

Beheersing van valse meeldauw in zonnebloemen; teeltmaatregelen

Auteurs: Roselinde Duyvesteijn, Suzanne Breeuwsma, Jan van der Bent,
Frank van der Helm en Marjan de Boer

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Bollen, Bomen en Fruit
April 2009
PPO 32 340697 00 / PT 13316

© 2009 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veeelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.



PPO projectnummer: 32 340 697 00

PT projectnummer: 13316

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Bollen, Bomen en Fruit

Adres : Prof. van Slogterenweg 2, Lisse

: Postbus 85, 2160 AB Lisse

Tel. : 0252 – 46 21 21

Fax : 0252 – 46 21 00

E-mail : infobollen.ppo@wur.nl

Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	5
1 ALGEMENE INLEIDING.....	7
2 OPTIMALE INFECTIE OMSTANDIGHEDEN	9
2.1 Materiaal en Methode.....	9
2.1.1 Optimale temperatuur en luchtvochtigheid	9
2.1.2 Vochtgehalte van de grond	9
2.2 Resultaten.....	10
2.2.1 Optimale temperatuur en luchtvochtigheid	10
2.2.2 Vochtgehalte grond.....	11
2.3 Conclusies	12
3 VERSPREIDING VIA DE LUCHT OF GROND.....	13
3.1 Materiaal en Methode.....	13
3.1.1 Bodemtransport	13
3.1.2 Transport via de lucht	14
3.2 Resultaten.....	15
3.2.1 Transport via de bodem	15
3.2.2 Luchttransport.....	16
3.3 Conclusies	17
4 OÖSPORE VORMING	19
4.1 Materiaal en Methode.....	19
4.2 Resultaten.....	20
4.3 Conclusies	22
5 WAARDPLANTEN	23
5.1 Materiaal en Methode.....	23
5.2 Resultaten en conclusie.....	24
6 CONCLUSIES EN ADVIEZEN.....	25
7 COMMUNICATIE.....	27
BIJLAGE 1 MATERIAAL EN METHODE BIOTOETSEN.....	29
BIJLAGE 2 RESULTATEN ROL VAN GRONDBESMETTING.....	31

Samenvatting

Valse meeldauw is het grootste ziekteprobleem in de zonnebloemteelt. Het wordt veroorzaakt door de oömyceet *Plasmopara halstedii*, een bodemgebonden ziekte. Valse meeldauw kan tot tien jaar in de grond overleven als rustspore. In de bodem kan valse meeldauw onder natte omstandigheden via jonge wortels de kiemplant infecteren. Bij infectie vanuit de bodem, de zogenaamde systemische infectie, zijn er verschillende symptomen zichtbaar. De planten blijven achter in groei, bladeren vergelen en bij een zware aantasting kan de plant afsterven. Als een plant is aangetast en op de bladeren nieuwe sporen worden gevormd verspreiden deze sporen zich via de lucht. Ze veroorzaken een bovengrondse aantasting waarbij onregelmatige bladvlekken ontstaan. Beide soorten infecties leiden tot verminderde kwaliteit van de bloemen en met name de systemische infectie leidt tot verminderde productie. Meer dan 50% uitval is meermalen voorgekomen.

Zowel in de gangbare teelt, als in de biologische teelt waarbij geen chemische ingreep mogelijk is, wordt het probleem steeds groter. Werkzame fungiciden zijn voorsnog in de teelt niet toegelaten en coaten van zaad met fungiciden werkt niet afdoende. Er is daarom gezocht naar een geïntegreerde aanpak voor valse meeldauw in zonnebloem met de nadruk op niet-chemische maatregelen. Deze aanpak wordt zowel gefinancierd door LNV (BO-Plantgezondheid en BO-Biologisch) als door PT.

In het PT project zijn de volgende vragen onderzocht:

- Wat is de optimale temperatuurreeks en vochtigheidsreeks voor kieming van oösporen en de infectie door zoösporen in de grond?. Als dit bekend is kan hiermee bij het bepalen van zaaitijdstippen rekening worden gehouden.
- Hoe groot is de rol van verspreiding van zoösporen via de grond en de lucht? Als dit bekend is kan hiermee rekening worden gehouden bij de perceelsindeling voor de verschillende zittingen zonnebloemen.
- Zijn er mogelijkheden om de oösporenvorming te voorkomen? Als er mogelijkheden zijn om de vorming van oösporen te voorkomen kan hiermee besmetting van een perceel worden voorkomen.
- Zijn er meer gewassen waardplant voor *Plasmopora halstedii* in zonnebloem? Zijn ook onkruiden potentiële waardplanten? Als er andere planten dan zonnebloem waardplant zijn voor *Plasmopora halstedii* moet hiermee in de vruchtwisseling en eventueel onkruidbestrijding rekening worden gehouden.

Het volgende is gevonden:

- Een hoge relatieve luchtvochtigheid bevordert infectie van zonnebloemzaailingen door valse meeldauw. Dit geldt zowel voor zoösporen als voor oösporen.
- De temperatuur speelt bij een hoge relatieve luchtvochtigheid een ondergeschikte rol, zelfs bij 10°C kan bij een hoge luchtvochtigheid een behoorlijke infectie plaatsvinden.
- Bij een lage relatieve luchtvochtigheid speelt temperatuur een belangrijke rol. De infectie verloopt dan het meest optimaal bij 20°C.
- In een natte grond is er veel meer infectie van zaailingen dan in een droge grond.
- Zoösporen in besmette grond zijn niet in staat 'grote' afstanden af te leggen in de grond en veroorzaken geen grote verspreiding naar onbesmette grond.
- Zoösporen kunnen zich via de lucht goed verspreiden naar niet besmette grond en zo een behoorlijke nieuwe infectie geven.
- Door de lucht verspreide zoösporen veroorzaken zowel systemische infecties in zaailingen als bladvlekken op oudere planten.
- Oösporen kunnen massaal in wortels en stengels van kiemplanten worden gevormd.
- De factoren die oösporenvorming op gang brengen zijn nog niet bekend maar kunnen kou en/of (bijna) dood materiaal zijn.
- In de waardplantproeven zijn helaas nog geen resultaten geboekt. Er kon geen goede infectie worden bereikt in de gekozen proefopzet.

Bovenstaande resultaten zijn verwerkt in adviezen naar telers.

1 Algemene inleiding

Valse meeldauw is een zeer groot probleem in de zonnebloemteelt en kan grote verliezen aanrichten. De veroorzaker van valse meeldauw is de oömyceet *Plasmopara halstedii*. Het is een grondgebonden ziekte omdat deze oömyceet rustsporen maakt (oösporen), de zogenaamde oösporen, die tot 10 jaar kunnen overleven in de grond. Aan het begin van het groeiseizoen kiemen de oösporen en infecteren ze jonge zonnebloem plantjes door de wortels binnen te dringen. Deze zgn. systemisch geïnfecteerde planten kunnen achterblijven in groei en vergelen. Maar het meest opvallend zijn de witte poederachtige plekken onderaan de bladeren. Dit zijn de zoösporangia met daarin de zoösporen. Deze sporen veroorzaken een secundaire infectie tijdens het groeiseizoen. Ze verspreiden zich via de lucht. Als ze op de grond terecht komen bv. met regen kunnen ze opnieuw jonge zonnebloem plantjes infecteren. Daarnaast kunnen deze zoösporen ook (niet – systemische) infecties op het blad veroorzaken die in het veld te zien zijn als onregelmatige bladvlekken.

Beide soorten infecties leiden tot verminderde kwaliteit van de bloemen en met name de systemische infectie leidt tot verminderde productie. Meer dan 50% uitval is meermalen voorgekomen. Het probleem lijkt steeds groter te worden.

Werkzame fungiciden zijn vooralsnog nauwelijks voor de teelt beschikbaar. In onderzoek wordt gewerkt aan een breder pakket middelen, maar de verwachting is dat de ziekte met alleen middelen niet beheerst kan worden. Er is bij de telers grote behoefte aan meer kennis over de leefwijze van valse meeldauw onder Nederlandse omstandigheden om tot methoden te komen, waarmee zowel systemische infectie als bladvlekken zijn te voorkomen.

De doelstelling van dit project is het vaststellen van effectieve teeltmaatregelen om valse meeldauw in zonnebloem te beheersen. Hiertoe is de epidemiologie van valse meeldauw in zonnebloemen onder Nederlandse omstandigheden verder onderzocht door de volgende onderzoeksvragen te stellen:

Onderzoeksvraag 1:

Wat is de optimale temperatuurreeks en vochtigheidsreeks voor kieming van oösporen en de infectie door zoösporen in de grond? Als dit bekend is kan hiermee bij het bepalen van zaaitijdstippen rekening worden gehouden.

Onderzoeksvraag 2:

Hoe groot is de rol van verspreiding van zoösporen via de grond en de lucht? Als dit bekend is kan hiermee rekening worden gehouden bij de perceelsindeling voor de verschillende zette zonnebloemen.

Onderzoeksvraag 3:

Zijn er mogelijkheden om de oösporenvorming te voorkomen?

Als er mogelijkheden zijn om de vorming van oösporen te voorkomen kan hiermee langjarige besmetting van een perceel worden voorkomen.

Onderzoeksvraag 4:

Zijn er meer gewassen waardplant voor *Plasmopora halstedii* in zonnebloem? Zijn ook onkruiden potentiële waardplanten.

Als er andere planten dan zonnebloem waardplant zijn voor *Plasmopora halstedii* moet hiermee in de vruchtwisseling en eventueel onkruidbestrijding rekening worden gehouden.

2 Optimale infectie omstandigheden

Meer inzicht in de optimale infectie omstandigheden van *P. halstedii* kan leiden tot een zaaiadvies. Onder slechte omstandigheden kan het zaaien bijvoorbeeld worden uitgesteld. Het is nog onduidelijk wat precies de optimale infectieomstandigheden van valse meeldauw zijn. Er is tot op heden alleen bekend dat natte en koude periodes de infecties van valse meeldauw verergeren. Het is daarnaast ook niet bekend of er een verschil is in optimale infectie condities tussen twee soorten sporen (de oösporen en de zoösporen) van valse meeldauw.

In dit hoofdstuk wordt beschreven of door het simuleren van verschillende groeiomstandigheden meer inzicht te krijgen is in de optimale infectie omstandigheden van valse meeldauw. Zo is met behulp van biotoetsen gekeken naar de invloed van temperatuur in combinatie met een hoge of lage luchtvochtigheid op de infectiegraad van valse meeldauw sporen. Daarnaast is er ook gekeken naar de invloed van droge, vochtige of natte grond op de infectie.

2.1 Materiaal en Methode

Biotoetsen

De biotoetsen zijn uitgevoerd volgens het beschreven protocol in bijlage 1. Wijzigingen in het protocol en specifieke omstandigheden staan hieronder per proef vermeld.

2.1.1 Optimale temperatuur en luchtvochtigheid

Om de optimale temperatuur en vochtigheid vast te stellen is gebruik gemaakt van klimaatkasten die de omstandigheden zeer nauwkeurig kunnen houden gedurende de biotoets. In de biotoetsen zijn verschillende temperaturen (10°C, 16°C en 20°C) in combinatie met verschillende luchtvochtigheden (droog (60%) en vochtig (100%) getest. Er was oorspronkelijk gekozen voor 5°C als laagste temperatuur maar hierbij kiemen de zaden niet. Drie klimaatkasten zijn ingesteld met de drie verschillende temperaturen en met een luchtvochtigheid van 60%. De bakjes met de zonnebloem zaadjes werden per stuk verpakt in een plastic zak om op deze manier 100% luchtvochtigheid te creëren. Per temperatuur/luchtvochtigheid combinatie zijn vier herhalingen ingezet.

Twee weken na planten werd het kiemingspercentage bepaald van de zonnebloemzaden. Vervolgens zijn de bakjes die bij 16°C en 20°C zijn weggezet in een plastic zak verpakt om sporulatie te induceren (daarvoor is hoge luchtvochtigheid en een donkere periode nodig). Daarna is het aantal zieke zaailingen gescoord.

De bakjes van 10°C hebben eerst twee weken bij 5°C gestaan en vervolgens 2 weken bij 10°C aangezien de planten bij 5°C niet kiemden. Vervolgens zijn ook deze bakjes in een plastic zak verpakt om sporulatie te induceren en het aantal zieke zaailingen te scoren.

De grond waarin de zonnebloemenzaden zijn gezaaid zijn is besmet met zoösporen of oösporen.

Zoösporen: Om te kijken hoe infectieus de zoösporen onder deze condities zijn, zijn aan onbesmette grond (tuingrond van PPO proeftuin) 2.5×10^3 zoösporangia/ml grond toegevoegd. Daarnaast is 8 gram gesporuleerd bladmateriaal door de grond gewerkt. Ter controle is de onbesmette grond gebruikt.

Oösporen: Voor het testen van de oösporen is nieuw besmette grond van 2008 en 1 jaar oude besmette grond gebruikt.

2.1.2 Vochtgehalte van de grond

Het vochtgehalte van de tuingrond van PPO (onbesmet) is bepaald door het te drogen in een stoof bij 70° C voor twee dagen. Daarna is de helft van de grond besmet door een suspensie toe te voegen van zoösporangia resulterend in 2.5×10^3 zoösporangia/ml grond en 8 gram gesporuleerd bladmateriaal per

bakje. Daarnaast is ook het vochtgehalte van 1 jaar gerijpte besmette grond bepaald. Vervolgens is de onbesmette, besmette of 1 jaar gerijpte besmette grond verdeeld over de biotoets bakjes en is het vochtgehalte aangevuld tot 12.5, 20 of 30%. Om de vochtpercentages zo veel mogelijk gelijk te houden werd om de een á twee dagen het vochtgehalte aangevuld. De helft van de bakjes werd direct gezaaid; de andere helft werd pas na 1 week gezaaid. Door deze laatste behandeling kan worden vastgesteld of de zoösporen en oösporen de verschillende vochtgehalten in de grond kunnen overleven gedurende 1 week zonder zaailingen. De biotoets is in de kas ingezet bij 18-20°C. Echter de temperatuur is hoger geweest door warmte van buiten.

Twee weken na het zaaien van de zonnebloemzaden zijn de bakjes voor 1 nacht individueel ingepakt in plastic zakken. Daarna is het aantal zieke planten gescoord. Dit is nogmaals herhaald na zeven dagen omdat bij de bakjes die direct gezaaid waren geen ziekte symptomen ontwikkeld waren. Alle bakjes zijn vervolgens opnieuw overnacht ingepakt en de volgende dag gescoord.

2.2 Resultaten

2.2.1 Optimale temperatuur en luchtvochtigheid

De optimale infectie omstandigheden van valse meeldauw zijn vastgesteld door biotoetsen uit te voeren bij verschillende temperaturen en luchtvochtigheden. Er is in de biotoetsen gekeken naar het aantal zaailingen met valse meeldauw symptomen (sporulatie op het blad). Dit is omgerekend naar het percentage zieke zaailingen. Omdat van de grondsoorten die oösporen bevatten niet duidelijk is hoeveel oösporen erin zitten, is het niet mogelijk de grondsoorten onderling te vergelijken.

Onbesmette grond

Er treedt geen valse meeldauw aantasting op in zaailingen in niet besmette grond. Wel zijn er een zeer beperkt aantal dode plantjes (figuur 1A).

Optimale infectie condities van zoösporen

Voor de zoösporen liggen de optimale infectiecondities bij 16 graden wanneer er een hoge luchtvochtigheid (100% RV) aanwezig is (figuur 1B). Echter bij een lage luchtvochtigheid (60% RV) ligt de optimale infectie temperatuur bij 20°C. Hieruit blijkt dat voor valse meeldauw infecties een hoge luchtvochtigheid aanmerkelijk meer invloed heeft dan de temperatuur maar wanneer er geen hoge luchtvochtigheid is dan speelt een hogere temperatuur weer een grotere rol. Opvallend is dat er ook bij 10°C bij 100% RV behoorlijke infectie op kan treden.

Optimale infectie condities van oösporen

Ook hier geldt dat het percentage geïnfecteerde plantjes hoger is bij 100% relatieve luchtvochtigheid (RV) dan bij een RV van 60% (figuur 1D). Dit is een duidelijke indicatie dat *P. halstedii* gemakkelijker infecteert bij een hoge luchtvochtigheid. Wanneer er gekeken wordt naar het aantal geïnfecteerde plantjes en het aantal dode plantjes in combinatie met deze hoge luchtvochtigheid, dan ligt de optimum temperatuur voor oösporen bij 20°C. Als er alleen naar het aantal geïnfecteerde plantjes wordt gekeken maakt de temperatuur bij de hoge RV niet veel uit. Bij een lage RV lijkt 20°C de optimale temperatuur voor infectie.

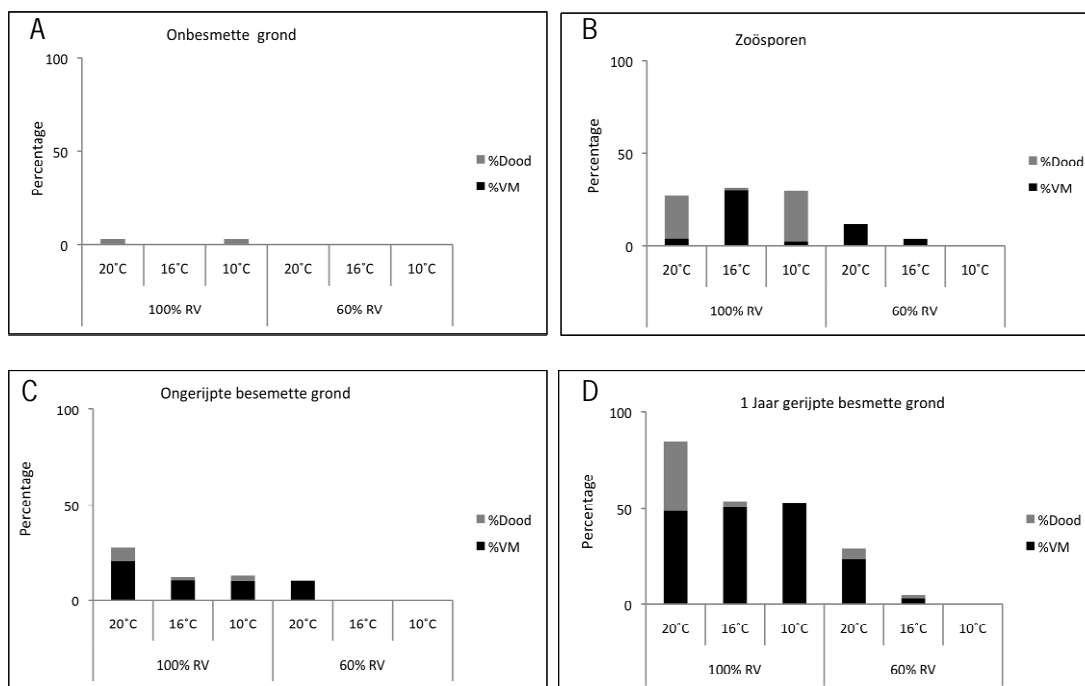
Dode plantjes

Naast de aangetaste zaailingen met sporulerend blad zijn er ook dode plantjes waargenomen. Het aantal dode plantjes ligt hoger bij 20°C en 100%RV ten opzichte van het aantal dode plantjes bij de andere condities. Alleen het aantal dode plantjes geïnfecteerd door zoösporen bij 10°C en 100% RV vormen hierop een uitzondering. Het was niet mogelijk om vast te stellen of de dode plantjes veroorzaakt worden door aantasting met valse meeldauw of door een andere reden. In de onbesmette tuingrond van PPO is geen valse meeldauw vastgesteld en een zeer beperkt percentage dode plantjes bij een hoge luchtvochtigheid. Dit ligt veel lager vergeleken met de besmette controle. Er lijkt dus een verband te zijn tussen veel dode

plantjes en valse meeldauw besmetting in de grond. Men moet echter in gedachten houden dat het ook mogelijk veroorzaakt kan worden door onbekende externe factoren. Tenslotte zijn de condities voor meerdere pathogenen optimaal.

Niet gerijpte grond met oösporen en zoösporen

Bij de ongerijpte grond lijkt 20°C het optimum te zijn onafhankelijk van de relatieve luchtvochtigheid (figuur 1C).



Figuur 1. Invloed van verschillende temperaturen (10°C, 16°C en 20°C) bij verschillende relatieve luchtvochtigheden (60 en 100% RV) op valse meeldauw infectie. Weergegeven is het percentage met valse meeldauw geïnfecteerde plantjes en dode plantjes in onbesmette grond (A), grond besmet met zoösporen (B), besmette grond die niet gerijpt is (C) en 1 jaar oude gerijpte grond (D).

2.2.2 Vochtgehalte grond

Het vochtgehalte van de grond kan naast de temperatuur en de luchtvochtigheid ook een rol spelen bij de ontwikkeling van valse meeldauw symptomen. De resultaten in figuur 3 zijn de resultaten verkregen na de tweede keer overnacht incubatie in een plastic zak omdat er na de eerste keer incubatie nauwelijks zieke planten aanwezig waren (zie verder Materiaal en Methode).

Opvallend is dat ook in de onbesmette grond een aantal zieke plantjes aanwezig zijn. Vooral in het deel dat pas 1 week na besmetten gezaaid is. Het is mogelijk dat zoösporangia van zieke planten uit de eerste incubatie of van andere zieke plantjes van een andere proef in dezelfde kas de onbesmette controle via de lucht hebben besmet. Die besmetting heeft dan vooral plaatsgevonden gedurende die week.

Ondanks het feit dat in de onbesmette controle ook zieke plantjes zitten komen een aantal observaties duidelijk naar voren:

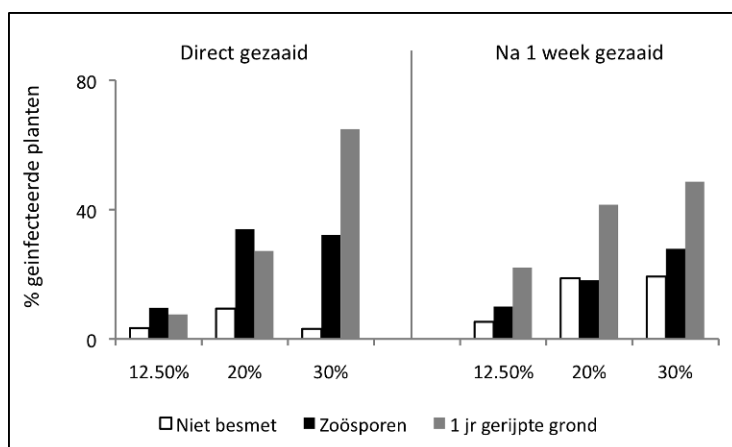
De kans op infectie door zoösporen en oösporen neemt toe naarmate het vochtgehalte in de grond toeneemt (figuur 2). Dit is vooral erg duidelijk in de direct gezaaide bakjes en dan met name in de 1 jaar gerijpte grond waarin oösporen de primaire infectiebron zijn. In de met zoösporen besmette grond lijkt 20% al optimaal voor infectie te zijn.

Een vochtpercentage van 12,50 % is te laag om veel infectie te kunnen veroorzaken.

Het percentage zieke planten is het hoogst in de met oösporen besmette grond die erg nat is (30%).

Er lijkt een negatief effect te zijn op de ziekteaantasting als de besmette grond 1 week staat voordat er wordt gezaaid. Als het percentage zieke planten in de onbesmette controle wordt afgetrokken van het percentage zieke planten in de besmette gronden is dit een behoorlijk groot effect. Dit geldt met name voor de met zoösporen besmette grond waar na aftrek nauwelijks nog zieke planten overblijven. Alleen bij het hoogste percentage vocht blijven nog wat zieke planten over. Dit effect is veel minder groot bij de met oösporen besmette grond.

Het blijft echter lastig om harde conclusies te trekken door de herbesmetting van de onbesmette controle.



Figuur 2. Invloed van vochtgehalte in de bodem op infectie van valse meeldauw door zoösporen en oösporen. percentage geïnfecteerde planten weergegeven per grond soort: droog (12.5% vocht), vochtig (20%) en nat (30%) grond. Zoösporen zijn getest door deze aan de onbesmette grond toe te voegen. Oösporen zijn getest door 1 jaar oude gerijpte besmette grond te gebruiken.

2.3 Conclusies

- Een hoge relatieve luchtvochtigheid bevordert infectie van zonnebloemzaailingen door valse meeldauw. Dit geldt zowel voor zoösporen als voor oösporen.
- De temperatuur speelt bij een hoge relatieve luchtvochtigheid een ondergeschikte rol, zelfs bij 10°C kan bij een hoge luchtvochtigheid een behoorlijke infectie plaatsvinden.
- Bij een lage relatieve luchtvochtigheid speelt temperatuur een belangrijke rol. De infectie verloopt dan het meest optimaal bij 20°C.
- In een natte grond is er veel meer infectie van zaailingen dan in een droge grond.
- Zoösporen overleven slecht in de grond en veroorzaken na één week relatief weinig infecties.
- Er zijn geen grote verschillen in effecten van relatieve luchtvochtigheid, temperatuur en het vochtgehalte in de grond op infectie vanuit zoösporangia of oösporen.

3 Verspreiding via de lucht of grond

In het begin van het groeiseizoen veroorzaken rustsporen (oösporen) van *P. halstedii*, die in de grond overwinterd hebben, de eerste systemische infecties. Onderaan de bladeren van deze systemisch geïnfecteerde planten vormen zich zoösporangia. De zoösporen die daarin gevormd zijn kunnen zgn. secundaire infecties veroorzaken. Dit kunnen opnieuw systemische infecties zijn doordat zoösporen door bv. wind en regen van het blad af de grond in worden gespoeld. Onder vochtige omstandigheden infecteren deze zoösporen de wortel en veroorzaken zo opnieuw systemische infecties. Daarnaast kunnen deze zoösporen op gezond blad terecht komen en daar bladvlekken veroorzaken. Inzicht in de soort en mate van verspreiding via de lucht en door de grond is van belang om nieuwe infecties te voorkomen. Verspreiding van zoösporen via de lucht is algemeen voorkomend. Het is echter onbekend hoe ver een zoöspore door de lucht kan worden meegevoerd. Verspreiding via de lucht is onderzocht in een veldproef. Daarnaast wordt onderzocht of en hoe ver een zoöspore zich in vochtige grond kan verplaatsen. De afstand die een zoöspore in vochtige grond kan afleggen wordt in een kasproef onderzocht.

3.1 Materiaal en Methode

3.1.1 Bodemtransport

Voor het bestuderen van het transport van de zoösporen via de grond zijn twee meter lange goten van 13 cm diep en 10 cm breed gevuld met al dan niet gesteriliseerde grond (figuur 3). De steriele grond is verkregen door het tweemaal te stomen bij 70 °C voor 8 uur minuten. De eerste 10 centimeter van de goot is gebruikt om een infectiebron aan te leggen. Deze infectiebron bestaat uit 1 jaar oude besmette grond (gerijpte grond met oösporen) of grond waardoor 25 gram ziek plantmateriaal (met zoösporen) per goot is gehakseld (zie tabel 1). Aan alle bakken met besmette grond en ziek plant materiaal is een extra hoeveelheid zoösporangiasuspensie toegevoegd van 2×10^3 zoösporangia/ml. Over de gehele goot werden in vier rijen om de 5 cm zonnebloemzaden gezaaid. Gedurende de proef is de grond goed vochtig gehouden om de verspreiding van de zoösporen te bevorderen.

Alle combinaties zijn in duplo uitgevoerd (tabel 1). De bakken zijn op dag 9, 24, 31, 34 en 43 na planten voor een nacht overspannen met plastic folie zodat optimale omstandigheden voor sporenvormig bewerkstelligd werden. De volgende dag is het aantal plantjes met een systemische valse meeldauw infectie gescoord.

Verspreid over de eerste 30 cm vanaf de infectiebron zijn 15 dagen na planten de gezonde planten verwijderd. De reden hiervoor is dat planten jonger dan 14 dagen het meest gevoelig zijn voor infectie via de wortels. In de 15 dagen na planten zijn de zoösporen mogelijk gemigreerd door de grond maar doordat er planten staan die ouder zijn dan 14 dagen worden deze planten niet meer geïnfecteerd. Door nieuwe jonge planten te zaaien kunnen de mogelijk gemigreerde zoösporen de jonge wortels infecteren.



Figuur 3. Opstelling met goten voor het bestuderen van het verspreiden van zoösporen door de grond.

Tabel 1. Overzicht van combinaties van infectiebron en het gebruik van steriele of niet steriele grond in goten.

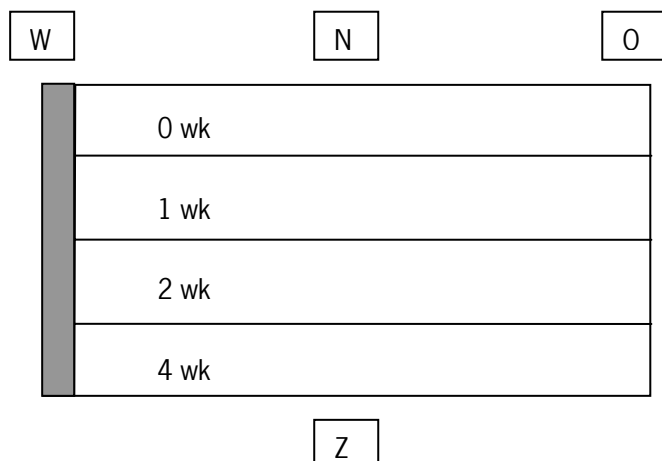
Infectie bron	Steriele grond
Besmette grond	Ja
Besmette grond	Nee
Ziek plantmateriaal	Ja
Ziek plantmateriaal	Nee
Geen	Ja
Geen	Nee

3.1.2 Transport via de lucht

Om de verspreiding via de lucht te analyseren zijn zonnebloemen van 4 verschillende leeftijden blootgesteld aan zoösporen. De proefopzet is zodanig dat 4 bedden naast elkaar liggen met per bed 1 zaaitijdstip resulterend in 4 bedden met planten van 4, 2, 1 of 0 weken oud. Elk bed is 15 meter lang, 4 regels breed met om de 12 cm een ongecoat zonnebloemzaadje (zie figuur 4).

Op het tijdstip van de laatste zaaizet wordt een infectiebron (met valse meeldauw besmetten planten) op het zuidwesten van het perceel geplaatst. Echter, drie weken na het zaaien van de eerste zet is geconstateerd dat in de eerste zet meer dan 50% van de planten systemisch geïnfecteerd is. Aangezien er nog nooit op dit perceel zonnebloemen hebben gestaan is het waarschijnlijk dat de besmetting via de lucht in de eerste zet terecht is gekomen. Ter plekke is de proef aangepast. Er is besloten de eerste zet als infectiebron te gebruiken voor de overige 3 zaaitijdstippen. Door het aantal systemisch zieke planten en planten met bladplekken per zet te tellen kunnen we een indruk krijgen van de afstand die een zoöspore door de lucht kan overbruggen.

Ter controle is 200 meter ten noorden van deze proef een controle veldje aangelegd. Gelijktijdig met het planten van de bovenstaande proef zijn in 4 zaaisets zonnebloemen geplant. Bij dit veld wordt geen infectiebron aangelegd. De natuurlijke infectie is aan het eind van de proef 8 weken na het zaaien vastgesteld in beide percelen.



Figuur 4. Overzicht proefveld. In het grijze gebied is het de bedoeling om zieke zonnebloemplanten te plaatsen. Uiteindelijk is het bed (4 wk) gebruikt als sporenbron.

3.2 Resultaten

3.2.1 Transport via de bodem

In figuur 5 is het algemene verloop van de aantasting weergegeven. In bijlage 2 staan per dag en per infectiebron/grondsoort combinatie de resultaten weergegeven. In bijlage 2 is per 50 cm gebied het percentage zieke planten vermeld. In zwart de telling van de planten van de eerste zet en in grijs de zieke planten van de tweede zet.

Uit alle resultaten blijkt dat de zoösporen zich niet tot nauwelijks verspreiden in de vochtige grond. De planten die zijn gezaaid op de infectiebron zijn wel aangetast. Bij de goten waar besmette grond als infectiebron diende komen in de eerste 10-50 cm na de infectiebron 25 dagen na inzet van de proef enkele systemisch aangetaste planten voor. Daar waar ziek plantmateriaal als besmettingsbron is gebruikt treedt veel minder ziekte op. Er lijkt sneller meer ziekte op te treden in de steriele grond in vergelijking met de niet steriele grond. Deze trend is vooral zichtbaar daar waar besmette grond als infectiebron is gebruikt. Daarnaast is het opvallend dat er ziekte optreedt daar waar geen infectiebron is toegevoegd. Dit is in steriele grond. In de niet steriele grond zonder infectie bron treedt geen ziekte op.

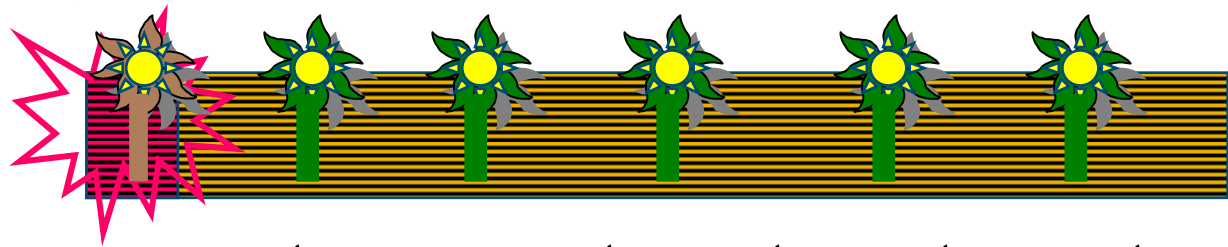
Na 32 dagen zijn de tellingen niet meer betrouwbaar. Aangezien de zieke planten niet zijn weggehaald zijn de zoösporen waarschijnlijk via de lucht verderop in de goot terecht gekomen. Deze zoösporen hebben planten aan het einde van de goot systemisch geïnfecteerd.

De tweede zet levert geen extra aangetaste planten op. Dit is ook een teken dat de zoösporen niet ver door de grond migreren.

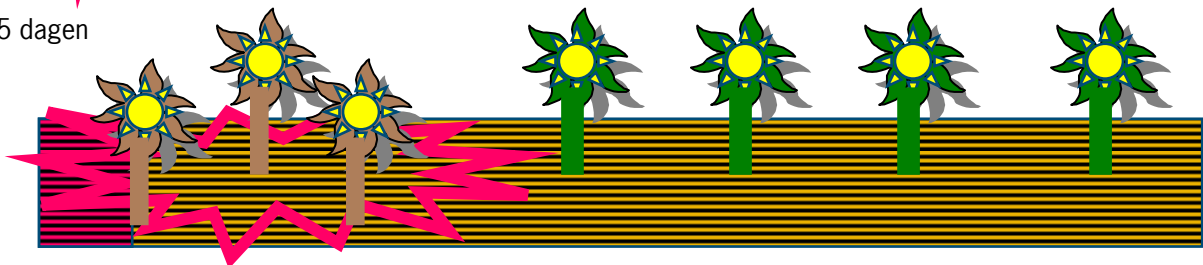
0 dagen



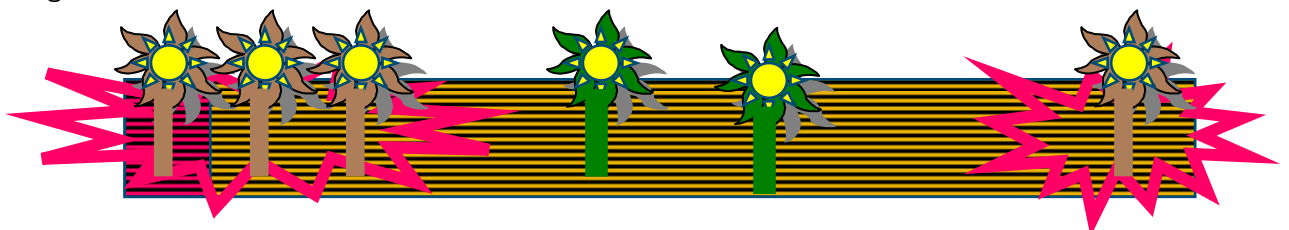
10 dagen



25 dagen



32 dagen

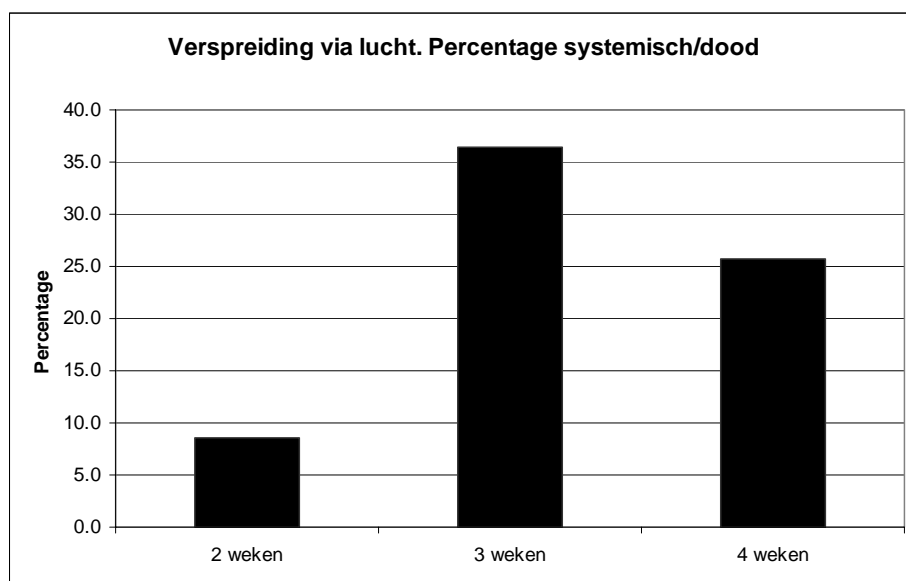


Figuur 5. Schematische weergave van het verloop van aantasting door *Plasmopora halstedii* bij een grondbesmetting.

3.2.2 Luchttransport

In de eerste zet trad 'spontaan' valse meeldauw aantasting op. Zoals beschreven in de M & M is de proefopzet daardoor gewijzigd. Deze eerste zet is als besmettingsbron voor de volgende zetten gebruikt. In de tweede zet (2 weken na het zaaien van de eerste zet) trad niet veel aantasting op (figuur 6). In de derde en de vierde zet trad wel behoorlijke aantasting op. Opvallend is dat er geen aantasting optrad in het 'controleveld' 200 m ten noorden van het besmette veld.

Naar aanleiding van de 'spontane' infectie in de eerste zet is onderzocht waar deze besmetting vandaan kon komen aangezien er op de betreffende grond niet eerder zonnebloemen waren geteeld. Er bleek 150 meter ten zuidwesten van dit proefveld een perceel te zijn met zonnebloemen met een zeer zware valse meeldauw aantasting. De kans is groot dat via de lucht besmetting uit dit perceel aantasting heeft veroorzaakt op het proefveld (dat relatief laat gezaaid was, begin augustus). Deze besmetting heeft echter geen aantasting veroorzaakt in het controleveld 200 m ten noorden van het besmette proefveld.



Figuur 6. Verspreiding van zoösporen via de lucht. Percentage gezonde of zieke planten in het veld per tijdstip (aantal weken na het zaaien van de eerste zet). Het percentage zieke planten is aan het eind van de proef vastgesteld. Dit was 8 na het zaaien van de laatste zet.

3.3 Conclusies

- Zoösporen in besmette grond zijn niet in staat 'grote' afstanden af te leggen in de grond.
- Besmetting in de grond, aanwezig als zoösporen en/of oösporen, veroorzaakt geen grote verspreiding naar niet besmette grond.
- Zoösporen kunnen zich via de lucht goed verspreiden naar niet besmette grond en zo een behoorlijke nieuwe infectie geven.
- Door de lucht verspreide zoösporen veroorzaken zowel systemische infecties in zaailingen als bladvlekken op oudere planten.

4 Oöspore vorming

De rustsporen die *P. halstedii* vormt heten oösporen. Ze hebben een zeer dikke wand en daardoor kunnen ze gemakkelijk de winter overleven. In het voorjaar zijn het juist deze rustsporen die voor een eerste infectie zorgen waardoor er nieuwe uitbraken van valse meeldauw veroorzaakt worden. Het voorkomen van de vorming van oösporen vorming draagt bij aan het voorkomen van de eerste infectie. Echter, om de vraag te beantwoorden of er mogelijkheden zijn om oösporen vorming te voorkomen moet eerst worden vastgesteld waar en wanneer de oösporen worden gevormd in de plant. Om dit vast te stellen is er naar een methode gezocht om oösporen te detecteren in plantmateriaal. Er is in de literatuur een aantal methodes beschreven. Hiervan is één praktische methode uitgeprobeerd door middel van microscopische analyses maar helaas konden hiermee geen oösporen worden aangetoond in plantmateriaal. Er is daarom contact gezocht met André van Lammeren (WUR, Laboratorium voor plantencelbiologie). In zijn groep is expertise op het gebied van histologisch onderzoek naar schimmelstructuren aanwezig. De hieronder beschreven opzet en resultaten is de proefopzet die samen met van Lammeren is uitgevoerd.

4.1 Materiaal en Methode

Kiemplanten van de zonnebloem (*Helianthus annuus*) geïnfecteerd met de oömyceet *Plasmopara halstedii*, zijn onder verschillende condities gekweekt. Tweemaal zijn planten van het veld in verschillende ontwikkelingsstadia geanalyseerd. De planten waren afkomstig van de veldproef waar naar de verspreiding via de lucht gekeken werd.

Plantmateriaal

Planten van de eerste zending waren respectievelijk 63 (1^e zaaiset), 49 (2^e zaaiset), 42 (3^e zaaiset) en 35 dagen (4^e zaaiset) oud. Het materiaal werd direct opgepot en geanalyseerd. De tweede zending bestond uit plantmateriaal van dezelfde oorsprong als de eerste zending maar nu waren de plantjes 35 dagen ouder. Tevens werden er ook zaailingen van vijf weken oud uit een biotoets geanalyseerd. De planten zijn bijkomst direct geanalyseerd. Voor de derde zending zijn 20 kiemplanten van respectievelijk 2 en 3 weken oud uit de kasproef waarbij gekeken werd naar het transport via de bodem gebruikt. De kiemplanten zijn voor de analyses eerst opgepot en bij lage temperatuur (12-16°C) onder doorzichtig plastic gehouden voor twee weken.

Microscopische analyses

Planten uit de eerste zending zijn twee weken later met de lichtmicroscop geanalyseerd. Plantmateriaal uit de tweede en derde zending zijn direct met de lichtmicroscop geanalyseerd. Coupes zijn gemaakt met een sledemicrotoom van de wortel, het hypocotyle stengeldeel en ook hogere stengelleden. De coupes zijn of direct met de lichtmicroscop bekeken of eerst of na opgehelderd in clearing vloeistof. Na opheldering zijn coupes gespoeld in water, ingesloten in glycerol en met de lichtmicroscop geanalyseerd op de ontwikkeling van het mycelium en de aanwezigheid van oösporen.

Planten uit de eerste zending zijn tevens ook met de cryo-scanning elektronenmicroscop onderzocht. Voor dit onderzoek is het blad- en stengelmateriaal snel bevroren in vloeibare stikstof, gesputtercoat met goud-palladium en onderzocht met een Yeol JSM-6300F cryoscanning elektronenmicroscop.

4.2 Resultaten

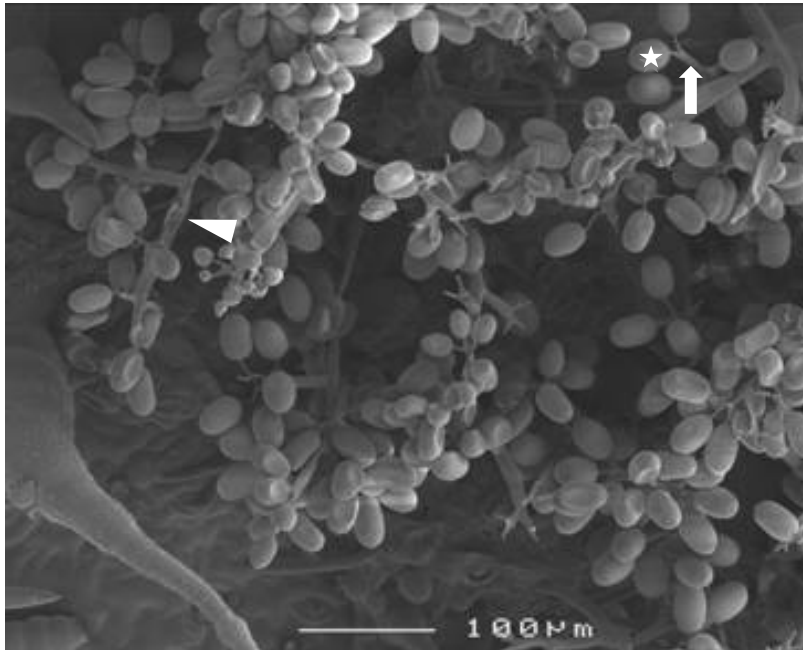
Plasmopara halstedii is een oömyceet en infecteert de zonnebloem via de wortels. Dit kan gebeuren door oösporen en zoosporen. Na penetratie van de wortels dringt de oömyceet de gastheer in en verspreidt zich daarin door ontwikkeling van een mycelium. In de eerste en tweede zending plantmateriaal werd door de gehele plant mycelium aangetroffen (figuur 7). Het mycelium groeit vanaf de wortels, systemisch en intercellulair (tussen de planten cellen) door de stengel naar boven en verspreidt zich tot in de bladbasis. Het mycelium vormt speciale voedingsstructuren die haustoria worden genoemd. Een haustorium dringt de cel binnen en zorgt er voor dat het mycelium van daaruit de benodigde voedingsstoffen krijgt.



Figuur 7. Mycelium groei van *P. halstedii* in zonnebloem. Lichtmicroscopisch beeld van mycelium (pijlpunt) van *P. halstedii* dat groeit tussen de plantencellen van de zonnebloem. Daarbij worden voedingsstructuren die haustoria heten (aangegeven met ster) per cel gemaakt.

Zoösporangia

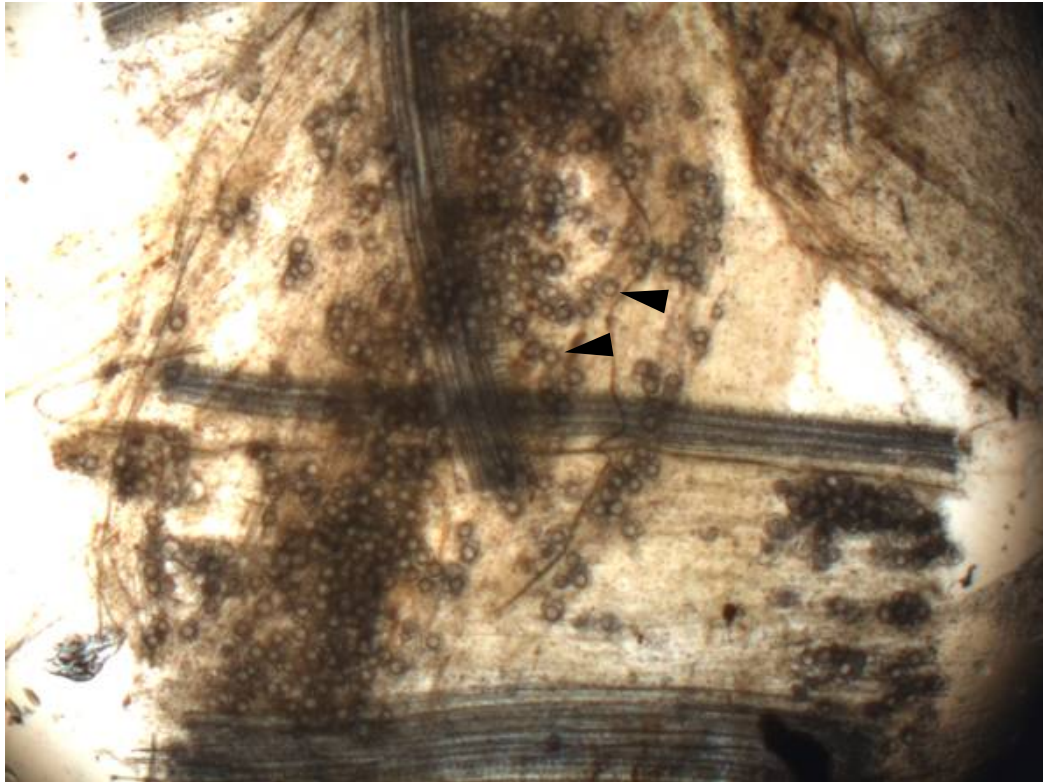
Uitwendig valt het mycelium pas op doordat het aan de oppervlakte van de plant komt aan de basis van de jongere bladen. Dat gaat gepaard met chlorose en necrose. Op die plaats draagt het mycelium sporangiadragers en die op hun beurt zoösporangia (figuur 8) dragen. In de zoösporangia zitten 20-30 zoösporen die elk weer in staat zijn om nieuwe zonnebloemplantjes te infecteren.



Figuur 8. Zoösporangia van valse meeldauw dat aan de onderkant van het zonnebloemblad naar buiten groeit. Het typische witte poeder onderaan het blad bestaat uit mycelium (pijlpunt) met daaraan sporangiadragers (pijl) die de zoösporangia (ster) met daarin de zoösporen dragen. Deze foto is gemaakt met de elektronen microscoop.

Oösporen

De rustsporen die *P. halstedii* maakt waren niet gevonden in de eerste twee plantmonsters. Het is hoogst waarschijnlijk dat ze niet gevormd zijn omdat het plantmateriaal zeer uitgebreid onderzocht is. In de geïnfecteerde kiemplanten (3^e zending) zijn ze wel echter wel gevonden (figuur 9). Nadat de planten gedurende 12 dagen nog opgepot in de kou hadden gestaan waren ze bijna dood en de wortels en het ondergrondse deel van het hypocotyl waren door o.a. nematoden aangetast. Hypocotylen (stengeltjes uit het zaad) met een lengte van 6 cm bevatten over hun gehele lengte oösporen. Ook de wortels bevatten veel oösporen (figuur 9). Het is echter nog onduidelijk welke condities de oösporenvorming veroorzaken. De planten hebben twee weken relatief in de kou gestaan maar ze waren daarnaast ook bijna dood. Het is mogelijk dat een van deze factoren de oösporenvorming op gang brengt of het is een combinatie van deze twee factoren. In bladmateriaal zijn ze nog niet gevonden. Wel zijn daarin mycelium, haustoria en zoösporangia gevonden.



Figuur 9. Oösporen van *P. halstedii*.

Foto gemaakt met de licht microscoop die massale oösporen vorming (pijlpunten) in gedegeneerd wortelweefsel laat zien.

4.3 Conclusies

Als voorlopige conclusie kan worden gesteld dat na de systemische infectie het waarschijnlijk enkele weken duurt voordat *Plasmopara halstedii* overgaat tot het vormen van oösporen. Dat is tot nu toe alleen in kiemplanten waargenomen. Alle kiemplanten van 2 en drie weken plus 12 dagen oud waren zwaar geïnfecteerd, geheel necrotisch en hadden allen oösporevorming na de behandeling. Oösporen zitten in grote aantallen in de hoofdwortel en zijwortels en komen vrij in de bodem als de wortels degenereren. Dat wordt waarschijnlijk versneld door nematoden.

Het gehele hypocotyl met lengte tot 6 cm kan een bron van oösporen zijn. Ook die komen vrij als het stengelweefsel degenereert. De kiemplanten hebben geen verdere stengelleden meer gemaakt dus is hiervan niet bekend of oösporen daar ook gevormd kunnen worden. Bladweefsel is een bron van grote hoeveelheden zoösporangia en multicellulaire voortplantingsstructuren die nog niet geïdentificeerd zijn, maar oösporen zijn er (nog) niet in aangetroffen.

Samengevat:

- Oösporen kunnen massaal in wortels en stengels van kiemplanten worden gevormd.
- De factoren die oösporevorming op gang brengen zijn nog niet bekend maar kunnen kou en/of (bijna) dood materiaal zijn.

5 Waardplanten

Allereerst is er een kleine literatuurstudie uitgevoerd om vast te stellen of mogelijke waardplanten van *P. halstedii* al bekend waren. Dit bleek niet het geval. Op basis van de waardplantenrange van de familie *Plasmopara* zijn bekende zomerbloemen en één onkruid geselecteerd om het waardplanten onderzoek mee uit te voeren (tabel 2). Op basis van deze tabel is onderzocht welke planten uit de betrokken plantenfamilies in Nederland voorkomen (teeltgewas of onkruid). Hieruit is een keuze gemaakt voor de te testen waardplanten en onkruiden.

NL naamgeving	Familie naam	Soort	Naam valse meeldauw
Kleine watereppe	<i>Apiaceae</i>	<i>Berula erecta</i>	<i>P. baudysii</i>
Harige ratelaar	<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Rhinanthus alectorolophus</i>	<i>P. densa</i>
Kleine ratelaar	<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Rhinanthus minor</i>	<i>P. densa</i>
Violtje	<i>Violaceae</i>	<i>Viola rafinesquii</i>	<i>P. megasperma</i>
Zevenblad	<i>Apiaceae</i>	<i>Aegopodium podagraria</i>	<i>P. nive</i>
Groot springzaad	<i>Balsaminaceae</i>	<i>Impatiens noli-tangere</i>	<i>P. obducens</i>
Grote bevernel	<i>Apiaceae</i>	<i>Pimpinella major</i>	<i>P. pimpinellae</i>
Beemdooievaarsbek	<i>Geraniaceae</i>	<i>Geranium pratense</i>	<i>P. pusilla</i>
Wijnstok	<i>Vitaceae</i>	<i>Vitis vinifera</i>	<i>P. viticola</i>
Zonnebloem	<i>Asteraceae</i>	<i>Hellianthus annuus</i>	<i>P. halstedii</i>

Tabel 2. Samenvatting literatuurstudie waardplanten reeks voor *Plasmopora* soorten. Bron: M. Görker, 2007, FGB 44, 105

5.1 Materiaal en Methode

Aan de hand van de literatuurstudie zijn de volgende gewassen geselecteerd die mogelijk als waardplant voor *P. halstedii* kunnen dienen. Er is met de selectie rekening gehouden met gewassen die, naast de teelt van zonnebloemen, op de teeltbedrijven voorkomen. Daarnaast is een onkruid in het onderzoek meegenomen en een aantal andere zonnebloemsoorten ter controle (tabel 3).

Gewas	opkomst	Aantal gram gemengd plantmateriaal
Ooievaarsbek (Geranium)	redelijk	1.8 gr
Rudbeckia hirta	goed	4.5 gr
Ageratum houstonianum	goed	6.2 gr
Centaurea marcocephala	Niet opgekomen	
Centaurea cyanus	goed	7.6 gr
Aster: Callistephus chinensis "matsumota"	goed	4.4 gr
Zinnia	goed	6.3 gr
Zonnekruid. Helenium hoopesii	Zeer slechte	
Kleinbloemige Helianthis debilis	goed	10 gr
Kleine Bereklaauw (onkruid)	Niet opgekomen	
Zonnebloem Sunrich orange besmette grond	goed	10 gr
Zonneboem Sunrich orange onbesmet	goed	10 gr

Tabel 3. Overzicht van getoetste waarplanten voor *P. halstedii*

Aan bakjes van 2 liter onbesmette tuinzandgrond is een sporensuspensie van $2.5 \cdot 10^3$ sp/ml toegevoegd. Daarnaast is 50 gram gesporuleerd bladmateriaal door de grond gewerkt. Per bakje zijn 25 zaden per gewas gezaaid.

De bakjes zijn in een klimaatkast gezet van 18°C, 70% luchtvochtigheid en 14 uur licht en 10 uur donker. Na 7 weken zijn de kleine bereklauw en *Centauria marcocephala* niet opgekomen. *Helenium hoopesii* heeft een te klein gewas om verder te gebruiken in de proef.

Alle bakken zijn individueel voor 1 nacht in plastic ingepakt om sporulatie te bevorderen.

Om te onderzoeken of de *P. halstedii* sporen in de plant aanwezig zijn worden ze geoogst en is de grond van de wortels afgespoeld. Na wegen van het plantgewicht zijn de gehele planten in stukjes van 0.5 cm geknipt (tabel 1). Het plantmateriaal is door onbesmette tuinzandgrond gemengd. Per bakje zijn 20 zonnebloemzaden gezaaid. De eventueel aanwezige sporen die in het plantmateriaal zitten kunnen de zonnebloemzaailingen aantasten.

Na uitvoeren van de standaard biotoets worden het aantal plantjes geteld met valse meeldauw aantasting. Indien er sporulatie zichtbaar is op de zaailingen dan heeft de *Plasmopara* schimmel zich kunnen vermeerderen/ handhaven op de waardplant.

5.2 Resultaten en conclusie

Er waren geen symptomen van valse meeldauw zichtbaar op de verschillende zomerbloemen in de eerste biotoets waarbij verschillende gewassen zijn gezaaid op besmette grond. Echter, in de zonnebloemencontrole waren helaas ook geen symptomen zichtbaar. Het is mogelijk dat de omstandigheden voor infectie niet optimaal zijn geweest in de gekozen proefopzet.

Om er zeker van te zijn dat *Plasmopara* zich echt niet vermeerderd op deze planten maar dan zonder symptomen zijn de plantresten van de waardplanten afgespoeld en ondergewerkt in steriele grond waarin zonnebloemzaden zijn gezaaid. Echter, ook bij deze biotoets zijn bij geen van de bakjes zonnebloemzaailingen met gesporuleerd blad waargenomen.

6 Conclusies en adviezen

Hieronder volgt een samenvatting van de conclusies van de verschillende onderdelen van het project.

- Een hoge relatieve luchtvochtigheid bevordert infectie van zonnebloemzaailingen door valse meeldauw. Dit geldt zowel voor zoösporen als voor oösporen.
- De temperatuur speelt bij een hoge relatieve luchtvochtigheid een ondergeschikte rol, zelfs bij 10°C kan bij een hoge luchtvochtigheid een behoorlijke infectie plaatsvinden.
- Bij een lage relatieve luchtvochtigheid speelt temperatuur een belangrijke rol. De infectie verloopt dan het meest optimaal bij 20°C.
- In een natte grond is er veel meer infectie van zaailingen dan in een droge grond.
- Zoösporen overleven slecht in de grond en veroorzaken na één week relatief weinig infecties.
- Er zijn geen grote verschillen in effecten van relatieve luchtvochtigheid, temperatuur en het vochtgehalte in de grond op infectie vanuit zoösporangia of oösporen.
- Zoösporen in besmette grond zijn niet in staat 'grote' afstanden af te leggen in de grond.
- Besmetting in de grond, aanwezig als zoösporen en/of oösporen, veroorzaakt geen grote verspreiding naar niet besmette grond.
- Zoösporen kunnen zich via de lucht goed verspreiden naar niet besmette grond en zo een behoorlijke nieuwe infectie geven.
- Door de lucht verspreide zoösporen veroorzaken zowel systemische infecties in zaailingen als bladvlekken op oudere planten.
- Oösporen kunnen massaal in wortels en stengels van kiemplanten worden gevormd.
- De factoren die oösporenvorming op gang brengen zijn nog niet bekend maar kunnen kou en/of (bijna) dood materiaal zijn.

Bovenstaande conclusies leiden tot de volgende adviezen voor zonnebloementelers:

- Gebruik gecoat zaad.
- Zorg voor een goede bodemstructuur.
- Zaai nooit in een waterverzadigde bodem.
- Pas ruime vruchtwisseling toe of ontsmet de grond.
- Perceelvolgorde tegen de wind in.
- Voorkom massale sporenvorming (gewasbescherming).
- Gebruik een middel dat slecht heeft gewerkt geen tweede keer (resistentie)
- Laat het gewas na oogst niet staan, composteer indien mogelijk gewasresten.

7 Communicatie

- Periodieke rapportage aan landelijke gewascommissie zomerbloemen tijdens vergaderingen en excursies. Helm van der F. (4 x per jaar)
- Toelichting veldproeven en poster met Informatie kaart *Valse Meeldauw in Zonnebloem*, 12 september 2008 open dag PPO Lisse (Suzanne Breeuwsma)
- Lezing bijeenkomst BCO LNV project geïntegreerde teelt zomerbloemen en vaste planten bijeenkomst - 14 oktober 2008
- Bijeenkomst begeleidingscie Valse Meeldauw in zonnebloem waarin zowel biologische als gangbare telers vertegenwoordigd als een zaadproducent en veredelaar PPO Lisse, 090209
- Voorlichtingsbijeenkomst Beheersing Valse Meeldauw in zonnebloem waarvoor alle zonnebloementelers waren uitgenodigd waarin de stand van zaken tot nu toe is toegelicht. Marjan de Boer, 090209
- Update *Informatiekaart Valse Meeldauw in Zonnebloem*, Marjan de Boer, Suzanne Breeuwsma, Rik de Werd, Jan van der Bent en Frank van der Helm. Fact sheet uitgedeeld tijdens de bijeenkomst Beheersing Valse meeldauw in zonnebloem 090209. Hierop is kort de epidemiologie van *Plasmopora halstedii* weergegeven en daarbij oude en nieuwe adviezen om aantasting zoveel mogelijk te voorkomen.

Bijlage 1 Materiaal en Methode biotoetsen

- Meng 1 liter monstergrond met een mix van 0,5 liter rivierzandgrond + 0,5 L perlite .
- Vul de plastic bakken met ongeveer 1,5 liter gemixte grond/zand mengsel.



Mixen van te testen grond met zand/Perlite mix



Planten van de zaden

- Plant 70 zonnebloemzaden in de bak .
- Dek de zaden af met 1.5 cm grond/zand mengsel (overige 0,5 l grond).
- Zet de bakken in een kas van 18-20°C. Bij warm weer kan de temperatuur in de kas toenemen.
- Met demiwater worden de bakken regelmatig van voldoende water voorzien.
- Scoor het kiemingspercentage wanneer de plantjes de eerste kiembladeren hebben (na 1 a 2 weken).
- Wanneer er ongeveer vier blaadjes aan de zaailingen zitten kan de sporulatie geïnduceerd worden.
 - Sporulatie van de geïnfecteerde plantjes wordt geïnduceerd door
 - A) de bakken te verplaatsen naar een plasticen kooi die is afgedekt met zwart plastic en op vochtvasthoudend doek is geplaatst. Bespuit met een plantenspuit de planten, doek en de kooi goed nat.
 - Of B) Verpak elk bakje afzonderlijk in een plastic zak .
- Scoor na 1 nacht de geïnfecteerde planten (sporulatie onder- en bovenkant bladeren).



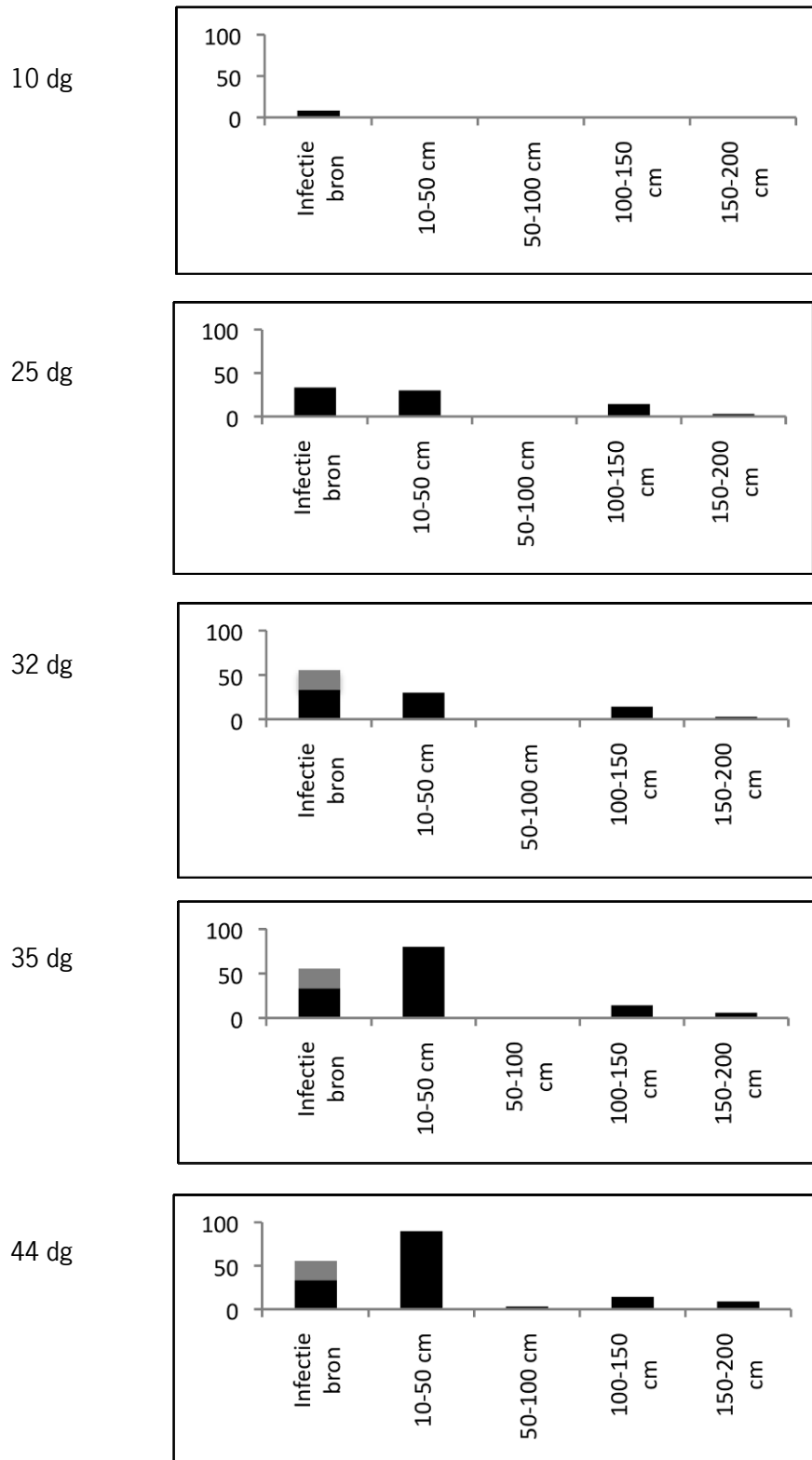
Creëren hoge luchtvochtigheid



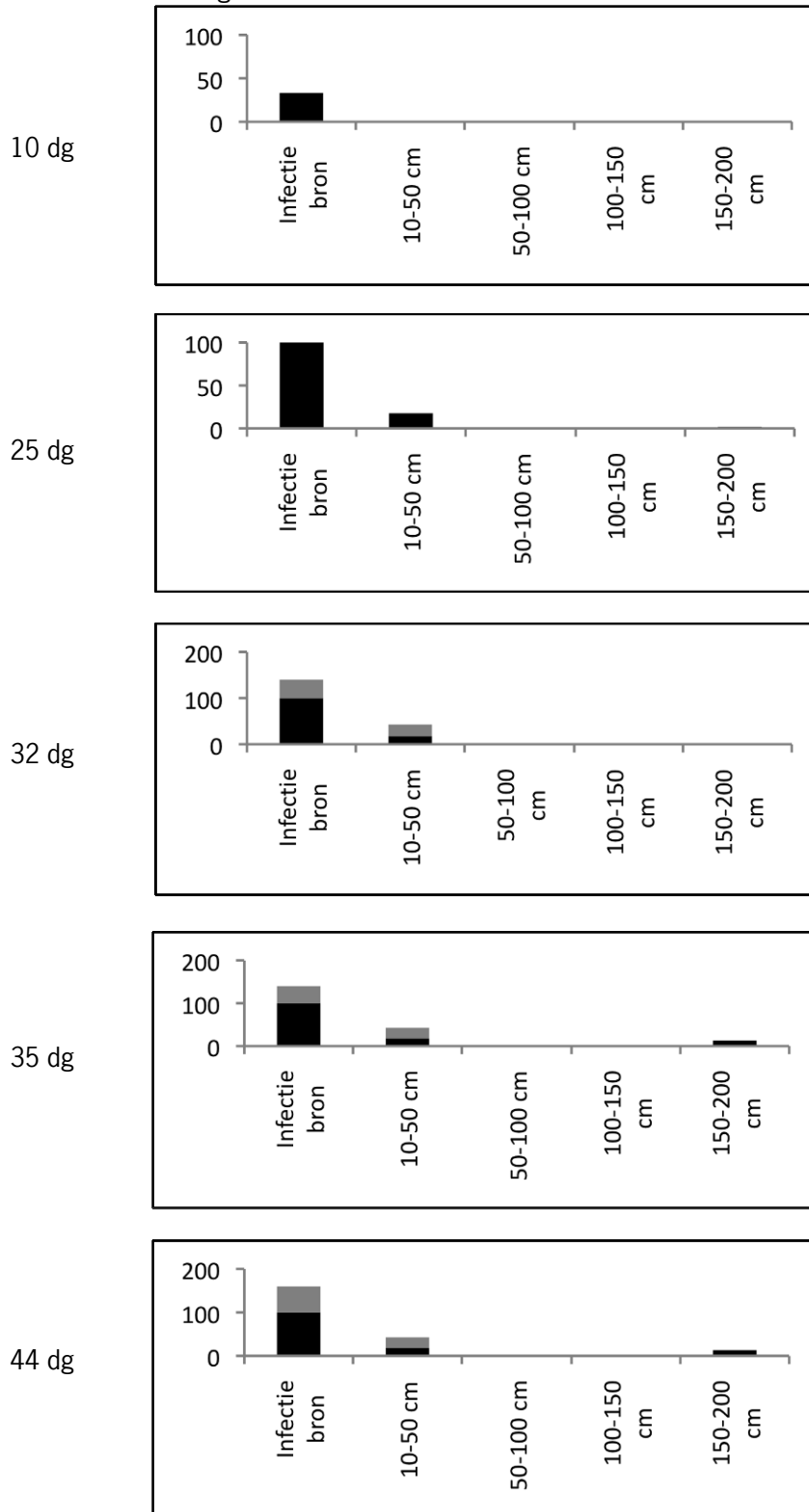
Bladeren met valse meeldauw sporen

Bijlage 2 Resultaten Rol van grondbesmetting

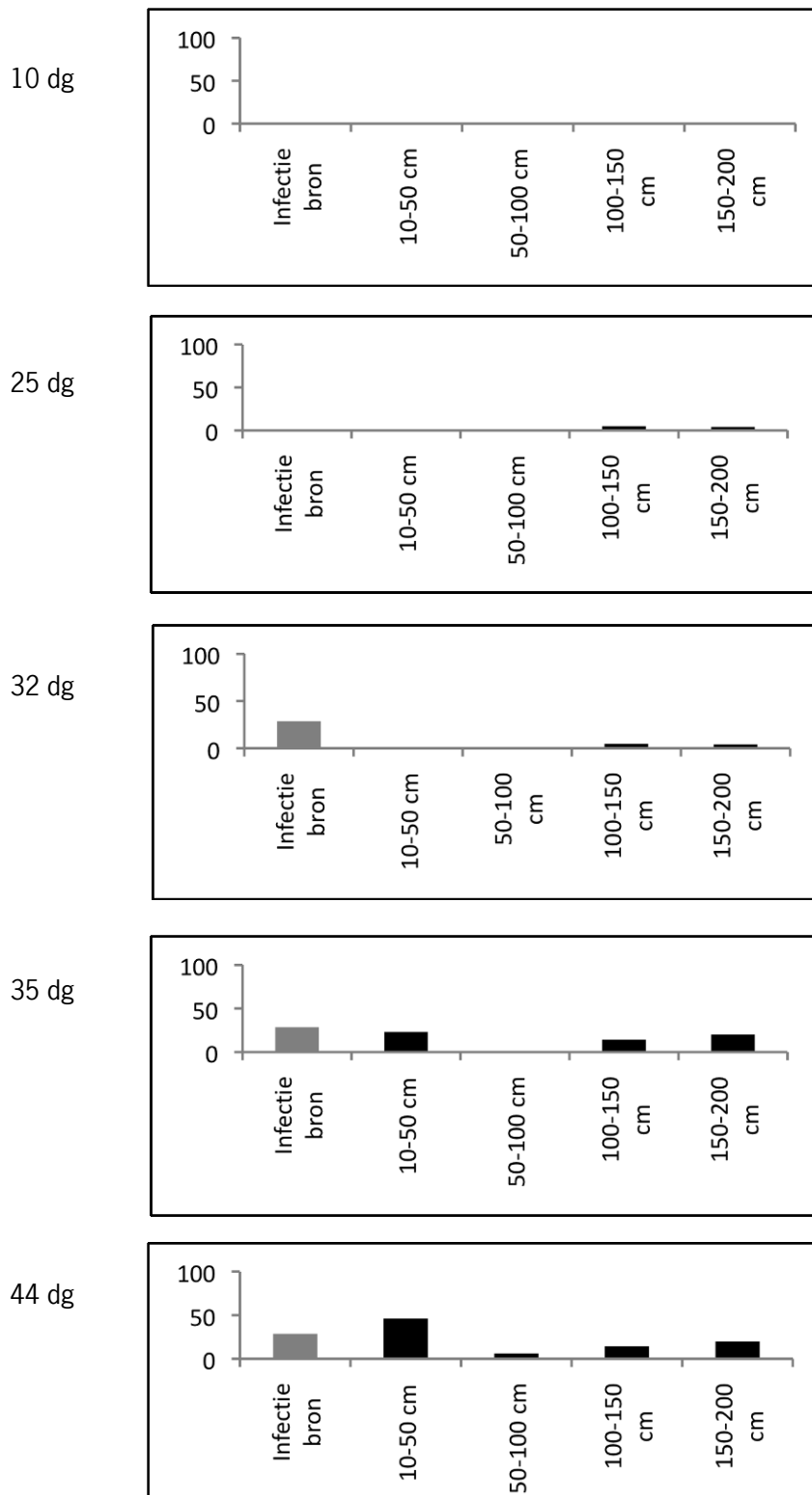
2A Infectiebron: Besmette grond
Goot gevuld met steriele grond



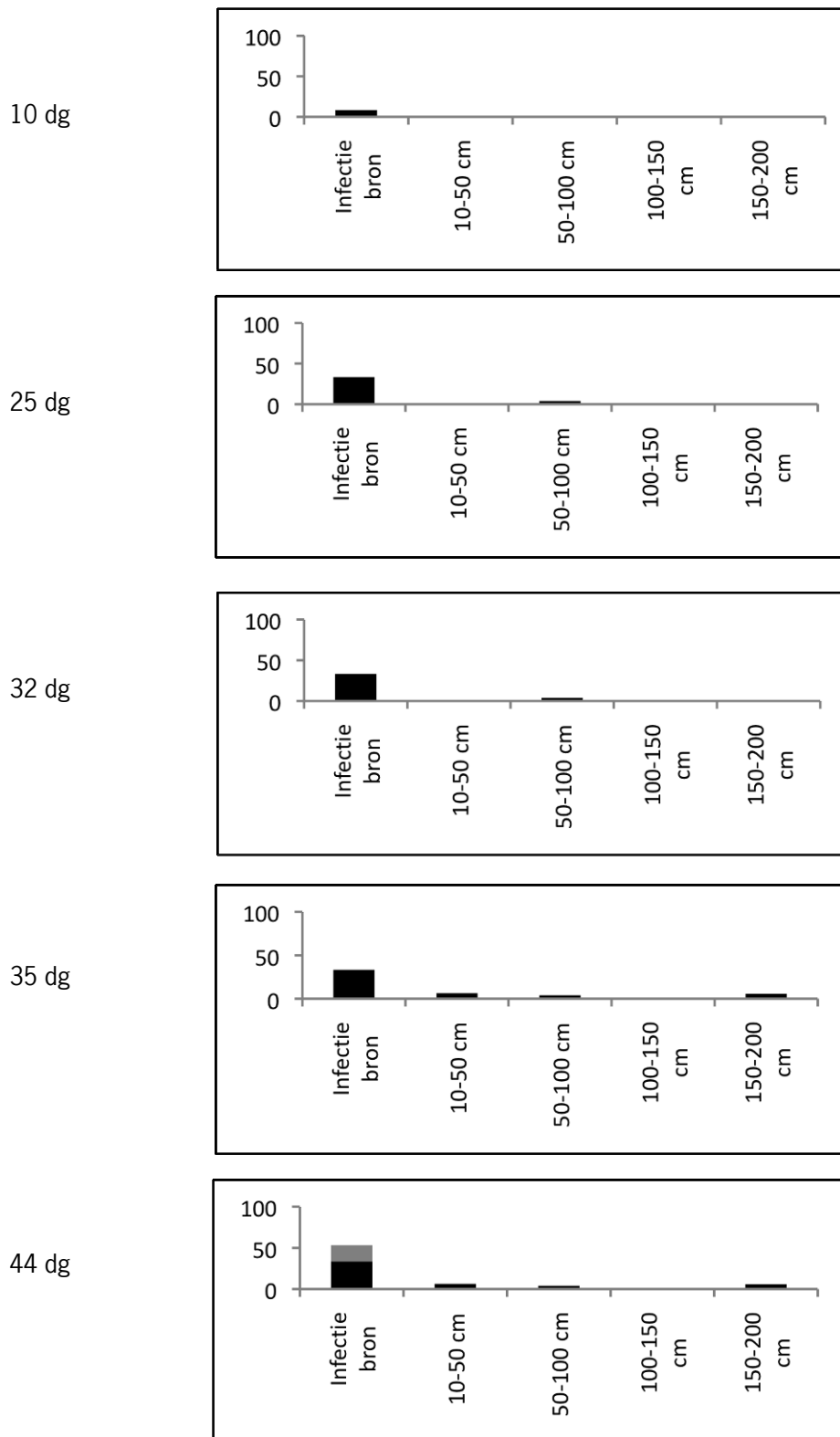
2B Infectiebron: Besmette grond
 Goot gevuld met niet-steriele grond



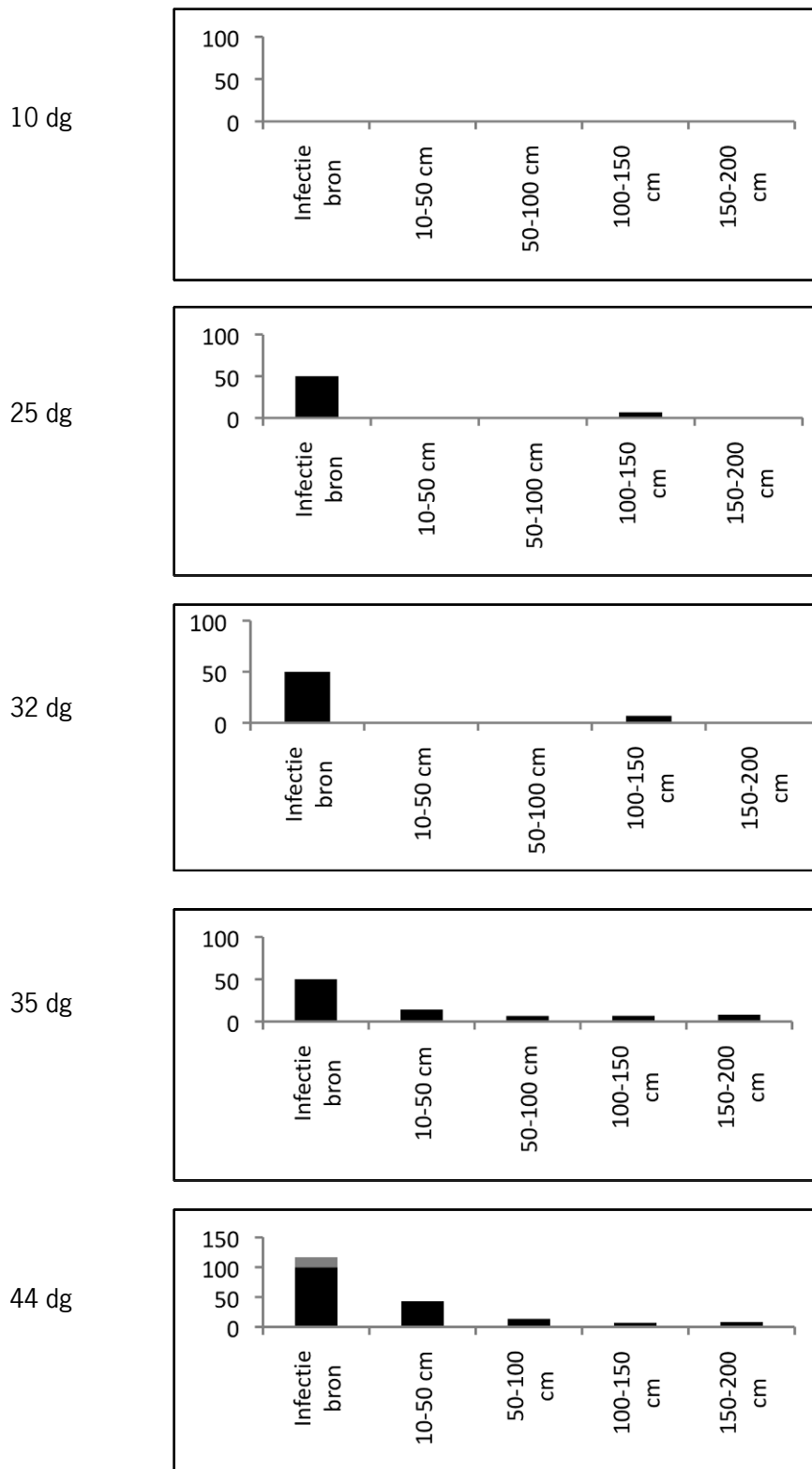
2C Infectiebron: ziekeplantmateriaal
 Goot gevuld met steriele grond



2D Infectiebron: ziekeplantmateriaal
 Goot gevuld met niet-steriele grond

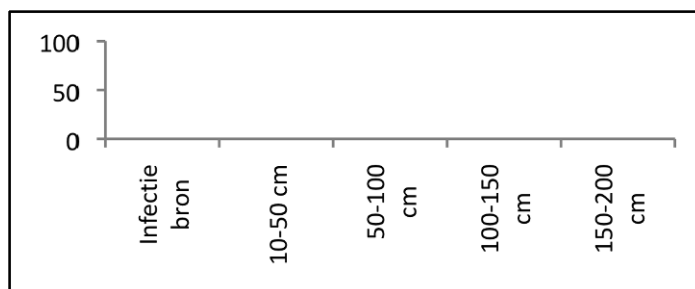


2E Geen Infectiebron
 Goot gevuld met steriele grond

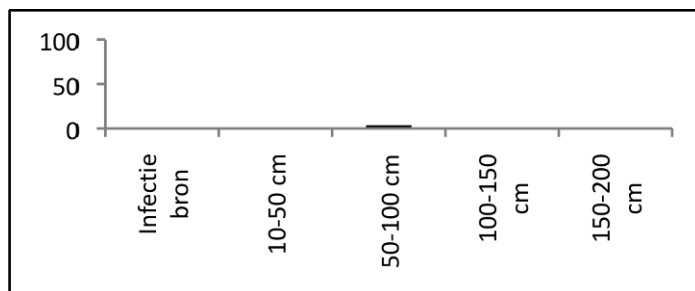


2E Geen Infectiebron
Goot gevuld met niet-steriele grond

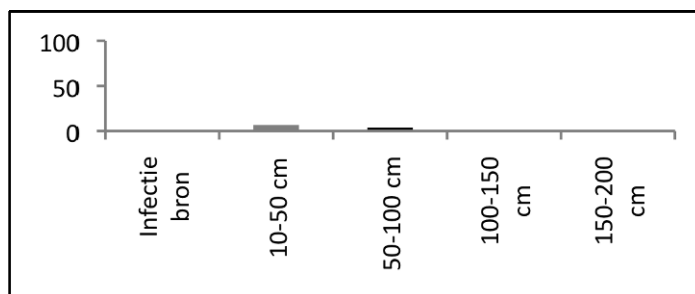
10 dg



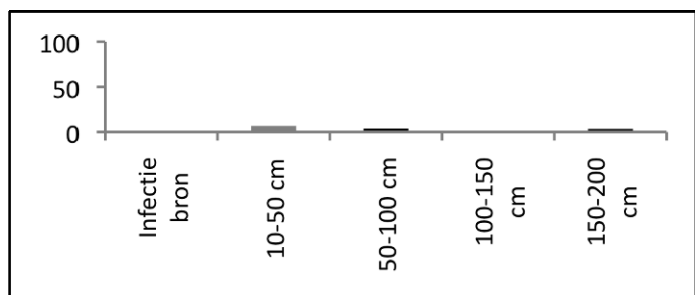
25 dg



32 dg



35 dg



44 dg

