

Bestrijding van valse meeldauw in zonnebloemen

Roselinde Duyvesteijn, Suzanne Breeuwsma, Jan van der Bent, Frank van der Helm,
Casper Slootweg en Marjan de Boer

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving
Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit
Lisse, februari 2010
PPO nr3234089800/ PT 13532

© 2010 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)

Alle intellectuele eigendomsrechten en auteursrechten op de inhoud van dit document behoren uitsluitend toe aan de Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO). Elke openbaarmaking, reproductie, verspreiding en/of ongeoorloofd gebruik van de informatie beschreven in dit document is niet toegestaan zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van DLO.

Voor nadere informatie gelieve contact op te nemen met: DLO in het bijzonder onderzoeksinstituut Praktijkonderzoek Plant & Omgeving

DLO is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.



PPO - Projectnummer: 32 340 898 00

PT – Projectnummer: PT 13532

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving

Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit

Adres : Prof. van Slogterenweg 2, Lisse

: Postbus 85, 2160 AB Lisse

Tel. : 0252 – 46 21 18

Fax : 0252 – 46 21 00

E-mail : infobollen.ppo@wur.nl

Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING	7
2 GEWASBESCHERMINGSMIDDELEN TEGEN VALSE MEELDAUW.....	9
2.1 Materiaal en Methode.....	9
2.2 Resultaten.....	10
2.2.1 Locatie 1	10
2.2.2 Locatie 2	11
2.2.3 Locatie 3	12
2.2.4 Tijdgebonden ontwikkeling van systemische infectie en bladvlekken	13
2.3 Conclusies	15
3 OPTIMALE INFECTIE OMSTANDIGHEDEN	17
3.1 Materiaal en methode.....	17
3.2 Resultaten en discussie	17
4 GEWASRESTENMANAGEMENT.....	21
4.1 Materiaal en methode.....	21
4.2 Resultaten en discussie	22
5 OPTIMALE OMSTANDIGHEDEN VOOR OÖSPORENVORMING	25
5.1 Materiaal en methoden	25
5.2 Resultaten en discussie	26
6 VERSPREIDING VAN ZOOSPOREN: SECONDAIRE INFECTIE.....	29
6.1 Materiaal en methode.....	29
6.2 Resultaten en conclusie.....	30
7 ALGEMENE CONCLUSIE EN AANBEVELINGEN.....	31
8 COMMUNICATIE.....	33
BIJLAGE 1. MATERIAAL EN METHODE BIOTOETSEN.....	35
BIJLAGE 2 KIEMINGSPERCENTAGES	37

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 de jonge wortels van een 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 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 voornamelijk 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 preventieve maatregelen. Deze aanpak wordt zowel gefinancierd door LNV (BO-Plantgezondheid en BO-Biologisch) als door PT.

In dit PT project zijn de volgende vragen onderzocht:

Gewasbeschermingsmiddelen

Drie potentiële gewasbeschermingsmiddelen zijn in 2008 geselecteerd in het onderzoek naar valse meeldauw in zonnebloemen. Hiervoor zijn op drie verschillende locaties veldproeven uitgevoerd. De middelen hebben verschillende toepassingen. Zo heeft middel A een grondtoepassing en hebben middel B en C een spuittoepassing. Op drie verschillende locaties zijn praktijkproeven uitgevoerd.

Op de eerste locatie was de infectiedruk laag en konden er geen conclusies aan de resultaten verbonden worden. Veldproeven op de tweede locatie lieten zien dat middel A, effectief werkt tegen de ontwikkeling van systemische infecties. Middel B was zeer effectief in het bestrijden van bladvlekken en werkt beter dan middel C. Op de derde locatie waren beide veldproeven door externe omstandigheden niet gelukt en konden er geen conclusies worden getrokken.

Op basis van de resultaten deze toetsen onder praktijkomstandigheden, biedt middel A perspectief als grondtoepassing tegen met name systemische infecties. Middel B werkt goed tegen bladvlekken. De combinatie van A met middel B kan resulteren in een goede valse meeldauw bestrijding gedurende het seizoen. Echter een gefundeerde conclusie kan niet worden getrokken omdat er maar op één locatie voldoende aantasting was om significante verschillen te constateren. Voor een goed onderbouwd advies zullen de proeven moeten worden herhaald.

Optimale infectie omstandigheden van valse meeldauw

In het project van 2008 is gebleken dat de optimale infectie omstandigheden voor valse meeldauw een temperatuur heeft tussen de 16 a 20°C in combinatie met een hoge luchtvochtigheid. In dit project is gekeken of het mogelijk was de optimale infectie omstandigheden te verfijnen. Echter, in de biotoets waarmee dit onderzocht moest worden ontwikkelden zich te weinig valse meeldauw symptomen. Het was daarom niet mogelijk om informatie over de optimale infectieomstandigheden te verfijnen.

Gewasrestenmanagement

In aangetaste planten ontwikkelen zich oösporen die vervolgens lang in de bodem kunnen overleven. Het voorkomen van een besmette bodem door middel van gewasrestenmanagement zou een goede teeltmaatregel kunnen zijn. Er is daarom een veldproef ingezet waarin de gewasresten van aangetaste planten werden versnipperd en verbrand of met ureum behandeld. Ook was er een behandeling waarmee de gewasresten behandeld werden met Roundup of in zijn geheel verwijderd. De gewasresten zijn vervolgens door de grond gewerkt en van deze grond zijn monsters genomen die in een biotoets zijn getest op de infectiedruk. Echter doordat er weinig planten systemisch geïnficeerd waren in de veldproef was ook het infectiepercentage in de biotoets met de grondmonsters van de verschillende veldjes erg laag. Hierdoor was het niet mogelijk vast te stellen welke gewasrestmanagement behandeling het meest effectief was.

Oösporen

Systemisch geïnficeerde planten uit de praktijkproef voor gewasrestmanagement zijn systematisch microscopisch geanalyseerd op aanwezigheid van oösporen. Uit dit onderzoek is naar voren gekomen dat al een maand na zaaien (April) de eerste oösporen gevormd kunnen worden. Het bleek echter niet mogelijk te zijn oösporen aan te tonen later in het groeiseizoen. Deze gegevens geven in combinatie met de analyses van 2008 de indruk dat de meeste oösporen in het begin en aan het einde van het groeiseizoen worden gevormd.

Optimale omstandigheden voor oösporenvorming

Systemisch geïnficeerde zaailingen werden bij verschillende temperaturen en lichtregimes geïncubeerd om de optimale omstandigheden voor de vorming van oösporen te bepalen. Het bleek dat de meeste planten totale duisternis niet overleven. Daarnaast bleken de planten die totale duisternis wel overleven relatief veel meer oösporen te bevatten.

Verspreiding van sporen via de lucht

Meer inzicht in sporenverspreiding via de lucht van valse meeldauw kan tot betere beheersmaatregelen leiden. Namelijk, met het oog zichtbare bladvlekken bevatten oneindig veel minuscule zoösporen die via de lucht verspreiden. Deze zoösporen kunnen via inregen jonge zonnebloemen infecteren maar ook bladvlekken bij oudere planten veroorzaken. Door middel van luchtmonitoring met een Burkard is geprobeerd valse meeldauw aan te tonen in luchtmonsters. Gedurende het gehele groeiseizoen zijn er luchtmonsters genomen. Met behulp van moleculaire technieken bleek het mogelijk *P. halstedii* aan te tonen.

1 Inleiding

Valse meeldauw in zonnebloemen is een groot probleem. Jaarlijks worden er grote verliezen geleden omdat zonnebloemen, aangetast door valse meeldauw, achterblijven in de groei, verkleuren of dood gaan. *Plasmopara halstedii* is de veroorzaker van valse meeldauw in zonnebloemen. Jonge zonnebloem plantjes die systemisch geïnfecteerd zijn blijven achter in groei, krijgen gele bladeren en gaan soms dood. Daarnaast kan valse meeldauw ook nog bladvlekken veroorzaken waarbij de bladeren geel worden. Er is afgelopen drie jaar met LNV-financiering (Plantgezondheidsprogramma en Biologische systeeminnovaties) en het afgelopen twee jaar ook met PT-financiering onderzoek gedaan naar de geïntegreerde beheersing van valse meeldauw in zonnebloem, met de nadruk op preventieve maatregelen. In dit PT project is gekeken naar de werking van perspectievolle chemische bestrijdingsmiddelen onder veldomstandigheden. Verder is gekeken naar de optimale infectieomstandigheden, gewasrestenmanagement en daaraan gekoppeld de vorming en overleving van overlevingsporen (oösporen) in deze gewasresten. Daarnaast is onderzocht of *Plasmopora* zich via de lucht kan verspreiden. Hiertoe is een luchtmonitoringsysteem opgezet.

Potentiële bestrijdingsmiddelen

In eerdere projecten is een aantal chemische middelen getest die in biotoetsen en kleine veldproeven een positief effect hadden op het bestrijden valse meeldauw. Het is echter noodzakelijk om de effectiviteit van de middelen grootschalig onder praktijkomstandigheden te testen. Hiervoor zijn een drietal veldproeven opgezet verspreid over het gehele groeiseizoen op verschillende locaties.

Optimale infectieomstandigheden

Biotoetsen hebben laten zien dat er meer aantasting plaatsvindt bij een hoge relatieve luchtvochtigheid en in een natte grond. In het huidige project is onderzocht welke temperaturen in combinatie met verschillende luchtvochtigheden het meest optimaal zijn voor infectie door valse meeldauw. Dit onderzoek is uitgevoerd in biotoetsen.

Gewasrestenmanagement

Oösporen (de overlevingsporen van *Plasmopora*) worden volgens de literatuur het hele jaar gevormd. Maar of er bijvoorbeeld aan het einde van het groeiseizoen als het kouder wordt veel meer worden gevormd is niet duidelijk. Ook is niet duidelijk wanneer de eerste oösporen, nadat infectie heeft plaatsgevonden, gevormd worden. Dit is belangrijk om te weten om een advies over gewasrestmanagement te geven aan de teler. Kunnen de aangetaste planten en/of de gewasresten aan het einde van de teelt blijven staan of moeten ze worden verwijderd om te voorkomen dat de grond erg besmet raakt met deze overlevingsporen. Er zijn hiervoor drie veldproeven verspreid over het gehele groeiseizoen ingezet. Gedurende een veldproef zijn telkens aangetaste planten geanalyseerd op aanwezigheid van oösporen. Aan het einde van de veldproeven zijn de gewasresten behandeld. Deze behandelingen waren bijvoorbeeld afbranden, versnelde afbraak met behulp van ureum, de plant in zijn geheel met de hand verwijderen of een behandeling met Round-up. De infectiedruk van de grond van de verschillende behandelingen werd later door middel van een biotoets bepaald.

Verder is er gekeken naar wanneer rustsporen zich vormen. Vormen de meeste rustsporen zich bijvoorbeeld aan het einde van het groeiseizoen omdat het dan kouder is? Er zijn hiervoor op regelmatige basis planten microscopisch geanalyseerd op aanwezigheid van oösporen.

Invloed van temperatuur en licht op oösporenproductie

Aangetaste planten van dezelfde leeftijd zijn voor een week weggezet bij verschillende temperaturen in het donker of met een normaal lichtregiem. Daarna zijn ze microscopisch geanalyseerd op aanwezigheid van oösporen.

Verspreiding via de lucht

Uit de praktijk blijkt dat valse meeldauw aantasting soms ook ontstaat op percelen waar niet eerder zonnebloemen hebben gestaan. De vraag is of er besmetting via de lucht heeft plaatsgevonden. Daarom is de verspreiding van zoosporen via de lucht ook onderzocht in dit project. Hiervoor is een luchtmonitoringsysteem opgezet waarbij is onderzocht of met behulp van moleculaire technieken *P. halstedii* aan te tonen is in de lucht.

2 Gewasbeschermingsmiddelen tegen valse meeldauw

Eerder onderzoek naar het bestrijden van de valse meeldauw in zonnebloem heeft een aantal potentiële gewasbeschermingsmiddelen opgeleverd (PPO projectnummer 32 340 630 00; 2008). Dit jaar heeft PT een nieuw project gefinancierd om deze middelen in de praktijk te testen.

Eén van de middelen heeft een grondtoepassing (middel A) en twee hebben een spuittoepassing (middel B en C). De gewasbeschermingsmiddelen met een spuittoepassing werken in mindere mate tegen de systemische infectie van valse meeldauw maar zijn wel effectief tegen bladvlekken. Daarentegen is het grondmiddel zeer effectief tegen systemische infecties maar niet tegen de bladvlekken. De veldproeven worden uitgevoerd om de effectiviteit van de middelen onder praktijkomstandigheden te testen. Daarnaast wordt gekeken of er synergie ontstaat door combinaties te maken met het grondmiddel en één van de spuitmiddelen.

2.1 Materiaal en Methode

Proefopzet

Op drie verschillende locaties hebben twee zaai momenten (mei en juni 2009) plaatsgevonden. Zes behandelingen zijn uitgevoerd samen met de controle die niet behandeld werd. Zo zijn de middelen met een spuittoepassing (middel B en C) onafhankelijk en in combinatie met het grondmiddel (A) getest. Ridomil Gold (middel D) is meegenomen als controle.

Locatie 1 had geen voorgeschiedenis van valse meeldauw infectie in zonnebloemen. Daarom zijn de zaden voor het zaaien voorgekiemd en besmet. De zonnebloem zaden zijn 24 uur in een vochtige omgeving bij 24°C voorgekiemd. Hierdoor springt de zaadhuid open. Vervolgens zijn de gekiemde zaden in een sporensuspensie ($5 \cdot 10^5$ sporangiën/ml) gedompeld en geplant.

Locaties 2 en 3 hadden in respectievelijk 2008 en 2007 een zware aantasting van valse meeldauw in zonnebloemen. De grond is als besmet beschouwd en daarom is het zaad niet voorgekiemd en besmet maar standaard machinaal gezaaid. De behandelingen op locatie 1 zijn uitgevoerd in viervoud in veldjes van elk 4 m². Op de overige locaties zijn de behandelingen in tweevoud uitgevoerd in velden van elk 9 m².

Bij de eerste zaai set op locatie 1 is na twee weken gaasdoek over de plantjes gespannen omdat de vogels de zaailingen opaten. Er is in het vervolg op locatie 1 en 3 gaasdoek over de proefvelden gespannen om herhaling te voorkomen. Twee weken na het zaaien is het gaasdoek verwijderd. Op locatie 2 is papierpulp gespoten om vraat van dieren te voorkomen.

Na de eerste zaai set op locatie 3 is veel regen in korte tijd gevallen waardoor de zaadjes zijn weggespoeld. Tevens is door onbekende oorzaak tijdens het tweede zaai moment een aantal bedden niet gezaaid.

Bemesting heeft plaatsgevonden in de tweede zet van de lokaties 1 en 2. Op dag 2 en 22 na planten is 25 kg/ha bemesting (12-10-18) toegevoegd.

Zes weken (zet 1) en zeven weken (zet 2) na het zaaien is een eindbeoordeling uitgevoerd door in een vak van 5 m² alle plantjes te tellen (=opkomst) en tegelijkertijd de zieke plantjes ook te tellen. Bij locatie 1 zijn de totale veldjes van 4 m² beoordeeld. Na een maand is het aantal bladvlekken geteld.

Toepassing en gebruik bestrijdingsmiddelen

Alle middelen zijn onafhankelijk en in combinatie met het grondmiddel getest. Het grondmiddel is door de grond gefreesd en direct daarna zijn de zonnebloemzaden gezaaid. De eerste bespuiting heeft plaatsgevonden toen de zonnebloemzaailingen twee blaadjes hadden (na 15 tot 20 dagen). Vervolgens zijn de 2^e en 3^e bespuitingen met tussenpozen van ongeveer 10 dagen uitgevoerd. De concentratie van de gebruikte middelen staan vermeld in Tabel 1.

Tabel 1: Gewasbeschermingsmiddelen en de gebruikte concentraties

Naam middel	Toepassing	Concentratie
Middel A	Grond	6L/ha
Middel B	Spuit	2.5 kg/ha
Middel C	Spuit	200 ml/ha opl. 1 + 150 ml opl. 2
Middel D	Spuit	250 ml/ha

2.2 Resultaten

2.2.1 Locatie 1

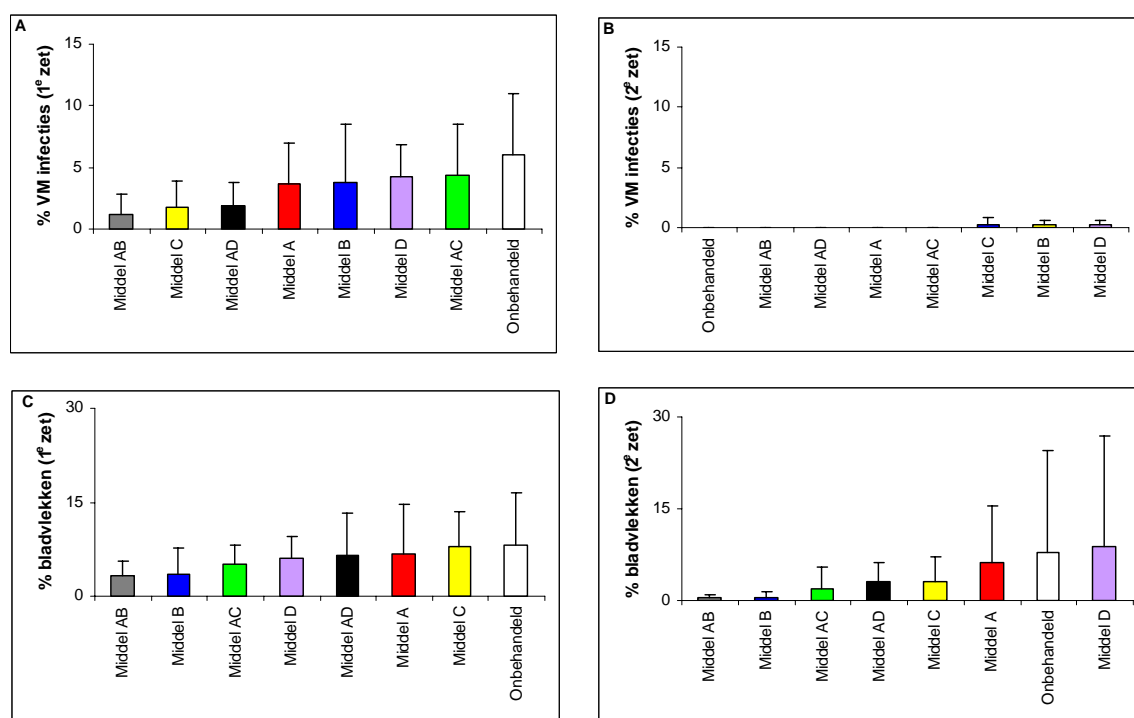
In de voorgeschiedenis van deze locatie is niet bekend of er ooit een aantasting van valse meeldauw in zonnebloemen heeft plaatsgevonden. Er is daarom een kunstmatige besmetting met valse meeldauw aangebracht door de zaden te besmetten.

Zaaimoment 1

De eerste week na het zaaien, hebben de vogels een groot gedeelte van de plantjes opgegeten. In sommige bedden soms wel meer dan 2/3 van de zaailingen. Hierdoor is het effect van de verschillende middelen moeilijk te bepalen. Een trend in de resultaten is wel te zien (zie figuur 1A). Ten opzichte van de onbehandelde behandeling zijn er minder systemische zieke planten aanwezig. Echter met statistische analyses (ANOVA) kon geen significant verschil worden aangetoond. Dit geldt ook voor het effect van de middelen op de vorming van bladvlekken (Figuur 1C). De combinatie van middel A en B lijken een effect te geven maar ook hier kon geen significant verschil worden aangetoond met statistische analyses.

Zaaimoment 2

Door het gebruik van gaasdoek direct na het zaaien is voorkomen dat de vogels de zaailingen opaten. Echter, op deze bedden heeft nauwelijks aantasting door valse meeldauw plaats gevonden. Hierdoor was het niet mogelijk een effect van de middelen op de systemische infectie (figuur 1B) en bladvlekken vorming (figuur 1D) waar te nemen. Het is mogelijk dat de manier van infecteren door het zaad voor te kiemen en te dompelen in een sporensuspensie niet effectief genoeg is. Of dat de omstandigheden voor het ontstaan van een infectie niet optimaal waren.



Figuur 1. Invloed van verschillende gewasbeschermingsmiddelen en combinaties daarvan op locatie 1. Weergegeven is het percentage valse meeldauw infecties (A en B) en bladvlekken (C en D) van respectievelijk de eerste en de tweede zaai zet op locatie 1. Lijnen geven de standaarddeviatie weer. ANOVA gaf in geen van de resultaten een significant verschil

2.2.2 Locatie 2

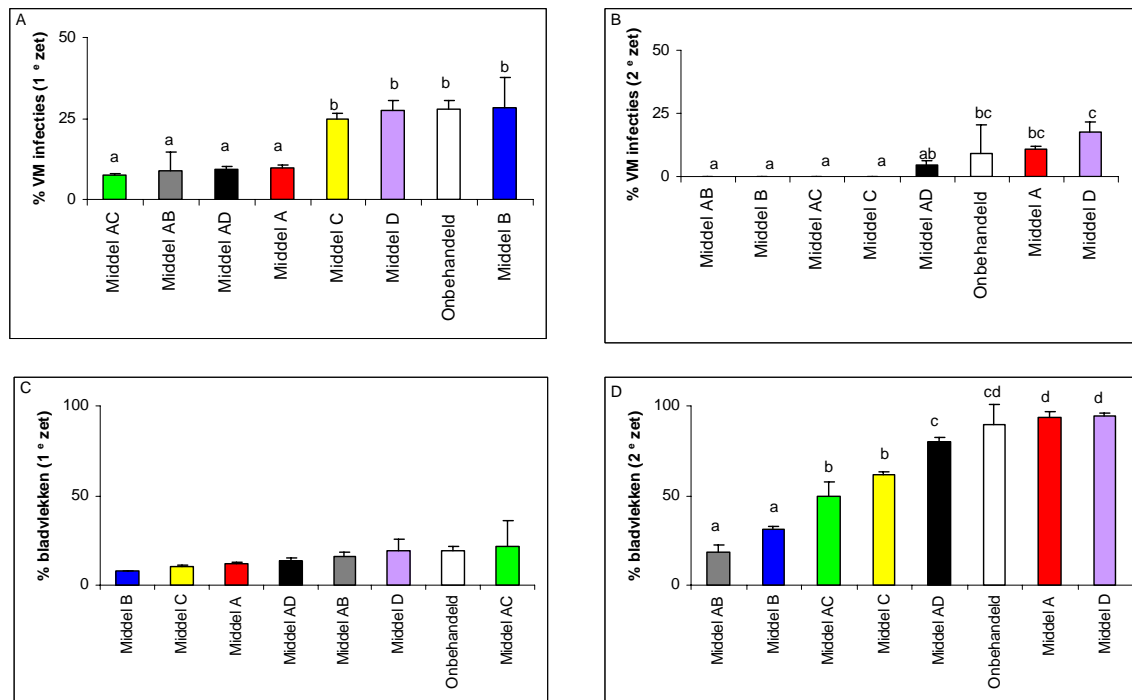
In 2008 had er op dit perceel een zeer zware aantasting van valse meeldauw in zonnebloemen plaatsgevonden. Het voorkiemen van de zaden is dus achterwege gelaten en de zaden zijn direct gezaaid.

Zaaimoment 1

Het gebruik van het grondmiddel (middel A) verlaagt duidelijk het percentage door valse meeldauw systemisch geïnfecteerde zonnebloemen (Zie figuur 2A). De behandelingen waarin alleen de spuitmiddelen zijn gebruikt (middel B,C en D) laten geen remmend effect op de systemische aantasting door valse meeldauw zien. De combinaties van het grondmiddel met de spuitmiddelen verlagen ook duidelijk het percentage systemisch geïnfecteerde zonnebloemen. Echter, er is geen sprake van een synergistisch effect. Het percentage zieke zonnebloemen bij de behandeling met het grondmiddel is even laag als dat van de combinatie behandelingen. Ook is er geen effect van de middelen op de vorming van bladvlekken te zien (figuur 2C). In geen van de behandelingen konden significante verschillen worden aangetoond.

Zaaimoment 2

In deze zaai zet bleek de systemische aantasting door valse meeldauw geringer te zijn ten opzichte van de eerste zet. Opvallend is dat het grondmiddel (middel A) en Ridomil Gold (middel D) hier geen remmende werking lijken te hebben op de ontwikkeling van valse meeldauw symptomen (figuur 2B). Een combinatie van deze twee middelen resulteerde in een klein effect. Er zijn geen systemische zieke planten gevonden in de behandelingen waar de middelen B en C afzonderlijk of in combinatie met middel A waren gebruikt. Echter de infectiedruk was laag dus eventuele verschillen in de behandelingen zouden onopgemerkt kunnen blijven. In vergelijking met het eerste zaaimoment is het percentage bladvlekken in het tweede zaaimoment hoog (figuur 2C en D). In de onbehandelde controle is een percentage van 90% gevonden. Conform eerder onderzoek (PPO projectnummer 32 340 630 00; 2008) blijkt ook hieruit dat middel A is niet effectief tegen bladvlekken en middel B de grootste remming op de vorming van bladvlekken heeft.



Figuur 2. Invloed van verschillende gewasbeschermingsmiddelen en combinaties daarvan op locatie 2. Weergegeven is het percentage valse meeldauw infecties (A en B) en bladvlekken (C en D) van respectievelijk de eerste en de twee zaai zet op locatie 2. Lijnen geven de standaarddeviatie weer. Letters geven significante verschillen aan (ANOVA; P=0.05%). Indien er geen letters staan zijn er geen significante verschillen gevonden.

2.2.3 Locatie 3

In de eerste zet is er door regenval een heel groot gedeelte van het perceel zeer nat geworden. Een deel van de zonnebloemzaden kon hierdoor niet kiemen. Daarnaast zijn jonge zaailingen voor een groot gedeelte weggespoeld. Later bleek dat het gewas er slechter bij stond dan op de andere twee locaties. Er is besloten niet verder te gaan met deze proef omdat de resultaten niet representatief zijn. Ongelukkigerwijs zijn tijdens het tweede zaaimoment een aantal bedden niet gezaaid. De proef werd afgebroken omdat zich hieronder ook onbehandelde controles bevonden. Hierdoor was het niet meer mogelijk het effect van de middelen te toetsen tegen de onbehandelde controle.

2.2.4 Tijdgebonden ontwikkeling van systemische infectie en bladvlekken

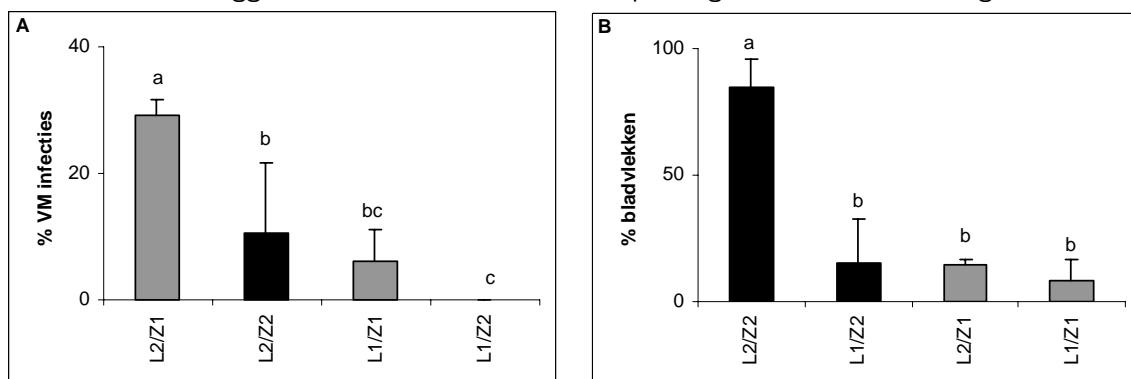
Wanneer de resultaten van de onbehandelde controles in de verschillende proeven met elkaar vergeleken worden blijken er nog een paar opmerkelijke gegevens naar voren te komen. Deze worden in de volgende alinea's behandeld.

Systemische infecties

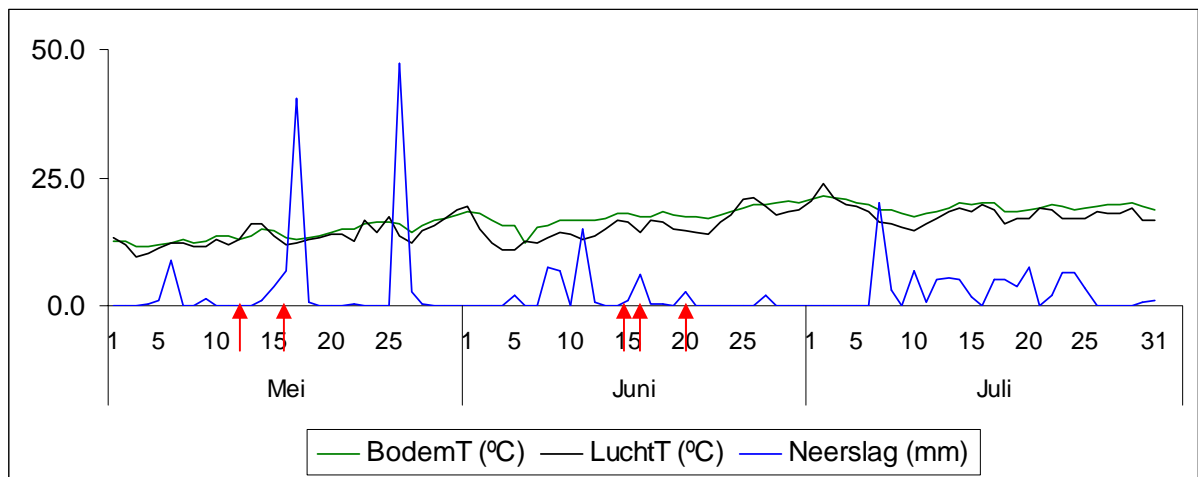
Er is een trend te zien in het percentage systemisch geïnfecteerde planten in de eerste zet en in de tweede zet op de verschillende locaties (Figuur 3). In de tweede zet is namelijk het aantal met valse meeldauw systemisch geïnfecteerde plantjes van de onbehandelde controle beduidend lager vergeleken met het aantal aangetaste planten uit de eerste zet. Waarschijnlijk kunnen deze verschillen verklaard worden door de weersomstandigheden. In Figuur 4 staan de weersomstandigheden en de zaaidata (rode pijlen) weergegeven. Er is op 17 en 26 mei veel neerslag is gevallen dit zou een verklaring voor het hogere percentage systemisch geïnfecteerde zonnebloemen kunnen zijn. De bodem was in die tijd van het jaar relatief vochtig. Opvallend is echter dat het percentage systemisch geïnfecteerde plantjes op locatie 2 hoger is dan op locatie 1. Dit ligt waarschijnlijk aan de verschillen in de proefopzet en besmettingsmethode. Op locatie 1 zijn namelijk de zaden besmet via voor kieming van de zaden en daarna onderdompeling in een suspensie van zoösporen. Op locatie 2 was een natuurlijke infectie in de grond aanwezig. Blijkbaar is het voorkiemen en infecteren van de zaden onder de veldomstandigheden van 2009, niet effectief genoeg om een zware aantasting te veroorzaken in het veld.

Bladvlekken

Door de proefvelden regelmatig te bezoeken is gebleken dat bladvlekken zeer korte tijd (ongeveer 5 dagen) in het gewas zijn waar te nemen. De percentages bladvlekken liggen in de tweede zet steeds hoger in vergelijking tot de eerste zet maar volgens de statistische analyse (ANOVA) heeft alleen de tweede zet van locatie 2 significant meer bladvlekken dan van de rest van de percelen. Is het mogelijk dat op locatie 2 het aantal bladvlekken in de tweede zet veroorzaakt is door het hoge percentage systemisch geïnfecteerde plantjes uit de eerste zet? Ja, dat is mogelijk. De verspreiding is echter zeer lokaal. Het aantal bladvlekken op locatie 1 in de tweede zet is namelijk bijna niet hoger dan de eerste zet terwijl locatie 1 en 2 nog geen kilometer uit elkaar liggen. Meer onderzoek naar de verspreiding van *P. halstedii* is nodig.



Figuur 3. Het percentage systemische aantasting (A) en bladvlekken (B) in zonnebloemen van de onbehandelde percelen op twee locaties (L) met twee zaaimomenten (Z). Grijs balken zijn van de eerste zet, zwarte van het tweede zet. Lijnen geven standaarddeviatie weer. Significante verschillen zijn weergegeven met een letter (ANOVA, $p=0.5\%$).



Figuur 4. Weersgegevens van Mei, Juni en Juli 2009 van het weerstation te PPO-Lisse. Weergegeven staan de bodemtemperatuur gemeten op -10 cm, de luchttemperatuur gemeten op 150 cm en de neerslag. Pijlen duiden dagen van zaaimomenten aan. Eerste zaaimoment was voor locatie 1 en 2 op 12 mei; locatie 3 op 16 mei. Tweede zaaimoment was voor locatie 1 op 16 juni, locatie 2 op 15 juni en locatie 3 op 20 juni.

2.3 Conclusies

Proefopzet

Het lage aantal systemisch geïnfekteerde plantjes zou veroorzaakt kunnen worden door de manier van infectie (zaadbesmetting) op locatie 1. Echter gezien er in de tweede zet ook lage percentages op locatie 2 ontstaan zouden ook de weersomstandigheden een rol kunnen spelen. Zo zijn er in het jaar 2009 minder meldingen van valse meeldauw in zonnebloemen geweest ten opzichte van andere jaren. Het zou dus kunnen dat de weersomstandigheden voor *P. halstedii* niet optimaal waren waardoor het aantal infecties laag bleef.

Middel A tegen systemische infecties

Uit de veldproeven is gebleken dat grondmiddel A het meest effectief is in het voorkomen van door valse meeldauw systemisch geïnfekteerde zonnebloemen. Wanneer de infectiedruk hoog genoeg is, laat het een significant remmend effect zien op de ontwikkeling van valse meeldauw (figuur 2A). Echter wanneer de infectiedruk laag is, is er geen effect van middel A meer te zien. Een goede verklaring hiervoor is dat wanneer de infectiedruk te laag is er onvoldoende verschillen tussen de behandelingen optreden.

Middel B en C tegen bladvlekken

Middel B en C met een spuittoepassing waren in eerder onderzoek het meest effectief in het voorkomen of tegengaan van bladvlekken. Uit de veldproeven blijkt dat Middel B effectiever is dan middel C (figuur 2D) maar beide zijn afzonderlijk in staat om het aantal bladvlekken significant te verminderen.

Combinatie van middel A en B

Volgens de resultaten van deze veldproeven zou een combinatie van middel A met de grondtoepassing en middel B met de spuittoepassing het meest effectief zijn in de bestrijding van valse meeldauw. Echter doordat er in sommige percelen een te lage infectiedruk was of onvoldoende bladvlekken kan deze conclusie niet statistisch worden onderbouwd. Het is daarom aan te raden de veldproeven nogmaals uit te voeren.

Tijdgebonden ontwikkeling infecties

Het naast elkaar zetten van de zaaidata en systemische infecties uit deze proeven leverde een duidelijke correlatie tussen vochtig weer en hoge aantallen systemische infecties (zet 1, locatie 2). Daarnaast is gebleken dat de uitbraken van bladvlekken zeer lokaal en van korte duur zijn. Er zijn aanwijzingen dat de zoösporen die ontstaan in bladvlekken uit een eerdere zaai nieuwe planten uit een volgende zaai kunnen besmetten maar er is meer onderzoek nodig om deze aanname te valideren.

3 Optimale infectie omstandigheden

In eerder onderzoek is gebleken dat een hoge relatieve luchtvochtigheid valse meeldauw infecties bevordert. Verder bleek dat de temperatuur ten opzichte van een hoge relatieve luchtvochtigheid een ondergeschikte rol speelt. Zo kon zelfs bij 10°C en een hoge luchtvochtigheid nog een behoorlijke infectie plaatsvinden. Bij een lage relatieve luchtvochtigheid speelt temperatuur weer een belangrijke rol. De infectie verloopt dan het meest optimaal bij 20°C. Maar ook bij 16°C vond een goede besmetting plaats. Verfijning van dit onderzoek naar de optimale infectieomstandigheden is in dit project aan de orde gekomen.

3.1 Materiaal en methode

De bio-toetsen zijn uitgevoerd in vier klimaatkasten en één stoof. De instellingen van de klimaatkasten en stoof staan beschreven in tabel 2. De bio-toets is volgens het standaardprotocol uitgevoerd (zie bijlage 1). De gerijpte zandgrond is in het voorjaar van 2009 verzameld en bewaard bij 5°C. In 2008 hebben op deze grond door valse meeldauw aangetaste zonnebloemen gestaan. Negen dagen na inzet is de lengte van de zaailingen opgemeten (bovengrondse deel). Twee weken na inzet zijn alle bakken ingepakt in plastic en weggezet in een kas (20°C) om sporulatie te induceren. De volgende dag zijn de hoeveelheid gezonde, dode en aangetaste zaailingen telt.

Tabel 2. Instellingen van de klimaatkasten en stoof

Klimaatkast	Graden Celsius	Relatieve luchtvochtigheid	100% RV ²
1	16	80	+
2	16	90	
3	18	80	+
4	18	90	
5 ¹	20 ³	80	+

¹Stoof

²Gecreëerd door inpakken van de bakken

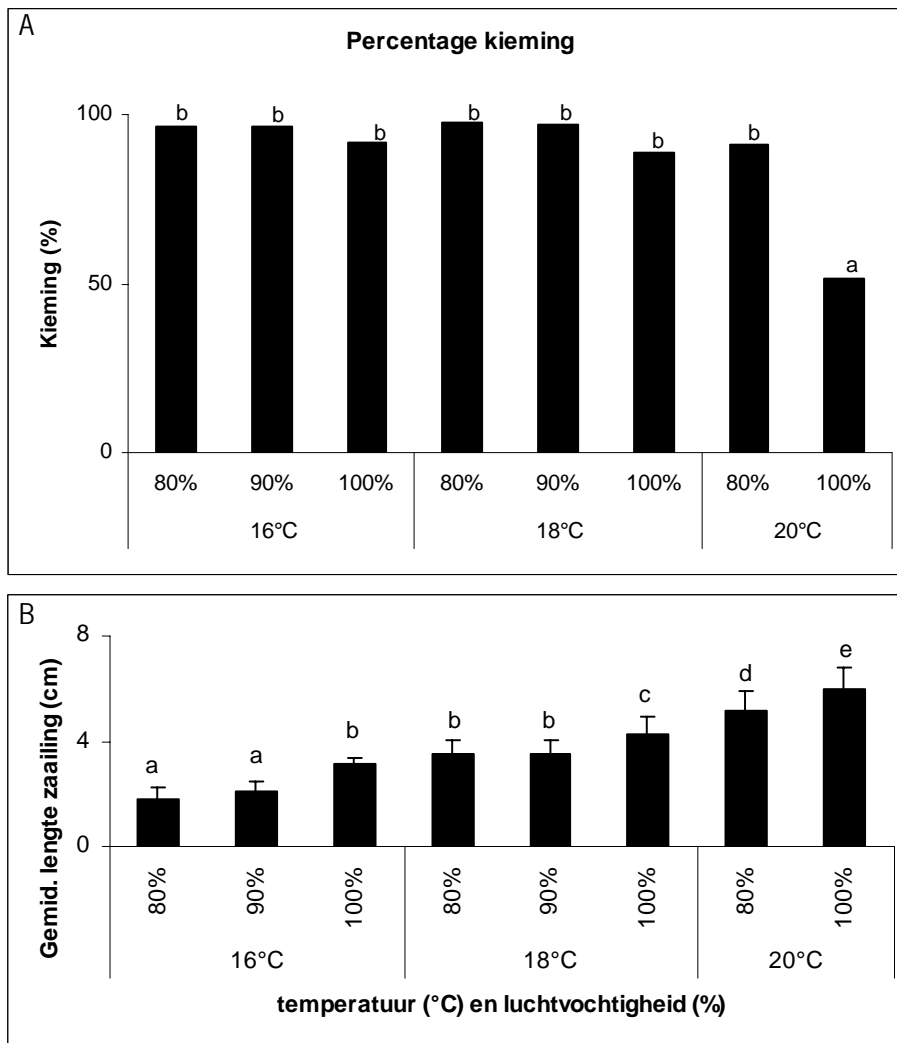
³Luchtvochtigheid fluctueerde tussen 70-80%

3.2 Resultaten en discussie

Kiemgetal bepaling en groei zaailingen

Voor het vaststellen van de optimale infectie omstandigheden van valse meeldauw is gekeken naar het effect van verschillende temperaturen en luchtvochtigheden. Logischerwijs hebben deze factoren ook een effect op de kieming en groei van zonnebloemen. Daarom is besloten naast de standaard kiemgetal bepaling ook de bovengrondse delen van de zaailingen op te meten (Figuur 5). Wanneer er gekeken wordt naar het kiemgetal in combinatie met de verschillende groeiomstandigheden blijkt dat deze duidelijk lager ligt bij 20°C en 100% luchtvochtigheid (Figuur 5A). Het is onwaarschijnlijk dat dit veroorzaakt wordt door valse meeldauw infectie omdat zowel in de besmette als onbesmette grond dezelfde trend naar voren is gekomen (Bijlage 2). Er is achteraf niet gekeken naar de ongekiemde zaden maar het is mogelijk dat de omstandigheden optimaal waren voor andere bodempathogenen waardoor de zaden of kiemplantjes geïnfected zijn en afstierven voordat ze boven de aarde uit groeide. De overige geteste omstandigheden lieten onderling geen significant verschil zien in kiempercentages.

De invloed van temperatuur en luchtvochtigheid is ook terug te zien in de lengte van de zaailingen. Na negen dagen blijkt dat de relatieve luchtvochtigheid een ondergeschikte rol speelt ten opzichte van de temperatuur. De zaailingen bij 20°C en 80% luchtvochtigheid zijn namelijk groter dan de zaailingen bij 18°C en 100% RV.

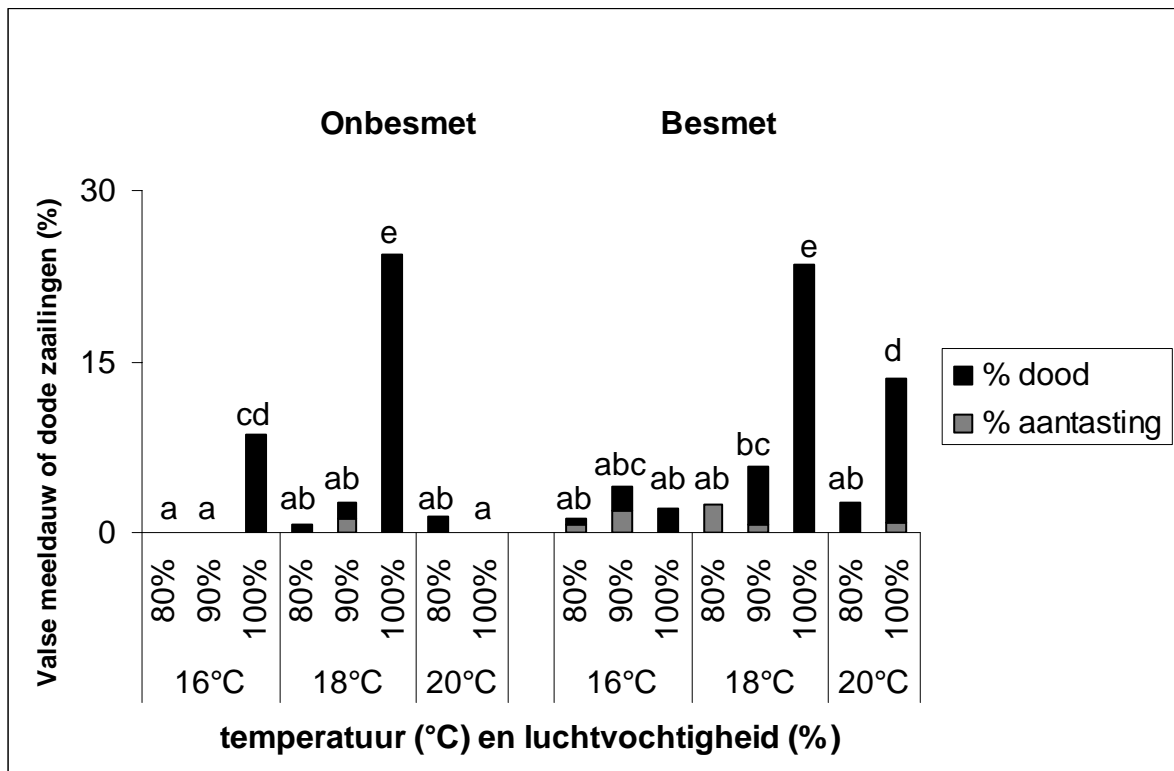


Figuur 5. Invloed van verschillende temperaturen (16, 18 en 20°C) in combinatie met luchtvochtigheid (80, 90 en 100%) op het kiemingspercentage en de groei van zonnebloem. Weergegeven staat het kiemgetal (A) en de lengte van de bovengrondse delen van de zaailingen (B). Het kiemingspercentage en de groei zijn bepaald negen dagen na het zaaien. In beide gevallen zijn de gegevens van besmette en onbesmette grond bij elkaar opgeteld. Dit omdat er geen significant verschil was tussen de verschillende gronden. Significante verschillen worden aangeduid met een letter (ANOVA; $P < 0.05$).

Optimale infectieomstandigheden

De resultaten van de biotoets staan weergegeven in Figuur 6. Het blijkt dat de combinatie van 18°C met 100% luchtvochtigheid het hoogst aantal dode plantjes oplevert. Maar dit wordt waarschijnlijk niet veroorzaakt door valse meeldauw gezien ongeveer hetzelfde percentage uitval werd vastgesteld bij zaailingen op onbesmette grond. Een mogelijke verklaring hiervoor is dat onder deze omstandigheden andere pathogenen de kans krijgen de zonnebloemzaailingen te infecteren. Opmerkelijk is wel dat bij combinatie 18°C en 90% RV ook op de onbesmette grond zaailingen met valse meeldauw infecties gevonden werden. Waarschijnlijk zijn deze plantjes besmet via sporen uit de lucht afkomstig van andere zwaar geïnfecteerde zaailingen (herbesmetting).

De invloeden van andere temperaturen in combinaties met luchtvochtigheden is moeilijk te bepalen omdat er zo weinig valse meeldauw geïnfecteerde zaailingen waren. Het merendeel van de zaailingen is dood en daarvan is niet vast te stellen of dit veroorzaakt is door valse meeldauw. Het is hierdoor niet mogelijk een conclusie te trekken welke infectieomstandigheden optimaal zijn voor valse meeldauw infecties.



Figuur 6. Effect van verschillende temperaturen op valse meeldauw infecties

Weergegeven staat het percentage valse meeldauw besmette plantjes (grijs) en het aantal dode plantjes (zwart) op onbesmette en besmette grond. Significante verschillen zijn aangegeven met letters (ANOVA; $P < 0.05$).

4 Gewasrestenmanagement

De rustsporen van valse meeldauw kunnen tot wel tien jaar overleven in de grond. Het is daarom van belang een besmette bodem te voorkomen. Welke teeltmaatregelen het meest effectief zijn in het voorkomen van de besmetting is onderzocht in een praktijkproef. In deze proef zijn verschillende gewasbehandelingen toegepast die mogelijk oösporenvorming kunnen voorkomen en dus het besmetten van de grond.

4.1 Materiaal en methode

Veldproeven

Er zijn drie veldproeven uitgevoerd, verdeeld over het gehele groeiseizoen (zaaidata: 26 maart, 7 mei en 18 juni 2009). Voorgekiemde zaden (24 uur bij 20°C) werden gedompeld in een sporensuspensie van $4 \cdot 10^4$ sp/ml. Per behandeling werd 4 (zaai 1) of 3 (zaai 2 en 3) meter bed handmatig ingezaaid. De zaden werden om de 10 cm gezaaid met per bed 4 regels in duplo. Er werd voor 2 tot 3 weken gaasdoek over het proefveld gespannen om vraat te voorkomen. Na vijf tot acht weken werd de hoeveelheid planten met systemische aantasting en bladvlekken geteld. Na ongeveer acht weken ondergingen de planten de volgende behandelingen:

- A) De planten werden versnipperd en afgebrand. Na afbranden van het gewas werden de plantresten ingefreesd (10cm).
- B) Versnelde afbraak van plantmateriaal met behulp van Ureum. De planten werden versnipperd en over het veld verspreid. Daarna werd er Ureum (5% in 400 L spuitvloeistof per ha; van Ieperen; NPS = 46:0:0) over de veldjes gespoten. De gewasresten werden hierna lichtjes onder gewerkt om wegwaaien te voorkomen.
- C) De planten werden handmatig verwijderd (Ondergronds en bovengronds).
- D) De planten werden behandeld met Roundup (3L/ha). Deze behandeling is alleen in de tweede en derde veldproef uitgevoerd.
- E) De planten bleven op het veld staan en werden verder niet behandeld.

Biotoets

Na acht weken werden er bodemmonsters van elke behandeling genomen en bewaard bij 5°C voor twaalf weken. Vervolgens werd in een biotoets de infectiegraad van de grondmonsters bepaald (zie bijlage 1). Van de derde veldproef is, gezien het zeer lage infectiegehalte, geen biotoets uitgevoerd.

4.2 Resultaten en discussie

Effect van gewasresten behandeling op infectiedruk van de grond.

Drie veldproeven zijn ingezet met als doel aan het einde van de proeven de gewasresten verschillend te behandelen. De behandelingen zijn zo gekozen dat ze oösporenvorming tegen zouden kunnen gaan. Voordat de gewasresten ondergewerkt werden is het aantal systemische planten vastgesteld (Tabel 3). Er zijn tijdens de proeven ook nog het percentages bladvlekken vastgesteld. Deze waren niet meer aanwezig toen de gewasrestenbehandeling werden uitgevoerd. Het is echter niet uitgesloten dat in bladvlekken op afgevallen bladeren ook oösporen gevormd zijn. Er is dus een mogelijkheid dat hierdoor ook grondbesmetting plaatsvindt.

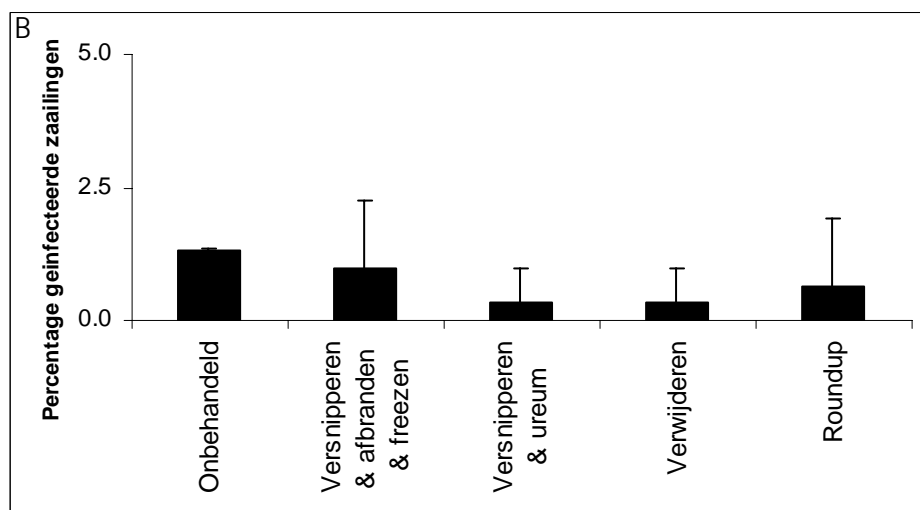
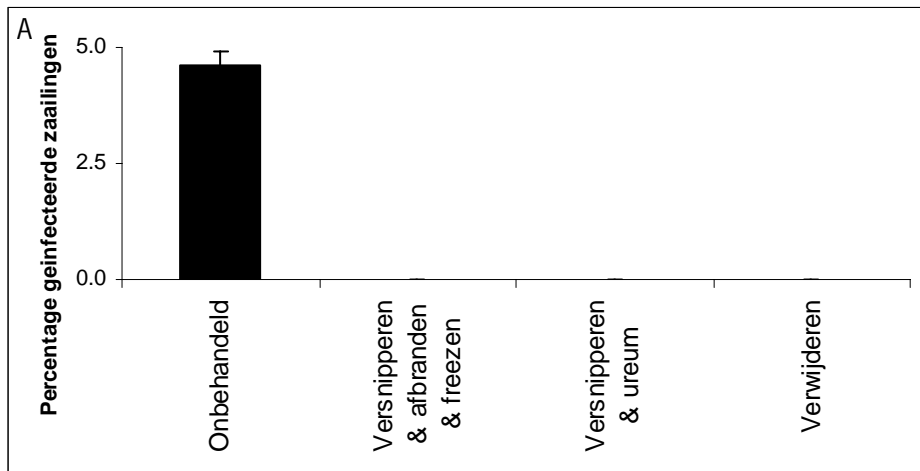
Het bleek dat er in de eerste zet maar 1% systemisch geïnfecteerde planten waren. In de biotoets volgend op de gewasrestenbehandeling werd alleen in de grond van de onbehandelde veldjes systemisch geïnfecteerde zonnebloemzaailingen geconstateerd (Figuur 7A). De infectiedruk was echter zo laag dat een conclusie niet getrokken kan worden.

In de tweede zet was het aantal systemisch geïnfecteerde planten iets hoger (6%). Echter nu bleek wederom in de daarop volgende biotoets dat de infectiedruk toch nog te laag was om een conclusie te kunnen trekken (Figuur 7B). In de derde zet was het aantal geïnfecteerde planten wederom zeer laag. Daarom is besloten hiervan geen biotoets in te zetten.

Het is noodzakelijk dat dit onderzoek wordt herhaald omdat voorkomen van grondbesmetting van belang is voor de beheersing van valse meeldauw. De proefopzet zou dan wel aangepast moeten worden waardoor de infectiedruk hoog genoeg is om het effect van de behandelingen met zekerheid te kunnen meten.

Tabel 3. Overzicht van percentage systemische en doormiddel van bladvlekken geïnfecteerde zonnebloemen per veldproef voordat gewasrestenmanagement uitgevoerd werd.

	Maart (zet 1)	Mei (zet 2)	Juni (zet 3)
Systemisch (%)	1	6	1
Bladvlekken (%)	50	1	90



Figuur 7. Biotests met grond waarop gewasrestenbehandelingen zijn uitgevoerd.

Weergegeven is het percentage systemische geïnfecteerde zaailingen op grond uit de eerste zet (A) en de tweede zet (B) waar verschillende gewasrestenbehandelingen mee zijn uitgevoerd.

5 Optimale omstandigheden voor oösporenvorming

Om meer inzicht te krijgen in waar en wanneer oösporen precies worden gevormd werden systemisch geïnfecteerde planten uit de proeven waarmee het effect van gewasrestenmanagement werd onderzocht (hfd4), ook microscopisch onderzocht. Op deze manier werd inzicht verkregen in wanneer bijvoorbeeld de eerste oösporen in het veld zich vormen (Foto 1). En of er bijvoorbeeld meer of minder oösporen werden gevormd aan het einde van het groeiseizoen.

In een ander experiment is gekeken of temperatuur en/of licht invloed heeft op oösporenvorming. Hiervoor werden zaailingen die onder verschillende omstandigheden gegroeid waren onderzocht op aanwezigheid van oösporen.

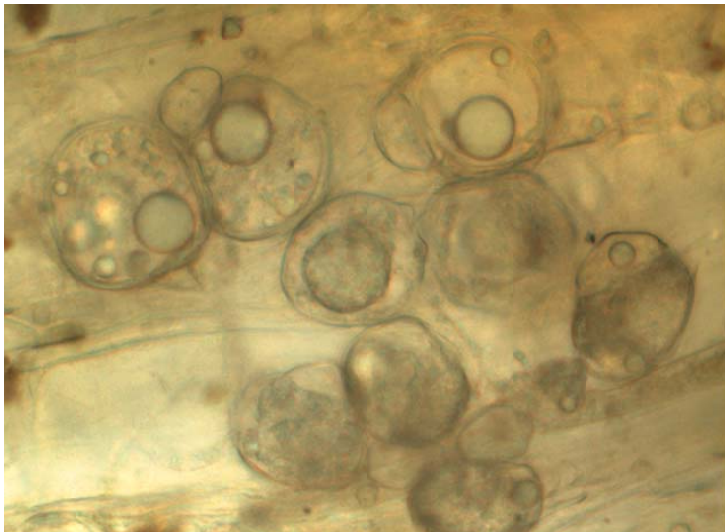


Foto 1. Microscopische opname van oösporen in zonnebloem

5.1 Materiaal en methoden

Oösporenvorming op het veld

De opzet van de praktijkproeven staat beschreven in hoofdstuk 4. Om de twee weken werden zieke planten voor microscopisch onderzoek naar Wageningen UR (Laboratorium voor plantencelbiologie) gestuurd. Daar werden de wortels en het hypocotyl (overgang tussen stengel en wortel) onderzocht op aanwezigheid van oösporen door André van Lammeren. De planten zijn onderzocht op schimmeldraden (hyfen), voedingsstructuren (haustoria) en oösporen

Optimale omstandigheden voor oösporenvorming

Zonnebloem zaden zijn zoals voor een biotoets opgekweekt in 80 wells bakjes op besmette grond (18°C en 14 uur daglicht). Tien dagen na zaaien zijn de bakken met plantjes in plastic verpakt om sporulatie te induceren. Systemisch aangetaste planten (4 stuks per behandeling) en gezonde planten (1 per behandeling) werden vervolgens over geplant in onbesmette grond en geïncubeerd onder verschillende omstandigheden. Er zijn drie verschillende temperaturen getest (5, 10 en 18°C) in combinatie met een dag en nacht lichtregime (14h licht/ 8h donker). Daarnaast zijn er ook planten bij dezelfde temperaturen in totale duisternis weggezet. Hiermee werd gekeken naar het effect

Na zeven dagen werden de planten morfologisch en microscopisch geanalyseerd op aanwezigheid van oösporen. Het was in sommige gevallen niet mogelijk alle dode planten te analyseren omdat deze geheel verdroogd of vergaan waren.

5.2 Resultaten en discussie

Oösporenvorming op het veld

Gedurende de gehele proef zijn er telkens met valse meeldauw geïnfecteerde en gezonde planten microscopisch geanalyseerd (Tabel 4). Het bleek dat in de monsternamen van 18 mei (gezaaid 26 maart) twee van de vier systemische geïnfecteerde planten oösporen bevatten. In de andere twee planten werden ze niet aangetoond. Een maand na zaaien werden dus al oösporen gevormd.

Plantmonsters van het tweede zaaimoment (7 mei) werden alleen zonnebloemen gevonden met oösporen in de laatste monsternamen (2 juli). In de derde praktijkproef (18 juni) werden geen oösporen in systemisch geïnfecteerde planten gevonden.

Met deze gegevens lijkt het er op dat alleen in het begin van het groeiseizoen oösporen gevormd worden. In 2008 zijn er systemisch geïnfecteerde planten in september en oktober geanalyseerd. Daarin konden oösporen worden aangetoond. Het lijkt er op dat de meeste oösporen dus alleen in het begin en aan het einde van het groeiseizoen worden geproduceerd. Het is echter noodzakelijk meer onderzoek naar de productie van oösporen te doen om deze conclusie hard te maken.

Latente infectie

Opmerkelijk was dat gezond ogende planten soms hyfen en zelfs voedingsstructuren (haustoria) bevatten. Dit was alleen te zien bij planten die later in het groeiseizoen geanalyseerd werden (vanaf 8 juni). Er zijn echter geen oösporen in de gezond ogende planten gevonden. Het is mogelijk dat deze hyfen afkomstig zijn van andere schimmels die niet ziekteverwekkend zijn. Maar het kan ook op de mogelijkheid duiden dat valse meeldauw latent aanwezig kan zijn.

Tabel 4. Overzicht van microscopisch geanalyseerde zonnebloemen gedurende het groeiseizoen van 2009

Zaai Moment ¹	Datum plant monster	N weken na zaaien	Plant Gezondheid ²	Hyfen ³	Haustoria ⁴	Oösporen ⁵	
1	23-april	4	Gezond	-	-	Nee	
			Gezond	-	-	Nee	
			Gezond	-	-	Nee	
			Gezond	-	-	Nee	
		Gezond	-	-	Nee		
		VM infectie	-	-	Ja		
		VM infectie	-	-	Ja		
		VM infectie	-	-	Ja		
		VM infectie	-	-	Ja		
		VM infectie	-	-	Ja		
	7-mei	6	Gezond	-	-	Nee	
			Gezond	-	-	Nee	
			Gezond	-	-	Nee	
			Gezond	-	-	Nee	
		VM infectie	-	-	Ja		
		VM infectie	-	-	Ja		
		VM infectie	-	-	Ja		
		VM infectie	-	-	Ja		
		18-mei	8	VM infectie	-	-	Nee
				VM infectie	Ja	-	Nee
VM infectie	-			-	Ja		
VM infectie	-			-	Ja		
2	8-juni	4	Gezond	Ja	Ja	Nee	
			VM infectie	Ja	Ja	Nee	
	18-juni	6	Gezond	Nee	Nee	Nee	
			VM infectie	Ja	Ja	Nee	
			VM infectie	Ja	Ja	Nee	
	2-juli	8	Gezond	Ja	Ja	Nee	
			Gezond	Ja	Ja	Nee	
			VM infectie	Ja	Ja	Nee	
			VM infectie	Ja	Ja	Nee	
			VM infectie	Ja	Ja	Ja	
	3	20-juli	4	Gezond	Ja	Nee	Nee
				Gezond	Ja	Nee	Nee
VM infectie				Ja	Nee	Nee	
VM infectie				Ja	Ja	Nee	
VM infectie				Ja	Ja	Nee	

¹Zaaidata: 26 maart, 7 mei en 18 juni 2009

² Rood= Bijzondere waarneming zoals bijvoorbeeld hyfen in de gezond-ogende plant (latente infectie) en geen oösporen in de aangetaste plant.

^{3, 4 en 5} Hyfen zijn myceliumdraden; haustoria zijn voedingsstructuren waarmee *P. halstedii* voeding uit de cellen van de zonnebloem haalt; oösporen zijn dikwandige rustsporen. (-) betekend dat er niet gezocht is naar deze structuren.

Optimale omstandigheden voor oösporenvorming

Zonnebloemzaailingen die geïnfecteerd zijn met *Plasmopara halstedii* en daarna bij verschillende temperaturen (5, 10 of 18 °C) zijn gezet bleken allemaal oösporen te bevatten. Dat gebeurt zowel bij kweek in continu donker als na een week licht/donker regime. Het is echter ook gebleken dat alle planten die geen licht hebben gehad gedurende de zeven dagen van incubatie het, op een enkeling na, niet overleefd hebben (Tabel 4). Sommige planten konden nog wel geanalyseerd worden en bleken ten opzicht van de planten die een gewoon dag en nacht lichtregime hadden gehad veel meer oösporen te bevatten (Tabel 5).

Hieruit blijkt dat lichtgebrek oösporenvorming induceert en dat de temperatuur in oösporenvorming een ondergeschikte rol speelt. Deze gegevens sluiten aan bij hetgeen geconstateerd is in geanalyseerde planten van het veld (zie hierboven). Wanneer er kortere daglengtes zijn wordt oösporenvorming geïnduceerd.

Tabel 5. Oösporen microscopisch geanalyseerd in individuele planten geïncubeerd (7 dg) onder verschillende omstandigheden

Temp.	Conditie ¹	D of N ²	Oösporen ³
5°C	Aangetast	D/N	+
	Aangetast	D/N	+
	Aangetast	D/N	+
	Aangetast	N	-
	Dood	N	++
	Dood	N	++
10°C	Aangetast	D/N	+
	Dood	D/N	+
	Dood	N	++
	Dood	N	++
18°C	Aangetast	D/N	+
	Dood	D/N	+
	Dood	D/N	+
	Dood	D/N	+
	Dood	N	++
	Dood	N	+

¹ In sommige gevallen was het niet mogelijk dode planten nog te analyseren.

² D/N= Dag en nacht ritme (14h licht en 8 uur donker) of N =nacht (24h donker).

³ Geen (-) of normaal (+) of veel (++) oösporen geconstateerd.

6 Verspreiding van zoosporen: secundaire infectie

Aan het begin van het groeiseizoen worden de jonge zaailingen geïnfecteerd door oösporen vanuit de grond. De systemisch geïnfecteerde planten produceren zoösporangia met elk 20 á 30 zoösporen. Dit is het witte pluis onder aan de bladeren. De zoösporen veroorzaken op hun beurt weer bladvlekken. Dit is de zogenaamde secundaire infectie maar kan uiteindelijk ook weer tot systemische infecties leiden. Om meer inzicht te krijgen in wanneer zoösporen en/of zoösporangia door de lucht verspreiden is de lucht gedurende het gehele groeiseizoen bemonsterd.

6.1 Materiaal en methode.

Luchtmonitoring

Luchtmonitoring werd uitgevoerd met behulp van een Burkard (Foto 2). Deze was opgesteld op op de proeftuin van PPO van week 18 (29 april) tot week 34 (20 augustus) in 2009. Er werd 100 liter lucht per minuut automatisch naar binnen gezogen. De lucht werd opgevangen op een stukje folie dat ingesmeerd was met paraffine. Met de tijd draait het strookje folie voor de opening van de Burkard. Na een week werd het folie vervangen, in zeven gelijke stukken geknipt en bewaard bij -20°C.



Foto 2. De Burkard.

Door middel van een opening (pijl) zuigt de Burkard lucht aan die langs een smal stukje folie met daarop paraffine geleid wordt. De sporen blijven plakken terwijl het folie langzaam voor de opening draait door middel van het motortje (driehoekje). De Burkard is uitgerust met een windvaan (sterretje) waardoor de opening altijd in de windrichting blijft staan.

Aantonen van *P.hasteditii* in luchtmonsters

Van elke week werden de monsters van de maandagen geanalyseerd op aanwezigheid van zoosporen van valse meeldauw behalve van de weken 21 en 31. Hiervoor werd bij de stukjes folie 300 µl lysisbuffer (Qiagenkit solution) gepipetteerd. Na 30 minuten 55°C en 10 minuten 95°C werd er 100 µl protein precipitation solution toegevoegd. Hierna 10 minuten op ijs en 10 minuten afdraaien. Na decanteren werd er 800 µl 100% ethanol toegevoegd. Na 10 minuten en decanteren werd het pellet gewassen met 300 µl 70% Ethanol. Pellet werd gedroogd aan de lucht en daarna opgelost in 25 µl water. Voor de PCR werden *P.hasteditii* specifieke primers ITS 2F (5'-TGCGAAAGATTTTGCTCGTA-3') en ITS 2 Rk (5'-GGCCAAAGGAACAATCTTCA-3') in een reamplificatie gebruikt nadat er eerst met ITS 1-4 primers een PCR uitgevoerd was. PCR protocol (Primers 1µL, mastermix 12.5µL, DNA 1µL en water 9.5µ); Ter controle werd het DNA van gevriesdroogde *P. halstedii* zoösporen gebruikt. Hiervoor werd een ep puntje gevuld met gevriesdroogd materiaal en er werd 270 µL lysisbuffer aangevoegd. Vervolgens is de rest van het DNA protocol gevolgd. In de specifieke PCR product werd *P. halstedii* aangetoond in dit materiaal.

6.2 Resultaten en conclusie

In de luchtmonster bleek het mogelijk met behulp van moleculaire technieken om *P.hasteditii* aan te tonen (Tabel 6). De verwachting was dat er in het begin van het groeiseizoen geen zoösporen aanwezig zouden zijn. Er zijn dan nog geen bladvlekken waar de zoösporen geproduceerd worden. Dit geldt ook voor het einde van het groeiseizoen. Opmerkelijk genoeg bleek dat alleen in de monsters van de weken 22, 23 en 30 *P.halstedii* aangetoond kon worden. Er is geen verklaring voor het feit dat er in de andere monsters valse meeldauw niet kon worden aangetoond. Dit was wel de verwachting. Hierdoor is het noodzakelijk de luchtmonsters van de andere dagen van de week ook te analyseren. Op deze manier kan een definitieve conclusie gemaakt worden.

Tabel 6. Moleculaire analyse van luchtmonsters

week	datum	PCR product ¹
19	4 Mei	-
20	11 mei	-
22	25 mei	+
23	1 juni	+
24	8 juni	-
25	15 juni	-
26	22 juni	-
27	29 juni	-
28	6 juli	-
29	13 juli	-
30	20 juli	+
32	3 aug	-

¹ Aanwezig (+) en afwezig (-).

7 Algemene conclusie en aanbevelingen

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

- Een goede beheersingsstrategie van valse meeldauw bestaat uit een zaadcoating (Metalaxyl), middel A met een grondtoepassing en middel B tegen bladvlekken.
- Er is een duidelijke relatie tussen valse meeldauw uitbraken en vochtige omstandigheden tijdens het zaaien.
- Bladvlekken ontstaan lokaal en zijn kort zichtbaar in het gewas. Het lijkt erop dat bladvlekken uit een eerdere zaai later in het seizoen in andere zaai sets bladvlekken kunnen veroorzaken. Het is onduidelijk of de verspreiding van zoosporen hiermee te maken heeft. Of andere factoren zoals microklimaat spelen een rol waardoor er geen relatie tussen het lokaal verspreiden van sporen hoeft te zijn.
- Oösporen worden al in mei (een maand na het zaaien) gevonden in systemisch zieke planten. Later in het groeiseizoen (juni en juli) konden er geen oösporen meer aangetoond worden in de planten. In combinatie met de microscopische analyses van planten uit een veldproef in 2008 (september, oktober), is nu de hypothese dat oösporen in het begin en aan het einde van het groeiseizoen geproduceerd worden. Mogelijke verklaring hiervoor is de kortere daglengte. Het is gebleken dat geïnfecteerde planten in het donker relatief meer oösporen bevatten dan wanneer ze bij een 14 uur licht per dag hebben gehad.
- Er is vast komen te staan dat valse meeldauw infecties ook latent aanwezig kunnen zijn.
- Het is mogelijk *P. halstedii* in luchtmonsters aan te tonen.

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.

8 Communicatie

2009

- Voorlichtingsbijeenkomst Beheersing Valse Meeldauw in zonnebloem waarvoor alle zonnebloementelers waren uitgenodigd waarin de stand van zaken tot nu toe is toegelicht. PPO Lisse, 6 februari 2009. (Marjan de Boer)
- 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 6 februari 2009. Hierop is kort de epidemiologie van *Plasmopora halstedii* weergegeven en daarbij oude en nieuwe adviezen om aantasting zoveel mogelijk te voorkomen.
- Rondleiding over proefvelden PPO Lisse. 24 Juni 2009. (Marjan de Boer)
- Bericht op website LTO groeiservice, valse meeldauw in zonnebloem 2 juli 2009. (Marjan de Boer)
- Presentatie Valse meeldauw in zonnebloemen laatste resultaten 2009. Takii Europe, De Kwakel, 27 augustus 2009. (Marjan de Boer)
- Stukje in vakblad voor de Bloemisterij, Oorlog op vele fronten tegen valse meeldauw in zonnebloem nr 36, 2009
- Poster presentatie Valse meeldauw in zonnebloemen tijdens open dag PPO Lisse. Een update van 2009, 11 september 2009 (Suzanne Breeuwsma)
- Begeleidingscommissie bijeenkomst Valse meeldauw in zonnebloem waarin zowel biologische als gangbare telers vertegenwoordigd als een zaadproducent en veredelaar PPO Lisse, 25 november 2009 (Roselinde Duyvesteijn)

2010

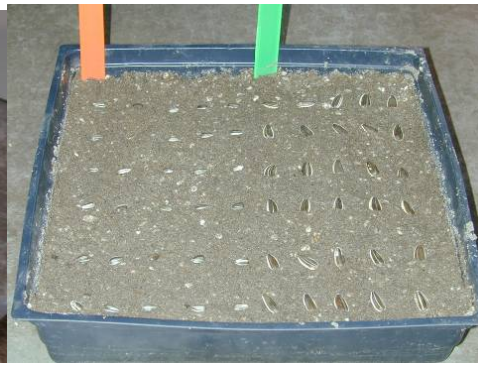
- Landelijke bijeenkomst Helianthus georganiseerd door Takii Europe en LTO groeiservice, valse meeldauw in zonnebloem. 13 januari 2010. (Roselinde Duyvesteijn)
- Stukje in vakblad voor de Bloemisterij, Valse meeldauw bij Helianthus verder in onderzoek. nr 3, 2010

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 7-10 dagen).
- 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 plaatsen op vochtig doek in een plastic zwarte kooi . De planten worden door middel van een plantenspuit vochtig gemaakt. Óf B) Elk bakje wordt afzonderlijk verpakt in een plasticzak.
- Scoor na 1 nacht de geïnfecteerde planten (sporulatie onder- en bovenkant bladeren).

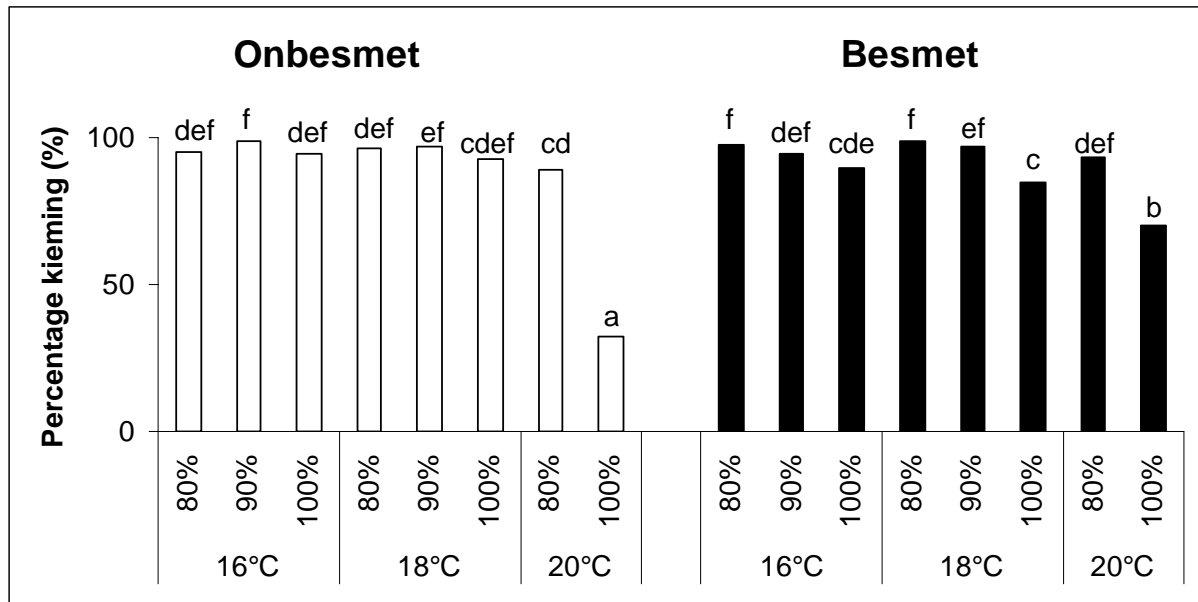


Creëren van hoge luchtvochtigheid



Bladeren met valse meeldauw sporen

Bijlage 2 Kiemingspercentages



Figuur 8. Kiemgetal van zonnebloemzaad op onbesmette en met valse meeldauw besmette grond.

Weergegeven staat het kiemgetal van zaden onder verschillende condities: drie verschillende temperaturen (16, 18 en 20°C) in combinatie met 80, 90, 100% RV. Significante verschillen zijn aangeduid met een letter (ANOVA; $P < 0.05$)