

Uireka is een uniek driejarig ketenproject met als doel het verbeteren van de kwaliteit en daarmee het versterken van de exportpositie van de Hollandse ui. Om dit te realiseren hebben ketenpartners de krachten gebundeld. Het project valt onder de Holland Onion Association wordt mede ondersteund door de Topsector Agrifood.

Uireka draait om innovatie en verbetering van de teelt en bewaring. Het project levert een pakket aan maatregelen op die ketenpartners in staat stellen om de kwaliteit nog beter te borgen.

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

Stengelaaltjes: populaties, extractie en ontwikkelen pottoets 2022

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

Uireka rapport nummer: 2023-08

Datum: augustus 2023

Inhoudsopgave

Samenvatting

1	Inleiding en doel	8
2	Verzamelen populaties	9
2.1	Materiaal en methode	9
2.2	Resultaten	9
2.3	Discussie en interpretatie	10
3	Optimaliseren extractie stengelaaltjes uit grondmonsters	11
3.1	Materiaal en methode	12
3.2	Resultaten	13
3.3	Discussie en interpretatie	14
4	Ontwikkelen kweekmethode voor stengelaaltjes	15
4.1	Materiaal en methode	15
4.2	Resultaten	15
4.3	Conclusies	17
5	Vaststellen groeimedium bloembollen	18
5.1	Materiaal en methode	18
5.2	Resultaten	18
5.3	Discussie en conclusie	20
6	Ontwikkelen pottoetsmethode ter bepaling waardplantstatus	21
6.1	Materiaal en methoden	21
6.2	Resultaten	23

6.3	Discussie en interpretatie	28
7	Conclusies en aanbevelingen	29
8	Literatuur	30
	Bijlage 1 Samenstelling toetsgrond	32

Samenvatting

Stengelaaltjes vormen een lastig probleem, doordat ze een brede waardplantreeks hebben, al in lage dichtheden voor schade kunnen zorgen en het niet goed voorspelbaar is wanneer er problemen kunnen optreden. Ook bestaan er verschillende 'stengelaaltjesrassen' die morfologisch niet te onderscheiden zijn en deels verschillende waardplanten kennen. Hierdoor is het niet mogelijk om een sluitend advies te geven welke gewassen veilig kunnen worden geteeld en wat slimme gewasvolgordes zijn. Dit project dat in 2020 startte, beoogt informatie te krijgen over de volgende onderwerpen:

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

In dit rapport zijn de resultaten van het deelonderzoek in 2022 beschreven.

In de jaren 2020-2022 zijn 37 populaties stengelaaltjes verzameld, afkomstig van verschillende gewassen uit verschillende regio's in Nederland en uit het buitenland. De populaties waren afkomstig uit ui (12), suikerbiet (11), narcis (7), knoflook (3), tulp (3), aardappel (2), spinazie (1) en kikkererwt (1). In 2023 zal opnieuw extra aandacht worden gevraagd om actieve besmettingen uit het veld te melden.

Het is niet gelukt om te bepalen of de zonale centrifuge geschikter is voor het extraheren van het ruststadium van stengelaaltjes dan de Oostenbrinktrechter. Om dat te bepalen is het nodig om de stengelaaltjes inactief te houden gedurende de tijd van extraheren. Verschillende pogingen om dat te bewerkstelligen mislukten.

Voor het verkrijgen van voldoende inoculum van populaties is het vaak nodig om ze te vermeerderen. In de toetsen die zijn uitgevoerd op uienbollen en veldboon bleek de vermeerdering van populaties afkomstig uit bloembollen lager dan die van populaties afkomstig uit akkerbouwgewassen.

De waardplantstatus van gewassen voor stengelaaltjes bleek te bepalen door de principes van Seinhorst te volgen: eerst werden de nematoden aan de grond toegediend, daarna werd het gewas gezaaid. Peen, ui en veldboon werden gezaaid in grond met een reeks begindichtheden van 0; 0,03125; 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16 en 32 stengelaaltjes (populatie N1, afkomstig uit narcis) per g droge grond. Na 17 weken werd het aantal stengelaaltjes in de stengel, wortels en de grond en het versgewicht van de plant bepaald. De modellen van Seinhorst voor populatiedynamica en opbrengstverlies waren goed te gebruiken om de gegevens te beschrijven. Met de modellen kunnen de maximale vermeerdering en de dichtheid waarbij opbrengstverlies optreedt worden berekend. De vermeerdering van de gebruikte populatie was laag op peen en hoog op ui en veldboon. De maximale vermeerdering op veldboon werd zelfs al bereikt bij de laagste dichtheid. Peen en veldboon ondervonden nauwelijks tot geen groeiremming, terwijl de opbrengst van ui al bij zeer lage dichtheden (<4 per 100 g grond) werd geremd.

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 een verhuurder van grond niet op de hoogte wordt gebracht van het voorkomen van stengelaaltjes op een perceel of dat telers het risico nemen en uitgangsmateriaal of gevoelige gewassen blijven telen op besmette percelen. Dit kan verdere verspreiding tot gevolg hebben.

Ondanks de RNQP-status en de grote problemen met dit aaltje is er onvoldoende kennis beschikbaar over de omstandigheden die tot infectie leiden of vestiging en natuurlijke sterfte beïnvloeden en zijn er weinig beheersmaatregelen voorhanden. Besmettingen voorkomen, vroegtijdig detecteren en het monitoren van gevonden besmettingen worden steeds belangrijker. Vanwege de brede waardplantenreeks zijn oplossingen binnen de vruchtwisseling moeilijk te vinden. Complicerende factor daarbij is dat deze aaltjessoort een twintigtal verschillende rassen kent die verschillen in waardplantenreeks. Morfologisch zijn ze niet te onderscheiden en moleculaire diagnostische technieken zijn niet beschikbaar. De mogelijkheden voor chemische bestrijding staan onder druk en hun effectiviteit is onzeker. Niet-chemische oplossingen zijn gewenst.

Doel en relevantie

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

Toelichting bij dit onderzoek

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

Leendert Molendijk en Hans Hoek (WUR|OT) hebben in augustus 2018 een eerste aanzet gegeven hoe onderzoek aan stengelaaltjes systematisch opgezet kan worden. Naar aanleiding daarvan is hen gevraagd samen met specialisten op aaltjesgebied een samenhangend programma te ontwikkelen. Een deel van dit plan wordt uitgevoerd binnen Uireka 2.0 (2020-2023). In dit rapport zijn deelresultaten uit 2022 van drie deelprojecten beschreven: 1) verzamelen populaties, 2) optimaliseren bemonstering en 3) ontwikkelen pottoets ter bepaling van de waardplantstatus. De resultaten van het onderzoek uit 2020 en 2021 is in drie eerdere rapporten beschreven (Brinkman *et al.* 2021, 2022; Teklu *et al.* 2022).

2 Verzamelen populaties

Van stengelaaltjes wordt het bestaan van verschillende 'rassen', die verschillen in waardplantreeks, onderkend. De rassen zijn morfologisch niet van elkaar te onderscheiden, wat het opstellen van een bouwplan bemoeilijkt. Wanneer op moleculair niveau onderscheid is te maken tussen de rassen, is een gericht teeltadvies mogelijk. In dit deelproject van Uireka 2.0 is het doel om een diverse groep populaties te verzamelen. In de PPS 'Moleculaire karakterisering waardplantenstatus van stengelaaltjesrassen' (LWV20.026) zal de reeks populaties moleculair worden gekarakteriseerd. Het doel is om populaties te vinden uit de volgende vijf regio's:

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

2.1 Materiaal en methode

De besmette percelen werden via de reguliere laboratoria en andere kanalen opgespoord. In 2020 en 2021 werd hier bij telers en erfbetreders aandacht voor gevraagd en dat werd herhaald in 2022. In diverse bijeenkomsten met sectorvertegenwoordigers is genoemd dat we op zoek zijn naar stengelaaltjes (Uireka, Nematodenwerkgroep). Daarnaast hebben Uireka (Nieuwsbrief mei) en BO Akkerbouw (digitale lunchbijeenkomst, december 2022) extra publiciteit gegeven aan deze oproep. Verder is er in publicaties in de Boerderij (juni 2022) en Agrio (december 2022) opgeroepen om besmettingen te melden. Ook is in samenwerking met WUR Laboratorium voor Nematologie contact gezocht met onderzoekers uit het buitenland.

Om de kans te vergroten dat de stengelaaltjes in de populatie niet teveel van elkaar afwijken, werd plantmateriaal van een klein oppervlak verzameld. Het aantal stengelaaltjes dat uit het plantmateriaal werd geëxtraheerd, was niet altijd groot genoeg om te gebruiken voor verder onderzoek. Wanneer het aantal te laag was, werden de stengelaaltjes eerst vermeerderd op veldboon of uienbollen (zie Hoofdstuk 4). De populaties worden door WUR Laboratorium voor Nematologie moleculair gekarakteriseerd en daar bewaard in de collectie voor toekomstig onderzoek. Dat werk is gefinancierd uit de PPS 'Moleculaire karakterisering waardplantenstatus van stengelaaltjesrassen' (LWV20.026).

2.2 Resultaten

Gedurende de periode 2020-2022 zijn 37 populaties uit plantmateriaal verzameld. Daarvan waren er 30 afkomstig uit verschillende regio's in Nederland en 7 uit het buitenland: Duitsland (2), Italië (1), Tsjechië (2), Turkije (1) en Zwitserland (1). De verdeling van de populaties naar herkomst uit verschillende gewassen was onevenwichtig: ui (12), suikerbiet (11), narcis (7), knoflook (3), tulp (3), aardappel (2), spinazie (1) en kikkererwt (1).

2.3 Discussie en interpretatie

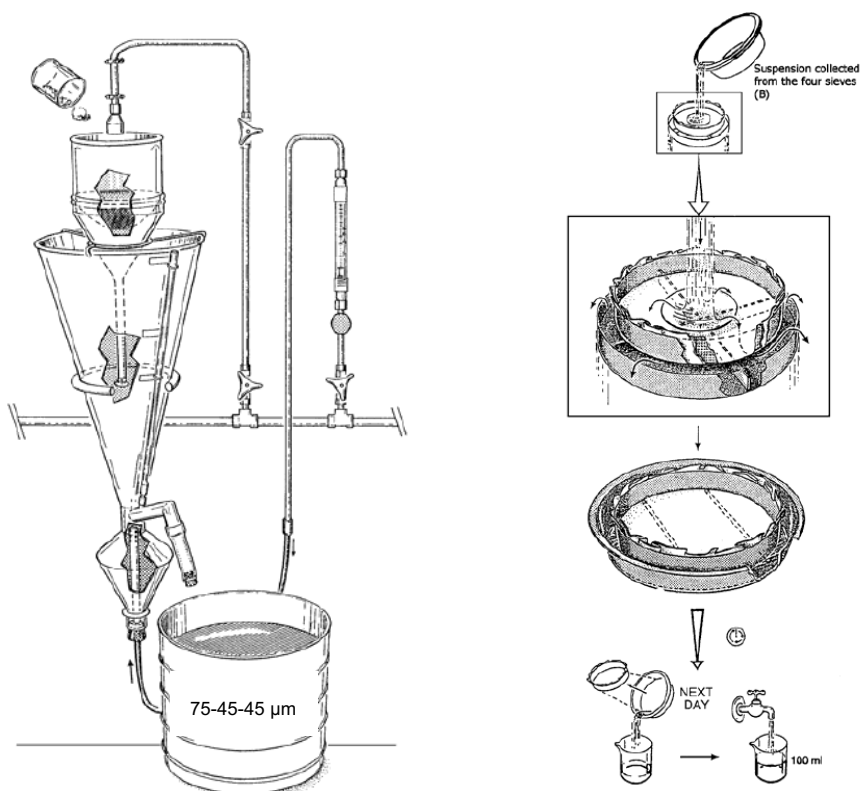
Met plantmateriaal konden vrij zuivere populaties stengelaaltjes worden verkregen. De aantallen in het materiaal waren meestal niet hoog genoeg om voor zowel moleculaire karakterisering als een pottoets te kunnen gebruiken. Hiervoor moesten de stengelaaltjes eerst worden vermeerderd door ze te inoculeren op een goede waardplant, zoals tuinboon. Vermeerderen van stengelaaltjes kan invloed hebben op de genetische samenstelling van een populatie (Sturhan, 1969), al is uit recent onderzoek van WUR Laboratorium voor Nematologie gebleken dat er geen grote veranderingen optreden (te Molder *et al.*, 2022). We hebben er daarom voor gekozen om de aaltjes alleen te vermeerderen indien nodig en zo mogelijk de basispopulatie te bewaren.

Vanwege de droogte in 2020 en 2022 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. In 2023 zal opnieuw aandacht worden gevraagd voor het melden van besmettingen, waarbij zal worden geprobeerd om populaties te verkrijgen uit gewassen die tot nog toe ondervertegenwoordigd zijn.

3 Optimaliseren extractie stengelaaltjes uit grondmonsters

Er wordt aangenomen dat *D. dipsaci* vaak als een (ingedroogde) inactieve overlevingsstructuur in de grond voorkomt (Robertson, 1928; Wallace, 1962). 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 drie dagen op een filter in een zeef 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 oorzaak zijn dat *D. dipsaci* met deze methode moeilijk aan te tonen is in grond.

In dit deelproject is onderzocht of *D. dipsaci* in grondmonsters kan worden aangetoond door middel van de zonale centrifuge methode (Figuur 3.2). In tegenstelling tot de Oostenbrinkmethode, sluit deze methode het aantonen van inactieve nematoden niet uit. Actieve en latente besmetting met *D. dipsaci* zouden met de centrifuge met meer zekerheid kunnen worden aangetoond in grondmonsters.



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 carrousel worden de monsters in 1 L-bekerglazen naar de centrifuge geleid, op de bovenste carrousel 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 methode

Stengelaaltjes werden geëxtraheerd uit gedroogde narcisbollen (populatie N1, 2 jaar na indrogen) door deze gedurende 3 dagen in de mistkast bij WUR | Open teelten te zetten. Na 3 dagen werd de suspensie met aaltjes afgetapt en geteld. De meeste aaltjes bewogen niet (98,6%). Dit werd beoordeeld als een gunstige uitgangssituatie om te bepalen of er een verschil is in extractie van inactieve stengelaaltjes tussen de Oostenbrinktrechter en de zonale centrifuge.

Voor extractie met de Oostenbrinktrechter werden tien suspensies van 100 mL gemaakt met gemiddeld 4380 ± 519 (sd) stengelaaltjes. De extracties werden binnen twee uur na het maken van de suspensies uitgevoerd. Vijf van de suspensies werden voor de extractie eerst gezeefd over een $180 \mu\text{m}$ zeef, de andere vijf suspensies werden meteen geëxtraheerd. Na extractie werden de aaltjes opgevangen op een set van drie zeven van $75\text{-}45\text{-}45 \mu\text{m}$ (Figuur 3.1). Het materiaal op de zeven werd overgebracht op een dubbel filter (Tork Heavy duty cleaning cloth 530137) en in een schotel met water gezet bij 20°C . Na drie dagen werd de suspensie met de aaltjes die door het filter waren gekropen afgeschonken en de aaltjes in 10 mL van de suspensie werden geteld onder een microscoop. Hierbij werden bewegende en stil liggende aaltjes afzonderlijk geteld. Voor extractie met de zonale centrifuge werden tien suspensies van 200 mL gemaakt met gemiddeld 8760 ± 1038 (sd) stengelaaltjes. Bij extractie met de zonale centrifuge werd de helft van de suspensie opgezogen en geëxtraheerd met $MgSO_4$ (Figuur 3.2). Na extractie werd de suspensie over een $20 \mu\text{m}$ zeef geschonken om de $MgSO_4$ te verwijderen. De aaltjes werden overgebracht in een potje met 100 mL water en 10 mL van de suspensie werd geteld onder een microscoop.

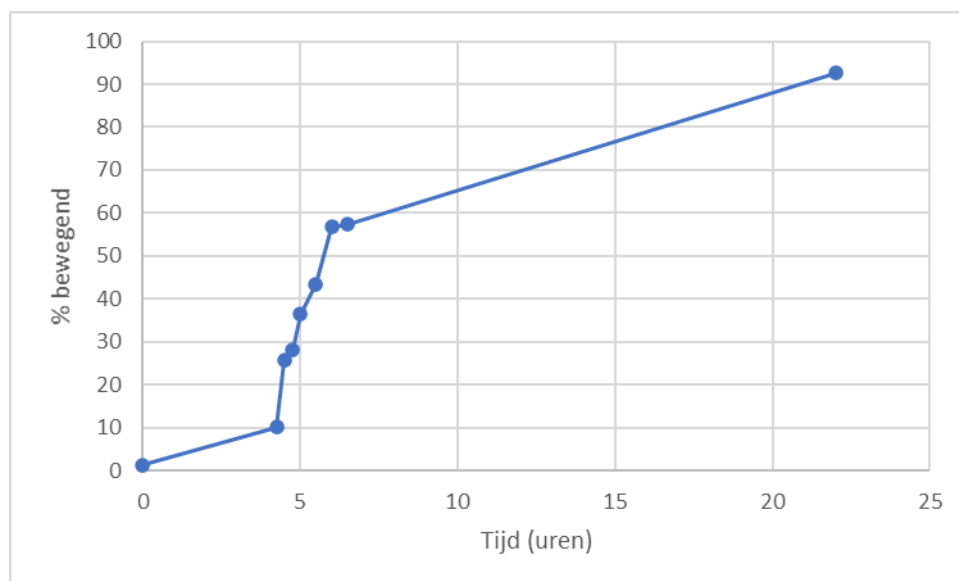
De terugvangst van de stengelaaltjes werd berekend als het percentage van het gemiddelde aantal aaltjes in de suspensie vóór extractie. De gegevens werden geanalyseerd met een Anova in R versie 4.2.1 (R Core Team, 2022) en RStudio® versie 2022.07.0 (RStudio Team, 2022).

3.2 Resultaten

Er was geen significant verschil in terugvangst tussen extractie met de Oostenbrinktrechter (met of zonder 180µm zeef) en de zonale centrifuge (Tabel 3.1; $F_{2,17} = 0,72$, $P = 0,50$). Bij tellen meteen na extractie met de zonale centrifuge was al een groot percentage van de stengelaaltjes beweeglijk geworden. Drie dagen later, bij tellen van de stengelaaltjes die met de Oostenbrinktrechter waren geëxtraheerd, was er geen verschil in percentage beweeglijke stengelaaltjes tussen de extractiemethoden (Tabel 3.1). De beweeglijkheid van de stengelaaltjes nam niet alleen toe na extractie, maar ook wanneer water werd toegevoegd aan de suspensie met stengelaaltjes (Figuur 3.3). Er leek geen verband te zijn tussen het percentage beweeglijke stengelaaltjes en de elektrische geleidbaarheid (EC) van de vloeistoffen (Tabel 3.2). De EC van de suspensie met stengelaaltjes uit de mistkast lag tussen de EC van kraanwater en de suspensie na extractie met de zonale centrifuge in. De pH van de suspensie uit de mistkast was lager dan na extractie met de zonale centrifuge en de gebruikelijke pH van kraanwater (niet gemeten).

Tabel 3.1 Percentage totale terugvangst van de stengelaaltjes (%) met standaarddeviatie (sd) en variantiecoëfficiënt (CV), en percentage beweeglijke en stil liggende stengelaaltjes na extractie van een watersuspensie met de Oostenbrinktrechter (zonder en met 180 µm zeef; n=5) gevolgd door 3 dagen op filter, en zonale centrifuge, meteen na de extractie (n=10) en na 3 dagen bij kamertemperatuur (n=5).

Methode	Terugvangst (%)	sd	CV	Beweeglijk	Stil
Oostenbrink	84,4	9,6	11,4	98,4	1,6
Oostenbrink + 180 µm zeef	83,1	8,1	9,8	99,4	0,6
Zonale centrifuge (dag 0)	79,8	6,1	7,7	86,8	13,2
Zonale centrifuge (dag 3)	77,4	7,5	9,6	99,4	0,6



Figuur 3.3 Percentage bewegende stengelaaltjes in de tijd in een suspensie van 10 mL extract van nematoden afkomstig uit narcis uit de mistkast en 80 mL water (n=2).

Tabel 3.2 Gemeten waarden van elektrische geleidbaarheid (EC) en pH in verschillende vloeistoffen.

Vloeistof	EC	pH
Kraanwater	416 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$	-
Nematodensuspensie uit mistkast	2,68 mS $\cdot \text{cm}^{-1}$	4,6
Nematodensuspensie na zonale centrifuge en $2 \times 20 \mu\text{m}$ zeef	24,4 mS $\cdot \text{cm}^{-1}$	7,3

3.3 Discussie en interpretatie

Er was geen verschil in extractie van stengelaaltjes met de Oostenbrinktrechter en de zonale centrifuge. Na drie dagen, de tijd die wordt aangehouden bij extractie met de Oostenbrinktrechter, was het merendeel van de stengelaaltjes weer beweeglijk geworden. Voor de extracties zijn stengelaaltjes gebruikt uit gedroogde narcissenbollen, waarin de aaltjes zich in het ruststadium bevonden. Tijdens de extractie in de mistkast, een stap die nodig was om een bekend aantal aaltjes te verkrijgen voor de methodevergelijking, werden de aaltjes actief. In de daaropvolgende tijd werden de stengelaaltjes weer onbeweeglijk, maar het is niet duidelijk of dit daadwerkelijk het ruststadium was. Er is daarmee geen uitspraak te doen of er met de zonale centrifuge meer stengelaaltjes in het ruststadium kunnen worden geëxtraheerd dan met de Oostenbrinktrechter. Andere overwegingen kunnen een rol spelen bij voorkeur voor de ene of de andere methode. Zo is een suspensie van een monster verwerkt met de zonale centrifuge sneller beschikbaar voor identificatie dan wanneer deze is verwerkt met de Oostenbrinktrechter. Als keerzijde geven kleimonsters meer problemen met neerslag in de zonale centrifuge.

4 Ontwikkelen kweekmethode voor stengelaaltjes

De vermeerdering van populaties is belangrijk om voldoende materiaal te verkrijgen voor het uitvoeren van waardplanttoetsen. In 2022 is onderzocht hoe verscheidene populaties stengelaaltjes afkomstig uit verschillende akkergebouwgewassen en bloembollen zich vermeerderen in veldbonen en uienbollen. De gebruikte methoden zijn beschreven in EPPO (2021).

4.1 Materiaal en methode

Verschiedene stengelaaltjespopulaties zijn gebruikt voor de drie vermeerderingsproeven (tabel 4.1). Voor het inoculum zijn stengelaaltjes geëxtraheerd uit veldbonen, waarin de populaties eerder zijn vermeerderd en vervolgens gedroogd en bewaard. Alleen voor de herkomsten SB2 en N1 is ook het ingedroogde oorspronkelijke gewas gebruikt voor het verkrijgen van inoculum. Voor de vermeerdering zijn biologische uienbollen en veldbonen van 10-14 dagen oud geïnoculeerd met respectievelijk 100-150 en 200-250 stengelaaltjes. De inoculaties zijn op drie tijdstippen uitgevoerd in drie opeenvolgende weken.

De veldbonen zijn geïnoculeerd in de bladoksel na een lichte beschadiging van de stengel. Voor de ui is een vierkant stukje, ongeveer 0,5x-0,5 cm, van de buitenste rok verwijderd. Vervolgens is de aaltjessuspensie in het gat gepipetteerd en het gat is weer dichtgemaakt met het verwijderde stukje rok. De stengelaaltjes uit de uien zijn 6-7 weken na inoculatie geëxtraheerd en uit de veldbonen 8-9 na weken na inoculatie.



Figuur 4.1. Inoculatie met stengelaaltjes en symptomen van de besmetting in ui (links) en boon (rechts).

4.2 Resultaten

Voor alle stengelaaltjespopulaties werd er vermeerdering waargenomen op tuinboon en in ui. In de eerste inoculatie op ui resulteerden populaties T1 en N1 niet in vermeerdering in dit gewas. Hierbij moet worden opgemerkt dat de extractie voor het maken van het betreffende inoculum maar weinig aaltjes opleverde, die niet erg beweeglijk waren. Dit gold ook voor het inoculum voor de eerste inoculatie van

populatie SB2, dat is verkregen uit ingedroogde suikerbiet. Voor de overige inoculaties was het inoculum goed, dat wil zeggen dat er ruim voldoende en beweeglijke aaltjes werden verkregen.

De stengelaaltjespopulaties afkomstig uit de akkerbouwgewassen suikerbiet, aardappel en ui konden zich goed vermeerderen op ui en tuinboon. Op tuinboon werd de grootste vermeerdering waargenomen: alleen uit tuinboon zijn aantallen van meer dan 100.000 aaltjes per plant geëxtraheerd. In ui leek de variatie in aantallen geëxtraheerde aaltjes wat groter, van een minder sterke vermeerdering tot rond 3000 aaltjes tot een vermeerdering tot rond 70.000 aaltjes per uienbol.

De populaties afkomstig uit narcis (N1) en tulp (T1) vermeerderden minder goed op zowel tuinboon als ui, waarbij de narcispopulatie niet vermeerderde op ui en zeer weinig op tuinboon. Dat laatste wordt bevestigd door de waarneming dat voor het inoculum op 11-8-23 zeer weinig aaltjes konden worden geëxtraheerd uit ingedroogde de tuinboon.

Omdat de variatie groot is en het aantal herhalingen klein is het niet zinvol om statistiek toe te passen op de data uit dit experiment.

*Tabel 4.1. Stengelaaltjespopulaties die zijn gebruikt voor het inoculeren van ui en boon om de vermeerdering te onderzoeken. De aantallen stengelaaltjes na extractie betreft het totaal aantal aaltjes dat uit de planten kon worden geëxtraheerd. * inoculum van mindere kwaliteit*

Inoculatie 11-8-2022			Aantal aaltjes na extractie		
Populatie	oorspronkelijk gewas	inoculum uit	ui 1	ui 2	boon
T1	tulp	boon*	0		
N1	narcis	boon*	0		
U1	ui	boon	43360	65460	
SB2	suikerbiet	suikerbiet*	2920		
Inoculatie 18-8-2022			ui 1	ui 2	boon
N1	narcis	narcis	100	0	1050
U8	ui	boon	36000	69400	48000
SB2	suikerbiet	boon	29700	11300	51350
A1	aardappel	boon	16200	58300	227500
Inoculatie 25-8-2022			ui 1	ui 2	boon
T1	tulp	boon	3900	6400	10800
U1	ui	boon	3800	33200	63500
U2	ui	boon	38100	74600	123750
SB3	suikerbiet	boon	11400	4000	121250

4.3 Conclusies

- Het aantal aaltjes dat kan worden verkregen na vermeerdering op tuinboon is in de meeste gevallen hoger dan na vermeerdering op ui. Daarmee lijkt de inoculatie op tuinboon de beste methode voor het vermeerderen van populaties afkomstig uit akkerbouwgewassen voor waardplanttoetsen in de toekomst. Mogelijk geeft een langere kweekduur op ui wel een hogere vermeerdering, maar dat is niet getoetst.
- Gebaseerd op dit experiment zou het verkrijgen van een grote hoeveelheid stengelaaltjes van een bloembollenpopulatie een probleem kunnen vormen. Om de waarneming dat deze populaties minder goed vermeerderen op tuinboon en ui te bevestigen zouden meer bloembollenpopulaties onderzocht moeten worden.

5 Vaststellen groeimedium bloembollen

Als groeimedium voor bloembollen in de kas wordt normaal een mengsel van potgrond met zand gebruikt (M. van Dam, persoonlijke communicatie, 2-2-2022). Proeven waarin aaltjes aan de grond worden toegediend worden bij voorkeur uitgevoerd in toetsgrond of in zand om de aaltjes na afloop weer te kunnen extraheren. Om de geschiktheid van toetsgrond als groeimedium voor tulp en narcis te bepalen, is de groei vergeleken met de groei in een mengsel van potgrond en zand.

5.1 Materiaal en methode

Potten van werden gevuld met 2,5 L van een mengsel van potgrond en kwartzand (85:15 op volumebasis) met 21% vocht (w/w) of toetsgrond met 15% vocht (w/w). Op 23 maart 2022 werden in elke pot vier tulpenbollen ('Ben van Zanten') of narcissenbollen ('Canaliculatus') geplant op een diepte van twee keer de bolgrootte. Ten tijde van planten waren de bollen al uitgelopen. De proef werd uitgevoerd in twee herhalingen. De potten werden tot 29 april 2022 (37 dagen) in een donkere koelcel bij 4°C bewaard om de bollen te laten bewortelen. Daarna werden de potten naar de kas verplaatst bij 20°C/16°C (16 uur licht/8 uur donker). Op 11 mei 2023, na twaalf dagen in de kas, werden de planten geoogst. De lengte van elke plant en het totaal versgewicht van de bollen en wortels per pot werden bepaald. De gegevens werden geanalyseerd met een Wilcoxon-toets in R.

5.2 Resultaten

Binnen een week na verplaatsen naar de kas stonden de planten in bloei. Er was geen significant verschil in stengellengte of totaalgewicht van bol en wortels van narcis en tulp tussen de twee media. Bij visuele inspectie van de wortelgroei was deze goed te noemen in toetsgrond (Figuur 5.1). De wortels van narcis waren waarschijnlijk aangetast door *Penicillium*.

Tabel 5.1 Groei van narcis en tulp in twee groeimedia.

Plant	Grond	Lengte stengel (cm)		Gewicht bol en wortels (g)	
		Gemiddeld	Standaardfout (se)	Gemiddeld	Standaardfout (se)
Narcis	Potgrond/zand	44,1	0,13	135,8	10,1
	Toetsgrond	36,6	1,63	121,7	5,9
Tulp	Potgrond/zand	46,6	1,13	50,7	3,14
	Toetsgrond	38,3	0,38	49,4	2,36



Figuur 5.1 Groei van tulp (boven) en narcis (onder) in een mengsel van potgrond en kwartzand (85:15; links) en in toetsgrond (rechts).

5.3 Discussie en conclusie

De groei van narcis en tulp in toetsgrond voldeed en vormt daarmee geen belemmering om proeven uit te voeren met stengelaaltjes. De groei van de wortels was minder goed in het mengsel potgrond/kwartzand dan in de toetsgrond. Mogelijk was het potgrondmengsel wat te vochtig. Om de groei van de wortels te kwantificeren, was het beter geweest om de bol en de wortels apart te wegen.

6 Ontwikkelen pottoetsmethode ter bepaling waardplantstatus

Voor het uitvoeren van een pottoets is het van belang om te weten 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). Daarbij wordt geen rekening gehouden met de natuurlijke wijze van infectie, die via een besmetting in de grond verloopt. Andere auteurs inoculeren in de grond, direct op of op korte afstand van het zaad (Elgin *et al.* 1975; Vreeburg *et al.* 2014; Storelli *et al.* 2021). Dit bleek geen betrouwbare methode te zijn om peen, ui en veldboon te infecteren met stengelaaltjes (Brinkman *et al.*, 2022). Bovendien staat deze methode ver af van de veldsituatie, waarbij de aaltjes verspreid in de grond voorkomen. Voor het bepalen van de waardplantstatus van gewassen voor *Globodera* spp. en *Meloidogyne* spp. is een methode ontwikkeld waarbij de nematoden verspreid in de grond worden toegediend (respectievelijk Beniers *et al.*, 2015 en Teklu *et al.*, 2015). Het uitgangspunt daarbij is om de veldsituatie zoveel mogelijk na te bootsen: de nematoden worden eerst toegediend aan de grond, waarna zaden worden gezaaid in een vergelijkbare dichtheid als in het veld. Aangezien de vermeerdering afhankelijk is van de begindichtheid, is het belangrijk om een reeks begindichtheden te toetsen (Seinhorst, 1964). In dit hoofdstuk is een experiment beschreven om deze methode van inoculeren in de grond toe te passen voor stengelaaltjes bij peen, ui en veldboon.

6.1 Materiaal en methoden

Potten met een inhoud van 2 L werden gevuld met een equivalent van 2 kg droge toetsgrond met een vochtgehalte van 15% (w/w; Bijlage 1). De grond werd via naalden geïnoculeerd met 12 dichtheden stengelaaltjes afkomstig uit narcis (populatie N1; vooral stadium J4): 0; 0,03125; 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16 en 32 per g droge grond. Dit komt overeen met een aantal van 0; 62,5; 125; 250; 500; 1000; 2000; 4000; 8000; 32000 en 64000 stengelaaltjes per 2 L-pot. Na het inoculeren werden de gewassen gezaaid: per pot 4 net gekiemde zaden peen ('Nerac'), of 4 ongekiemde zaden ui ('Hylander') of 2 zaden veldboon ('Banquis'). De zaden van peen werden twee dagen tevoren op filterpapier te kiemen gelegd, omdat de kieming van het zaad langer duurde dan van de andere gewassen. Per dichtheid en gewas werden 5 herhalingen ingezet. Dit resulteerde in 180 potten, die in de kas per dichtheid werden gerangschikt om kans op besmetting te verminderen. De kascondities waren 18-20°C overdag en 16°C 's nachts bij een daglengte van 16 uur en 68-70% relatieve luchtvochtigheid. De potten werden wekelijks gewogen en aangevuld met water tot een vochtgehalte van 15%, waarbij tussentijds de grond op een vochtgehalte van 12-15% werd gehouden. De planten werden geoogst na 17 weken. Het experiment werd uitgevoerd in de kas van Unifarm (WUR, Wageningen).

Tabel 6.1 Tijdschema van het experiment naar de vermeerdering van stengelaaltjes op peen, ui en veldboon.

Activiteit	Datum
Besmette narcis in de mistkast	02/12/2021
Datum van inoculeren van de grond	09/12/2021
Datum van planten	09/12/2021
Inoculatie na drie weken groei	30/12/2021
Oogst	04-05/04/2022

Bij de oogst werd de stengel van de plant afgeknipt en gewogen. Vanwege ruimtegebrek in de mistkast werden de potten met wortels gedurende 4 weken bij 4°C bewaard tot verdere verwerking. De wortels werden uit de grond gezeefd, goed afgespoeld met water, gedroogd en gewogen. De peen werd gewogen en geschild met een dunschiller. De stengel en de wortels van elke plant werden in stukjes van 0,5-1 cm lengte geknipt en in zeefjes gedaan. De zeefjes werden gedurende 4 weken in bakjes in een mistkast gezet. Elke week werd het water met de aaltjes in de bakjes afgetapt en bij 4°C bewaard.

De grond werd gemengd en er werd een submonster van 800 g afgewogen. De grond werd opgespoeld met een Seinhorsttrechter (Seinhorst, 1988). De suspensie met nematoden werd opgevangen en over een set van 7 zeven gegoten (diameter 16 cm, maaswijdte 50 µm). Na 24 uur werden de suspensies afgeschonken en bij 4°C bewaard. De stengelaaltjes werden geïdentificeerd en geteld bij een vergroting van 40 ×.

Het populatiedynamische Seinhorstmodel is gebruikt om de populatie-ontwikkeling van stengelaaltjes op de verschillende gewassen te beschrijven. De twee populatiedynamische parameters maximale vermeerdering (a) en maximale populatiedichtheid (M) zijn geschat volgens de vergelijking

$$P_f = M \times P_i / (P_i + M/a) \quad (1)$$

Dit is het model van Seinhorst voor migratoire nematoden met meerdere generaties per jaar (Teklu, 2018).

Om de gegevens te analyseren en te modelleren is gebruik gemaakt van R versie 4.2.1 (R Core Team, 2022) en RStudio® versie 2022.07.0 (RStudio Team, 2022). Het populatiedynamisch model van Seinhorst zoals beschreven door Schomaker & Been (2013) werd gefit om de relatie tussen P_i en P_f te beschrijven en de parameters van het model werden geschat. De inverse van de hessiaan (de matrix van de tweede-orde partiële afgeleiden van de functie) werd gebruikt om de standaardfout van de parameters te schatten. Het gemiddelde en de variantie van de P_f werd berekend na logaritmische transformatie van de gegevens, waarna de waarden werden terug getransformeerd naar de lineaire schaal. De logaritme van nul is niet te bepalen. Om toch met een P_f -waarde van nul te kunnen rekenen, werden nulwaarden vervangen door $0.5 \times P_{f_{\text{minimum}}}$ (de helft van de minimale niet-nulwaarde van het object).

Het effect van de P_i op het opbrengstverlies werd bepaald met het opbrengstverliesmodel van Seinhorst (1965, 1998). De parameters tolerantielimiet (T) en de relatieve minimumopbrengst (m) werden geschat.

$$Y = Y_{max} \times m + (1 - m) \times 0,95^{P_i/(T-1)} \quad \text{voor } P_i > T \quad (2)$$

$$Y = 1 \quad \text{voor } P_i \leq T \quad (3)$$

Tabel 6.2. Definitie van de parameters die werden gebruikt in het populatiedynamische model en het opbrengstverliesmodel van Seinhorst.

Term	Omschrijving	Dimensie
P_i	Nematodendichtheid bij planten/zaaien	aantal · (g droge grond) ⁻¹
P_f	Nematodendichtheid bij oogst	aantal · (g droge grond) ⁻¹
a	Maximale vermeerderingsfactor	-
M	Maximale populatiedichtheid	aantal · (g droge grond) ⁻¹
T	Tolerantielimit	aantal · (g droge grond) ⁻¹
m	Relatieve minimumopbrengst	-

6.2 Resultaten

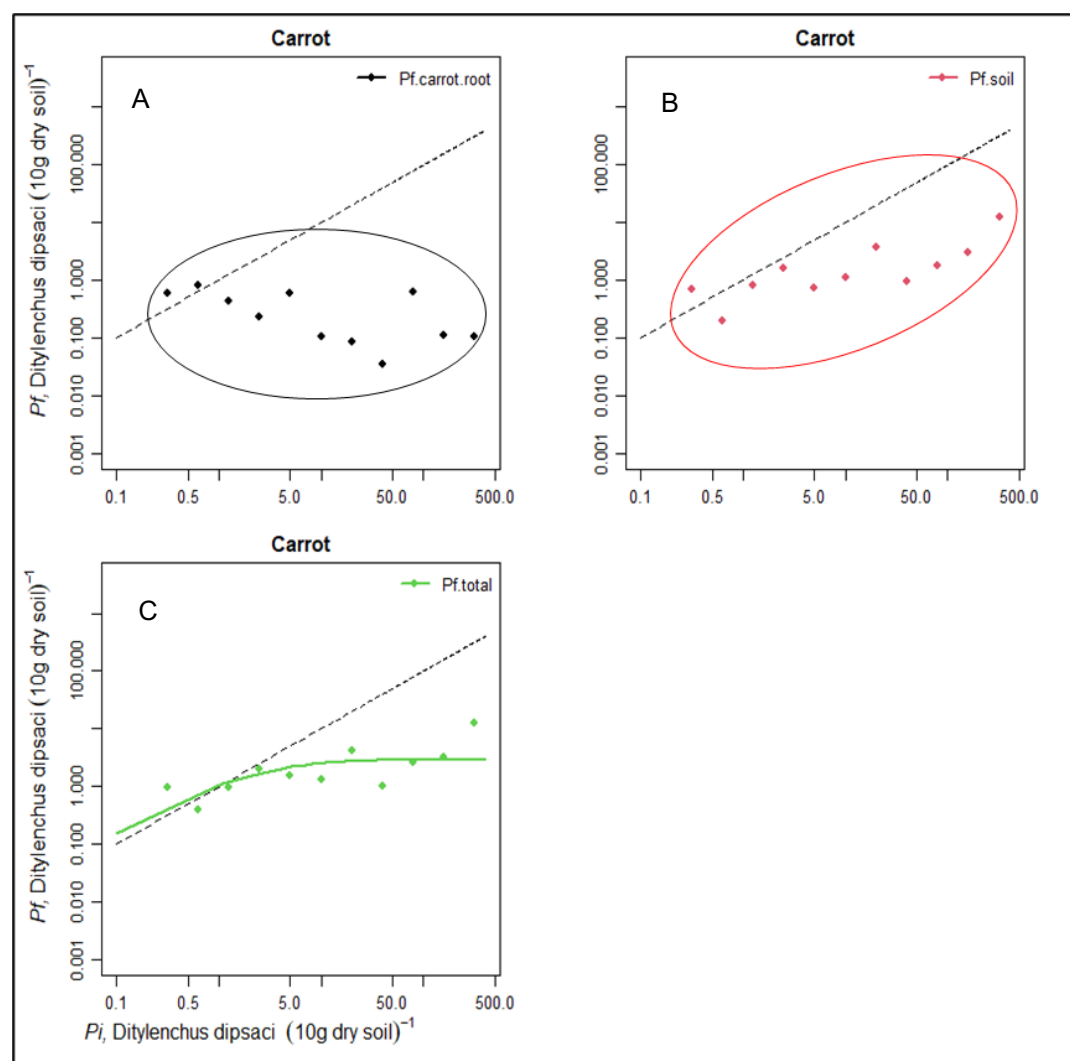
De stengelaaltjes werden zowel uit de stengel en de wortels van de plant geëxtraheerd als uit de grond. Het aandeel stengelaaltjes in de wortels en de grond was zelfs hoger dan in de stengel. Er werden verschillende levensstadia van de stengelaaltjes gevonden, wat aangeeft dat ze zich hebben vermeerderd in de plant. De begin- en einddichtheden van de aaltjes zijn weergegeven in grafieken, waarin een stippellijn de situatie weergeeft waarbij de begindichtheid gelijk is aan de einddichtheid (Figuren 6.1-6.3). Wanneer de einddichtheden beneden de stippellijn liggen, wordt een gewas als slechte waardplant beoordeeld.

De maximale vermeerdering a en populatiedichtheid M op peen was laag (Tabel 6.3). In de grafiek met begin- en einddichtheden ligt de door het model gefitte lijn beneden het equilibrium $P_f=P_i$ (Figuur 6.1). Dit geeft aan dat de stengelaaltjes zich niet of nauwelijks in het gewas hebben vermeerderd, wat betekent dat peen een slechte waardplant is voor de gebruikte populatie stengelaaltjes (N_1). Op ui werd de hoogste maximale populatiedichtheid bereikt en de gefitte lijn ligt grotendeels boven de lijn $P_f=P_i$; ui is een goede waardplant voor deze populatie stengelaaltjes (Tabel 6.3, Figuur 6.2). Op veldboon werd al bij de lagere begindichtheden de maximale populatiedichtheid bereikt, die hoog was (Tabel 6.3, Figuur 6.3). De gefitte lijn ligt boven het equilibrium $P_f=P_i$. Ook veldboon is een goede waardplant voor deze populatie stengelaaltjes. De fit van het model was beter wanneer het aantal stengelaaltjes uit de stengel, de wortels en de grond bij elkaar op werden geteld dan wanneer alleen het aantal aaltjes uit één van de drie compartimenten werden gebruikt.

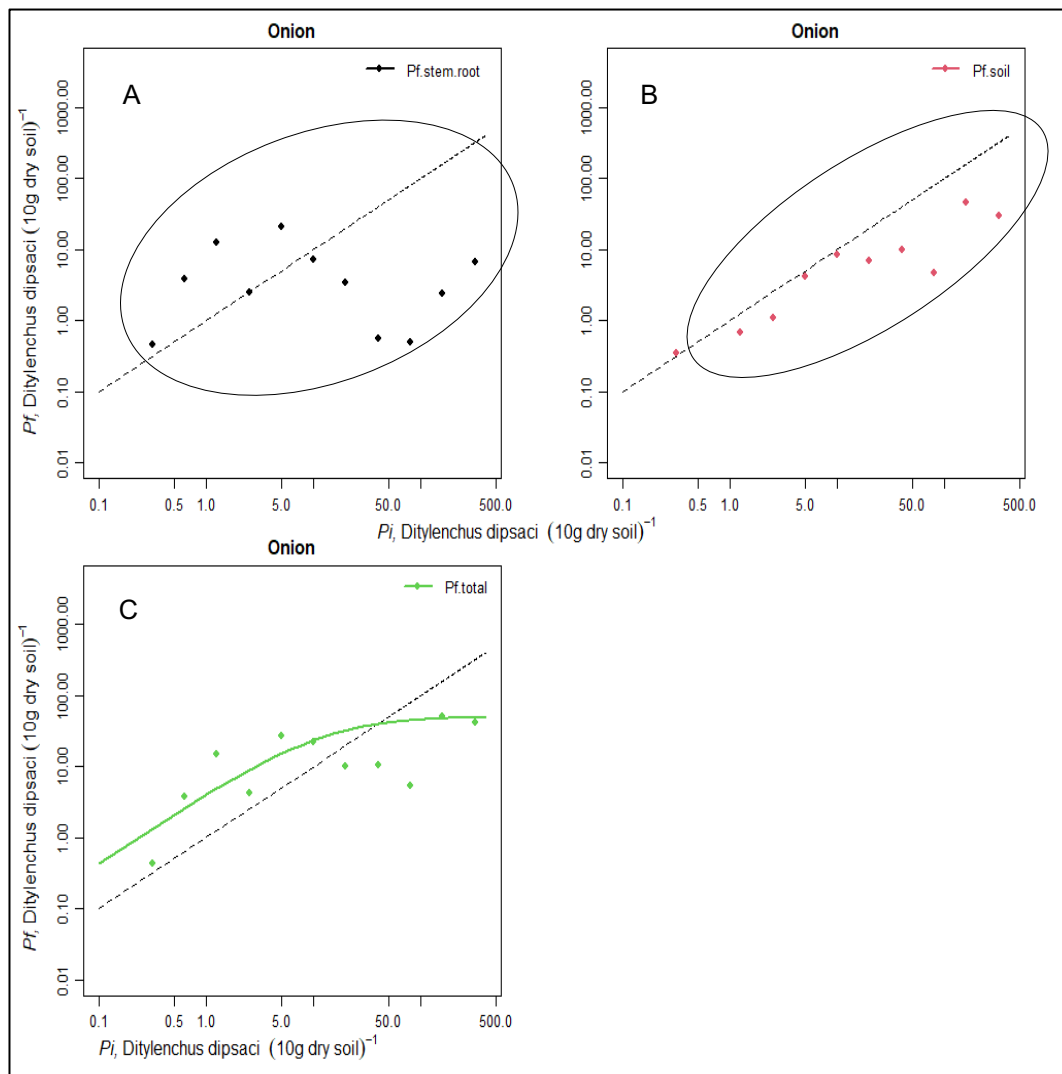
Tabel 6.3 Geschatte waarden van de parameters a (maximale vermeerdering) en M (maximale populatiedichtheid; aantal per g droge grond) van het populatiedynamicamodel van Seinhorst voor drie gewassen.

Gewas	a	M	SE_a	SE_M	R^2	N	Df
Peen	1,59	2,98	1,00	1,00	0,330	11	9
Ui	5,16	51,65	2,17	26,43	0,797	7	5
Veldboon	615,57	37,32	1223,15	4,88	-0,099	7	9

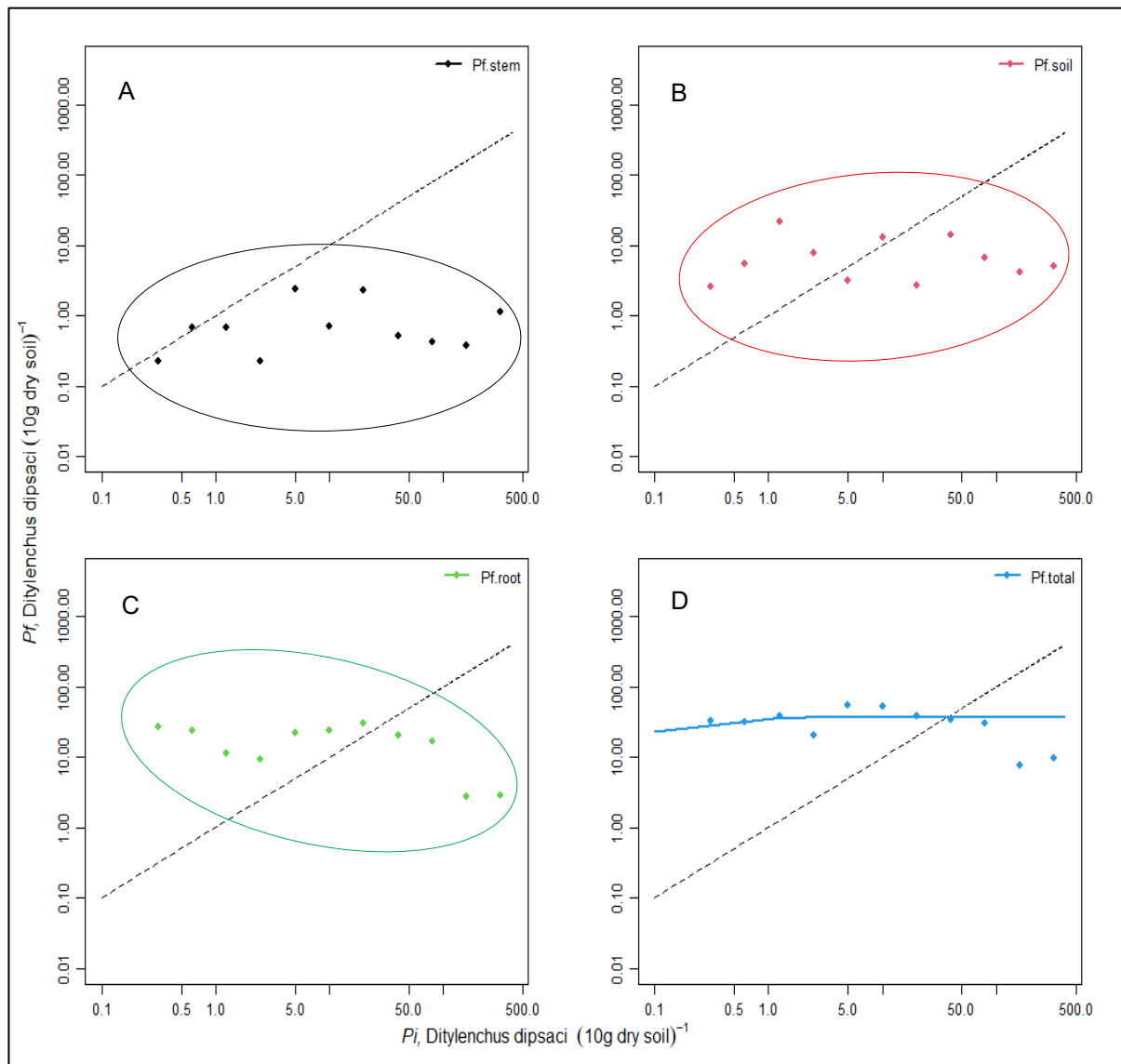
SE: Standaardfout, R^2 : determinatiecoëfficiënt (maat voor verklaarde variantie), N: aantal waarnemingen, Df: aantal vrijheidsgraden.



Figuur 6.1 Relatie tussen de begin- (P_i) en einddichtheid (P_f) van stengelaltjes 17 weken na inoculatie van peen. A) stengel en wortel, B) grond en C) totaal. De stippellijn geeft de situatie weer waarin de P_f gelijk is aan de P_i .



Figuur 6.2 Relatie tussen de begin- (Pi) en einddichtheid (Pf) van stengelaaltjes 17 weken na inoculatie van ui. A) stengel en wortel, B) grond en C) totaal. De stippellijn geeft de situatie weer waarin de Pf gelijk is aan de Pi.



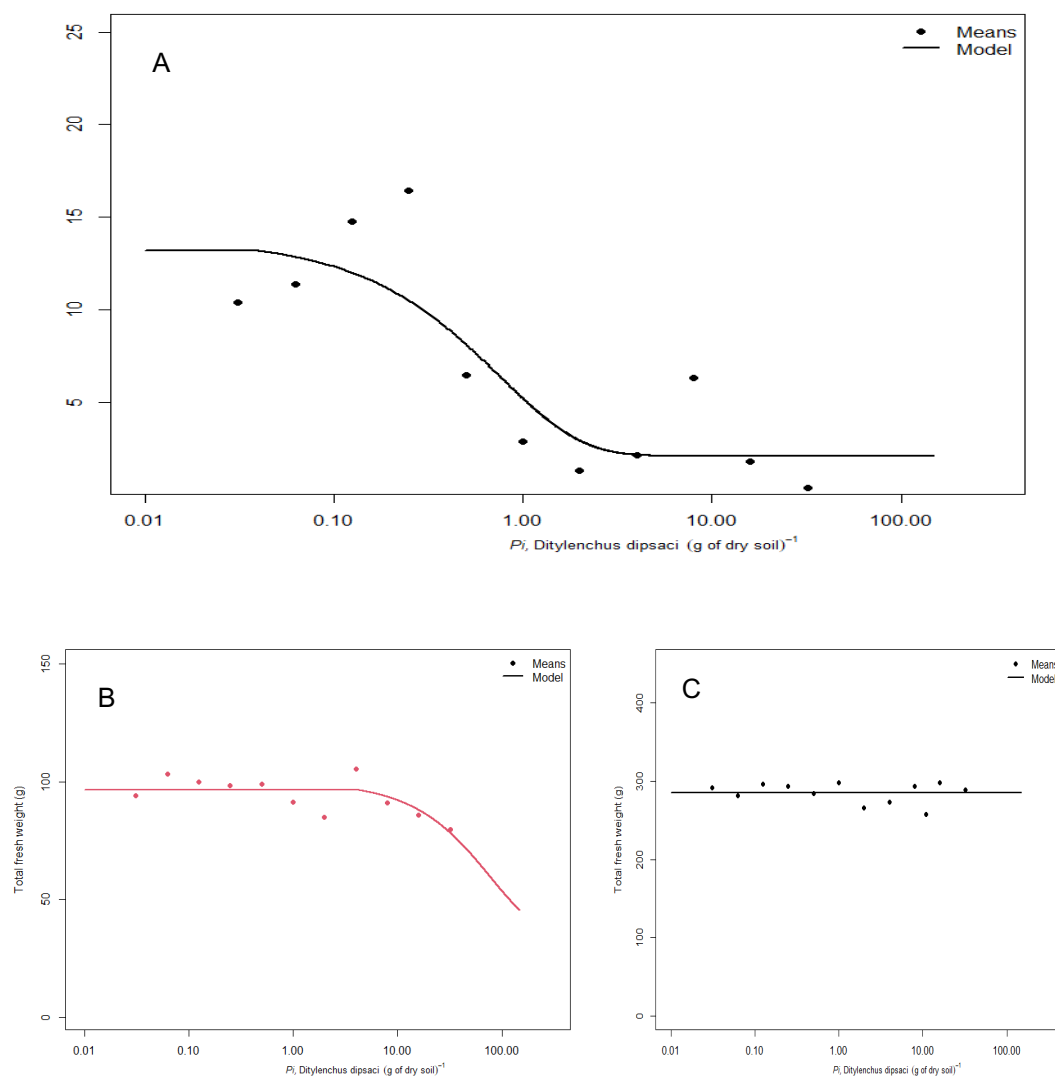
Figuur 6.3 Relatie tussen de begin- (P_i) en einddichtheid (P_f) van stengelaaltjes 17 weken na inoculatie van veldboon. A) stengel, B) grond, C) wortel en D) totaal. De stippellijn geeft de situatie weer waarin de P_f gelijk is aan de P_i .

Bij de twee hoogst getoetste dichtheden overleefden de uien niet, maar de veldboon en peen wel. Uit het opbrengstverliesmodel van Seinhorst bleek dat de tolerantielimiet van ui voor stengelaaltjes zeer laag was: de opbrengst begon al af te nemen bij de laagst getoetste dichtheden en de geschatte minimale opbrengst was slechts 16% van de maximale opbrengst (Tabel 6.4, Figuur 6.4A). Voor peen werd nauwelijks opbrengstverlies gevonden (Figuur 6.4B). Voor veldboon was het niet mogelijk om het model te gebruiken, omdat de punten op een rechte lijn liggen. De lijn is horizontaal, wat betekent dat er geen opbrengstverlies was (Figuur 6.4C).

Tabel 6.4 Geschatte waarden van de parameters T (tolerantielimiet; aantal per g droge grond) en m (relatieve minimumopbrengst) van het opbrengstverliesmodel van Seinhorst voor drie gewassen. Waarden zijn gebaseerd op het totale versgewicht.

Gewas	T	m	Y_{\max}	$SE Y_{\max}$	SE_T	SE_m	R^2	N	Df
Peen	4,00	0,37	96,62	2,56	0,84	1,27	0,41	11	8
Ui	0,039	0,16	13,20	1,94	0,02	0,13	0,70	12	9

SE: Standaardfout, R^2 : determinatiecoëfficiënt (maat voor verklaarde variantie), N: aantal waarnemingen, Df: aantal vrijheidsgraden.



Figuur 6.4 Relatie tussen de begindichtheid van stengelaaltjes en het totaal versgewicht (g) van de plant 17 weken na inoculatie van A) ui, B) peen en C) veldboon.

6.3 Discussie en interpretatie

Met dit experiment hebben we laten zien dat het mogelijk is om een waardplanttoets uit te voeren met een reeks begindichtheden van stengelaaltjes. Dezelfde opzet en condities als voor toetsen met *Globodera* spp. en *Meloidogyne* spp. bleken te voldoen voor deze toets naar de waardplantstatus voor stengelaaltjes. Hierbij wordt uitgegaan van nematoden die aan de grond worden toegediend, zodat de resultaten te vergelijken zijn met gegevens van veldbemonsteringen. De gedachtegang hier achter is om zoveel mogelijk de condities in het veld na te bootsen:

- Inoculeer eerst de nematode, zaai of plant dan het gewas.
- Bereken het aantal zaden per pot aan de hand van de zaaidichtheid in het veld en de oppervlakte van de pot.
- Gebruik een voldoende grote pot.
- Gebruik grond met een groot watervasthoudend vermogen waaruit de aaltjes goed zijn te extraheren (toetsgrond; Bijlage 1).
- Standaard groeicondities voldeden (18-20°C overdag en 16°C 's nachts bij een daglengte van 16 uur en 68-70% relatieve luchtvochtigheid).
- Het wordt aanbevolen om de toets op een andere plaats te herhalen om de algemene bruikbaarheid van de methode te bepalen.

Vooraf bij veldboon bevond een groot aantal stengelaaltjes zich in de wortels en de grond. Aangezien ook in de grond verschillende stadia van de stengelaaltjes werden gevonden, zullen deze zich na vermeerdering in de plant naar de grond hebben verplaatst. Om een goede indruk te krijgen van de populatiedichtheid is het dus belangrijk om de einddichtheid te bepalen in de stengel, maar ook in de wortels en in de grond. Het is ongebruikelijk dat stengelaaltjes in de wortels van planten worden gerapporteerd, maar niet voor het eerst. Ook in een experiment met haver werden stengelaaltjes in de wortels gevonden (Blake, 1962).

Uit de relatie tussen begin- en einddichtheid bij een reeks begindichtheden is de waardplantstatus van een gewas af te leiden. Wanneer de einddichtheid lager is dan de begindichtheid, wordt een gewas als slechte waardplant geclassificeerd. Wanneer de einddichtheid veel hoger is dan de begindichtheid, wordt een gewas als goede waardplant beoordeeld. Wanneer de einddichtheid slechts iets hoger is dan de begindichtheid of er alleen vermeerdering optreedt bij lage begindichtheden, wordt een gewas als matige waardplant gezien. De vermeerdering van de gebruikte populatie stengelaaltjes (afkomstig uit narcis; N1) op ui en veldboon was hoog en de gewassen lieten een hoge einddichtheid na. Daarmee waren ui en veldboon goede waardplanten. Het is dus niet aan te raden deze gewassen te telen vóór een gevoelig gewas. Dit komt overeen met de inzichten van Seinhorst (1964) en het advies in Aaltjesschema. Peen cultivar 'Nerac' was een slechte waardplant voor de gebruikte populatie afkomstig uit narcis. In Aaltjesschema is het gewas bekend als een matige waardplant; mogelijk kunnen andere populaties zich er beter op vermeerderen.

7 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 ook in 2022 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 dichtheid stengelaaltjes in de grond laag en daarmee de kans om ze uit de grond te extraheren 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 2023 zal opnieuw aandacht worden gevraagd voor het melden van stengelaaltjesschade in verschillende gewassen.

Optimaliseren extractie stengelaaltjes uit grondmonsters

Het is niet gelukt om de efficiëntie van de zonale centrifuge methode voor het extraheren van inactieve stengelaaltjes te bepalen. Hiertoe was een methode nodig om stengelaaltjes in deze 'rusttoestand' te verkrijgen zonder dat ze in water meteen actief worden. Ondanks diverse pogingen is het niet gelukt om stengelaaltjes lang genoeg inactief te houden.

Ontwikkeling van de pottoets

Voor het vermeerderen van populaties stengelaaltjes is gebruik gemaakt van twee methoden: inoculatie in uienbollen en in bladoksels van veldboon. Beide methoden bleken te voldoen voor populaties afkomstig uit akkerbouwgewassen (aardappel, suikerbiet en ui). De vermeerdering van populaties afkomstig uit bloembollen (narcis en tulp) was minder goed.

Er is een methode getoetst om de waardplantstatus voor stengelaaltjes te bepalen door een reeks van verschillende dichtheden te inoculeren in een toetsgrond en daarna gekiemd zaad te planten. De planten werden onder normale groeiomstandigheden (18-20°C overdag en 16°C 's nachts bij een daglengte van 16 uur en 68-70% relatieve luchtvochtigheid) in de kas opgekweekt. Met deze methode werd een consistente infectie met stengelaaltjes bereikt. De populatiedynamische en opbrengstverliesmodellen van Seinhorst beschreven de gevonden einddichtheden en het effect op de groei van de planten goed. Het verdient aanbeveling om de toets op een andere locatie te herhalen om een uitspraak te kunnen doen over algemene bruikbaarheid van de methode.

8 Literatuur

- Aaltjesschema. <https://www.aaltjesschema.nl> (geraadpleegd op 26-06-2023).
- Beniers, J.E., Teklu, M. G., Been, T.H. & Schomaker, C.H., 2015. Standard Operating Procedures (SOP); Methods for the estimation of partial resistance in the glasshouse of potato cultivars/genotypes against Potato Cyst Nematodes. Wageningen Research, Wageningen.
- 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>
- Blake, C.D., 1962. The etiology of tulip-root disease in susceptible and in resistant varieties of oats infested by the stem nematode, *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev: I. Invasion of the host and reproduction by the nematode. *Annals of Applied Biology*, 50, 703-712.
- Brinkman, P., Kombrink, A., Teklu, M.G., 2021. Stengelaaltjes: populaties, extractie en ontwikkelen pottoets; Rapportage proefjaar 2020. Holland Onion Association, Zoetermeer. Uireka rapport 2021-05. https://uireka.nl/wp-content/uploads/2021/06/rapport_2021-05_stengelaaltjes.pdf
- Brinkman, P., Kombrink, A., Teklu, M.G., Molendijk, L., 2022. Stengelaaltjes: populaties, extractie en ontwikkelen waardplanttoets. Rapportage proefjaar 2021. Holland Onion Association, Zoetermeer. Uireka Rapport 2022-04. https://uireka.nl/wp-content/uploads/2022/07/Rapport_2022-04_stengelaaltjes.pdf
- 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.
- EPPO, 2021. PM 7/148 (1) Guidelines for the management of nematode collections used for the production and maintenance of reference material. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, (51), 507-548. DOI: 10.1111/epp.12798
- Molder, D. M. te, Ruitenbeek, J. S. van de, Riksen, J. A. G., Bakker, J., Smant, G., & Sterken, M. G. (2022). *Unravelling the race complex: A first look Into the population genetics of the stem nematode Ditylenchus dipsaci*. Poster session presented at ICN 2022 7th International congress of Nematology, Antibes Juan-les-Pins, France.
- R Core Team, 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Robertson, D., 1928. Observations on the disease of oats caused by the stem eelworm *Anguillulina dipsaci* (Kühn, 1857). *Annals of Applied Biology*, 15, 488-498.
- RStudio Team, 2022. RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio, PBC, Boston, MA. URL <http://www.rstudio.com/>.
- Schomaker, C.H. & Been, T.H., 2013. Plant growth and population dynamics. In: Perry, R.N. & Moens, M. (Eds). *Plant nematology*, 2nd edition. Wallingford, UK, CAB International, pp. 301-330
- Seinhorst, J.W., 1964. Kwantitatief onderzoek over plantenparasitaire aaltjes. Intern IPO rapport.
- Seinhorst, J.W., 1965. The relation between nematode density and damage to plants. *Nematologica*, 11, 137-154.

- Seinhorst, J.W., 1988. The estimation of densities of nematode populations in soil and plants. *Växtskyddsrapporter Jordbruk*, 51, 47-68.
- Seinhorst, J.W., 1998. The common relation between population density and plant weight in pot and micro plot experiments with various nematode plant combinations. *Fundamental and Applied Nematology*, 21 (5), 459-468.
- 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., 2018. Quantitative studies on potato genotypes and fodder radish varieties resistant to the root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi*. PhD thesis, Wageningen University and Research.
- Teklu, M.G., Beniers, J.E., Been, T.H. & Schomaker, C.H., 2015. Standard Operating Procedures (SOP); Methods for the estimation of partial resistance in the glasshouse of potato cultivars/genotypes against Root-knot Nematodes. Wageningen Research, Wageningen.
- Teklu, M.G., Brinkman, P., Molendijk, L., 2022. Effect van bodemgesteldheid op de activiteit en de infectieusiteit van stengelaaltjes (*Ditylenchus dipsaci*); Resultaten uit literatuuronderzoek. Holland Onion Association, Zoetermeer. Uireka rapport 2021-08, https://uireka.nl/wp-content/uploads/2022/03/rapport_2021-08_stengelaaltjes_bodemgesteldheid.pdf
- Viaene, N., Hallmann, J. & Molendijk, L.P.G., 2021. Methods for nematode extraction, in: Perry, R.N., Hunt, D. & Subbotin, S.A. (Eds.), *Techniques for work with plant and soil nematodes*. CABI Wallingford UK, pp. 12-41.
- Vreeburg, P., Dees, R., van Doorn, J. & de Boer, A., 2014. *Ecologie stengelaaltjes*. PPO Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit.
- Wallace, H.R., 1962. Observations on the behaviour of *Ditylenchus dipsaci* in soil. *Nematologica*, 7, 91-101.
- 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.
- Yavuzaslanoğlu, 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

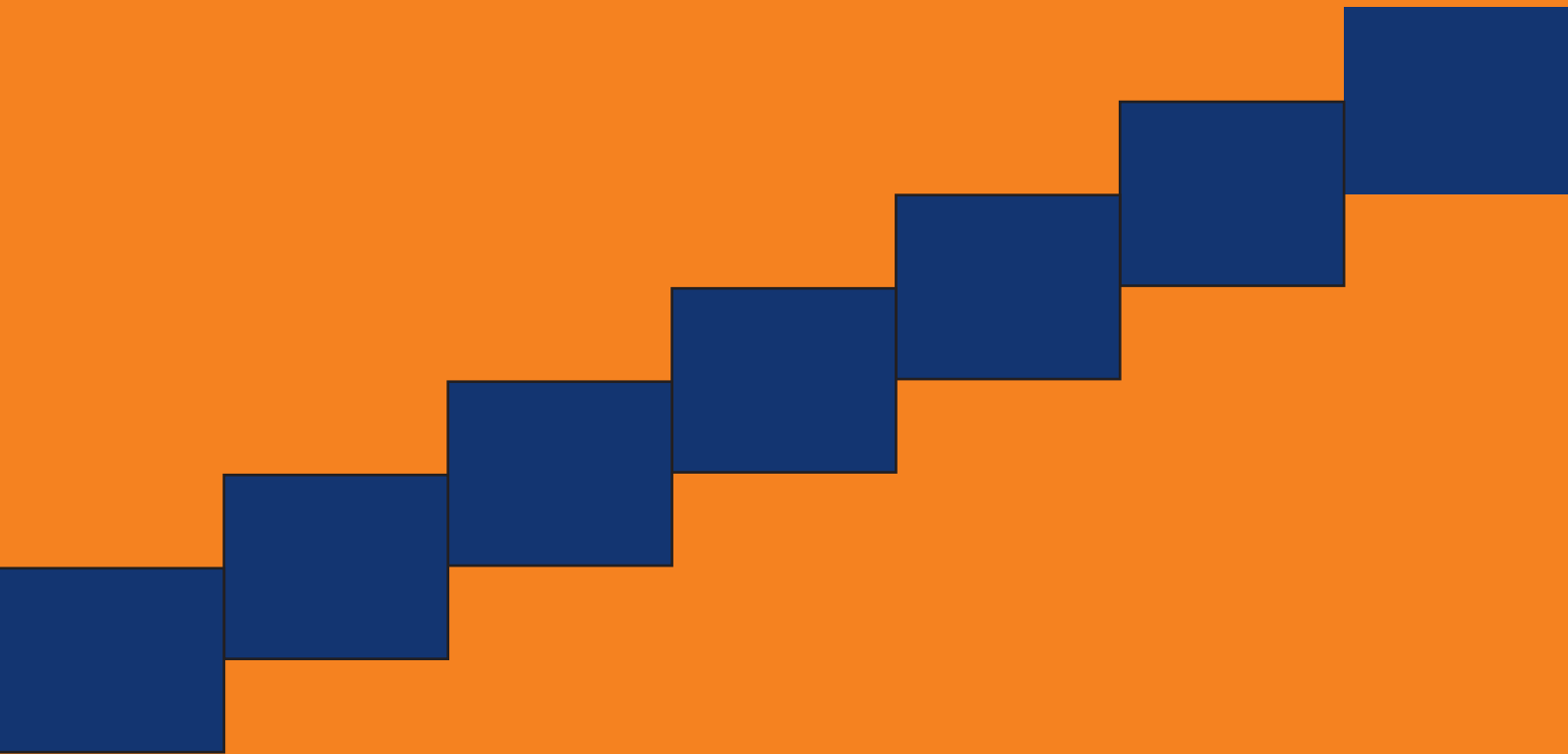
Bijlage 1 Samenstelling toetsgrond

Tabel 1. Samenstelling toetsgrond (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	
F	IJzer: 0.1 %-oplossing	(1 g/L)	Eerst oplossen in water, anders ontstaat er neerslag Fe (DTPA) pH 7 (= ijzer cheleerder). Koel bewaren, Firma Brinkman b.v., Postbus 95, 's-Gravenzande).



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

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



is part of



www.uireka.nl

Ulreka 2.0 wordt mede mogelijk gemaakt door:



+ meer dan 70 ketenpartners!

