

Plan van Aanpak *Ditylenchus dipsaci*

Tussenrapportage Plan van Aanpak Dd Voortgang 2019 en programmering 2020

Aanleiding

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

Ondanks de voormalige quarantainestatus en de grote problemen met dit aaltje is er maar beperkte kennis beschikbaar over de levenswijze, vestiging en natuurlijke sterfte en zijn er weinig beheersmaatregelen voorhanden. Besmettingen voorkomen, vroegtijdig detecteren en het monitoren van gevonden besmettingen wordt steeds belangrijker. Vanwege de brede waardplantenreeks zijn oplossingen binnen de vruchtwisseling moeilijk te vinden. Complicerende factor daarbij is dat deze aaltjesoort een twintigtal verschillende rassen kent die verschillen in waardplantenreeks. Morfologisch zijn ze niet te onderscheiden en moleculaire diagnostische technieken zijn niet beschikbaar. De mogelijkheden voor chemische bestrijding staan onder druk en hun effectiviteit is onzeker. Niet chemische oplossingen zijn gewenst in het kader van de maatschappelijke discussie omtrent gewasbescherming en onze uitvoering van het actieplan plantgezondheid.

Doel en relevantie

Doelstelling van het Plan van Aanpak Dd is om een effectieve beheersing van het probleem door *Ditylenchus dipsaci* mogelijk te maken. Het is de bedoeling om deze plaag beter te gaan voorspellen waardoor ook de beheersbaarheid mogelijk wordt en de schade uiteindelijk tot een minimum wordt beperkt (eigenlijk geen probleem meer is). De geleden schade moet minimaal worden gehalveerd en telers in ons land hebben kennis van een geïntegreerde bestrijdingsstrategie en kunnen de problematiek beheersen.

- Het doel van dit programma is een start te maken met het ontwikkelen van praktische tools om stengelaaltjes op bedrijfsniveau te beheersen.

- De projecten binnen het programma moeten de telers handelingsperspectief bieden bij de preventie en beheersing van stengelaaltjes besmettingen. Misoogsten, afgekeurde partijen en kwaliteitsverlies moeten worden beperkt.

Activiteiten en resultaten

De activiteiten worden in chronologische volgorde van initiatie besproken. Het nummer van de activiteit correspondeert met het nummer in de meerjarige begroting. Door deze vorm van presenteren blijft het totaalbeeld van het Plan van Aanpak behouden. Van de afgeronde activiteiten zullen minder uitvoeringsdetails worden gepresenteerd in het actuele document, die zullen immers in eerdere versies aan bod komen. Dit is dus een werkdocument waarin per activiteit de actuele ontwikkelingen en/of eindresultaten worden benoemd.

Het eerste jaar is gebruikt om een koepelplan op te stellen door deskundigen op het terrein van *Ditylenchus dipsaci*. De stuurgroep heeft vervolgens in overleg met de deskundigen de contouren van de programmering bepaald. Uitgaande van die prioriteiten heeft de groep deskundigen een serie projectvoorstellen uitgewerkt, die hebben geleid tot de volgende programmering voor het jaar 2020. Een aantal activiteiten zal volgen op anderen en kunnen pas van start als anderen zijn afgerond en resultaat hebben opgeleverd.

1. Inundatie

Op verzoek van de drie aardappelwerkgroepen van LTO Nederland is vorig jaar een haalbaarheidsstudie "*Ditylenchus dipsaci* op zoek naar aaltjeswol" door HLB BV gestart. Nadat het PPS projectidee "Fundament beheersing stengelaaltjes" niet van de grond kwam heeft de Sectie Teelt gevraagd om met een projectvoorstel te komen. Dit heeft geresulteerd in het projectvoorstel "Inundatie ter bestrijding van het stengelaaltje *Ditylenchus dipsaci* op zwaardere grondsoorten". Financiering zal geschieden uit de oude reserves voor uien en consumptieaardappelen van het voormalige Productschap Akkerbouw. De Stuurgroep Uireka is ook om advies gevraagd.

Parallel aan de besluitvorming over de uitvoering van het PvA Dd heeft de Sectie Teelt van de BO Akkerbouw besloten over de uitvoering van een inundatieproef gericht op *D. dipsaci*. In navolging van de PvA's AM en M.cf wordt inundatie onderzocht als bestrijdingsmethode van *D. dipsaci* besmettingen. De Sectie Teelt van de BO Akkerbouw heeft besloten om de inundatieproef *D. dipsaci* onderdeel te laten zijn van het *Ditylenchus* Plan van Aanpak. Het project is onderdeel van PPS Uireka. In die PPS wordt k€ 200 ondergebracht van de k€ 506, die bestemd was voor het PvA Dd. Het inundatieproject wordt gefinancierd met oude PA gelden, ter grootte van € 75.000.

2: Rol zaaizaad en plantgoed

Inventarisatie van werkwijzen keuringsinstanties en producenten van uitgangsmateriaal ter voorkoming van verspreiding van stengelaaltjes via zaaizaad en plantgoed.

Doel en relevantie:

Besmettingen met het stengelaaltje kunnen worden veroorzaakt via binnenkomst van besmet zaaizaad van bijvoorbeeld uien, luzerne en klaver, maar ook door plantmateriaal als plantuien of pootaardappelen. Uitgangsmateriaal wordt in principe gekeurd, maar sinds het verdwijnen van phytosol als zaadontsmetter (met nematicide bijwerking) lijken de risico's op introductie via zaad sterk toegenomen.

Voor plantuien is er een verplichte perceelbemonstering. Voor pootaardappel geldt dat in bepaalde klassen een lichte besmetting is toegestaan. Het uitbouwen van de sterke- en het

wegnemen van de zwakke kanten van de huidige protocollen voor de keuringen van uitgangsmateriaal kan de verspreiding van stengelaaltjes helpen beperken.

De stuurgroep heeft gevraagd de huidige routines bij keuringsinstanties en producenten van uitgangsmateriaal in beeld te brengen door op technische niveau in gesprek te gaan. Egbert Schepel (HLB) en Leendert Molendijk (WUR) zullen werkbezoeken aanvragen bij NAK tuinbouw, NAK Emmeloord, NVWA en een producent van uienzaad. Chris de Visser (WUR) zal hiervoor vanuit Uireka Bejo benaderen. Tijdens deze werkbezoeken is het de bedoeling om samen met de aaltjesspecialisten van deze instanties in een open gesprek de technische facetten van de gevolgde werkwijzen te bespreken en te bezien of er theoretisch gesproken verbeteringen mogelijk zijn. De bevindingen zullen kort worden gerapporteerd en met de stuurgroep worden beoordeeld of er verbetering mogelijk/nodig zijn.

3. Voorstudie randvoorwaarden vestiging

Uit historische gegevens blijkt dat stengelaaltjes zich op sommige percelen kunnen vestigen, bijvoorbeeld door het gebruik van besmet zaaizaad of plantgoed, en zich over het hele perceel kunnen vestigen, c.q. verspreiden. Op andere percelen blijft de besmetting lokaal, in ZW-Nederland kroefplek genoemd, of verdwijnt deze spontaan. De kroefplekken breiden zich niet uit, in tegenstelling tot besmettingen van andere aaltjes, maar blijven wel permanent in het veld aanwezig. Het is niet duidelijk waarom een besmetting zich vestigt en zich al dan niet handhaaft. Daarom valt niet in te schatten welke percelen risico lopen. Wanneer de criteria voor vestiging duidelijk zouden zijn, kunnen risico's door telers worden ingeschat en biedt die kennis mogelijkheden om besmettingen te saneren.

Doel en relevantie

- Een poging tot vaststellen van mogelijke oorzaken die de verspreiding van stengelaaltjes binnen een perceel verhinderen.
- Wanneer de kritische bodemfactoren voor vestiging bekend zijn, kunnen risico's door telers worden ingeschat en biedt die kennis mogelijkheden om besmettingen te saneren en permanente vestiging van stengelaaltjes te voorkomen.

Toelichting

- In de jaren 50/60 van de vorige eeuw is er ook getracht dit raadsel van de beperkte 'eigen' verspreiding op te lossen. Er zijn toen geen aanknopingspunten uit voortgekomen. Inmiddels zijn er veel meer metingen aan bodems mogelijk. Dit geldt voor alle bodemeigenschappen (fysisch, chemisch en biologisch). De eerste stap is om te inventariseren of er nu bodemkarakteristieken kunnen worden bepaald die een mogelijke verklaring zouden kunnen zijn. Dit moeten dan karakteristieken zijn die in het onderzoek van de jaren 50/60 niet zijn meegenomen. Op basis van literatuur en inventarisatie bij bodemspecialisten zal een meetprogramma worden opgesteld.
- Er zal in samenwerking met de relevante bemonsterende instanties grondmonsters worden verzameld van de percelen die via reguliere bemonstering besmet zijn gevonden of via zogenaamde diagnosemonsters bij schadegevallen (deelproject 3). Deze zullen worden gebruikt om van een tiental besmettingen de relevante parameters te bepalen. Op basis van project 3 zullen twee percelen met lokale besmettingen worden geselecteerd.
- Op twee percelen met beperkte verspreiding, zullen vergelijkende metingen worden uitgevoerd in centrum, rand en net buiten de besmetting of zullen zogenaamde transecten (raaien) door de besmetting worden gelegd om populatiedichtheden te relateren aan de onderzochte eigenschappen.

Vooralsnog is alleen de literatuurstudie in 2020 (20 ke) geaccordeerd.

4. Karakterisering van bodemeigenschappen in relatie tot Ditylenchus dipsaci besmetting en verzamelen populaties

Doel en relevantie

Met dit deelproject willen we inzicht krijgen in de bodemeigenschappen van percelen waar *D. dipsaci* wordt aangetroffen. Dit is belangrijk voor het kunnen voorspellen van gevoeligheid van percelen voor besmetting met *D. dipsaci*. Deze kennis kan bijvoorbeeld worden gebruikt voor het nemen van preventieve maatregelen om besmetting in de toekomst te voorkomen. De besmette percelen worden via de reguliere laboratoria opgespoord. In tegenstelling tot in deelproject 3 worden hier meerdere valplekken bemonsterd, maar minder gedetailleerd. Via deze gecombineerde benadering willen we de kans vergroten om de voor vestiging relevante bodemeigenschappen te achterhalen. Daarnaast worden monsters van de besmette percelen gebruikt voor het aanleveren van populaties t.b.v. de karakterisering van *D. dipsaci* rassen (deelproject 10; populaties uit vijf daar genoemde regio's) en het ontwikkelen van potproeven (deelproject 6).

Uitwerking

In dit project worden fysische, chemische en biologische bodemparameters (dezelfde indicatoren als in project 2) van percelen waar *D. dipsaci* voorkomt in beeld gebracht. Voorafgaand aan het onderzoek worden bodemlaboratoria en andere erf-betreders (BKD, NAK Tuinbouw, NAK Emmeloord, Eurofins, HLB) benaderd om met *D. dipsaci* besmette percelen te identificeren en voor onderzoek beschikbaar te maken. Wanneer een *D. dipsaci* besmetting wordt gevonden, neemt de eigen verkoper/adviseur contact op met de betreffende teler met de vraag om mee te doen aan dit onderzoek. Van de teler wordt gevraagd om een enquête over de teelthistorie van dit perceel in te vullen. De bemonsteringsinstantie haalt extra monsters uit het perceel voor de aanvullende bodemanalyses.

Tijdens de groeiseizoenen van 2020 en 2021 worden in totaal 30 valplekken, veroorzaakt door een *D. dipsaci* besmetting, gelokaliseerd. Op 10 percelen met een valplek wordt een monster genomen binnen deze zwaar besmette valplek en op verschillende plaatsen erbuiten. De monsters worden geanalyseerd op de aanwezigheid van *D. dipsaci*, waarbij het monster zo dicht mogelijk bij de valplek maar zonder aantoonbare besmetting wordt geanalyseerd op chemisch/fysische en biologische parameters. Dezelfde analyses worden gedaan voor het monster dat in de valplek is genomen. Van alle 30 valplekken worden gewasmonsters genomen ten behoeve van de projecten 5 en 10. Dertig grondmonsters worden verzameld ten behoeve van project 5.

5. Optimaliseren extractie stengelaaltjes uit grondmonsters

Doel en relevantie

Er wordt aangenomen dat *D. dipsaci* vaak als een (ingedroogde) inactieve overlevingsstructuur in de grond voorkomt. Met de klassiek gebruikte Oostenbrink methode moeten de nematoden actief door een filter kruipen, wat een oorzaak kan zijn dat *D. dipsaci* moeilijk aan te tonen is. In dit deelproject wordt onderzocht of *D. dipsaci* in grondmonsters kan worden aangetoond door middel van de zonale centrifuge methode. In tegenstelling tot de Oostenbrink methode, sluit deze methode het aantonen van inactieve nematoden niet uit. Actieve en latente besmetting met *D. dipsaci* zouden zo met meer zekerheid kunnen worden aangetoond in monsters.

Naast het testen van de zonale centrifuge methode wordt ook gekeken naar de voorbereiding van monsters met latent aanwezige *D. dipsaci*, voordat deze worden gecentrifugeerd. Uit preliminaire experimenten is gebleken dat wanneer besmet materiaal eerst gedroogd wordt, er daarna meer aaltjes gevonden kunnen worden.

Uitwerking

Inventarisatie DD protocollen (nationaal en internationaal)

Er wordt een inventarisatie gemaakt van protocollen die nationaal en internationaal worden gebruikt voor het extraheren van *D. dipsaci* uit grond.

Effectiviteit zonale centrifuge

Aantonen van actieve *D. dipsaci* die aan grond is toegediend (gespiket).

Door eerst te werken met *D. dipsaci* gespikete grond kunnen we onderzoeken of het lukt om de aaltjes te extraheren met de zonale centrifugemethode (WUR|OT). Na het centrifugeren wordt bekeken of *D. dipsaci* kan worden aangetoond in de suspensie. In eerste instantie worden fracties visueel bekeken. Wanneer we weten dat *D. dipsaci* terecht komt in een bepaalde fractie, dan kan worden onderzocht of de aaltjes ook met PCR kunnen worden aangetoond. Als de detectie met PCR werkt, kunnen ook lage dichtheden *D. dipsaci* worden aangetoond die bij visuele bepaling gemist zouden kunnen worden. De DNA isolatie en PCR worden uitgevoerd op de suspensie die verkregen is door centrifugeren. Het testen en ontwikkelen van de PCR methode wordt bij HLB uitgevoerd.

Aantonen van latent aanwezige *D. dipsaci* in praktijkmonsters

Wanneer we *D. dipsaci* kunnen aantonen in gespikete grondmonsters, gaan we verder met grondmonsters die zeker met *D. dipsaci* zijn besmet, maar waarin de aaltjes via de Oostenbrinkmethode niet worden aangetoond.

- Analyseren van (verschillende) centrifugefracties met PCR

Vorbewerken van monsters voordat een extractiemethode wordt toegepast

Er zijn indicaties dat na het drogen van besmet materiaal hogere aantallen *D. dipsaci* aaltjes gevonden kunnen worden. Dit wordt verder onderzocht in een systematische opzet door monsters te drogen en op verschillende tijdstippen te spoelen met de Oostenbrinkmethode of op te werken met de zonale centrifuge.

6. Ontwikkelen pottoetsmethode ter bepaling waardplantstatus

Voor het werken met toetsplanten 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.

Doel en relevantie

Dit project levert een toetstechniek voor deelproject 10 om met differentials verschillende stengelaaltjesrassen te onderscheiden. Daarnaast is deze toetstechniek nodig om in de toekomst de waardplantstatus van belangrijke cultuurgewassen te bepalen. Voorwaarde is dan dat een betrouwbare bepaling van aaltjesrassen mogelijk wordt.

7. Moleculaire karakterisering stengelaaltjesrassen

Onder de microscoop (morfologisch) zijn de verschillende stengelaaltjesrassen niet uit elkaar te houden. Gezien het verschil in vermogen van populaties om op bepaalde gewassen wel of niet te vermeerderen, moeten er genetische verschillen zijn. De moleculaire technieken zijn inmiddels zover ontwikkeld dat het haalbaar is geworden de gehele genoom sequentie van een organisme in beeld te brengen. Door populaties genetisch te karakteriseren kunnen de cruciale verschillen in beeld worden gebracht. Op basis hiervan kunnen diagnostische technieken worden ontwikkeld, zodat telers weten met welk stengelaaltjesras (of combinatie) ze te maken hebben en ze hierop de keuze van gewassen/rassen en de gewasvolgorde kunnen baseren.

Doel en relevantie

Doel van dit deelproject is de ontrafeling van “het rassencomplex” van het stengelaaltje *Ditylenchus dipsaci* middels moleculaire karakterisering met behulp van DNA sequencing. Wereldwijd wordt gesproken over het voorkomen van minimaal twintig verschillende rassen op basis van reproductie op verschillende waardplanten.

Het in kaart brengen van de moleculaire diversiteit in Nederland is een belangrijke stap voor het verstrekken van betrouwbare teeltadviezen en het opstellen van duurzame bouwplannen. Het kunnen classificeren van *D. dipsaci* populaties op basis van moleculaire kenmerken heeft de volgende voordelen:

1. Gericht en efficiënt onderzoek naar waardplantreeksen van de moleculaire *D. dipsaci* groepen (“rassen”). Door een of meer vertegenwoordigers van elke moleculaire groep te testen op verschillende waardplanten wordt direct duidelijk hoe groot de variatie is in Nederland en in hoeverre de waardplantenreeksen overlappen tussen de verschillende groepen. Deze benadering vergroot de betrouwbaarheid van de biotoetsen, omdat het aantal te testen populaties sterk gereduceerd kan worden op basis van de groepsindeling. Daarnaast voorkomt de benadering ook ‘overbodig’ werk, omdat het niet zinvol is moleculair identieke populaties te testen op waardplanten en vooral meer aandacht besteed kan worden aan de meest uiteenlopende populaties.
 2. Gerichte resistentieveredeling op basis van de moleculaire groepering. Door vertegenwoordigers van elke groep mee te nemen in de resistentietoetsen is het mogelijk breed werkende resistenties te ontwikkelen.
 3. Inzicht in de “genetische stabiliteit” van de verschillende groepen. Selectie experimenten op waardplanten gevolgd door het testen van de nakomelingen op verschuivingen in reproductie capaciteit op verschillende waardplanten gecombineerd met DNA sequencing geeft niet alleen inzicht in de “stabiliteit” van de “*D. dipsaci* rassen”, maar biedt ook mogelijkheden de moleculaire basis van de variatie in waardplantgeschiktheid te achterhalen (dus welke effectoren/speekseleiwitten).
 4. Diagnostische DNA test *D. dipsaci* rassen. In de toekomst kunnen moleculaire analyses leiden tot een moleculaire (PCR) test voor de verschillende *D. dipsaci* rassen.
- Uitwerking

Het uiteindelijke doel van het project is: 1) inzicht te verkrijgen in de genetische diversiteit en stabiliteit van *D. dipsaci* populaties, en 2) ontwikkeling van een moleculaire (PCR) test voor de verschillende *D. dipsaci* rassen.

Het huidige budget is te gering om deze doelstellingen te realiseren, maar wel is het mogelijk een eerste inzicht te verkrijgen in de mate van de genetische diversiteit en een bescheiden, eerste stap te zetten naar een DNA test voor de identificatie van de *D. dipsaci*. Voor het bereiken van het einddoel, is het voornemen om in het voorjaar van 2020 een uitgebreider PPS project in te dienen. Het benodigde bedrag wordt in overleg later bepaald.

De stuurgroep stelt voor de uitgebreide PPS voor te bereiden en het uitvoeringsbudget van project 3 in te zetten. Het gaat om een strategisch programma waarin fundamentele kennis ontwikkeld wordt. De bedoeling is om consortiumpartners hierbij te betrekken met voldoende in kind bijdragen, waardoor de TKI bijdrage toeneemt en er weer geld gealloceerd kan worden voor project 3.

Samenvatting programmering en begroting (k€)

No.	Item	2019	2020	2021	2022	2023	Totaal
1	Inundatie	55					55
2	Rol zaaizaad en plantgoed		12				12
3	Voorstudie randvoorwaarden voor vestiging		20	(45)	(45)	(20)	20 (130)
4	Karakterisering van bodemeigenschappen in relatie tot Ditylenchus dipsaci besmetting en verzamelen populaties		37,5	37,5			75
5	Optimaliseren extractie stengelaaltjes uit grondmonsters		50	10			60
6	Ontwikkelen pottoetsmethode ter bepaling waardplantstatus		75				75
7	Moleculaire karakterisering stengelaaltjesrassen			160	78	7	245
A.1	Bestuur	5	5	5	5	5	25
A.2	Projectleiding	10	10	10	10	10	50
A.3	Advies & communicatie	-	10	10	10	10	40
	TOTAAL	70	219,5	167,5	148	52	657

Totaal 677 k€ ex btw. De toegezegde begroting door de BO Akkerbouw voor een periode van 3 jaar is k€ 508 ex btw. Het voorgestelde uitvoeringsprogramma is een evenwichtig basisprogramma voor een periode van vier jaar, maar overschrijdt het toegezegde budget. Voor activiteit 7 worden mogelijkheden onderzocht om een PPS in te dienen en gehonoreerd te krijgen. Extra financiële ruimte wordt dan mogelijk. Bovendien zullen niet alle onderdelen tegelijk van start gaan in 2020. Het is mogelijk later een besluit te nemen over uitvoering en/of aanvullend budget.

Het Uireka werkprogramma 7 heeft met de 'multiplier' van de TKI een totale begroting van k€ 380. Dat betekent een extra k€ 180 bestedingsruimte voor het PvA D. dipsaci. Dankzij de multiplier van 180 ke is in totaal beschikbaar € 700 ke.

Organisatie

De stuurgroep van het Plan van Aanpak Dd is compleet en bestaat uit leden van NAV, LTO en adviseurs van WUR, PPO, HLP, Agifirm. Het secretariaat van het Plan van Aanpak Dd wordt uitgevoerd door LTO en voor specifieke kennisvraagstukken is een consultancy begroting van maximaal € 10.000 per jaar gereserveerd.

Nijkerk, 23 januari 2020