van inoculatie van de stengel (Whitehead *et al.* 1987; Vreeburg *et al.* 2014; Yavuzaslanoğlu 2020), andere van inoculatie via de grond (Elgin *et al.* 1975; Vreeburg *et al.* 2014; Storelli *et al.* 2021). Bij inoculatie van de stengel wordt geen rekening gehouden met de natuurlijke wijze van infectie, die via een besmetting in de grond verloopt. In Elgin *et al.* (1975) is een methode beschreven waarbij de stengelaaltjes tijdens het planten op een gekiemd luzernezaad worden gepipetteerd. Ze concludeerden dat infectie bij luzerne het beste verliep wanneer de zaden een kiem van 0,6-1,3 cm lengte hadden, ca. 50 aaltjes direct op het zaad werd gepipetteerd, leemhoudende zandgrond werd gebruikt en de planten de eerste dagen na inoculeren geen water werd gegeven. Voordeel van deze methode boven die van Storelli *et al.* (2021), waarbij de stengelaaltjes een aantal dagen na zaaien worden geïnoculeerd, is dat met zekerheid kan worden vastgesteld dat de zaden zijn gekiemd. In dit hoofdstuk zijn experimenten beschreven om de methode van Elgin *et al.* (1975) toe te passen op peen, ui en veldboon.

5.1 Materiaal en methoden

Eerst zijn toetsen uitgevoerd om de kiemduur van de zaden en het vochtgehalte van de grond te bepalen. Daarna is een toets uitgevoerd waarin verschillende dichtheden stengelaaltjes aan de grond werden toegediend, deels bij zaden met verschillende kiemlengte.

Kiemtoets

Om de kiemduur van peen (Nerac), ui (Hylander) en veldboon (Banquis) te bepalen om zaad met een bepaalde kiemlengte te verkrijgen, werden 30 zaden van elke soort te kiemen gelegd in afgesloten bakken op een vochtig filter. Zaad van veldboon werd eerst gedurende een nacht te weken gelegd in kraanwater. De bakken met zaad werden in de kas in een donkere bak gezet (20°C/ 16°C). Gedurende zeven dagen werden het aantal gekiemde zaden en de lengte van de kiem bepaald.

Vochtgehalte grond

Veel landbouwgewassen groeien het beste in grond met een niet te hoog vochtgehalte. Stengelaaltjes zijn juist beweeglijker in grond met een vochtgehalte net boven veldcapaciteit (Seinhorst, 1950). Daarom is het belangrijk om een vochtgehalte vast te stellen waarbij de planten nog kunnen groeien, maar de kans dat stengelaaltjes de kiemplanten binnendringen zo groot mogelijk is. Hiertoe werd de groei van net gekiemde zaden in grond met verschillende vochtgehalten gevolgd.

Plastic bakjes werden gevuld met een equivalent van 500 g droge kunstgrond (Bijlage III). Er werd zoveel kraanwater aan de grond toegevoegd (minus de hoeveelheid die met planten werd gepipetteerd), dat drie vochtgehalten werden verkregen: 15, 16,5 en 18% (w/w). Met de achterkant van een potlood werden voor

peen (Nerac) en ui (Hylander) gaten van ca. 0,5 cm diep gemaakt, voor veldboon (Banquis) gaten van 1,5 cm diepte. In de gaten werden zaden met een kiemlengte van 0,5 cm gelegd, waarna 1 ml water op elk zaad werd gepipetteerd. Van ui en peen werden (vanwege gebrek aan gekiemde zaden) verdeeld over twee bakjes 14-15 gekiemde zaden geplant, van veldboon 20 zaden per vochtgehalte. De gaten werden voorzichtig dichtgemaakt met grond. De bakjes werden afgedekt met een doorzichtig deksel en in de kas gezet (20°C/ 16°C, 16 uur licht/8 uur donker), waarbij de assimilatieverlichting uit werd gezet. De kieming van de planten werd na 3 en 4 dagen bepaald.

Inoculatiemethode (peen en ui)

Bij de kiemplanten van peen en ui die over waren van de toets met verschillende vochtgehalten van de grond, werden drie inoculatiemethoden getoetst. Ca. 12-13 stengelaaltjes (populatie uit narcis N1) werden in een druppel water van 6,25 µL gepipetteerd bij planten van twee weken oud. De aaltjes werden bij elke plant gepipetteerd 1) op de grond bij de stengelbasis, 2) tussen de bladeren, waarbij de stengel/blad licht werd beschadigd of 3) tussen de bladeren zonder de plant te beschadigen. Er wordt gedacht dat beschadigen het binnendringen van de stengelaaltjes vergemakkelijkt. De inoculatie werd tegelijk met de dichtheidstoets uitgevoerd en ook na acht weken geoogst. Het loof van de ui werd in stukjes van 0,5 cm geknipt en van peen de onderste 3 cm loof en de bovenste 2 cm van de peen. De geknipte plantendelen werden vier dagen in de mistkast gezet, waarna de suspensies werden afgetapt en de stengelaaltjes geteld. Deze methoden werden in één herhaling uitgevoerd en zijn dus slechts een indicatie.

Kiemlengte en inoculatie-dichtheid

Zowel het kiemstadium van de plant als de dichtheid van het inoculum kan invloed hebben op de besmetting van de plant en de vermeerdering van stengelaaltjes. Er werd gezocht naar een combinatie die tot een hoge mate van zekerheid van infectie van de plant leidde, waarbij de planten in leven moesten blijven om de vermeerdering van de aaltjes te kunnen bepalen. De proef werd zowel bij HLB als bij WUR | OT uitgevoerd, waarbij beide laboratoria verschillende dichtheden aaltjes inoculeerden bij kiemplanten van peen, ui en veldboon met 0,5 cm kiemlengte. HLB voerde daarnaast een toets uit met veldboon van verschillende kiemlengte en WUR | OT met peen.

Kiemplanten. Zaad van peen (Nerac), ui (Hylander) en veldboon (Banquis) werd voorgekiemd op vochtig filterpapier in afgesloten bakken in het donker in de kas (20°C/ 16°C) om net gekiemd zaad en zaad met kiemlengtes van 0,5 en 1,5 cm te verkrijgen (Tabel 5.2). Als controle werd drie weken voor inoculatie veldboon gezaaid in potten met kunstgrond (Bijlage III).

Inoculum. Gedroogde narcisbollen met een zware stengelaaltjesbesmetting (populatie N1) werden in stukjes van 0,5-1 cm gesneden en gedurende drie dagen in de mistkast geëxtraheerd. De suspensie met aaltjes werd afgetapt en op een dubbel filter (Tork Heavy duty cleaning cloth 530137) gegoten om de suspensie te schonen. Na een dag werd de suspensie met aaltjes afgetapt, geteld en suspensies met vier (HLB) of vijf (WUR | OT) dichtheden gemaakt: 5 (alleen WUR | OT), 10, 50 en 100 aaltjes/ml en 100 aaltjes/50 µl.

Planten en inoculeren. Potten van 2 L werden gevuld met een equivalent van 2000 g droge kunstgrond (Bijlage III) en met kraanwater aangevuld tot een vochtgehalte van 16,5% (w/w). Voor het planten van peen en ui werden in elke pot met de achterkant van een potlood twee gaten van 0,5 cm diep gemaakt. Voor veldboon werd in elke pot een gat van 2 cm diep gemaakt. In het gat werd het gekiemde zaad met de kiem omhoog gelegd. Op elke kiemplant werd 1 ml van een suspensie met 0, 5, 10, 50 of 100 stengelaaltjes gepipetteerd. De kiemplant werd voorzichtig bedekt met grond om het plantgat dicht te maken. Als positieve controle werd de drie weken oude veldboon in een bladoksel geïnoculeerd met 50 µl suspensie met 100 stengelaaltjes, waarbij de stengel licht werd aangeprikt met de pipetpunt. De potten werden bedekt met plastic en de 3-weken oude veldboon met een plastic zak om de RV hoog te houden. De eerste twee dagen na inoculeren werd de planten geen water gegeven. Daarna werd de grond de eerste week op

een vochtgehalte van 16,5% gehouden, waarna het vochtgehalte werd verlaagd tot 15%. De potten werden één keer per week gewogen en aangevuld met kraanwater tot het gewenste gewicht. Daarnaast werd water gegeven naar behoefte, waarbij het streven was om het vochtgehalte tussen 12-15% te houden, maar in ieder geval niet beneden 10%. De potten werden per herhaling geward in de kas gezet bij 20°C/ 16°C (16 uur licht/8 uur donker). De assimilatieverlichting werd vijf dagen na inoculeren aan gezet. De proef werd op 10 dec 2021 ingezet en op 7 februari 2022 geoogst.

Bij de oogst werden de bovengrondse plantendelen van ui en veldboon afgeknipt. Het loof van de ui werd gewogen en in stukjes van 0,5 cm geknipt en in bakjes in de mistkast gezet. De stengel en het blad van de veldboon werd gewogen. Daarna werd het blad afgeknipt tot 0,5 cm van de stengel. De stengel werd in stukjes van 0,5 cm geknipt en in bakjes in de mistkast gezet. Van peen werd de onderste 3 cm van het loof en de bovenste 2 cm van de peen in stukjes van 0,5 cm geknipt en in de mistkast gezet. Na vier dagen werden de monsters afgetapt en het aantal stengelaaltjes bepaald. Uit extractie van een aantal extra planten een week tevoren bleek dat een extractieduur van vier dagen voldoende was om de meeste stengelaaltjes te extraheren (Bijlage VII).

5.2 Resultaten

Kiemtoets

Peen kiemde na 2 dagen en had een kiemperscentage van 80% na 4 dagen (Tabel 5.1, Bijlage IV). Ui kiemde trager: de eerste zaden kiemden na 3 dagen en na 4 dagen was het kiemperscentage ongeveer 85%. Veldboon kiemde al na 1 dag en had een hoog kiemperscentage: 95% na 3 dagen. In tabel 5.2 is de kiemduur van de verschillende soorten weergegeven die gekozen is voor de toets naar kiemlengte en inoculatiedichtheid.

Tabel 5.1. Totaal percentage gekiemde zaden en percentage met verschillende kiemlengte gemeten na 1-7 dagen op vochtig filter (totaal 30 zaden per soort).

Soort [#]	Dag	Gekiemd	< 0,5 cm	0,5-1,0 cm	1,0-1,5 cm	> 1,5 cm
Peen	1	0	0	0	0	0
Peen	2	77	60	17	0	0
Peen	3	77	27	50	0	0
Peen	4	80	3	0	17	60
Peen	7	80	0	0	0	80
Ui	1	0	0	0	0	0
Ui	2	0	0	0	0	0
Ui	3	37	33	3	0	0
Ui	4	83	43	33	7	0
Ui	7	87	0	17	0	70
Veldboon	1	90	60	0	0	0
Veldboon	2	93	7	27	60	0
Veldboon	3	97	3	17	3	73
Veldboon	4	97	3	10	27	60
Veldboon	7	97	0	0	0	97

[#] Veldboon werd eerst een nacht in kraanwater geweekt.

Tabel 5.2. Kiemduur (dagen) van peen, ui en veldboon om zaden met verschillende kiemlengte te verkrijgen.

Soort [#]	Net gekiemd	0,5 cm	1,5 cm
Peen	1	2	3
Ui	2	3	4
Veldboon	0	1	2

[#] Veldboon werd eerst een nacht in kraanwater geweekt.

Vochtgehalte grond

Het vochtgehalte van de grond had weinig invloed op de opkomst van peen (Tabel 5.3; Bijlage V). De opkomst van ui was het hoogste in grond met een vochtgehalte van 15% en daalde bij verhogen van het vochtgehalte. De opkomst van veldboon was vergelijkbaar in grond met een vochtgehalte van 15 en 16,5%, maar bij 18% vocht kwam geen van de zaden op.

Tabel 5.3. Opkomstpercentage van voorgekiemd zaad (kiemlengte 0,5 cm) van peen, ui en veldboon in kunstgrond met drie vochtgehaltenes (w/w).

Soort	Vochtgehalte (%)	Opkomst dag 3	Opkomst dag 4
Peen	15,0	47	80
Peen	16,5	36	86
Peen	18,0	43	86
Ui	15,0	71	100
Ui	16,5	29	71
Ui	18,0	36	71
Veldboon	15,0	0	60
Veldboon	16,5	0	70
Veldboon	18,0	0	0

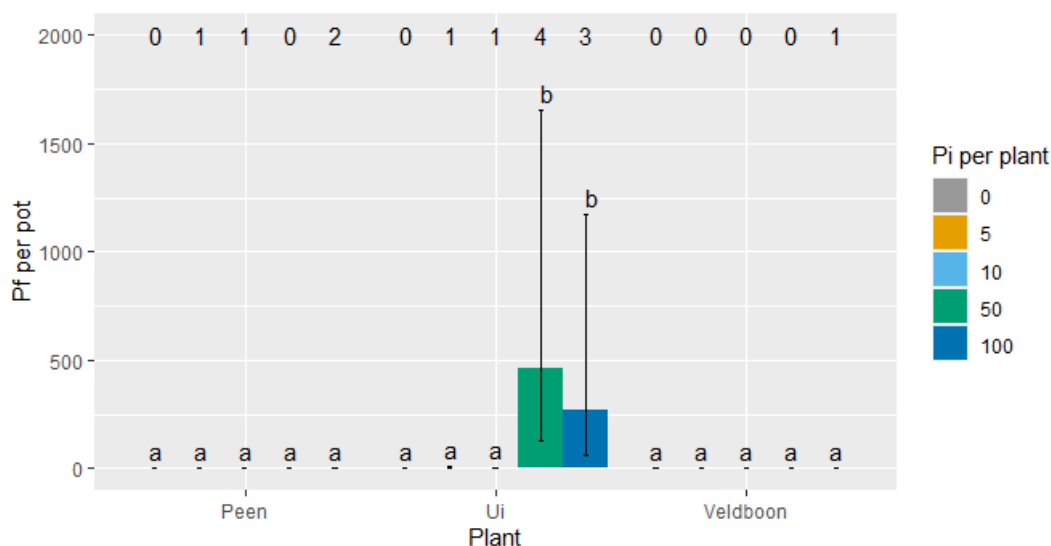
Inoculatiemethode (peen en ui)

Acht weken na inoculatie van populatie N1 werd in geen van de geïnoculeerde peen stengelaaltjes gevonden. Bij ui was er groot verschil tussen de inoculatiemethoden: bij inoculatie bij de stengelbasis was de vermeerdering 0,7 ×, bij inoculatie tussen de bladeren met beschadigen 8,7 × en bij inoculatie tussen de bladeren zonder beschadigen 32,9 ×. Het effect van bladbeschadiging was tegengesteld aan de verwachting.

Kiemlengte en inoculatie-dichtheid

De proef bij HLB leverde geen infectie op van de planten. In de proef bij WUR | OT resulteerde de gebruikte methode van inoculatie van stengelaaltjes op kiemplanten in de grond alleen bij ui in een geslaagde infectie (Figuur 5.1, Bijlage VIII). De slagingskans van de infectie was afhankelijk van de inoculatie-dichtheid: bij inoculatie van 5-10 stengelaaltjes per plant werden bij de oogst slechts in één van de vier herhalingen stengelaaltjes teruggevonden. Bij inoculatie van 50 aaltjes per plant werden bij de oogst in alle potten stengelaaltjes teruggevonden, met een gemiddelde vermeerdering van 5,7 ×. Bij inoculatie van 100 aaltjes per plant overleefden niet alle planten en ging daardoor een herhaling verloren. De vermeerdering in de potten met overlevende planten was gemiddeld 2,7 ×. Het was opvallend dat ook bij de hoogste inoculatie-dichtheid niet alle planten werden geïnfecteerd: in één pot bleek de ene plant zwaar besmet, terwijl de andere plant geen stengelaaltjes bleek te bevatten (Bijlage VIII, potnummer 65). In peen en veldboon werden slechts in enkele planten 1-2 stengelaaltjes aangetroffen (Figuur 5.1, Bijlage VIII). In de

controle met bladokselinoculatie van veldboon was de einddichtheid 574 stengelaaltjes per plant (terug getransformeerd gemiddelde), een vermeerdering van $5,7 \times$.



Figuur 5.1. Einddichtheid (Pf; terug getransformeerd gemiddelde $\pm$ betrouwbaarheidsinterval) stengelaaltjes per pot 8 weken na inoculatie van een dichtheidsreeks (Pi) van 0, 5, 10, 50 en 100 stengelaaltjes per plant. Boven in de grafiek is het aantal potten (van 4) weergegeven waarin stengelaaltjes werden aangetroffen. Verschillende letters geven significante verschillen in Pf weer. Per pot werden twee kiemplanten van peen en ui of één kiemplant van veldboon geplant.

5.3 Discussie en interpretatie

De gebruikte opzet van inoculatie van stengelaaltjes in het plantgat van gekiemd zaad werkte wel voor ui, maar niet voor peen en veldboon. De inoculatiedichtheid was belangrijk: bij inoculeren van 5-10 stengelaaltjes per plant was de slagingskans van infectie laag, bij 50 aaltjes werden in alle potten planten geïnfecteerd, terwijl bij 100 aaltjes per plant een deel van de planten niet overleefde. Voor infectie van veldboon was de methode niet geschikt. Mogelijk is een hoger aantal aaltjes per zaad nodig of een ander kiemstadium van het zaad. Aangezien populatie N1 wel vermeerderde bij inoculatie in de bladoksel van veldboon (de positieve controle), zou infectie van veldboon wel mogelijk moeten zijn. Het is niet duidelijk of populatie N1 niet kan vermeerderen op peen of dat de gebruikte methoden niet werkten. Inoculatie in de grond op gekiemd zaad (van verschillende kiemstadia), op de grond aan de stengelbasis of tussen het blad (met en zonder beschadigen) van kiemplanten resulteerden geen van alle in infectie. Voor zover bekend, is er geen informatie over de waardplantstatus van peen voor stengelaaltjes uit narcis in de literatuur te vinden.

Inoculatie van een klein aantal aaltjes tussen het loof van twee weken oude kiemplanten van ui resulteerde in een hogere vermeerdering dan inoculatie in het plantgat van gekiemd zaad. Voor het doel van vermeerderen is inoculatie tussen het loof (zonder beschadigen) dus geschikter. Bij een langere groeiduur is wellicht een nog hogere vermeerdering mogelijk. Deze proef geeft geen uitsluit over een geschikte methode voor het toetsen van waardplantstatus van verschillende gewassen. In een volgende proef zal een grote reeks dichtheden stengelaaltjes in grond worden geïnoculeerd. Deze methode sluit dichterbij de situatie in het veld en gangbare ideeën over waardplanttoetsen van andere plantparasitaire aaltjes, zoals *Globodera* spp. en *Meloidogyne* spp. In eerste instantie hebben we daar niet voor gekozen, omdat stengelaaltjes de plant niet via de wortel, maar aan de stengelbasis infecteren. Het is daarmee niet duidelijk of stengelaaltjes die dieper in de grond worden aangebracht de plant zullen infecteren. Uit eerder

onderzoek is wel bekend dat stengelaaltjes die op enige afstand van de plant worden geïnoculeerd voor latere infectie zorgen (Storelli *et al.* 2021). Het is afhankelijk van de grondsoort welk deel van de stengelaaltjes de afstand daadwerkelijk overbruggt en de plant infecteert (Seinhorst 1950). Dit hangt samen met de activiteit van stengelaaltjes, die hoger is in klei dan in zandgrond (Seinhorst 1950).

6 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.

Verzamelen van stengelaaltjes populaties

Voor het verzamelen van populaties is in 2021 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. Uireka, BO Akkerbouw en het IRS hebben in hun nieuwsbrieven aandacht gevraagd voor het onderwerp. Dit is zowel in het groeiseizoen gebeurd als bij de oogst. Tegen en in het groeiseizoen 2022 zal opnieuw aandacht worden gevraagd voor het melden van stengelaaltjesschade in verschillende gewassen. Erfbetreders van o.a. Agrifirm en de Groene Vlieg wordt weer gevraagd om uit te zien naar besmettingen.

Optimaliseren extractie stengelaaltjes uit grondmonsters

Het is niet gelukt om een methode ontwikkelen om stengelaaltjes in 'rusttoestand' te brengen zonder dat ze in water meteen weer actief worden. Bij extractie van besmette grond met de zonale centrifuge werden ook dode stengelaaltjes aangetroffen. Dit biedt perspectief dat met de zonale centrifuge mogelijk ook inactieve stengelaaltjes kunnen worden geëxtraheerd. Er zal een vervolgoets worden gedaan met stengelaaltjes uit gedroogd materiaal, waarvan een deel na langere bewaarduur wel pas na langere tijd in water weer actief wordt.

Ontwikkeling van de waardplanttoets

Voor het vermeerderen van stengelaaltjes is nog geen methode gevonden die alle populaties goed vermeerdert. De gebruikte methoden van inoculatie in een bladoksel van veldboon gaf een goede vermeerdering van een populatie uit ui, een minder goede vermeerdering van een populatie uit narcis en een slechte vermeerdering van een populatie uit tulp. Mogelijk is vermeerdering op ui een alternatief voor een deel van de populaties.

Bij inoculeren van stengelaaltjes in de bladoksel van veldboon was de vermeerdering hoger wanneer de planten in de kas bij 20°C/16°C werden opgekweekt dan bij 15°C/8°C in een klimaatcel. Daarom werd er voor gekozen om verdere toetsen onder kasomstandigheden uit te voeren. Het is niet bekend of dit ook de beste omstandigheden zijn voor inoculatie en infectie via de grond.

De gebruikte methode om waardplantstatus te toetsen door het direct inoculeren van stengelaaltjes in het plantgat van kiemplanten van peen, ui en veldboon leidde alleen tot een geslaagde infectie van ui. Het was bekend dat de gebruikte populatie uit narcis (N1) wel kon vermeerderen op veldboon bij inoculatie via de bladoksel, maar niet of infectie van peen mogelijk was. Dit is een probleem bij het ontwikkelen van een waardplanttoets. Om de waardplantstatus van verschillende plantensoorten te vergelijken, is het wenselijk dat de gebruikte methode voor alle plantensoorten gelijk is. In een opvolgende toets zal een reeks dichtheden aan de grond toegediend worden, wat aansluit bij gangbare toetsen met andere plantparasitaire aaltjessoorten. In eerste instantie hebben we daar niet voor gekozen, omdat stengelaaltjes de plant niet via de wortel, maar aan de stengelbasis infecteren.

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>
- Dodde, H. (2021a). BO Akkerbouw zoekt percelen met stengelaaltjes, *Nieuwe Oogst*, 14 juni.
<https://www.nieuweoogst.nl/nieuws/2021/06/14/bo-akkerbouw-zoekt-percelen-met-stengelaaltjes>
- Dodde, H. (2021b). Stengelaaltjes gezocht voor onderzoek. *Nieuwe Oogst*, 4 november.
<https://www.nieuweoogst.nl/nieuws/2021/11/04/stengelaaltjes-gezocht-voor-onderzoek>
- Elgin, J.H., Evans, D.W., Faulkner, L.R., 1975. Factors affecting the infection of alfalfa seedlings by *Ditylenchus dipsaci*. *Journal of Nematology*, 7, 380-383.
- Gerbrandy, A. (2021). *Serie onderzoek: Probleem stengelaaltje vraagt om duurzame oplossing*.
<https://www.akkervijzer.nl/artikel/421887-serie-onderzoek-probleem-stengelaaltje-vraagt-om-duurzame-oplossing/>
- Kühnhold, V., Kiewnick, S., Sikora, R.A., 2006. Development of an *in vivo* bioassay to identify sugarbeet resistance to the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*. *Nematology* 8, 641-645.
- Perry, R.N., 1977. The effect of previous desiccation on the ability of 4th-stage larvae of *Ditylenchus dipsaci* to control rate of water loss and to survive drying. *Parasitology*, 75, 215-231.
- Seinhorst J.W. (1950). De betekenis van de toestand van de grond voor het optreden van aantasting door het stengelaaltje (*Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev). *Tijdschrift over Plantenziekten* 60: 292-349.
- 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. & Molendijk, L. (2022). *Effect van bodemgesteldheid op de activiteit en de infectieusiteit van stengelaaltjes (Ditylenchus dipsaci)*. Rapport Uireka 2021-08.
- Tönjes, J. (2021). Stengelaaltje: hardnakkig en mysterieus. *Nieuwe Oogst*, 3 maart.
<https://www.nieuweoogst.nl/nieuws/2021/03/03/stengelaaltje-hardnakkig-en-mysterieus>
- Vreeburg, P., Dees, R., van Doorn, J. & de Boer, A., 2014. *Ecologie stengelaaltjes*. PPO Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit.
- Webster, J.M., 1964. Population increase of *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) in the narcissus and the spread of the nematode through the soil. *Annals of Applied Biology*, 53 (3), 485-492.
- Wharton, D.A. & Aalders, O., 1999. Desiccation stress and recovery in the anhydrobiotic nematode *Ditylenchus dipsaci* (Nematoda: Anguinidae). *European Journal of Entomology*, 96 (2), 199-203.
- Wharton, D.A., Barrett, J. & Perry, R.N., 1985. Water uptake and morphological changes during recovery from anabiosis in the plant-parasitic nematode, *Ditylenchus dipsaci*. *Journal of Zoology*, 206 (3), 391-402.
- Wharton, D.A., Lemmon, J., 1998. Ultrastructural changes during desiccation of the anhydrobiotic nematode *Ditylenchus dipsaci*. *Tissue Cell* 30, 312-323.
- Whitehead, A.G., Fraser, J.E. & Nichols, A.J.F., 1987. Variation in the development of stem nematodes, *Ditylenchus dipsaci*, in susceptible and resistant crop plants. *Annals of Applied Biology*, 111 (2), 373-383.
- Yavuzaslanoglu, E., 2020. Tolerance and resistance of onion (*Allium cepa*) to stem and bulb nematode (*Ditylenchus dipsaci*). *Acta Horticulturae*, 1282, 43-48. doi:10.17660/ActaHortic.2020.1282.8

Bijlage I. 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 II. Gegevens waardplanttoets klimaat

Tabel 1. Resultaten van een experiment met drie populaties stengelaaltjes (narcis, ui en tulp) geïnoculeerd in de bladoksel van veldboon en opgekweekt onder drie klimatologische omstandigheden: in de kas (K; 20°C/16°C), eerst 2 weken in de klimaatcel (15°C/8°C) en daarna in de kas (CK), of de hele periode in de klimaatcel (C; 2 weken 15°C/8°C, daarna 20°C/16°C). De planten werden na 4, 6 en 8 weken geoogst. Vergewicht (g) van het aangetaste deel van de stengel, volume van de suspensie met stengelaaltjes, volume van de getelde suspensie en het aantal getelde stengelaaltjes (n=5).

Nr	Pop.	Klim.	Tijd	Herh	Gewicht (g)	Vol. susp. (ml)	Telvol. (ml)	Aantal
3	Narcis	CK	4	3	1.25	10	10	29
34	Narcis	CK	4	5	2.55	10	10	3
37	Narcis	CK	4	4	3.67	10	10	271
43	Narcis	CK	4	2	2.46	10	10	20
75	Narcis	CK	4	1	2.43	10	10	114
1	Narcis	K	4	4	3.00	10	10	393
6	Narcis	K	4	1	2.58	10	10	194
26	Narcis	K	4	3	2.19	10	10	51
57	Narcis	K	4	4	2.09	10	10	291
73	Narcis	K	4	1	2.14	10	10	31
19	Narcis	C	4	5	1.66	10	10	62
35	Narcis	C	4	1	2.74	10	10	114
45	Narcis	C	4	2	1.50	10	10	47
51	Narcis	C	4	5	1.73	10	10	105
52	Narcis	C	4	3	2.36	10	10	194
5	Narcis	CK	6	3	3.84	10	10	350
17	Narcis	CK	6	4	8.93	10	10	408
40	Narcis	CK	6	1	6.50	10	10	950
47	Narcis	CK	6	2	6.77	10	10	69
62	Narcis	CK	6	5	5.14	10	10	356
39	Narcis	K	6	4	7.04	10	10	1763
49	Narcis	K	6	1	7.93	10	10	428
53	Narcis	K	6	3	6.37	10	10	1042
54	Narcis	K	6	5	5.96	10	10	779
56	Narcis	K	6	2	5.59	10	10	2674
2	Narcis	C	6	3	1.11	10	10	0
16	Narcis	C	6	2	1.09	10	10	27
31	Narcis	C	6	5	3.13	10	10	106
63	Narcis	C	6	1	2.86	10	10	93
74	Narcis	C	6	4	5.12	10	10	138
12	Narcis	CK	8	4	6.74	100	1	16
14	Narcis	CK	8	2	10.13	100	1	11
32	Narcis	CK	8	5	5.79	100	1	1
59	Narcis	CK	8	3	5.15	100	1	1

Nr	Pop.	Klim.	Tijd	Herh	Gewicht (g)	Vol. susp. (ml)	Telvol. (ml)	Aantal
72	Narcis	CK	8	1	11.49	100	1	12
4	Narcis	K	8	4	27.09	100	1	23
21	Narcis	K	8	2	7.04	100	1	22
42	Narcis	K	8	5	8.21	100	1	37
65	Narcis	K	8	1	6.45	100	1	2
71	Narcis	K	8	3	6.79	100	1	13
11	Narcis	C	8	5	7.44	100	1	5
15	Narcis	C	8	4	7.35	100	1	3
22	Narcis	C	8	2	10.13	100	1	2
24	Narcis	C	8	1	9.06	100	1	2
36	Narcis	C	8	3	6.92	100	1	3
9	Tulp	CK	8	5	5.11	100	1	3
48	Tulp	CK	8	2	10.34	100	1	1
60	Tulp	CK	8	4	8.98	100	1	0
67	Tulp	CK	8	1	4.61	100	1	4
68	Tulp	CK	8	3	7.70	100	1	1
10	Tulp	K	8	1	6.36	100	1	0
23	Tulp	K	8	2	7.34	100	1	0
38	Tulp	K	8	5	11.10	100	1	3
44	Tulp	K	8	3	7.27	100	1	0
50	Tulp	K	8	4	16.84	100	1	5
7	Tulp	C	8	4	7.65	100	1	0
28	Tulp	C	8	3	7.56	100	1	4
30	Tulp	C	8	5	4.99	100	1	5
58	Tulp	C	8	1	8.84	100	1	4
64	Tulp	C	8	2	5.04	100	1	7
13	Ui	CK	8	2	8.36	100	1	235
18	Ui	CK	8	4	11.28	100	1	151
25	Ui	CK	8	1	4.74	100	1	129
41	Ui	CK	8	3	9.26	100	1	248
46	Ui	CK	8	5	10.72	100	1	224
33	Ui	K	7	5	4.00	100	1	102
61	Ui	K	8	3	7.75	100	1	196
66	Ui	K	8	2	8.31	100	1	150
69	Ui	K	8	1	10.07	100	1	136
70	Ui	K	7	4	5.16	100	1	255
8	Ui	C	8	4	6.76	100	1	889
20	Ui	C	8	2	4.33	100	1	31
27	Ui	C	8	1	7.80	100	1	103
29	Ui	C	8	5	9.45	100	1	48
55	Ui	C	8	3	8.44	100	1	39
101	geen	C	8	1	3.20	100	1	0
102	geen	C	8	2	1.28	100	1	0
103	geen	C	8	3	3.83	100	1	0

Nr	Pop.	Klim.	Tijd	Herh	Gewicht (g)	Vol. susp. (ml)	Telvol. (ml)	Aantal
104	geen	C	8	4	5.13	100	1	0
105	geen	C	8	5	2.27	100	1	0
106	geen	K	8	1	3.40	100	1	0
107	geen	K	8	2	3.26	100	1	0
108	geen	K	8	3	3.47	100	1	0
109	geen	K	8	4	4.82	100	1	0
110	geen	K	8	5	3.68	100	1	0

Bijlage III. Samenstelling kunstgrond

Tabel 1. Samenstelling kunstgrond (1020 kg).

Product	Hoeveelheid
Kwartzand	725 kg
Hydrokorrels (fijngemaakt)	175 kg
Kleipoeder (kaolien)	120 kg
Steiner nutriënten	A 31,6 ml
	B 41,8 ml
	C 37,9 ml
	D 87,1 ml
	i.p.v. E en F: Libremix B 38,76 g
Osmocote NPK-korrels (14:13:14)	1.02 kg

Tabel 2. Samenstelling Steiner nutriëntenoplossing.

	Stof	Concentratie	
A	MgSO ₄ ·7H ₂ O	246 g/l	2N
B	KH ₂ PO ₄	136 g/l	1N
C	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	590 g/l	5N
D	KNO ₃	101 g/l	1N
E	MnSO ₄ ·4H ₂ O	85 g	In 1 l water
	H ₃ BO ₃	30 g	
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	4.6 g	
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.8 g	
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	1.3 g	Eerst oplossen in water, anders ontstaat er neerslag
F	IJzer: 0.1 %-oplossing	(1 g/l)	Fe (DTPA) pH 7 (= ijzer cheleerder). Koel bewaren, Firma Brinkman b.v., Postbus 95, 's-Gravensande).

Bijlage IV. Gegevens kiemproof

Tabel 1. Kieming en kiemlengte van zaad van drie gewassen gedurende zeven dagen op vochtig filterpapier.

Gewas [†]	Nr.	Dag	Aantal gekiemd	Aantal zaden met lengte kiem (cm)			
				< 0.5	< 1.0	< 1.5	> 1.5
Ui	1	1	0	0	0	0	0
Peen	2	1	0	0	0	0	0
Veldboon	3	1	27 [#]	18	0	0	0
Veldboon	4	1		0	0	0	0
Ui	1	2	0	0	0	0	0
Peen	2	2	23	18	5	0	0
Veldboon	3	2	15	0	7	8	0
Veldboon	4	2	13	2	1	10	0
Ui	1	3	11	10	1	0	0
Peen	2	3	23	8	15	0	0
Veldboon	3	3	29 [#]	1	5	1	22
Veldboon	4	3		0	0	0	0
Ui	1	4	25	13	10	2	0
Peen	2	4	24	1	0	5	18
Veldboon	3	4	15	0	1	6	8
Veldboon	4	4	14	1	2	2	10
Ui	1	7	26	0	5	0	21
Peen	2	7	24	0	0	0	24
Veldboon	3	7	15	0	0	0	15
Veldboon	4	7	14	0	0	0	14

[†] Veldboon is eerst een nacht geweekt in kraanwater.

[#] Tellingen van veldboon in bak nummers 3 en 4 zijn samengevoegd.

Bijlage V. Gegevens proef vochtgehalte grond

Tabel 1. Opkomst van voorgekiemd zaad (geplant met kiemlengte 0,5 cm) van drie gewassen in kunstgrond met drie vochtgehaltes (w/w) na 3 en 4 dagen in de kas bij 20°C/ 16°C (16 uur licht/8 uur donker).

Gewas	Geplant aantal	Vocht%	Opkomst dag 3	Opkomst dag 4
Ui	14	15,0	10	14
Ui	14	16,5	4	10
Ui	14	18,0	5	10
Peen	15	15,0	7	12
Peen	14	16,5	5	12
Peen	14	18,0	6	12
Veldboon	10	15,0	0	6
Veldboon	10	16,5	0	7
Veldboon	10	18,0	0	0

Bijlage VI. Plantgegevens dichtheidproef

Tabel 1. Opkomst (op dag 5-11 na planten) en gewicht van de planten bij de oogst 8 weken na inoculatie van peen, ui en veldboon. De planten werden voorgekiemd tot een bepaalde kiemlengte en geïnoculeerd met een bepaald aantal stengelaaltjes per plant (Pi). Van peen en ui werden twee kiemplanten per pot geplant, van veldboon één.

Nr	Obj	H e r h	Plant	Kiemlengte (cm)	Pi (per plant)	Datum en aantal opgekomen planten						Plantgegevens bij oogst 7-2-2022		
						14-12	15-12	16-12	17-12	18-12	20-12	Gewicht (g)	# stengels	Extractiegewicht (g)
1	I	1	Peen	0,5	50	2	2	2	2	2	2	17.88		6.64
2	E	1	Ui	0,5	100	2	2	2	2	2	2	4.19		4.19
3	B	1	Ui	0,5	5	1	2	2	2	2	2	5.56		5.56
4	A	1	Ui	0,5	0	0	2	2	2	2	2	7.97		7.97
5	L	1	Veldboon	0,5	5	0	0	0	0	0	1	24.33	1	14.73
6	R	1	Peen	1,5	50	1	1	1	1	1	1	24.22		7.22
7	M	1	Veldboon	0,5	10	1	1	1	1	1	1	84.88	2	36.43
8	F	1	Peen	0,5	0	2	2	2	2	2	2	45.9		13.01
9	G	1	Peen	0,5	5	2	2	2	2	2	2	16.31		5.45
10	D	1	Ui	0,5	50	0	1	2	2	2	2	2.61		2.61
11	P	1	Veldboon	3 weken oud	100 (in bladoksel)		-	-	-	-	-	119.54	2	34.78
12	K	1	Veldboon	0,5	0	0	1	1	1	1	1	82.92	2	41.38
13	N	1	Veldboon	0,5	50	0	1	1	1	1	1	73.44	2	35.22
14	C	1	Ui	0,5	10	1	1	2	2	2	2	11.33		11.33
15	H	1	Peen	0,5	10	2	2	2	2	2	2	40.13		7.67
16	J	1	Peen	0,5	100	2	2	2	2	2	2	46.85		11.34
17	Q	1	Peen	Net gekiemd	50	1	2	2	2	2	2	12.89		4.29
18	O	1	Veldboon	0,5	100	1	1	1	1	1	1	53.01	2	25.84
19	C	2	Ui	0,5	10	2	2	2	2	2	2	5.77		5.77
20	A	2	Ui	0,5	0	0	0	2	2	2	2	5.41		5.41
21	Q	2	Peen	Net gekiemd	50	0	2	2	2	2	2	27.27		8.68
22	P	2	Veldboon	3 weken oud	100 (in bladoksel)		-	-	-	-	-	127.71	2	42.91
23	N	2	Veldboon	0,5	50	0	1	1	1	1	1	64.18	2	25.88
24	H	2	Peen	0,5	10	2	2	2	2	2	2	43.35		11.63
25	E	2	Ui	0,5	100	2	2	2	2	2	2	3.83		3.83
26	L	2	Veldboon	0,5	5	0	0	1	1	1	1	43.05	1	25.24
27	I	2	Peen	0,5	50	2	2	2	2	2	2	26.64		7.81
28	F	2	Peen	0,5	0	2	2	2	2	2	2	24.39		8.71
29	G	2	Peen	0,5	5	1	1	1	1	1	1	22.91		5.46
30	O	2	Veldboon	0,5	100	0	1	1	1	1	1	50.7		32.2
31	R	2	Peen	1,5	50	2	2	2	2	2	2	39.67		15.49
32	K	2	Veldboon	0,5	0	1	1	1	1	1	1	78.65	2	36.66

Nr	Obj	H e r h	Plant	Kiemplengte (cm)	Pi (per plant)	Datum en aantal opgekomen planten						Plantgegevens bij oogst 7-2-2022		
						14-12	15-12	16-12	17-12	18-12	20-12	Gewicht (g)	# stengels	Extractiegewicht (g)
33	J	2	Peen	0,5	100	2	2	2	2	2	2	20.71		5.07
34	B	2	Ui	0,5	5	2	2	2	2	2	2	6.88		6.88
35	D	2	Ui	0,5	50	1	1	1	2	2	2	6.11		6.11
36	M	2	Veld-boon	0,5	10	0	1	1	2	1	1	56.01	1	34.53
37	P	3	Veld-boon	3 weken oud	100 (in bladoksel)		-	-	-	-	-	117.41	2	43.7
38	J	3	Peen	0,5	100	2	2	2	2	2	2	25		9.05
39	K	3	Veld-boon	0,5	0	0	0	1	1	1	1	21.31	2	9.71
40	I	3	Peen	0,5	50	1	2	2	2	2	2	42.41		10.91
41	D	3	Ui	0,5	50	0	1	1	1	1	1	0.4		0.4
42	C	3	Ui	0,5	10	1	2	2	2	2	2	7.11		7.11
43	R	3	Peen	1,5	50	2	2	2	2	2	2	28.42		7.25
44	M	3	Veld-boon	0,5	10	1	1	1	1	1	1	66.75	2	34.03
45	F	3	Peen	0,5	0	0	1	2	2	2	2	37.98		8.49
46	O	3	Veld-boon	0,5	100	1	1	1	1	1	1	66.17	2	26.51
47	A	3	Ui	0,5	0	1	2	2	2	2	2	8.12		8.12
48	N	3	Veld-boon	0,5	50	0	1	1	1	1	1	65.46	2	27.36
49	L	3	Veld-boon	0,5	5	0	1	1	1	1	1	57.94	1	32.62
50	B	3	Ui	0,5	5	0	1	1	1	2	2	6.29		6.29
51	Q	3	Peen	Net gekiemd	50	0	1	2	2	2	2	27.64		8.22
52	H	3	Peen	0,5	10	2	2	2	2	2	2	31.99		8.93
53	E	3	Ui	0,5	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54	G	3	Peen	0,5	5	2	2	2	2	2	2	33.42		10.24
55	G	4	Peen	0,5	5	2	2	2	2	2	2	41.97		10.26
56	M	4	Veld-boon	0,5	10	0	1	1	1	1	1	17.14	1	9.78
57	O	4	Veld-boon	0,5	100	0	1	1	1	1	1	46.95	1	26.55
58	H	4	Peen	0,5	10	1	1	1	2	2	2	18.15		4.92
59	B	4	Ui	0,5	5	0	0	1	1	2	2	3.21		3.21
60	K	4	Veld-boon	0,5	0	1	1	1	1	1	1	63.67	2	26.16
61	L	4	Veld-boon	0,5	5	0	1	1	1	1	1	63.75	2	27.48
62	C	4	Ui	0,5	10	1	1	2	2	2	2	11.5		11.5
63	A	4	Ui	0,5	0	0	2	2	2	2	2	12.9		12.9
64	N	4	Veld-boon	0,5	50	1	1	1	1	1	1	87.77	2	34.05
65	E	4	Ui dode plant		100							0.15		0.15
65	E	4	Ui levend	0,5	100	0	2	2	2	2	2	3.31		3.31
66	D	4	Ui	0,5	50	0	0	2	2	2	2	3.32		3.32
67	I	4	Peen	0,5	50	2	2	2	2	2	2	27.69		8.73
68	Q	4	Peen	Net gekiemd	50	0	2	2	2	2	2	31.12		8.31

Nr	Obj	H e r h	Plant	Kiemplengt e (cm)	Pi (per plant)	Datum en aantal opgekomen planten						Plantgegevens bij oogst 7-2-2022		
						14- 12	15- 12	16- 12	17- 12	18- 12	20- 12	Gewic ht (g)	# stengels	Extractie- gewicht (g)
69	F	4	Peen	0,5	0	1	1	2	2	2	2	32.69		9.3
70	J	4	Peen	0,5	100	2	2	2	2	2	2	44.7		9.46
71	P	4	Veld- boon	3 weken oud	100 (in bladoksel)	-	-	-	-	-	-	131.39	3	35.44
72	R	4	Peen	1,5	50	2	2	2	2	2	2	51.92		13.28
75	P	5	Veld- boon	3 weken oud	100 (in bladoksel)		-	-	-	-	-	71.79	2	15.05
76	R	5	Peen	1,5	50	1	1	1	2	2	2	32.55		8.23
78	Q	5	Peen	Net gekiemd	50	1	2	2	2	2	2	51.95		14.75
												Gewicht (g)		
Extra/'dum mies'														
73	N	5	Veld- boon	0,5	50	1	1	1	1	1	1	35.09		22.46 (stengel)
74	D	5	Ui	0,5	50	1	2	2	2	2	2	4.08		4.08
												loof/st eel	3 cm loof + 2 cm peen	peen
77	I	5	Peen	0,5	50	1	2	2	2	2	2	11.72	1.69	8.18

Bijlage VII. Gegevens extractieduur

Tabel 1. Aantal stengelaaltjes per pot bij mistkastextractie van plantmateriaal 8 weken na inoculatie van peen, ui en veldboon. De planten werden voorgekiemd tot een bepaalde kiemlengte en geïnoculeerd met een bepaald aantal stengelaaltjes per plant (Pi). Van peen en ui werden twee kiemplanten per pot geplant, van veldboon één. In de tabel is het totale extractievolume (Tot), het getelde volume en het getelde aantal stengelaaltjes weergegeven na 1-7 dagen extractie.

Nr	Plant	Dag 1 (1-2-22)			Dag 2 (2-2-22)			Dag 3 (3-2-22)			Dag 4 (4-2-2022)			Dag 7 (7-2-2022)		
		Volume (ml)			Volume (ml)			Volume (ml)			Volume (ml)			Volume (ml)		
		Tot	Geteld	Aantal	Tot	Geteld	Aantal	Tot	Geteld	Aantal	Tot	Geteld	Aantal	Tot	Gd	Aantal
73	Veldboon	100	10	0	100	10	0	100	10	0	100	10	0	100	10	0
73	Veldboon		rest	0		rest	0		rest	0		rest	0		rest	
74	Ui	100	10	41	100	10	17	100	10	25	100	10	24	100	10	6
77	Peen loof	100	10	0	100	10	0	100	10	0	100	10	0	100	10	0
77	Peen loof		rest	0		rest	0		rest	0		rest	0		rest	
77	Peen: loof 3 cm + peen 2 cm	100	10	0	122	10	0	120	10	0	100	10	0	100	10	0
77	Peen: loof 3 cm + peen 2 cm		rest	0		rest	0		rest	0		rest	0		rest	
77	Peen rest	100	10	0	122	10	0	118	10	0	100	10	0	100	10	0
77	Peen rest		rest	0		rest	1		rest	0		rest	0		rest	

Bijlage VIII. Nematodengegevens dichtheidsproef

Tabel 1. Aantal stengelaaltjes per pot bij mistkastextractie van plantmateriaal 8 weken na inoculatie van peen, ui en veldboon. De planten werden voorgekiemd tot een bepaalde kiemlengte en geïnoculeerd met een bepaald aantal stengelaaltjes per plant (Pi). Van peen en ui werden twee kiemplanten per pot geplant, van veldboon één.

Nr	Obj	Herh	Plant	Kiemlengte (cm)	Pi (per plant)	Mistkast tellingen na 4 dagen		
						Totaal volume (mL)	Geteld volume (mL)	aantal aaltjes
1	I	1	Peen	0,5	50	100	100	0
2	E	1	Ui	0,5	100	100	10	34
3	B	1	Ui	0,5	5	100	100	0
4	A	1	Ui	0,5	0	100	100	0
5	L	1	Veldboon	0,5	5	100	100	0
6	R	1	Peen	1,5	50	100	100	0
7	M	1	Veldboon	0,5	10	100	100	0
8	F	1	Peen	0,5	0	100	100	0
9	G	1	Peen	0,5	5	100	100	0
10	D	1	Ui	0,5	50	100	100	175
11	P	1	Veldboon	3 weken oud	100 (in bladoksel)	100	10	45
12	K	1	Veldboon	0,5	0	100	100	0
13	N	1	Veldboon	0,5	50	100	100	0
14	C	1	Ui	0,5	10	100	100	0
15	H	1	Peen	0,5	10	100	100	0
16	J	1	Peen	0,5	100	100	100	1
17	Q	1	Peen	Net gekiemd	50	100	100	2
18	O	1	Veldboon	0,5	100	100	100	0
19	C	2	Ui	0,5	10	100	100	0
20	A	2	Ui	0,5	0	100	100	0
21	Q	2	Peen	Net gekiemd	50	100	100	0
22	P	2	Veldboon	3 weken oud	100 (in bladoksel)	100	10	40
23	N	2	Veldboon	0,5	50	100	100	0
24	H	2	Peen	0,5	10	100	100	0
25	E	2	Ui	0,5	100	100	100	46
26	L	2	Veldboon	0,5	5	100	100	0
27	I	2	Peen	0,5	50	100	100	0
28	F	2	Peen	0,5	0	100	100	0
29	G	2	Peen	0,5	5	100	100	1
30	O	2	Veldboon	0,5	100	100	100	0
31	R	2	Peen	1,5	50	100	100	0
32	K	2	Veldboon	0,5	0	100	100	0
33	J	2	Peen	0,5	100	100	100	0
34	B	2	Ui	0,5	5	100	100	0
35	D	2	Ui	0,5	50	100	10	41
36	M	2	Veldboon	0,5	10	100	100	0

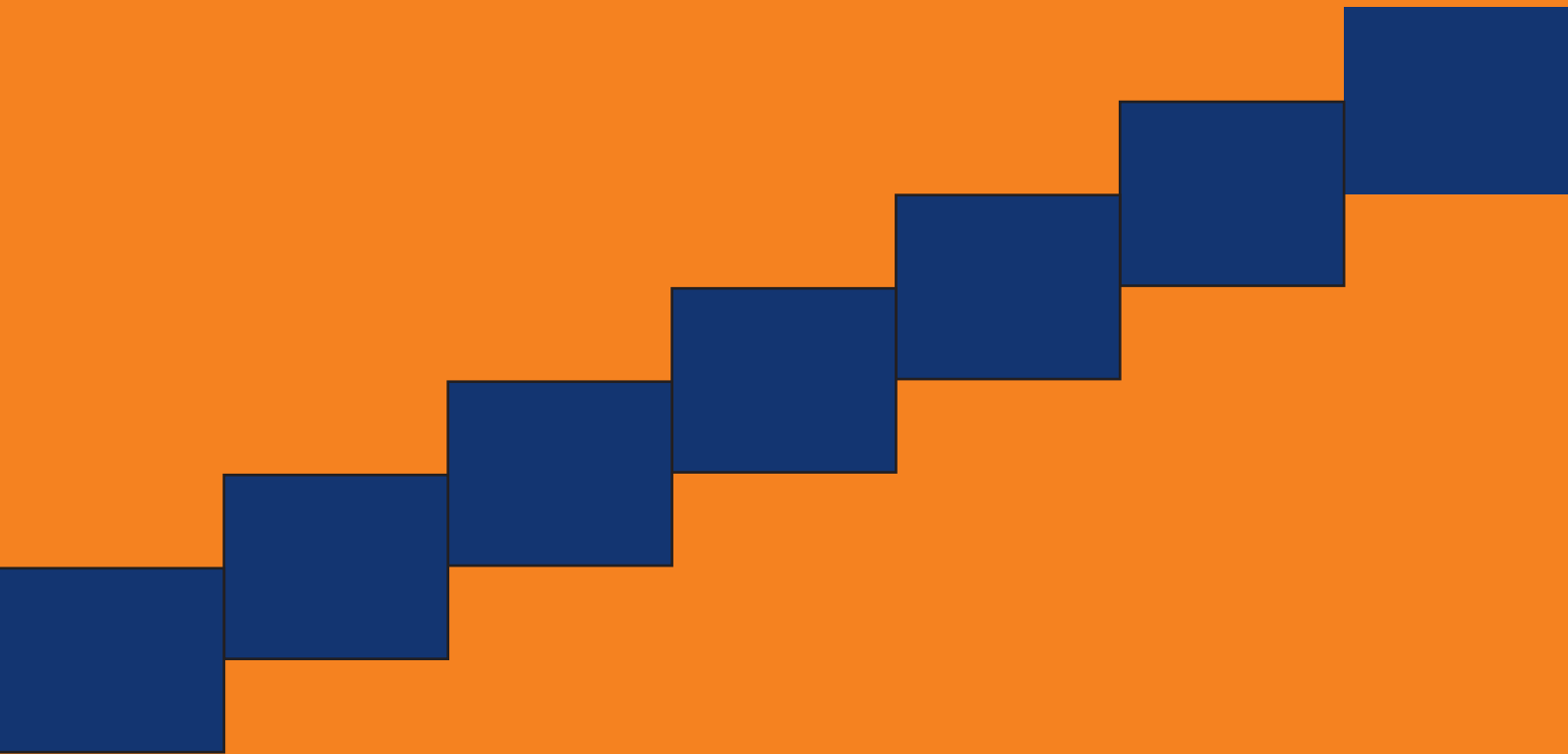
Nr	Obj	Herh	Plant	Kiemplengte (cm)	Pi (per plant)	Mistkast tellingen na 4 dagen		
						Totaal volume (mL)	Geteld volume (mL)	aantal aaltjes
37	P	3	Veldboon	3 weken oud	100 (in bladoksel)	100	10	102
38	J	3	Peen	0,5	100	100	100	2
39	K	3	Veldboon	0,5	0	100	100	0
40	I	3	Peen	0,5	50	100	100	0
41	D	3	Ui	0,5	50	100	10	117
42	C	3	Ui	0,5	10	100	100	78
43	R	3	Peen	1,5	50	100	100	0
44	M	3	Veldboon	0,5	10	100	100	0
45	F	3	Peen	0,5	0	100	100	0
46	O	3	Veldboon	0,5	100	100	100	0
47	A	3	Ui	0,5	0	100	100	0
48	N	3	Veldboon	0,5	50	100	100	0
49	L	3	Veldboon	0,5	5	100	100	0
50	B	3	Ui	0,5	5	100	100	0
51	Q	3	Peen	Net gekiemd	50	100	100	0
52	H	3	Peen	0,5	10	100	100	0
53	E	3	Ui	0,5	100	-	-	-
54	G	3	Peen	0,5	5	100	100	0
55	G	4	Peen	0,5	5	100	100	0
56	M	4	Veldboon	0,5	10	100	100	0
57	O	4	Veldboon	0,5	100	100	100	1
58	H	4	Peen	0,5	10	100	100	1
59	B	4	Ui	0,5	5	100	10	88
60	K	4	Veldboon	0,5	0	100	100	0
61	L	4	Veldboon	0,5	5	100	100	0
62	C	4	Ui	0,5	10	100	100	0
63	A	4	Ui	0,5	0	100	100	0
64	N	4	Veldboon	0,5	50	100	100	0
65	E	4	Ui dode plant		100	100	10	123
65	E	4	Ui levende	0,5	100	100	100	0
66	D	4	Ui	0,5	50	100	10	54
67	I	4	Peen	0,5	50	100	100	0
68	Q	4	Peen	Net gekiemd	50	100	100	0
69	F	4	Peen	0,5	0	100	100	0
70	J	4	Peen	0,5	100	100	100	0
71	P	4	Veldboon	3 weken oud	100 (in bladoksel)	100	10	46
72	R	4	Peen	1,5	50	100	100	0
75	P	5	Veldboon	3 weken oud	100 (in bladoksel)	100	10	74
76	R	5	Peen	1,5	50	100	100	0
78	Q	5	Peen	Net gekiemd	50	100	100	0

Bijlage IX. Gegevens inoculatiemethode

Tabel 1. Aantal stengelaaltjes per pot bij mistkastextractie van plantmateriaal 8 weken na inoculatie van peen, ui en veldboon. De planten werden voorgekiemd tot 0,5 cm kiemlengte en geïnoculeerd met een bepaald (gemiddeld) aantal stengelaaltjes per plant (Pi). De planten werden twee weken na het planten geïnoculeerd.

Nr	Object	Plantensoort	Inoculatiemethode
3	A	Ui	Op de grond
1	B	Ui	Tussen de bladeren (met beschadigen met pipet)
11	C	Ui	Tussen de bladeren (zonder beschadigen met pipet)
13	D	Peen	Op de grond
14	E	Peen	Tussen de bladeren (met beschadigen met pipet)
15	F	Peen	Tussen de bladeren (zonder beschadigen met pipet)

Nr	Object	Aantal planten	Pi per plant	Pi per object	Gewicht plant (g)	Extractiegewicht peen: 3 cm loof + 2 cm peen (g)	Volume (ml)	Telvolumen (ml)	Aantal
3	A	9	12.5	112.5	15.53	n.v.t.	100	100	81
1	B	9	12.5	112.5	15.32	n.v.t.	100	5	49
11	C	9	12.5	112.5	15.28	n.v.t.	100	1	37
13	D	10	12.5	125	41.17	31.19	100	100	0
14	E	10	12.5	125	39.38	29.38	100	100	0
15	F	10	12.5	125	38.08	28.29	100	100	0



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

www.uireka.nl



is part of



Uireka wordt mede mogelijk gemaakt door:



+ meer dan 70 ketenpartners!

