

Beheersing valse meeldauw (*Peronospora destructor*) in uien

Proefjaar 2011

Bert Evenhuis¹, Joanneke Spruijt¹, Corina Topper¹, Marjon Krijger²
& Geert Kessel²

¹Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector AGV

Februari 2012

²Plant Research International

PPO nr. 3252039500

© 2012 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, 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.

In opdracht van:



Projectnummer: 3252039500

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Sector AGV

Adres : Edelhertweg 1, Lelystad
: Postbus 430, 8200 AK Lelystad
Tel. : 0320 - 29 11 11
Fax : 0320 - 23 04 79
E-mail : infoagv.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

1	INLEIDING	6
2	OPTREDEN BOLBESMETTING; VELDPROEF 2010; BIOTOETSEN 2010 / 2011	7
2.1	Inleiding	7
2.2	Proefopzet.....	7
2.3	Resultaten en bespreking	8
2.4	Conclusies	10
3	OPTREDEN BOLBESMETTING; KASPROEF 2011	11
3.1	Inleiding	11
3.2	Proefopzet.....	12
3.3	Resultaten en bespreking	13
3.4	Conclusies	14
4	OPTREDEN BOLBESMETTING; VELDPROEF 2011	15
4.1	Inleiding	15
4.2	Proefopzet.....	15
4.3	Resultaten en bespreking	17
4.4	Conclusie	17
5	ALTERNATIEVEN WARMWATERBEHANDELING	18
5.1	Inleiding	18
5.2	Proefopzet.....	18
5.3	Resultaten en bespreking	19
5.4	Conclusies	25
6	ALTERNATIEVEN WARMWATERBEHANDELING (2)	26
6.1	Inleiding	26
6.2	Proefopzet.....	26
6.3	Resultaten en bespreking	27
6.3.1	Stoombehandelingen.....	27
6.3.2	Biotoets.....	31
6.4	Conclusies	33
7	SPORULATIEMODEL VALSE MEELDAUW	34
7.1	Inleiding	34
7.2	Sporulatie volgens model	34
7.3	Sporulatie in de praktijk	36
7.4	Conclusies	38
8	EFFECTIVITEIT BRANDEN	39
8.1	Inleiding	39
8.2	Proefopzet.....	39
8.3	Resultaten en bespreking	39
8.4	Conclusies	43

9	MOLECULAIRE TOETS	44
9.1	Inleiding	44
9.2	Proefopzet.....	44
9.3	Resultaat	44
9.4	Discussie.....	46
9.5	Conclusies	46
	BIJLAGE 1: OUTPUT 2011	47

1 Inleiding

Afgelopen jaren was valse meeldauw (*Peronospora destructor*) in uien een terugkerend probleem. Bij vroege aantasting en onvoldoende bestrijding leidt valse meeldauw tot nagenoeg volledig oogstverlies. In de praktijk komt het meestal niet zover, maar de schade kan toch aanzienlijk zijn als geen passende maatregelen worden genomen.

Beheersing van valse meeldauw is gericht op het voorkomen van het ontstaan van (initiële) bronnen, zoals systemische besmetting van plantuien en aangetaste uienpercelen.

Het is niet bekend of de besmetting van de uienbol ook in het strijk stadium aan het eind van de teelt kan plaatsvinden en onder welke omstandigheden dit dan gebeurt. Methoden om geïnfecteerd plantgoed vrij te maken van valse meeldauw zijn in ontwikkeling en moeten nog verder geoptimaliseerd worden.

In hoeverre oösporen een rol spelen bij de start van de valse meeldauw epidemie is niet bekend.

De schimmel verspreidt zich bij gunstige weersomstandigheden met sporen door de lucht en breidt zich explosief uit. Zo is grotendeels onduidelijk onder welke omstandigheden valse meeldauw sporen zich over langere afstanden kunnen verspreiden en eventueel infectie kunnen veroorzaken in andere uienpercelen.

In 2004 is in opdracht van het Productschap Akkerbouw (PA) onderzoek gestart om uiteindelijk tot een praktische beheersstrategie voor valse meeldauw in de teelt van uien te komen.

In dit verslag worden de resultaten van het onderzoek uitgevoerd in 2011 gepresenteerd. Het onderzoek is gefinancierd door Productschap Akkerbouw.

Hoofddoelstellingen in het onderzoek zijn:

- (A) Verminderen van het optreden van valse meeldauw (*Peronospora destructor*) in uien door het terugdringen van initiële infectiebronnen.
- (B) Toetsen van de praktische haalbaarheid van de bestrijdingsstrategieën en -methodieken in de teelt van uien.

Hierbij worden de volgende zwartepunten in het onderzoek onderscheiden:

- biotoets met 1^e jaars plantuien van veldproef bolbesmetting 2010 in februari 2011.
- voorkomen van systemische aantasting door een chemische / biologische behandeling na het uitplanten van eerste jaarsplantuien
- onderzoek naar het infectieproces van 1^e-jaars-plantuien en specifiek de transmissie van valse meeldauw naar de bol en hoe dat te onderbreken
- nader onderzoek naar de combinatie van warmte/vocht behandelingen van plantuitjes i.s.m. het bedrijfsleven (Ruvoma)
- nader onderzoek naar de effectiviteit van loofbranden gericht op een goede timing van de behandeling
- timing van loofbranden op basis van het verspreidingsmodel
- testen (validatie) verspreidingsmodel valse meeldauw onder praktijkomstandigheden
- doorontwikkelen PCR-methode met nadruk op analyse van mengmonsters
- afhankelijk van de resultaten een survey opzetten naar de vorming van oösporen in praktijkvelden

Daarnaast is in 2011 in opdracht van het Ministerie van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie een aanvullende proef uitgevoerd met betrekking tot stoombehandelingen bij plantuitjes. Deze proef sluit aan op de proef met warmte/vocht behandelingen in opdracht van het Productschap Akkerbouw en is daarom integraal in dit rapport opgenomen.

2 Optreden bolbesmetting; veldproef 2010; biotoetsen 2010 / 2011

2.1 Inleiding

Het is niet bekend of de besmetting van de uienbol ook in het strijk stadium aan het eind van de teelt kan plaatsvinden. Zodra de uien gaan strijken wordt er niet meer gespoten tegen valse meeldauw. In de biologische teelt worden de uien gebrand om besmetting van de bol te voorkomen. PPO heeft in 2009 en 2010 een veldproef uitgevoerd in 1e-jaars plantuien, waarbij verschillende middelen met een spuitinterval van een week zijn toegepast tot drie weken vóór de oogst en tot 1 week vóór de oogst. Tevens is gekeken naar het effect van loofbranden op verschillende tijdstippen. De proef is in juli tweemaal volvelds geïnoculeerd. Eind juli, toen het gewas vrijwel volledig gestreken was, werd er in diverse objecten veel valse meeldauw aantasting waargenomen.

Uit eerder onderzoek leek naar voren te komen dat er mogelijk een verschil was bij toetsen in het najaar ten opzichte van toetsen in het voorjaar. Met de in 2010 geoogste plantuitjes is in het najaar van 2010 een biotoets in de kas uitgevoerd, die in februari-maart 2011 herhaald is, om vast te stellen of bolbesmetting in de laatste 3 weken van de teelt, tijdens het strijken, kan optreden en in hoeverre de verschillende behandelingen dit voorkomen.

2.2 Proefopzet

In deze veldproef in 2010 zijn verschillende middelen met een spuitinterval van een week toegepast tot drie weken vóór de oogst en tot 1 week vóór de oogst. Tevens is gekeken naar het effect van loofbranden op de mate van bolbesmetting. Bij branden 3 weken voor het eind van de teelt was het gewas al bijna volledig gestreken. Er is toen op 30 cm hoogte gebrand, bij een rijsnelheid van 2,5 km per uur. Bij branden op het latere tijdstip zijn dezelfde instellingen aangehouden. In Tabel 1 zijn de verschillende objecten weergegeven.

Tabel 1 **Proefdata van de verschillende objecten in de veldproef eerstejaars plantuien**

Object	Behandeling	Timing behandelingen	Behandelingsdata (2010)
A	Tridex DG 2,75 kg/ha	sputen tot eind teelt	24-6, 1-7, 9-7, 19-7, 26-7, 2-8, 9-8
B	Tridex DG 2,75 kg/ha	2 weken eerder stoppen	24-6, 1-7, 9-7, 19-7, 26-7
C	Acrobat DF 2,5 kg/ha	sputen tot eind teelt	24-6, 1-7, 9-7, 19-7, 26-7, 2-8, 9-8
D	Acrobat DF 2,5 kg/ha	2 weken eerder stoppen	24-6, 1-7, 9-7, 19-7, 26-7
E	Fandango	sputen tot eind teelt	24-6, 1-7, 9-7, 19-7, 26-7, 2-8, 9-8
F	Fandango 1,25 l/ha	2 weken eerder stoppen	24-6, 1-7, 9-7, 19-7, 26-7
G	Branden 1,25 l/ha	2 weken voor eind teelt	2-8
H	branden	3 weken voor eind teelt	26-7
O	onbehandeld		

Zowel in november 2010 als in februari-maart 2011 is een biotoets in de kas uitgevoerd om te toetsen in welke mate er systemische aantasting in de verschillende objecten optrad.

2.3 Resultaten en bespreking

In 2010 leverde alleen de behandeling waarbij met Fandango tot het eind van de teelt werd doorgespoten in de biotoets in het najaar geen systemisch aangetaste plantuitjes op (Tabel 2). In 2009 werd bij Acrobat (lang doorspuiten) en Tridex (vroeg stoppen) geen systemische aantasting gevonden. Bij de herhaling van de biotoets 2010 in februari/maart 2011 werd in alle objecten systemische aantasting waargenomen.

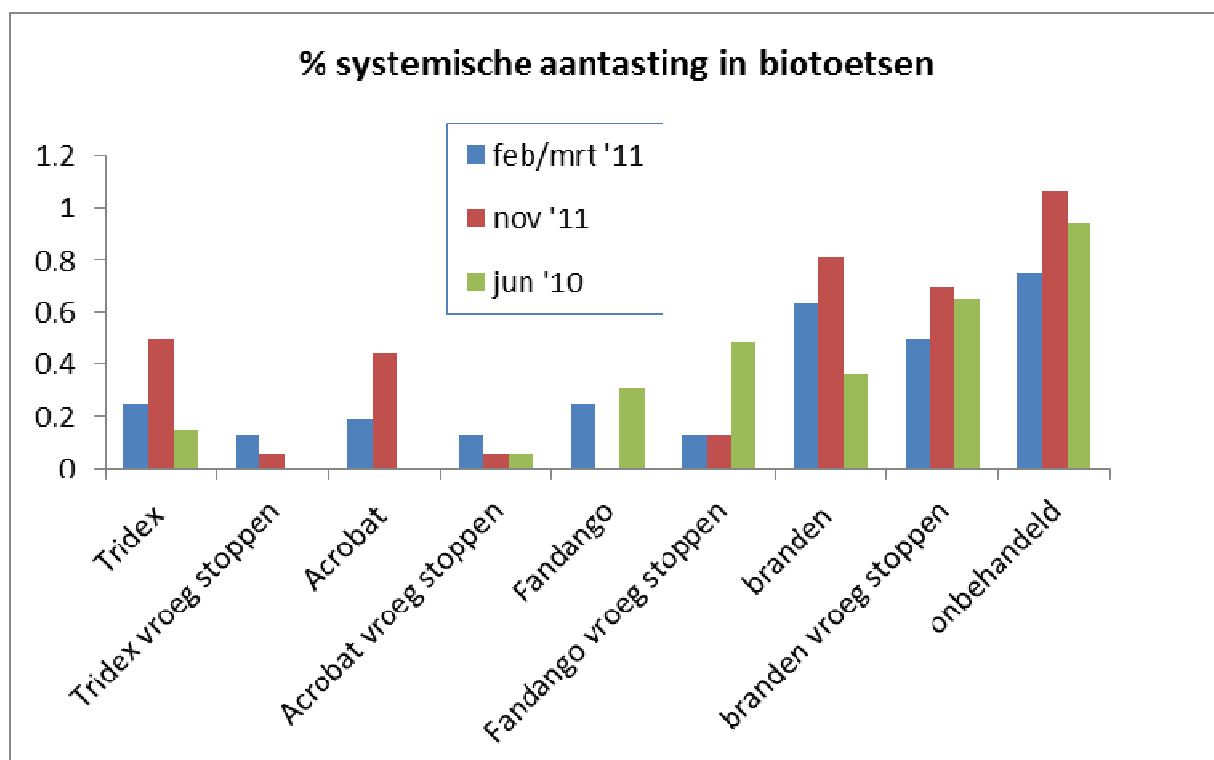
Bij diverse chemische behandelingen is de mate van aantasting meestal lager dan onbehandeld (Tabel 2). Bij branden is er wel een trend dat het tot expressie komen van valse meeldauw wordt onderdrukt.

Tabel 2 **Percentage systemisch aangetaste plantuitjes in biotoetsen oogstjaar 2010 en 2009**

Object	Behandeling	biotoets febr/mrt 2011 (oogst 2010)	biotoets november 2010 (oogst 2010) ^a	biotoets juni 2010 (oogst 2009) ^a
A	Tridex	0.25 a b . ¹	0.50 a b c	0.15 ab.
B	Tridex vroeg stoppen	0.13 a . .	0.06 a b .	0.00 a..
C	Acrobat	0.19 a b .	0.44 . b c	0.00 a..
D	Acrobat vroeg stoppen	0.13 a . .	0.06 a b .	0.06 a..
E	Fandango	0.25 a b .	0.00 a . .	0.31 ab.
F	Fandango vroeg stoppen	0.13 a . .	0.13 a b .	0.49 abc
G	branden	0.63 . . c	0.81 . . c	0.36 ab.
H	branden vroeg stoppen	0.50 . b c	0.69 . . c	0.65 .bc
O	onbehandeld	0.75 . . c	1.06 . . c	0.94 ..c

^a: Resultaten eerder gepubliceerd in jaarverslag over 2010.

¹ waarden binnen één kolom die met verschillende letters zijn aangeduid zijn significant verschillend van elkaar

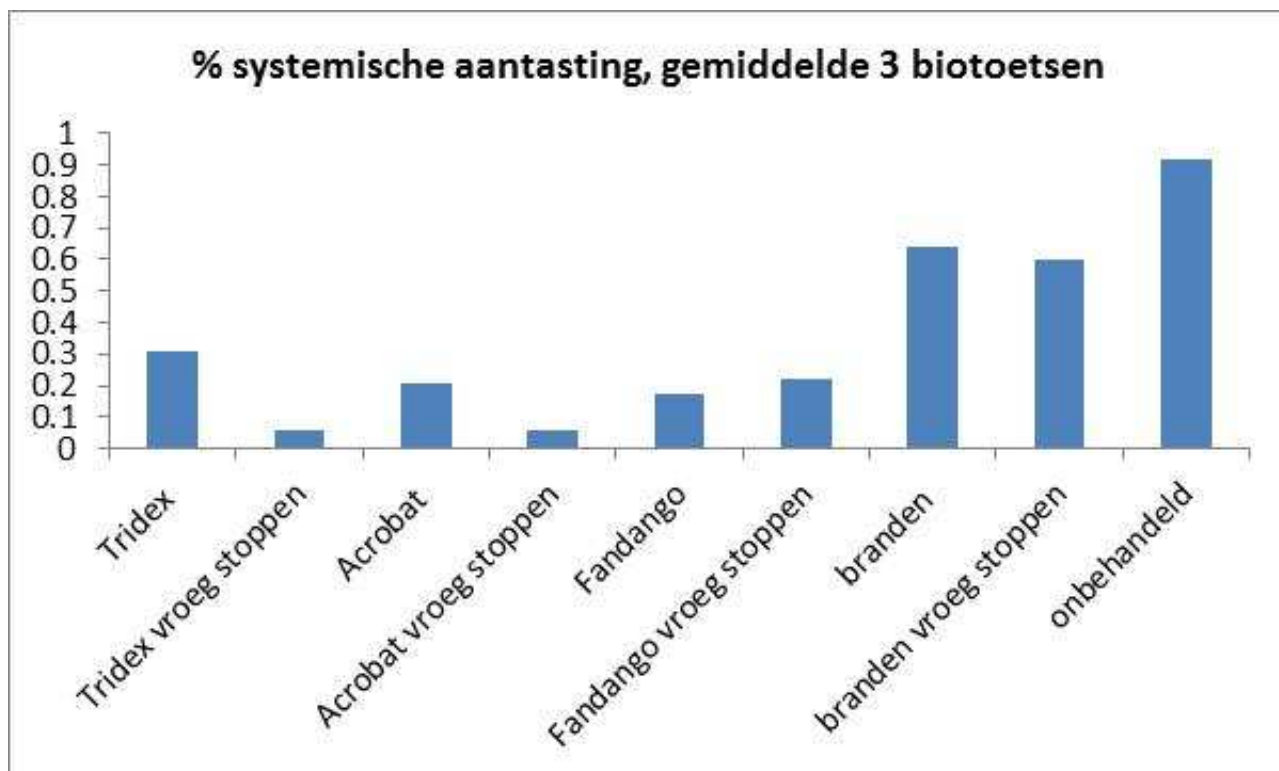


Figuur 1: Percentage systemisch aangetaste plantuitjes in biotoetsen oogstjaar 2010 en 2009

In Tabel 3 en Figuur 2 zijn de gemiddelde resultaten van de 3 biotoetsen weergegeven.

Tabel 3 **Gemiddeld percentage systemisch aangetaste plantuitjes van 3 biotoetsen oogstjaar 2010 en 2009**

Object	Behandeling	3 biotoetsen
A	Tridex	0.31 a b .
B	Tridex vroeg stoppen	0.06 a . .
C	Acrobat	0.21 a . .
D	Acrobat vroeg stoppen	0.06 a . .
E	Fandango	0.17 a . .
F	Fandango vroeg stoppen	0.22 a . .
G	branden	0.64 . . c
H	branden vroeg stoppen	0.60 . b c
O	onbehandeld	0.92 . . c



Figuur 2: Percentage systemisch aangetaste plantuitjes, gemiddelde van 3 biotoetsen oogstjaar 2010 en 2009

2.4 Conclusies

- Zowel bij de in het veld bespoten als bij de gebrande plantuitjes trad systemische infectie op.
- Bij de bespoten objecten was de systemische infectie significant lager dan onbehandeld, bij de gebrande objecten niet.
- Er waren geen statistisch betrouwbare verschillen tussen eerder stoppen met de behandelingen of doorgaan tot aan de oogst.

3 Optreden bolbesmetting; kasproef 2011

3.1 Inleiding

Valse meeldauw overleeft onder andere in eerste jaarsplantuien. Worden deze plantuien weer in het veld gezet in het volgende seizoen dan kan de schimmel weer tevoorschijn komen en het gewas te besmetten. De mate van besmetting van de 1^e jaarsplantuien is vaak laag, minder dan 1%. Bij *Phytophthora infestans*, een kan het tot expressie komen van infectie uit de knol onderdrukt worden door gewasbehandeling in een vroeg stadium van de teelt. De vraag doet zich voor of dat bij valse meeldauw in ui ook het geval kan zijn. Hierbij is niet alleen gekeken naar fungiciden, maar ook naar stoffen die mogelijk de plantafweer bevorderen. In de internationale literatuur is een heel scala aan stoffen beschreven die de plantafweer kunnen bevorderen. Op basis van werkingsmechanisme is een aantal stoffen gekozen om te toetsen of verhoging van de plantafweer het tot expressie komen van valse meeldauw kon onderdrukken.

In een kasproef in 2011 is getoetst of chemische gewasbeschermingsmiddelen en afweerinducerende stoffen effect hebben op het tot expressie komen van valse meeldauw.

Geïnfecteerde plantuitjes zijn in een biotoets in bakken in de kas geplant. De bakken zijn twee maal behandeld met fungiciden of met producten die de plant aanzetten tot een generieke afweerreactie. De mate van systemische infectie is vergeleken.



Foto 1: Geïnfecteerde plantuitjes op de dag van de eerste behandeling in de kas

3.2 Proefopzet

De geïnfecteerde plantuitjes zijn eind maart in de kas in bakken uitgeplant. Elk object bestond uit twee bakken met elk 200 uitjes, de proef is in vier herhalingen uitgevoerd. Op 11 en 18 april zijn de behandelingen uitgevoerd (Tabel 4). Direct na de tweede behandeling werd er meerdere nachten in de kas gemist om de plantjes te laten sporuleren.

Tabel 4: behandelingen bij tweedejaars plantuien in de kas

Object	middel	toepassingsmethode	dosering	
O	-	onbehandeld	-	
A	Acrobat DF	2 x spuiten in spuitcabine	2,5 kg/ha	12,5 g/l; 200 l/ha
B	Dithane	2 x spuiten in spuitcabine	2,75 kg/ha	13,75 g/l; 200 l/ha
C	Fubol Gold	2 x spuiten in spuitcabine	2,0 kg/ha	10 g/l; 200 l/ha
D	kaliumfosfiet	2 x spuiten in spuitcabine	8 g/ha	40 mg/l; 200 l/ha
E	BABA ²	1 x aangieten 1 x spuiten in spuitcabine	200 g/ha	0,5 g/l; 800 ml per 800 uitjes 1,0 g/l; 200 l/ha
F	Antagonist + Chitosan HCl	2 x spuiten met handspuit		400 ml per 800 uitjes

² = DL-3-amino-butyric acid

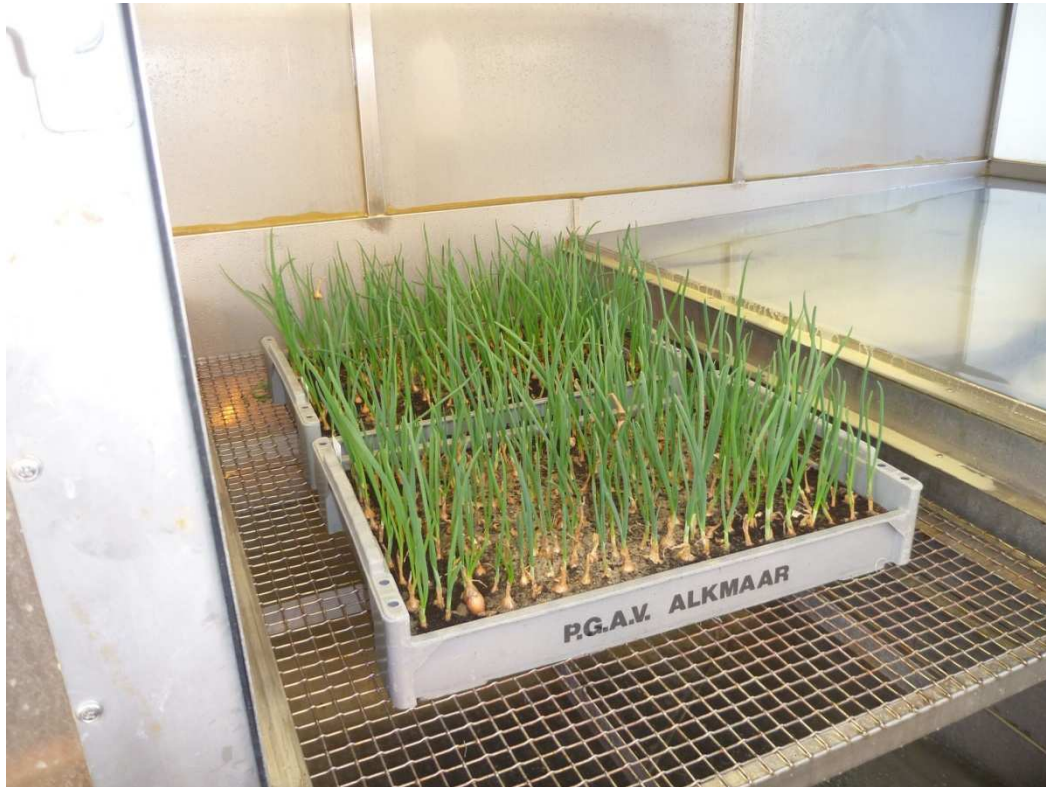


Foto 2: Twee bakken met uitjes zijn in de spuitcabine geplaatst

3.3 Resultaten en bespreking

In zowel de behandelde objecten als het onbehandelde object kwam een gedeelte van de plantjes tot sporulatie. De aantasting in het onbehandelde object was zelfs lager dan in de objecten die behandeld waren met fungiciden, maar de verschillen zijn niet significant. Stoffen die de afweersysteem van de plant aan zetten (D, E & F) hadden evenmin effect op het tot expressie komen van valse meeldauw.

Tabel 5: Percentage systemische aantasting na twee behandelingen bij tweedeaars plantuien in de kas

Object	middel	% systemische aantasting
O	-	0.1
A	Acrobat DF	0.7
B	Dithane	0.6
C	Fubol Gold	1.0
D	kaliumfosfiet	0.8
E	BABA ³	0.6
F	Antagonist + Chitosan HCl	0.6

³ = DL-3-amino-butyric acid

3.4 Conclusies

Bespuitingen met verschillende middelen konden sporulatie bij systemisch aangetaste plantuitjes in deze proef niet onderdrukken en leken de sporulatie juist te stimuleren (niet significant). De proef is uitgevoerd in een kas waarbij de omstandigheden om tot sporulatie te komen meerdere nachten achter elkaar gunstig waren. Onder veldomstandigheden zal dat minder het geval zijn. Onduidelijk is of de behandeling onder veldomstandigheden wel tot onderdrukking kan leiden.

4 Optreden bolbesmetting; veldproef 2011

4.1 Inleiding

Aantasting van 1^e jaarsplantuinen kan bolbesmetting opleveren. In proeven blijkt dat zelfs bij zware aantasting in het gewas de mate van besmetting van de 1^e jaarsplantuinen beperkt blijft. De transmissie van valse meeldauw van het loof naar de bol is vindbaar onder speciale omstandigheden of in een bepaalde groeifase plaats.

In 2011 is in een veldproef onderzocht op welk moment in de epidemie de 1e jaars plantuitjes besmet raken. Hiertoe zijn de uitjes in het veld kunstmatig geïnoculeerd en op 6 verschillende tijdstippen geroid. Er waren zowel chemisch behandelde als onbehandelde uitjes. De uitjes zijn in de kas in een biotoets uitgeplant om de mate van systemische infectie te vergelijken.

4.2 Proefopzet

De helft van de 1^e jaars plantuitjes is wekelijks gespoten en de andere helft niet. De wekelijkse bespuitingen zijn weergegeven in Tabel 6.

Tabel 6: fungicidebespuitingen bij de 1^e jaars plantuitjes in het veld

datum	middel	dosering
15 juni	Kenbyo MZ	1,2 kg/ha
23 juni	Tridex	2,75 kg/ha
30 juni	Tridex	2,75 kg/ha
7 juli	Tridex	2,75 kg/ha
15 juli	Fandango	1,25 l/ha
19 juli	Fandango	1,25 l/ha
21 juli	Tridex	2,75 kg/ha
28 juli	Fandango	1,25 l/ha
4 aug	Fandango	1,25 l/ha

Op 11 juli zijn de plantuitjes volvelds geïnoculeerd met een sporensuspensie. Vervolgens zijn de veldjes op verschillende tijdstippen gerooid, zie Tabel 7.

Tabel 7: behandelingen bij de 1^e jaars plantuitjes in het veld

Object	inoculeren	wekelijks spuiten	oogsttijdstip
O 1	nee	ja	3 aug
O 2	nee	nee	3 aug
A 1	11 juli	ja	22 juli
A 2	11 juli	nee	22 juli
B 1	11 juli	ja	25 juli
B 2	11 juli	nee	25 juli
C 1	11 juli	ja	29 juli
C 2	11 juli	nee	29 juli
D 1	11 juli	ja	3 aug
D 2	11 juli	nee	3 aug
E 1	11 juli	ja	9 aug
E 2	11 juli	nee	9 aug
F 1	11 juli	ja	3 aug
F 2	11 juli	nee	3 aug





Foto 3 en 4: Gewas op moment van inoculatie (11 juli)

4.3 Resultaten en bespreking

Zowel voor als na inoculatie is er geen noemenswaardige aantasting in het veld waargenomen. Het kiempercentage van de sporen waarmee is geïnoculeerd lag rond de 50%, wat voor valse meeldauw hoog te noemen is. Desondanks is er geen zichtbare infectie opgetreden van het gewas. Mogelijk bleef het gewas niet genoeg nat, omdat de relatieve luchtvochtigheid rond de 90% bleef hangen.

4.4 Conclusie

Door het ontbreken van systemisch aangetaste uitjes kon niet aangegeven worden hoe lang na infectie en symptoomontwikkeling *P. destructor* migreert naar de bol.

5 Alternatieven warmwaterbehandeling

5.1 Inleiding

In 2010 zijn in opdracht van het ministerie van Economische zaken, Landbouw & Innovatie oriënterende proeven onder laboratorium omstandigheden uitgevoerd om de effecten van diverse alternatieven voor warm waterbehandeling van plantuitjes te onderzoeken. Het betrof infrarood en magnetron behandelingen, warme luchtbehandelingen met vochttoediening op het PPO proefbedrijf en stoombehandelingen door Ruvoma en Thermoseed behandelingen door Incotec. UV en Infra roodbehandeling voldeden niet en zullen niet verder worden beproefd. De stoombehandelingen en thermoseed behandelingen bieden goede perspectieven om verder ontwikkeld te worden. In opdracht van het Productschap Akkerbouw zijn de proeven van 2011 ingezet op proefneming met stroombehandeling, waarbij gekeken is naar een combinatie van temperatuur, tijdsduur en relatieve luchtvochtigheid.

5.2 Proefopzet

Met twee verschillende besmette partijen zijn in 2011 verschillende stoombehandelingsvarianten bij Ruvoma uitgevoerd. De temperatuurreeks was 40, 42.5 en 45°C, bij een relatieve luchtvochtigheid van 85 en 95 % en gedurende één en twee dagen, zie Tabel 8. De uitjes zijn vervolgens in een biotoets in de kas getoetst op mate van kieming en systemische aantasting.

Tabel 8: Proef data van de verschillende stoombehandelingen bij Ruvoma

beoogde behandelingstemp.	beoogde RV	behandelings- duur	herkomst plantuitjes
Onbehandeld			A
Onbehandeld			B
40°C	85 %	1 dag	A
40°C	85 %	1 dag	B
40°C	85 %	2 dagen	A
40°C	85 %	2 dagen	B
40°C	95 %	1 dag	A
40°C	95 %	1 dag	B
40°C	95 %	2 dagen	A
40°C	95 %	2 dagen	B
42,5°C	85 %	1 dag	A
42,5°C	85 %	1 dag	B
42,5°C	85 %	2 dagen	A
42,5°C	85 %	2 dagen	B
42,5°C	95 %	1 dag	A
42,5°C	95 %	1 dag	B
42,5°C	95 %	2 dagen	A
42,5°C	95 %	2 dagen	B
45°C	85 %	1 dag	A
45°C	85 %	1 dag	B
45°C	85 %	2 dagen	A
45°C	85 %	2 dagen	B
45°C	95 %	1 dag	A
45°C	95 %	1 dag	B
45°C	95 %	2 dagen	A
45°C	95 %	2 dagen	B

5.3 Resultaten en bespreking

Bij de eerste behandeling met een beoogde behandelingstemperatuur van 40° en een RV van 85 % bleek dat het lang duurde voordat de gewenste temperatuur bereikt werd. De uitjes zaten toen in een dichte kist (zie Foto 5). Bij de daarop volgende behandelingen zijn open kisten gebruikt (zie Foto 6), omdat verondersteld werd dat de opwarming hierdoor verbeterd zou worden.



Foto 5: containerbehandeling in dichte kist



Foto 6: containerbehandeling in open kist

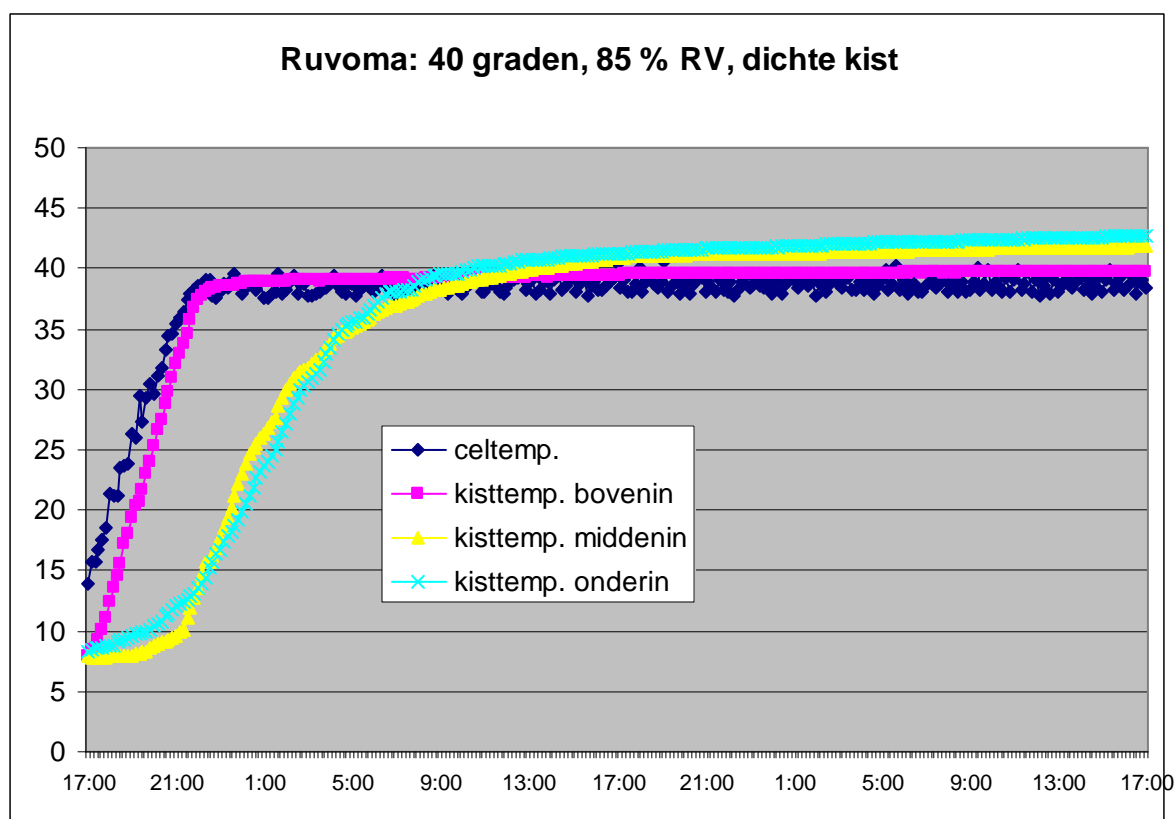
Op basis van de grafieken lijken open kisten echter geen duidelijke versnelling van het opwarmingsproces te geven. Vooral middenin de kisten duurt het lang voordat de gewenste temperatuur bereikt wordt.

De temperatuurverschillen tussen verschillende plekken in de kisten zijn bij alle verschillende behandelingen groot. Verder blijkt ook dat als de gewenste temperatuur eenmaal bereikt is, deze verder blijft door stijgen dan de omgevingstemperatuur in de cel. Dit gebeurt met name midden in de kisten. Waarschijnlijk is dit broei. Hierdoor is met name bij de hogere beoogde temperaturen de temperatuur die de uitjes op sommige plekken in de kist bereiken een stuk hoger dan bedoeld. Zie Tabel 9 en de figuren 3 t/m 8.

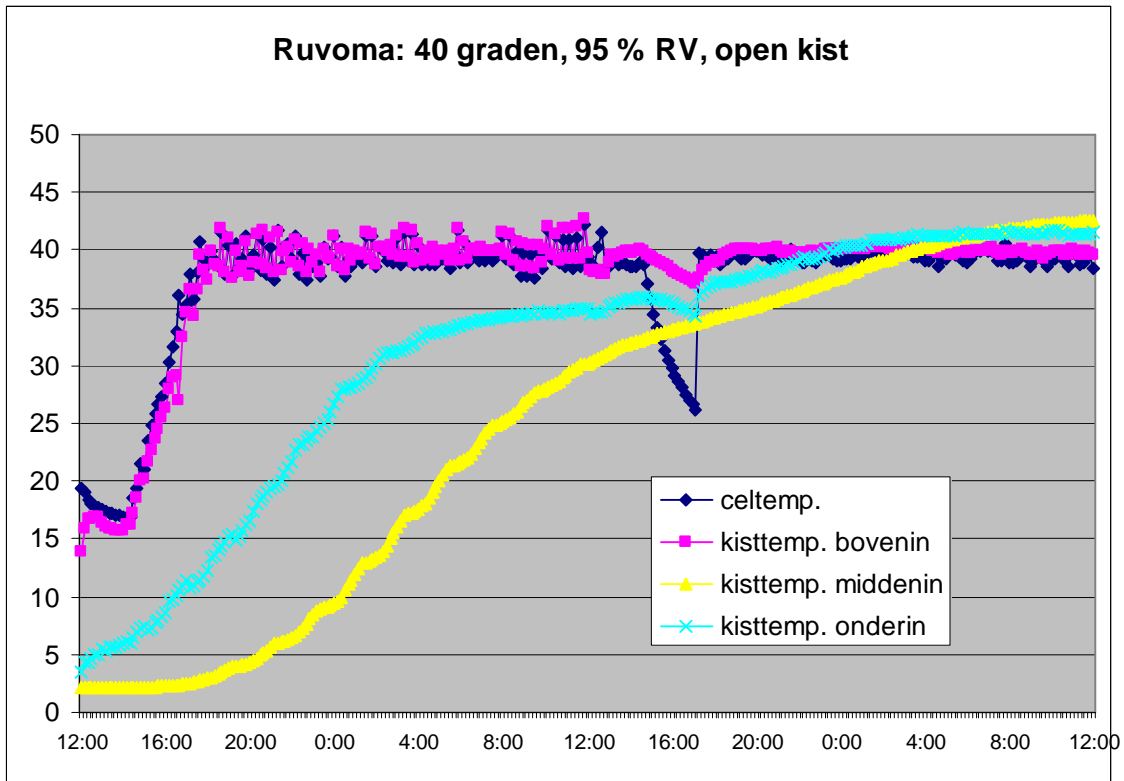
De beoogde temperaturen werden niet altijd behaald. Uit proeven met warmwaterbehandelingen is gebleken dat een behandeling van minimaal één uur op minimaal 40°C effectief is. Bij deze stoombehandelingen werd dit ook bij de hogere beoogde temperaturen niet altijd bereikt, zie Tabel 9.

Tabel 9: Maximaal bereikte temperaturen bij de verschillende behandelingen boven-, midden- en onderin de kist

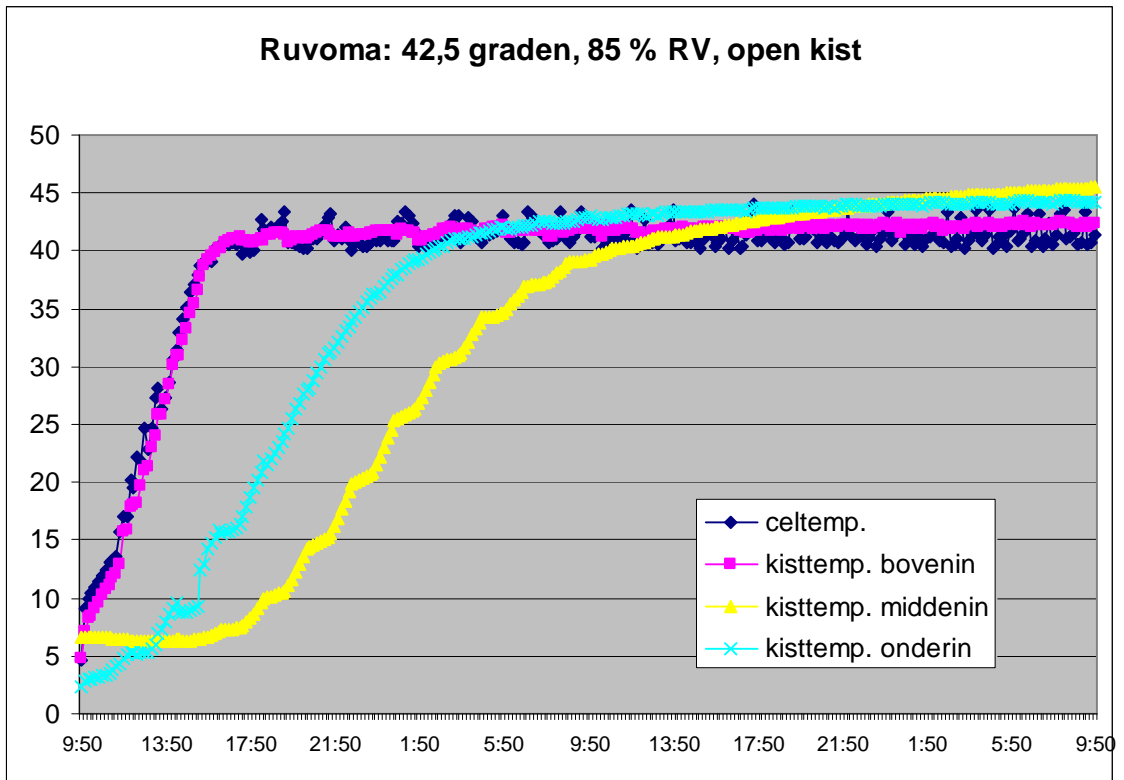
beoogde behandelings temp.	beoogde RV	behandelings-duur	maximaal bereikte temp.		
			bovenin kist	middenin kist	onderin kist
40°C	85 %	1 dag	39.5	40.9	41.3
40°C	85 %	2 dagen	39.8	41.9	42.7
40°C	95 %	1 dag	42.8	30.2	35.0
40°C	95 %	2 dagen	42.8	42.6	41.7
42,5°C	85 %	1 dag	42.2	39.3	43.0
42,5°C	85 %	2 dagen	42.5	45.5	44.4
42,5°C	95 %	1 dag	43.8	45.5	45.7
42,5°C	95 %	2 dagen	43.9	47.5	46.9
45°C	85 %	1 dag	48.2	43.6	27.9
45°C	85 %	2 dagen	49.0	46.0	47.3
45°C	95 %	1 dag	46.2	49.7	48.4
45°C	95 %	2 dagen	46.5	51.3	49.4



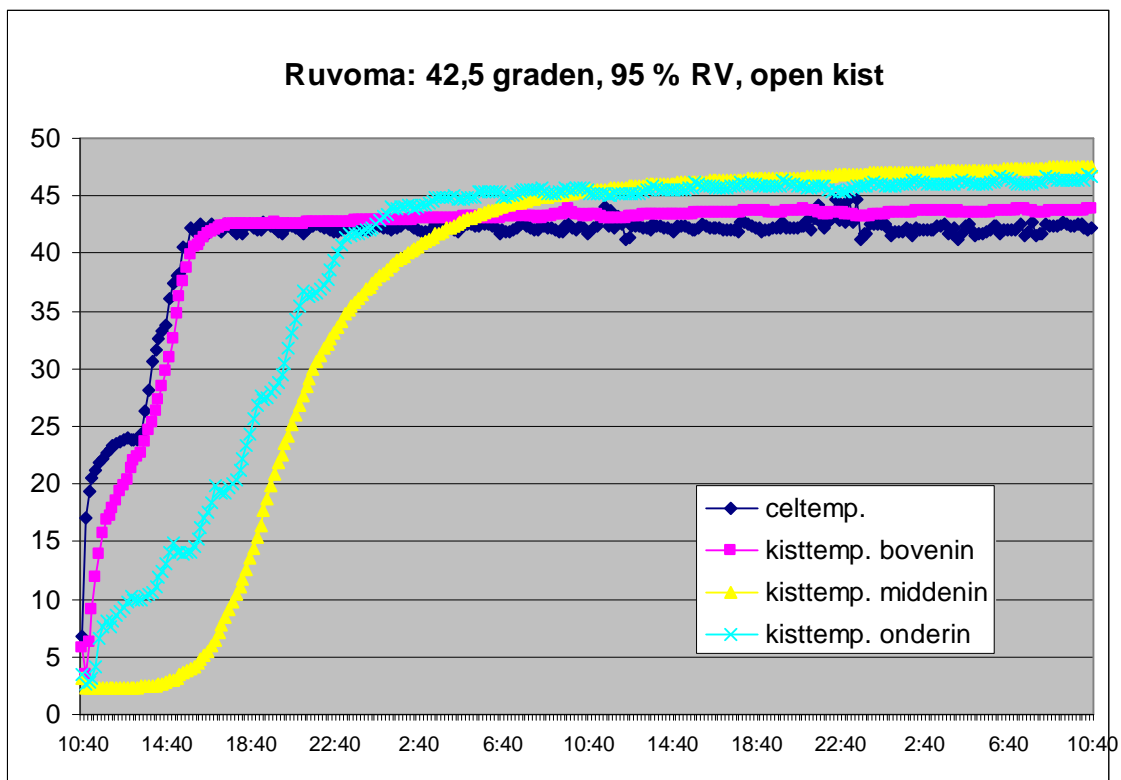
Figuur 3: Temperatuurverloop in de cel en boven-, midden- en onderin de dichte kist bij Ruvoma behandeling op 40°C bij 85 % RV



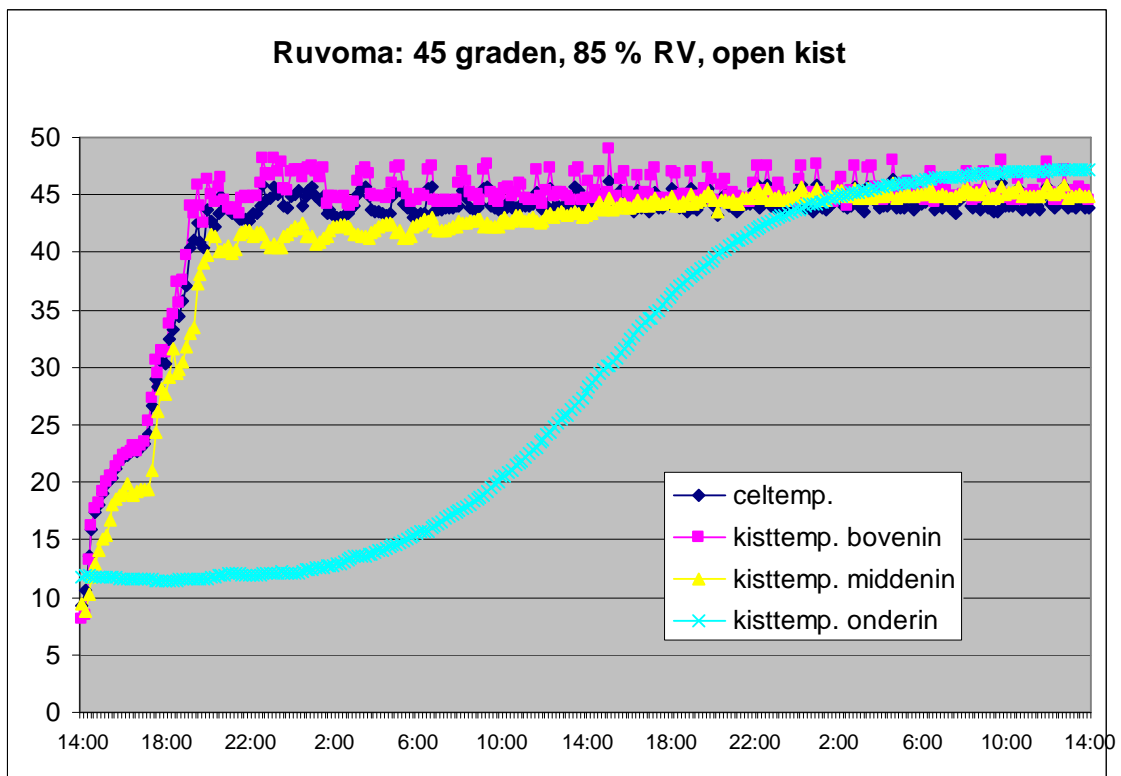
Figuur 4: Temperatuurverloop in de cel en boven-, midden- en onderin de open kist bij Ruvoma behandeling op 40°C bij 95 % RV



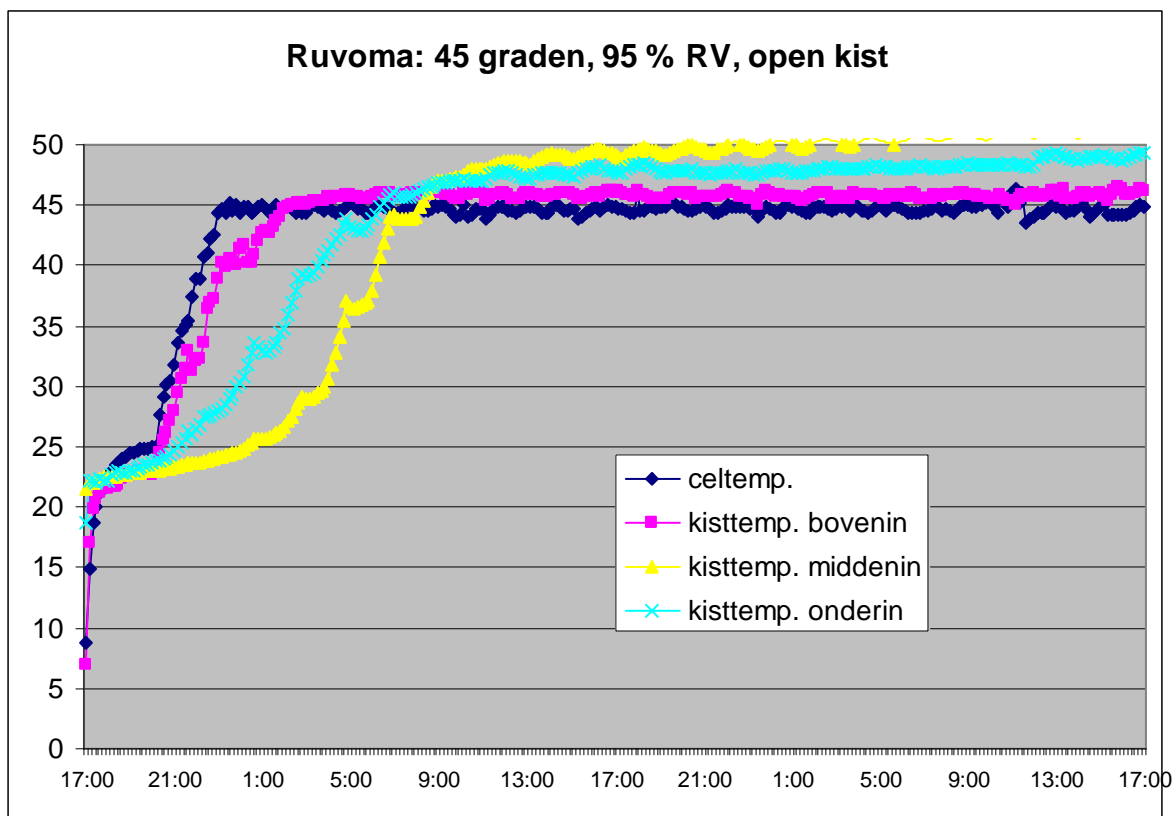
Figuur 5: Temperatuurverloop in de cel en boven-, midden- en onderin de open kist bij Ruvoma behandeling op 42.5°C, bij 85 % RV



Figuur 6: Temperatuurverloop in de cel en boven-, midden- en onderin de open kist bij Ruvoma behandeling op 42.5°C, bij 95 % RV



Figuur 7: Temperatuurverloop in de cel en boven-, midden- en onderin de open kist bij Ruvoma behandeling op 45°C, bij 85 % RV



Figuur 8: Temperatuurverloop in de cel en boven-, midden- en onderin de open kist bij Ruvoma behandeling op 45°C, bij 95 % RV

Bij het opzetten van de uitjes in de biotoets bleken vooral uitjes met een beoogde temperatuur van 45°C beschadigd te zijn, zie Foto 7 en Foto 8. Bij diverse behandelingen zijn de temperaturen te hoog geweest, waardoor de kieming sterk afnam, zie Foto 9 en Tabel 10.



Foto 7 en Foto 8: Schade aan de ui door te hoge temperatuur

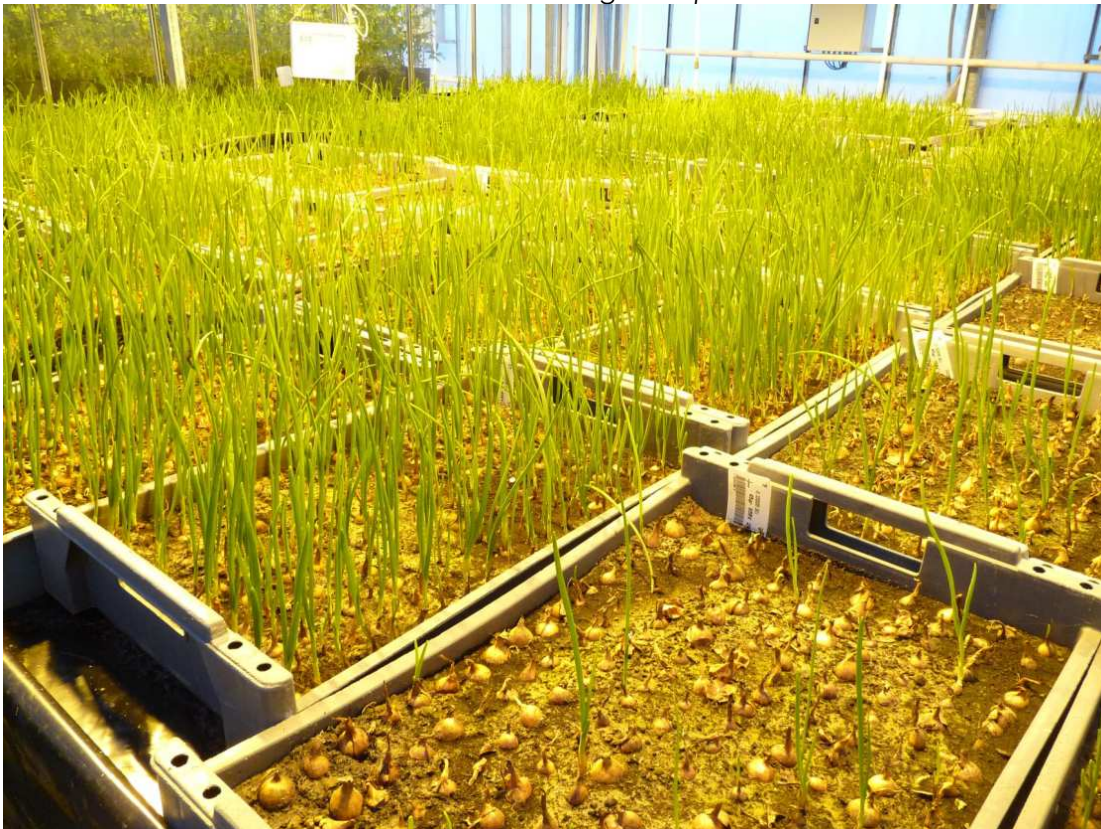


Foto 9: Kieming in de biotoets; op de voorgrond is een bak met slechte kieming zichtbaar

In Tabel 10 is het percentage kieming en het percentage uitjes met valse meeldauw sporulatie weergegeven.

De uitjes die op 40 °C behandeld waren, kiemden net zo goed als onbehandelde uitjes. Vanaf 42,5°C neemt de kieming af. M.u.v. de behandeling op 42,5°C bij 85 % RV gedurende 1 dag, maar deze bereikte middenin de kist de 40°C niet, zie Tabel 9. In 1% van de onbehandelde uitjes kwam de systemische infectie door sporulatie tot uitdrukking. Bij op één na alle warmtebehandelingen kwam geen sporulatie voor. Bij de behandeling op 40°C bij 95 % RV gedurende 1 dag echter wel. Deze behandeling heeft volgens Tabel 9 zowel midden- als onderin de kist niet de 40°C gedurende één uur bereikt.

Tabel 10: Percentage kieming en percentage systemische aantasting door valse meeldauw bij de verschillende behandelingen, gepoolde waarnemingen van 2 partijen plantuien.

beoogde behandelings temp.	beoogde RV	behandelings- duur	kieming %		aantasting %	
onbehandeld			95	f ⁴	1,0	c
40°C	85 %	1 dag	91	f	0,0	a
40°C	85 %	2 dagen	95	f	0,0	a
40°C	95 %	1 dag	97	f	0,3	b
40°C	95 %	2 dagen	99	f	0,0	a
42,5°C	85 %	1 dag	93	f	0,0	a
42,5°C	85 %	2 dagen	73	e	0,0	a
42,5°C	95 %	1 dag	68	e	0,0	a
42,5°C	95 %	2 dagen	19	c	0,0	a
45°C	85 %	1 dag	9	b	0,0	a
45°C	85 %	2 dagen	15	c	0,0	a
45°C	95 %	1 dag	46	d	0,0	a
45°C	95 %	2 dagen	2	a	0,0	a

5.4 Conclusies

- Het duurde lang (soms meer dan 24 uur) voordat de gewenste temperatuur middenin de kist werd bereikt
- Er waren vrij grote temperatuurverschillen tussen verschillende plekken in de kist
- Als de gewenste temperatuur binnenin de kist werd bereikt, werd die de uren daarna nog met enkele graden overschreden
- In de onbehandelde controle leidde 1% van de opgezette uien tot sporulatie in de biotoets.
- Op één na alle warmtebehandelingen bleken effectief
- Vanaf een ingestelde behandelingstemperatuur van 42,5°C nam de kieming van de uitjes echter af, mede als gevolg van hogere bereikte temperaturen dan ingesteld
- Een ingestelde behandelingstemperatuur van 40°C had geen negatief effect op de kieming van de uitjes
- Eén behandeling op 40°C gaf toch sporulatie, deze behandeling had de gewenste temperatuur van 40°C dan ook niet bereikt.

⁴ Resultaten binnen één kolom met een verschillende letteraanduiding zijn significant verschillend van elkaar

6 Alternatieven warmwaterbehandeling (2)

6.1 Inleiding

In de proef die in het voorgaande hoofdstuk beschreven is, was de behandelingsduur 1 of 2 dagen. Uit proeven met de gebruikelijke warmwaterbehandelingen is gebleken dat een behandeling van minimaal één uur op minimaal 40°C effectief is.

Het is de vraag hoe lang de stoombehandeling bij 40°C of 42.5°C minimaal moet duren om effectief te zijn en negatieve effecten op de kieming te voorkomen. Dat is in deze proef in opdracht van het Ministerie van EL&I verder onderzocht.

6.2 Proefopzet

Uit twee verschillende partijen geïnfecteerde plantuitjes zijn netzakjes met ruim 400 uitjes gevuld. Eén partij betrof het ras Sturon en de ander het ras Centurion.

De uitjes zijn in het najaar in een cel bij Ruvoma behandeld bij een beoogde RV van 95 % en beoogde temperaturen van 40°C en 42.5°C.

Op verschillende tijdstippen werd een deel van de uitjes uit de cel gehaald. De behandelingsduur ging in vanaf het moment dat de gewenste temperatuur daadwerkelijk bereikt was. Uit elke partij waren er ook zakjes die niet behandeld zijn. In Tabel 11 zijn de verschillende objecten met de beoogde behandelingsduur, RV en temperatuur weergegeven. De objecten kwamen in twee herhalingen bij twee partijen voor.

Tabel 11: Beoogde duur van de behandeling, temperatuur en luchtvochtigheid bij de verschillende objecten

object	duur behandeling	temp.	RV
O	onbehandeld		
A	1 uur	40°C	95 %
B	2 uur	40°C	95 %
C	4 uur	40°C	95 %
D	8 uur	40°C	95 %
E	16 uur	40°C	95 %
F	24 uur	40°C	95 %
G	1 uur	42.5°C	95 %
H	2 uur	42.5°C	95 %
I	4 uur	42.5°C	95 %
J	8 uur	42.5°C	95 %
K	16 uur	42.5°C	95 %
L	24 uur	42.5°C	95 %

Gedurende de behandelingen is het verloop van de temperatuur en de luchtvochtigheid op verschillende plaatsen in de cel met een datalogger vastgelegd.

De uitjes zijn in het najaar in de kas uitgeplant voor een biotoets (400 uitjes per veldje). De mate van opkomst is waargenomen. Na opkomst is er gemist in de kas om de valse meeldauw tot expressie te laten komen. Vervolgens is de mate van systemische aantasting waargenomen.

6.3 Resultaten en bespreking

6.3.1 Stoombehandelingen

De behandelingen hebben plaatsgevonden bij Ruvoma van 18 tot en met 20 oktober 2011. Een verschil met de vorige proef is dat de proefzakjes met uitjes nu niet in een kuubskist met bulkuitjes zijn ingegraven. De zakjes met uitjes zijn in een open krat op 4 opgestapelde pallets (50 cm hoog) geplaatst. Op deze hoogte zijn ook de temperatuur en RV metingen gedaan. Uit Tabel 12 blijkt dat de beoogde temperatuur van 40°C bij object A t/m F gemiddeld genomen niet werd bereikt. Bij de behandelingen met een beoogde temperatuur van 42,5°C haalden object G en H dit ook niet, de overige wel.

Ruvoma gebruikte in de winter 2010-2011 sproeiers om de lucht te bevochtigen. In deze proef in de herfst van 2011 zijn vernevelaars gebruikt om te voorkomen dat de uitjes te vochtig werden. Hiermee werden lagere RV waarden behaald dan de beoogde 95%. De uitjes hoefden na behandeling niet terug gedroogd te worden.

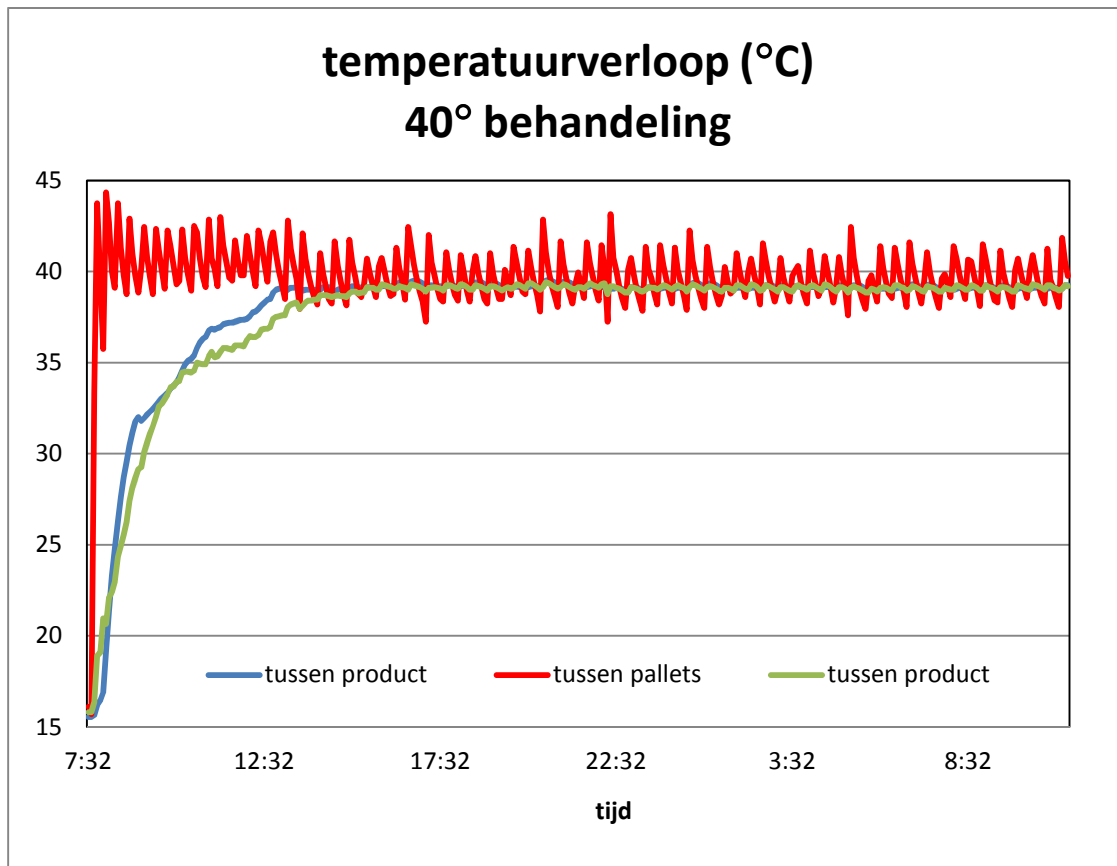
Tabel 12: Uiteindelijke duur van de behandeling; behaalde gemiddelde, minimum- en maximumtemperatuur en gemiddeld behaalde luchtvochtigheid bij de verschillende objecten

object	duur behandeling	gem. temp.	min. temp.	max. temp.	gem. RV
O	onbehandeld				
A	1 uur	39.4	38.0	41.8	83.8
B	2 uur	39.2	38.0	41.8	85.3
C	4 uur	38.4	36.9	39.7	87.1
D	9,5 uur	39.5	37.5	42.4	88.9
E	16,5 uur	39.5	37.7	41.6	90.4
F	22 uur	39.1	38.0	39.6	91.2
G	1 uur	41.5	41.3	41.8	83.8
H	2 uur	41.6	40.4	41.9	81.8
I	4 uur	43.7	43.0	44.3	82.3
J	10,5 uur	42.6	41.5	43.2	85.2
K	17,5 uur	42.5	41.3	43.2	86.0
L	22 uur	42.6	40.3	44.3	86.4

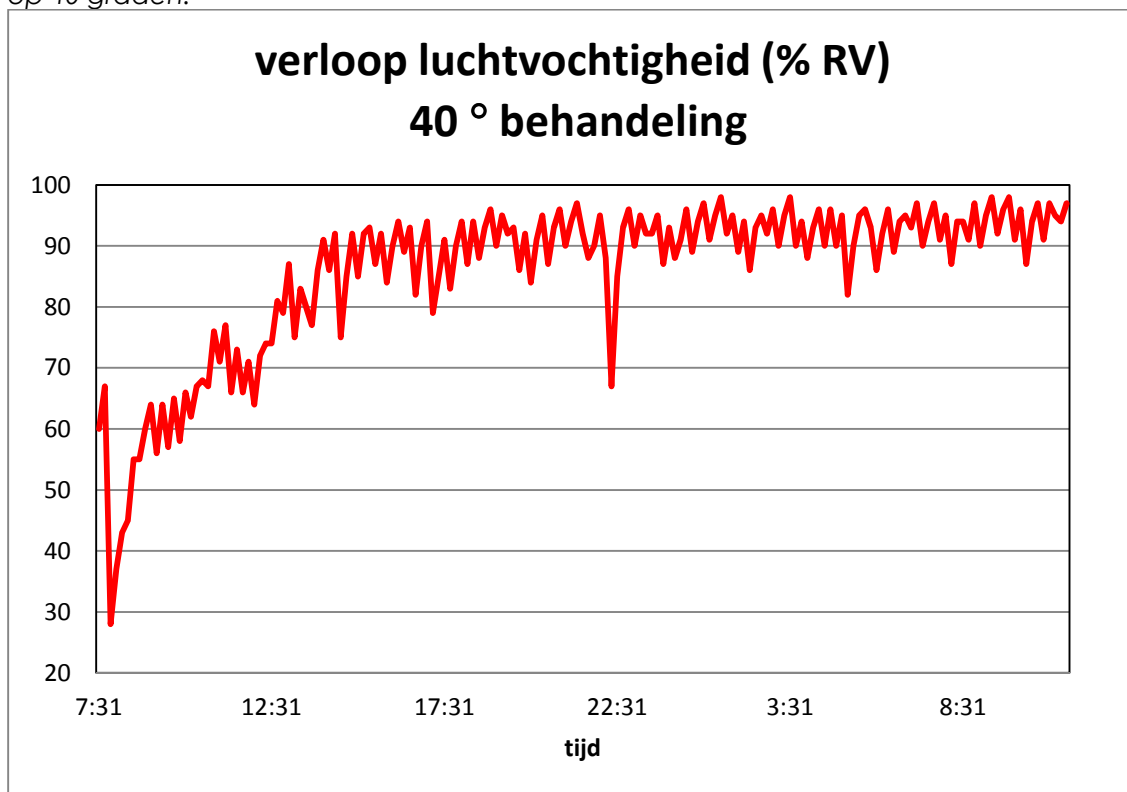


Foto 2: Proefopstelling stoombehandeling bij Ruvoma herfst 2011

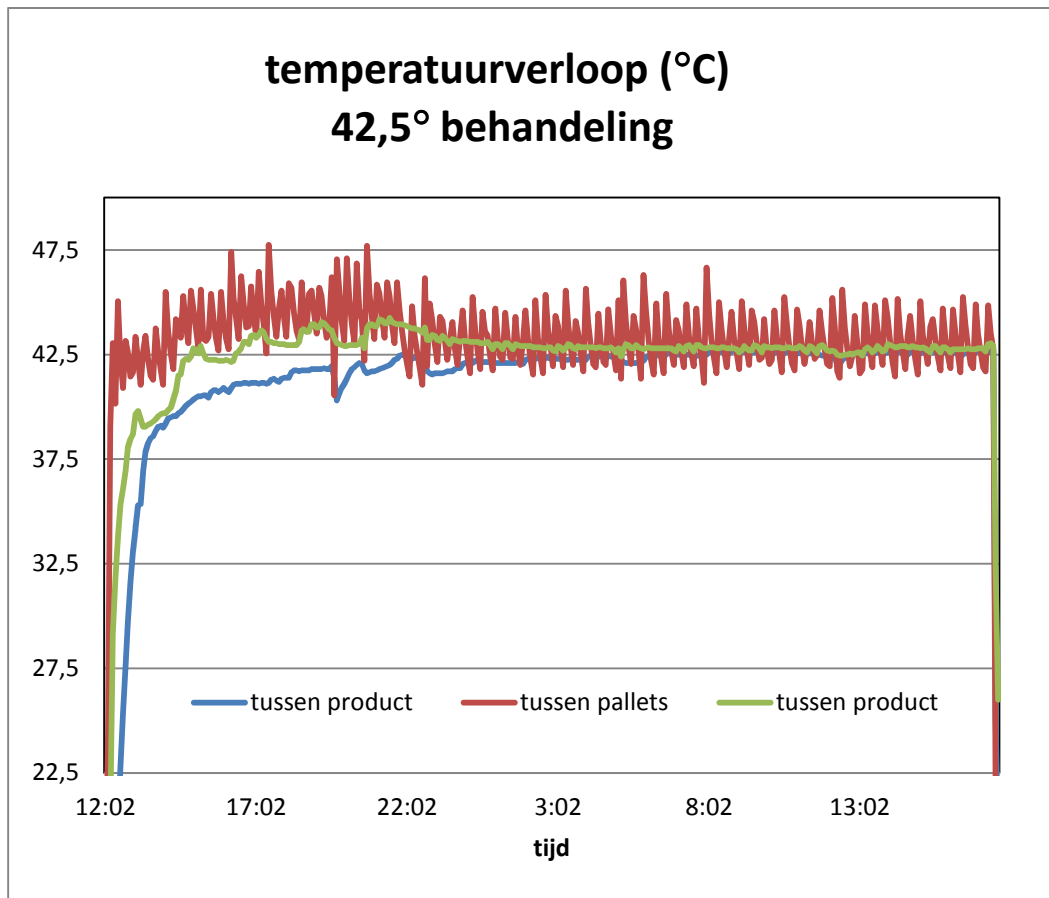
In de figuren 2 t/m 5 is het verloop van de temperatuur en luchtvochtigheid tussen de pallets weergegeven en het temperatuurverloop van twee sensoren tussen de uitjes die 22 uur lang in de container verbleven.



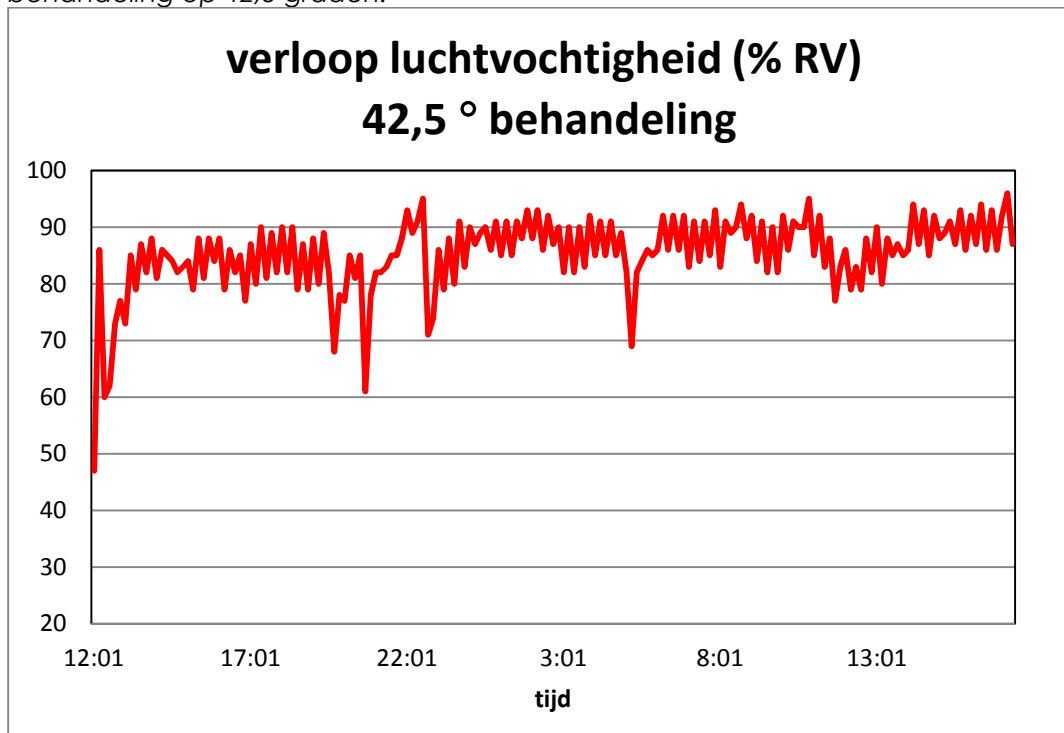
Figuur 9: Verloop van de temperatuur tussen de uitjes en tussen de pallets bij de behandeling op 40 graden.



Figuur 10: Verloop van de luchtvochtigheid tussen de pallets bij de behandeling op 40 graden.



Figuur 11: Verloop van de temperatuur tussen de uitjes en tussen de pallets bij de behandeling op 42,5 graden.



Figuur 12: Verloop van de luchtvochtigheid tussen de pallets bij de behandeling op 42,5 graden.

6.3.2 Biotoets

Op 1 en 2 november zijn de uitjes in bakken in de kas bij PPO Lelystad uitgeplant. De partij Sturon kwam veel sneller op dan de partij Centurion. Daarom is besloten om de partijen achtereenvolgens te misten.

Op 21 november is het misten bij de Sturons gestart, zie Foto 10 foto 3. De eerste sporulatie als gevolg van systemische aantasting werd op 23 november waargenomen. Om verwarring met secundaire infectie te voorkomen zijn de mistbehandelingen bij deze partij op 2 december beëindigd. Vervolgens zijn op die datum de mistbehandelingen bij de Centurions gestart. Op 4 december werd daar voor het eerst sporulatie waargenomen (zie Foto 11 en Foto 12) en op 13 december werden de mistbehandelingen in deze partij beëindigd.

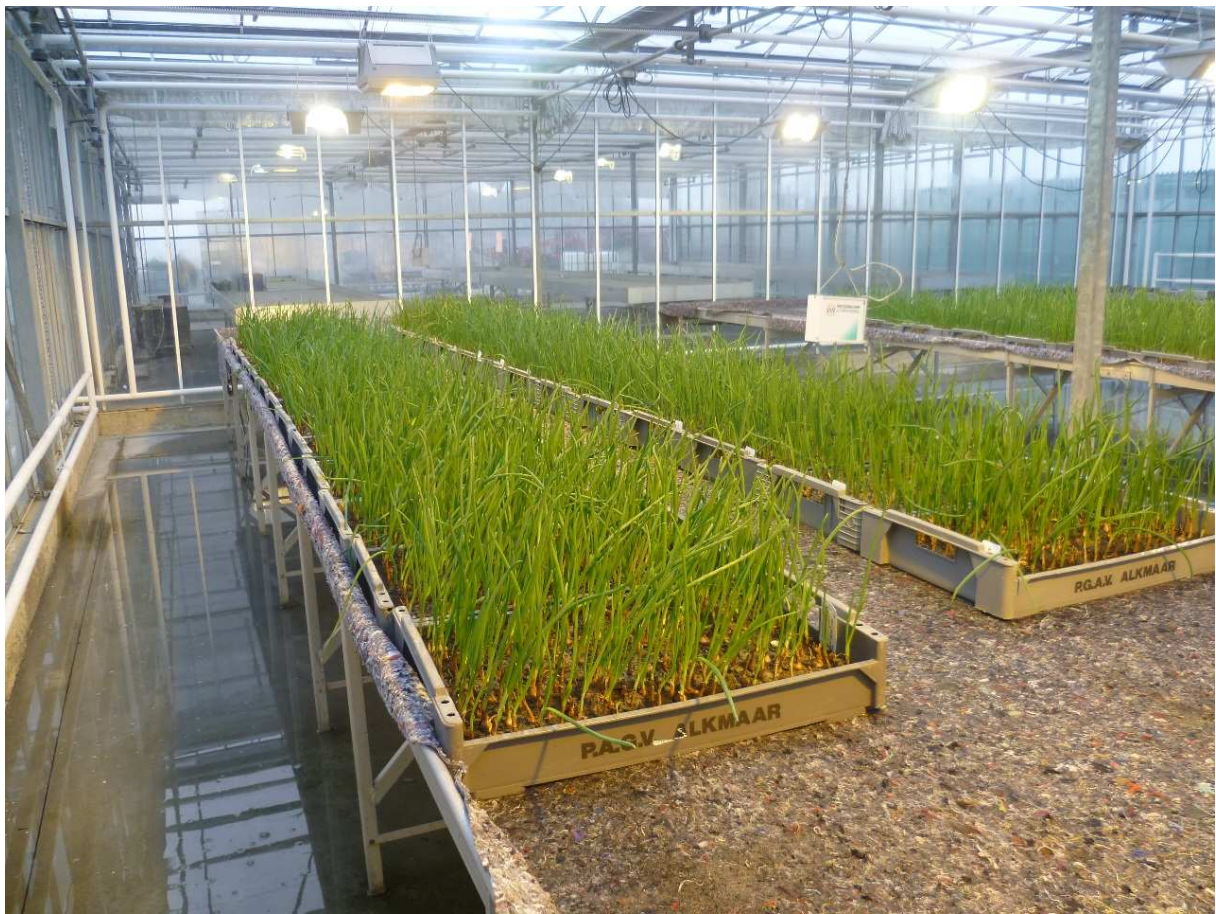


Foto 10. Uitjes van het ras Sturon in de kas bij de eerste mistbehandeling

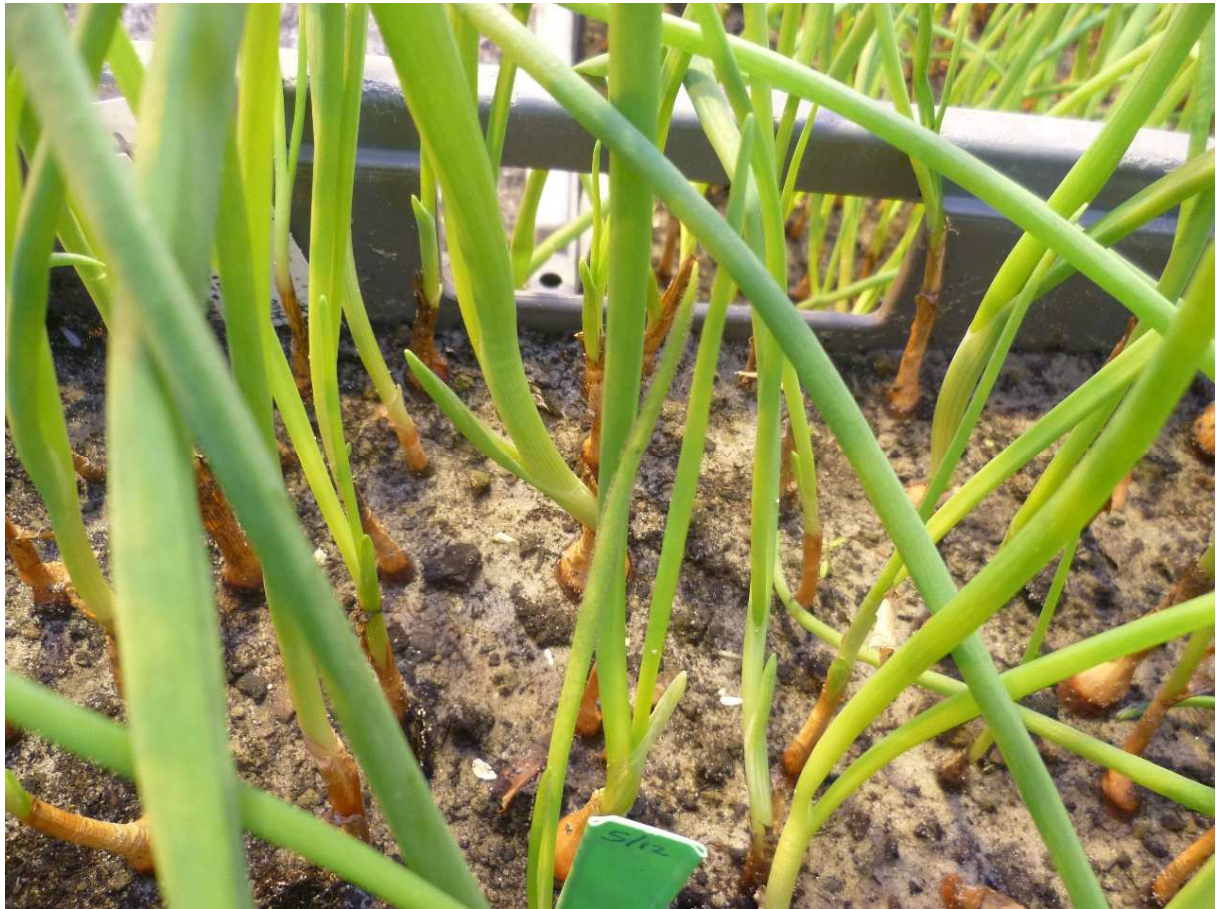


Foto 11 sporulatie als gevolg van systemische infectie bij het ras Centurion



Foto 12 : Detail opname van sporulatie van valse meeldauw als gevolg van systemische infectie bij het ras Centurion

Uit Tabel 13 blijkt dat de meeste behandelingen ongeveer eenzelfde opkomstpercentage hadden als onbehandelde uitjes. Alleen uitjes die 22 uur lang behandeld werden met een gemiddelde temperatuur van 42,6°C hebben een significant lagere opkomst dan onbehandelde uitjes. Het percentage sporulerende plantjes bij de plantuitjes die niet behandeld waren was vrij laag, namelijk 0,4 %. Bij behandelingen rond de 39°C bleek een behandelingsduur van 1 of 2 uur tekort om sporulatie tegen te gaan. Bij behandelingen vanaf 4 uur treedt in deze proef geen sporulatie meer op. Ook een behandeling op 41,5°C gedurende 1 uur of langer bleek in deze proef sporulatie te voorkomen.

Tabel 13: Opkomstpercentage bij de verschillende behandelingen

object	duur behandeling	gem. temp.	opkomst	sporulerend	
O	onbehandeld	-	86,3%	. b c 0,4%	. b
A	1 uur	39.4	87,9%	. b c 0,5%	. b
B	2 uur	39.2	86,2%	. b c 0,2%	a b
C	4 uur	38.4	89,1%	. b c 0,0%	a .
D	9,5 uur	39.5	87,8%	. b c 0,0%	a .
E	16,5 uur	39.5	86,3%	. b c 0,0%	a .
F	22 uur	39.1	90,6%	. . c 0,0%	a .
G	1 uur	41.5	87,1%	. b c 0,0%	a .
H	2 uur	41.6	86,5%	. b c 0,0%	a .
I	4 uur	43.7	88,6%	. b c 0,0%	a .
J	10,5 uur	42.6	86,6%	. b c 0,0%	a .
K	17,5 uur	42.5	85,1%	. b . 0,0%	a .
L	22 uur	42.6	80,0%	a . . 0,0%	a .

6.4 Conclusies

- In deze proef werden de beoogde temperaturen niet bij alle behandelingen bereikt.
- De mate van infectie in de onderzochte partijen was vrij laag met 0.4%.
- Bij behandelingen rond de 39°C bleek een behandelingsduur van 1 of 2 uur tekort om sporulatie tegen te gaan.
- Bij behandelingen vanaf 4 uur bij 39°C treedt in deze proef geen sporulatie meer op.
- Een behandeling op 41,5°C gedurende 1 uur of langer bleek in deze proef sporulatie te voorkomen.
- Alleen uitjes die 22 uur lang behandeld werden met een gemiddelde temperatuur van 42,6°C blijken in deze proef minder goed te kiemen dan onbehandelde uitjes.
- De stoombehandeling lijkt perspectiefvol om plantuien te behandelen ten einde sporulatie te voorkomen. Opschaling naar grotere volumes is nog nodig.

7 Sporulatiemodel valse meeldauw

7.1 Inleiding

Een verspreidingsmodel voor valse meeldauw is gemaakt. Additioneel aan het sporenverspreidingsmodel is een sporenproductiemodel opgesteld. Dit model is gebaseerd op het in 2004 gepubliceerde MILIONCAST model (Gilles et al 2004). Met de combinatie van beide modellen is het mogelijk zowel de productie van sporen als de verspreiding van sporen te voorspellen gebaseerd op de weersverwachting als ondersteuning van de beheersing van valse meeldauw.

7.2 Sporulatie volgens model

De klimaatrelaties die ten grondslag liggen aan het voorspellen van sporulatie onder invloed van relatieve luchtvochtigheid (bladnat) en temperatuur blijken echter onnauwkeurig in het lage temperatuur bereik. Sporulatie wordt in het algemeen goed voorspeld boven ongeveer 10°C. Daaronder wijkt de voorspelde sporulatie af van gemeten sporulatie. In Figuur 13 en Figuur 14 wordt dit grafisch weergegeven: De grafiekjes boven geven de meetpunten (daadwerkelijk gevangen sporen) en een daardoorheen gefitte lijn aan (Figuur 13). De grafiekjes onder geven voor dezelfde temperaturen de voorspellingen van het model weer (Figuur 14). Bij 5.4 °C voorspelt het model geen sporulatie, terwijl in het veld wel sporenvangsten gedaan worden. Bij 7.9 °C ontwikkelt sporulatie in het model zich te langzaam. Met andere woorden het model onderschat de mogelijkheid van sporulatie in het lage temperatuur traject. Omdat temperaturen lager dan 10°C in de zomer 's nachts regelmatig voorkomen is dit een verbeterpunt voor bestaande en toekomstige waarschuwingssystemen.

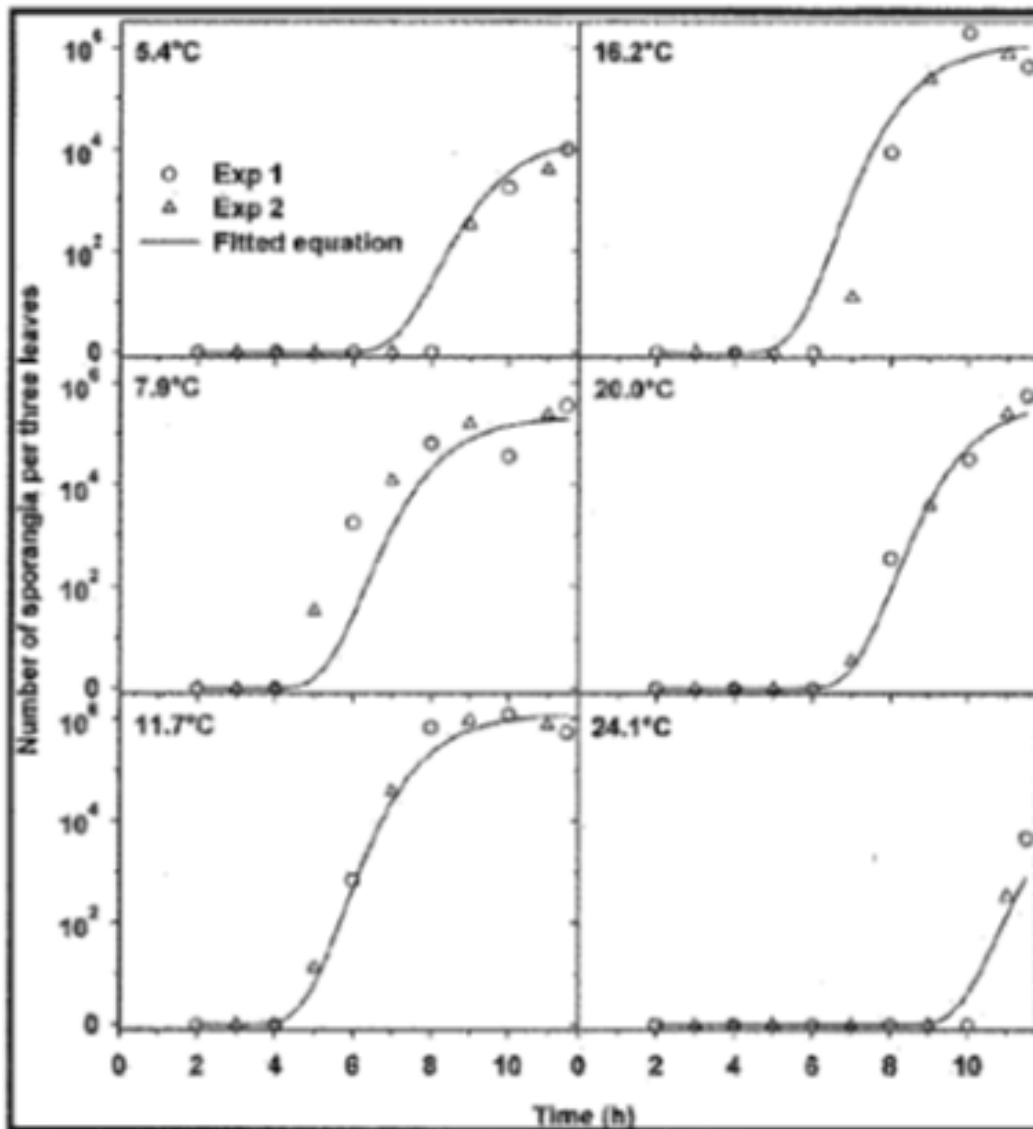
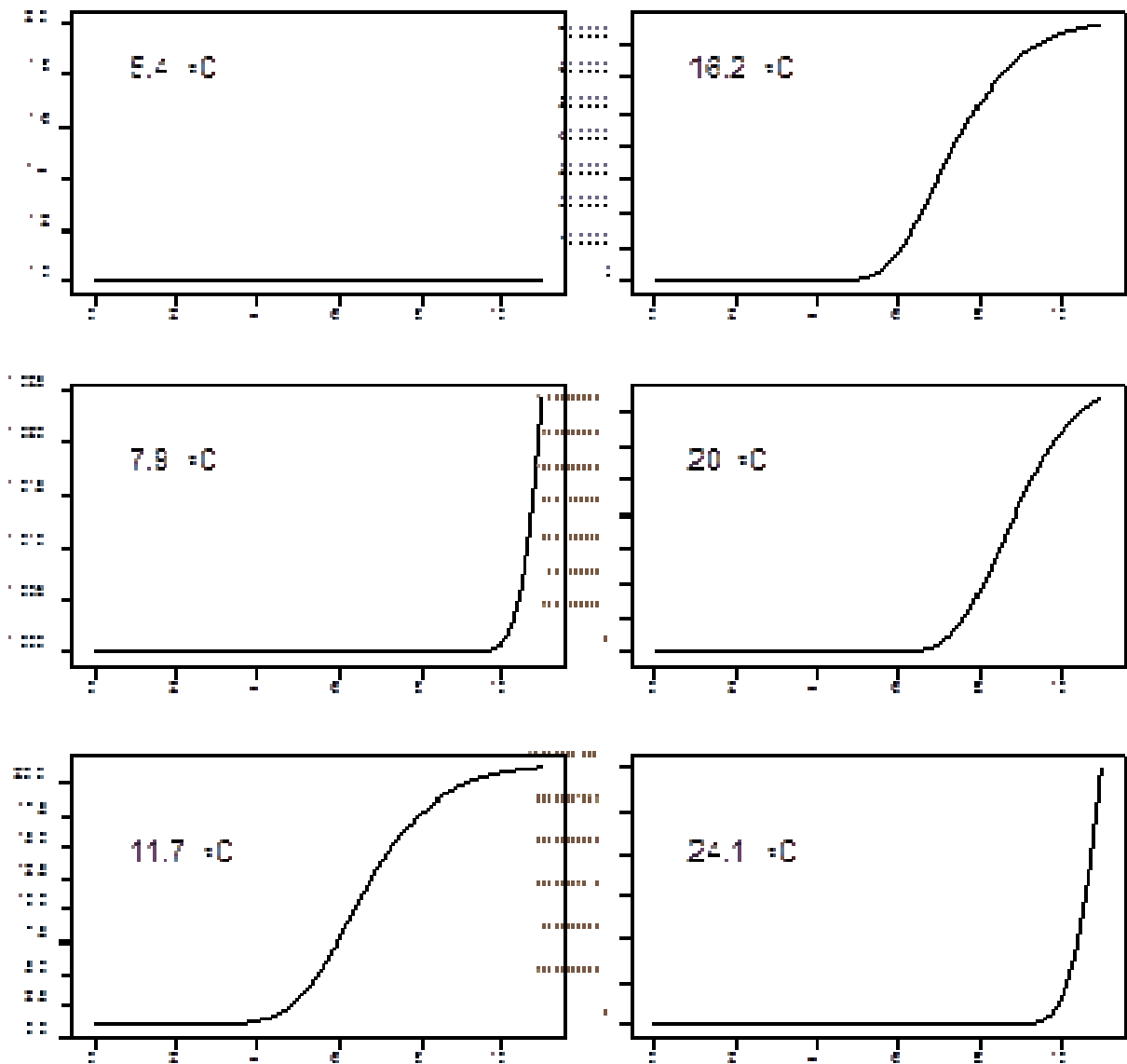


Fig. 2. Number of sporangia of *Peronospora destructor* produced per three onion leaves with time in experiments 1 (○) and 2 (△) at temperatures ranging from 5.4 to 24.1°C. Data points are averages of three replicate measurements. Gompertz curves were fitted to the data (equations 1 to 3; the fitted equations accounted for 95.2% of variance in data).

Figuur 13 De relatie tussen temperatuur en sporulatie in Gilles, T., Phelps, K., Clarkson, J.P. and Kennedy, R. 2004. Development of MILIONCAST, an improved model for predicting downey mildew sporulation on onions. *Plant Disease* 88: 695 – 702.

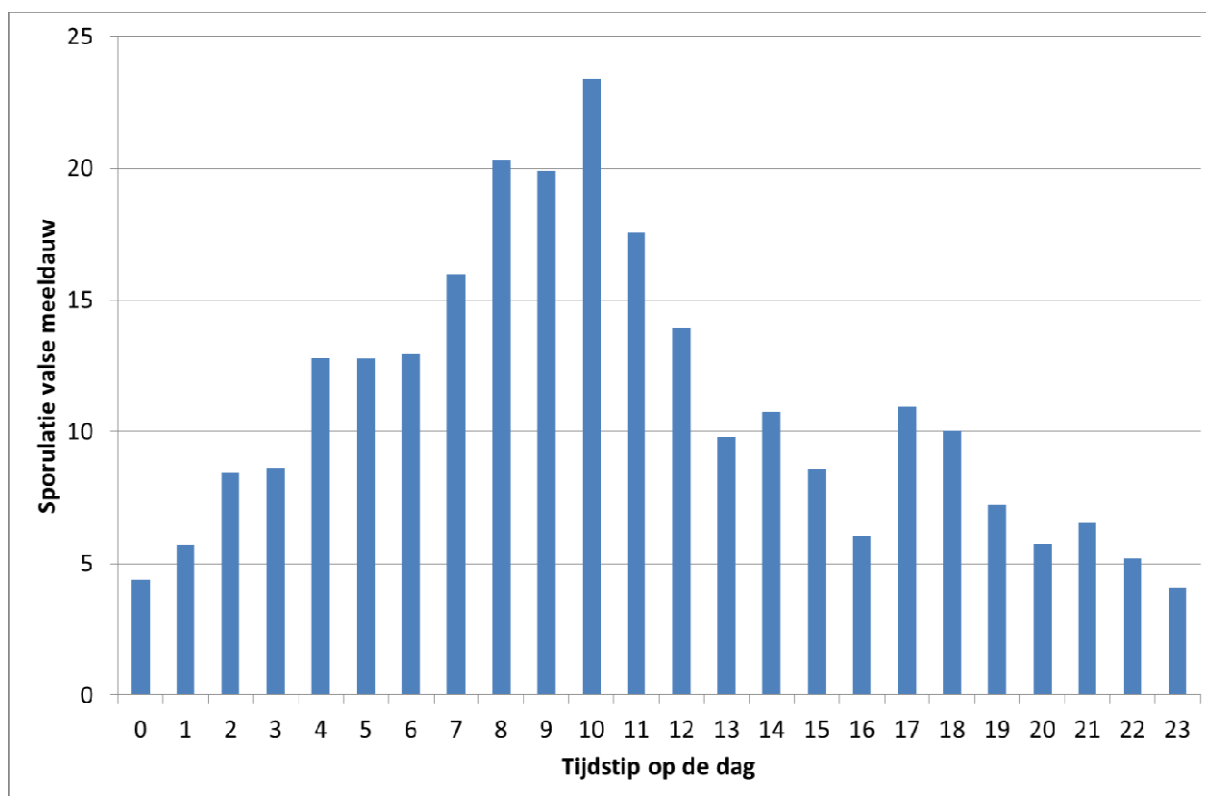


Figuur 14 Relatie tussen temperatuur en sporenproductie volgens het model

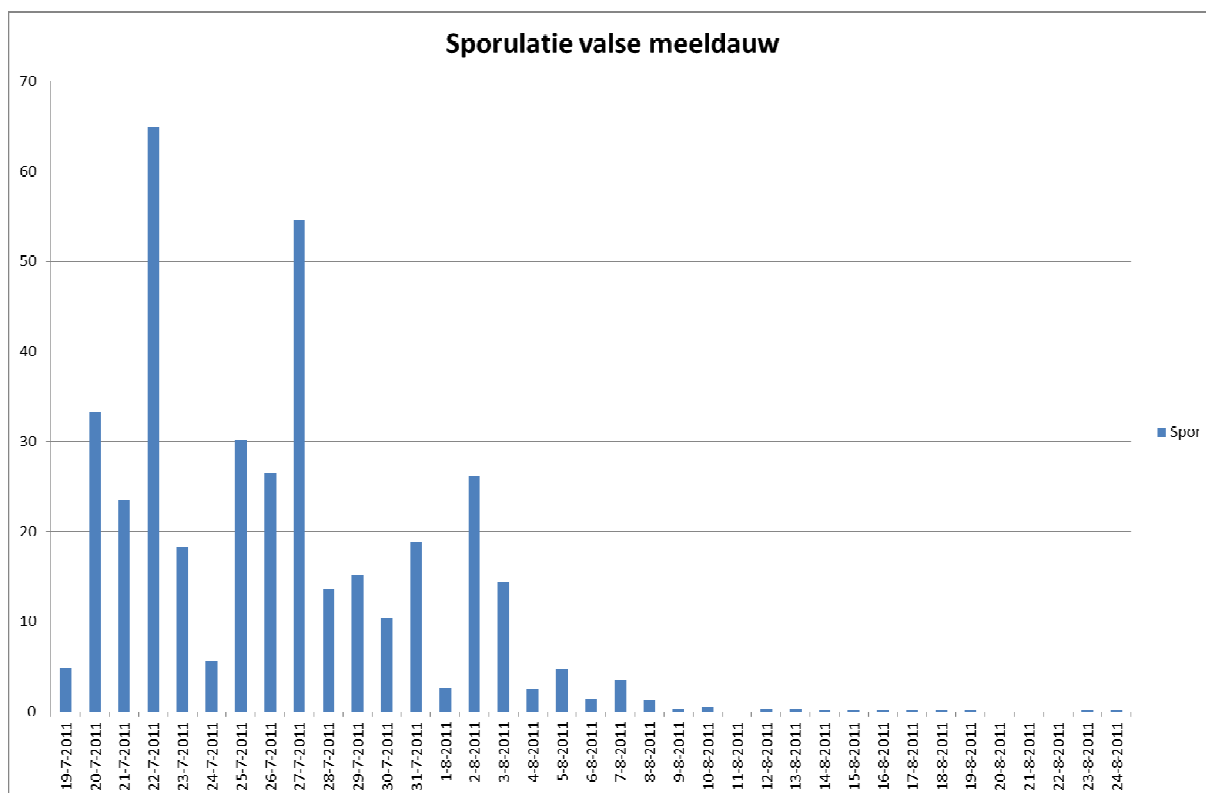
Het sporulatie en sporeverspreidingsmodel is gebruikt om de risico's op ziektedruk te bepalen (zie Hoofdstuk 8).

7.3 Sporulatie in de praktijk

Bij een aangetaste veldproef werd een Burkhard sporenvanger geplaatst. Gemeten is in de periode 19 juli 24 augustus. Het aantal sporen dat per uur in de lucht aanwezig was werd geteld. In tegenstelling tot andere jaren werd eigenlijk op elk uur van de dag sporulatie waargenomen (Figuur 15), maar lang niet op alle dagen (Figuur 16). De piek van de sporulatie lag in de ochtenduren.



Figuur 15: Sporulatie van valse meeldauw verdeeld over de dag, gemiddeld over de gehele meet periode, aantallen per dag liggen hogen.



Figuur 16: Sporulatie van valse meeldauw; waargenomen met een Burkhard sporenvanger.

8 Effectiviteit branden

8.1 Inleiding

In 2010 is in een veldproef bij verschillende rijnsnelheden (2, 4 en 6 km/uur) en brandhoogtes (ca. 42 en 50 cm) gebrand en er is zowel één keer als drie keer gebrand. Bij de veldjes die gebrand waren werd 2-3 dagen later alweer nieuwe sporulatie gevonden. Drie keer laag (op 42 cm) en langzaam (2 km/uur) branden gaf uiteindelijk het beste bestrijdingseffect op valse meeldauw.

In een veldproef in 2011 is de timing van het branden nader onderzocht. Die is gebaseerd op het sporenverspreidingsmodel of op visuele waarneming.

8.2 Proefopzet

In de proef zijn infectierijen met systemisch aangetaste plantuitjes aangelegd en is er op verschillende tijdstippen gebrand. Er werd gebrand op gewashoogte bij een rijnsnelheid van 2 km/uur. Timing van branden is in twee objecten gebaseerd op het sporenverspreidingsmodel en in twee andere objecten op visuele waarneming van sporulatie en vergeleken met onbehandeld en met wekelijkse bespuitingen, zie Tabel 14. In beide gevallen waren er 2 tijdsvariaties (1x en 2x branden). De ontwikkeling van valse meeldauw is in het veld gevolgd.

8.3 Resultaten en bespreking

Aan beide kanten van elke herhaling lag een infectierij, waarin systemisch aangetaste plantuitjes zijn geplant. Vanaf begin juni werd er in deze infectierijen vrij regelmatig valse meeldauw waargenomen. Op 11 juli werd er na een flinke dauwnacht ook veel valse meeldauw in de veldjes zelf waargenomen. Het model gaf voor die dag ook een sporulatiekans aan. Echter omdat het geen nut had twee objecten op hetzelfde moment te branden is voor de objecten die gebaseerd zijn op het sporulatiemodel gekozen om de behandeling uit te stellen tot de tweede sporulatiewaarschuwing.

In Tabel 14 is te zien op welke data er in de verschillende brand-objecten gebrand is.

Tabel 14: Behandelingen bij de loofbrandproef en data waarop er gebrand is.

Object	Behandeling	data loofbranden
O	Onbehandeld	-
A	wekelijkse fungicidebespuitingen	-
B	1 x branden o.b.v. visuele waarneming	12 juli
C	2 x branden o.b.v. visuele waarneming	12 juli en 21 juli
	1 x branden o.b.v.	29 juli
D	sporenverspreidingsmodel	
	2 x branden o.b.v.	21 juli en 29 juli
E	sporenverspreidingsmodel	



Foto 13: Valse meeldauw sporen op 12 juli



Foto 14: Branden op 12 juli



Foto 15: Overzichtsfoto proef op 26 juli



Foto 16: Nieuwe sporulatie na branden

Tabel 15: Percentage valse meeldauw op 19 en 26 juli en 2 augustus en percentage groen loof op 2 augustus

Object	Behandeling	VM 19 juli	VM 26 juli	VM 2 aug.	Groen loof 2 aug.
O	Onbehandeld	28.8 .. c	76.3 ... d	22.5 .b	11.8 a b .
A	wekelijkse fung. besp.	3.5 a ..	1.1 a ...	24.3 .b	61.3 .. c
B	1x branden - visuele waarn.	3.4 a ..	30.0 .. c .	23.0 .b	15.0 .b .
C	2x branden - visuele waarn.	3.4 a ..	5.8 a b ..	14.3 a b	7.5 a ..
D	1x branden - sporenverspr. model	19.3 .b .	62.5 ... d	12.5 a b	11.3 a b .
E	2x branden - sporenverspr. model	30.0 .. c	8.8 .b ..	9.3 a .	6.3 a ..

Op 19 juli, een week na branden in de objecten B en C, zien we significant minder valse meeldauw in de gebrande objecten en het wekelijks bespoten object. Op basis van het sporenverspreidingsmodel is er dan nog niet gebrand, zie Tabel 15.

Op 26 juli wordt de minste valse meeldauw waargenomen in de objecten C en E (die op 21 juli gebrand zijn) en A (wekelijks bespoten). Bij object B, wat slechts 1 keer gebrand is op 12 juli wordt minder valse meeldauw waargenomen dan bij de objecten O en E die helemaal (nog) niet gebrand zijn.

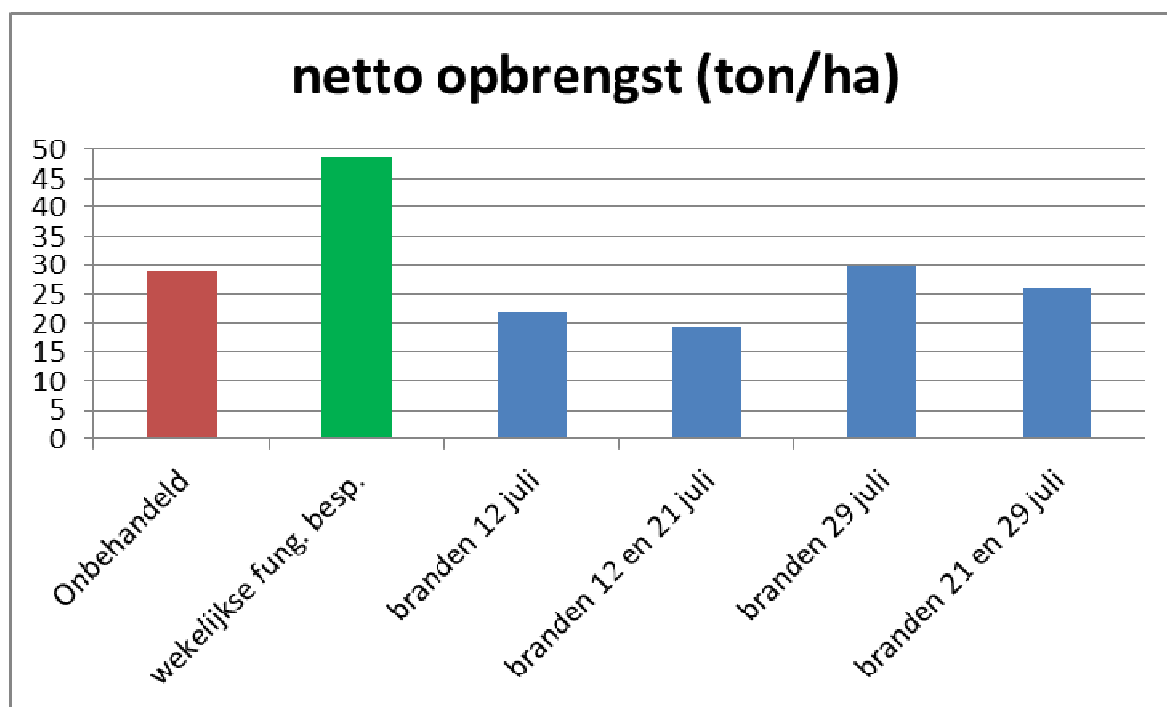
Op 2 augustus is er veel verschil tussen de objecten in het percentage groen loof. Dat wil zeggen dat er een groot verschil is in de mate van afsterving door branden en/of ziekte en/of natuurlijke afsterving. Bij de waarneming op deze dag is het percentage valse meeldauw op het nog aan te tasten loof beoordeeld. Twee maal branden op 21 en 29 juli geeft dan de beste resultaten, maar een vergelijking met de andere objecten op 2 augustus is moeilijk gezien het verschil in afsterving.

In deze proef was de infectiedruk door valse meeldauw hoog. De opbrengst bij onbehandelde veldjes is ruim 20 ton lager dan bij wekelijks bespoten veldjes, zie Tabel 16 en Figuur 18.

Daarnaast heeft de eerste keer branden op 12 juli (na visuele waarneming van valse meeldauw) veel opbrengst gekost. Het loofbranden heeft in deze proef geen opbrengst verhogend effect gegeven.

Tabel 16: Netto opbrengst bij de verschillende behandelingen in de loofbrandproef

Object	Behandeling	data loofbranden	netto-opbrengst (ton/ha)
O	Onbehandeld		28,9 .. c .
A	wekelijkse fung. besp.		48,5 ... d
B	1x branden - visuele waarn.	12 juli	21,9 a b ..
C	2x branden - visuele waarn.	12 juli en 21 juli	19,2 a ...
D	1x branden - sporenverspr. model	29 juli	29,7 .. c .
E	2x branden - sporenverspr. model	21 juli en 29 juli	26,1 . b c .



Figuur 18: Netto opbrengst bij de verschillende behandelingen in de loofbrandproef

8.4 Conclusies

- De eerste waarschuwing van het model voor sporulatie viel samen met de visuele waarneming van sporulatie in het veld.
- Na branden wordt significant minder valse meeldauw waargenomen dan in niet gebrande veldjes
- De eerste keer branden na visuele waarneming van valse meeldauw in de veldjes gaf een significant lagere opbrengst dan de onbehandelde controle.
- Loofbranden om de valse meeldauw epidemie af te remmen heeft in deze proef geen opbrengst verhogend effect gegeven ten opzichte van de onbehandelde controle.

9 Moleculaire toets

9.1 Inleiding

Een moleculaire toets is beschikbaar om de aanwezigheid van *Peronosproa destructor* aan te tonen in plantmateriaal. Uit ervaring van de afgelopen jaren is bekend de mate van aantasting van eerste jaarsplantuizen laag is. Meestal werd slechts rond de 1% besmetting aangetoond, ook al was de mate van aantasting in het veld enkele tientallen procenten. In biotoetsen kan deze mate van besmetting (~1%) aangetoond worden, maar deze methode is bewerkelijk. Met de PCR kunnen individuele uien getoetst worden op de aanwezigheid van valse meeldauw, maar om een besmettingsniveau van 1% aan te tonen moeten veel uien getoetst worden.

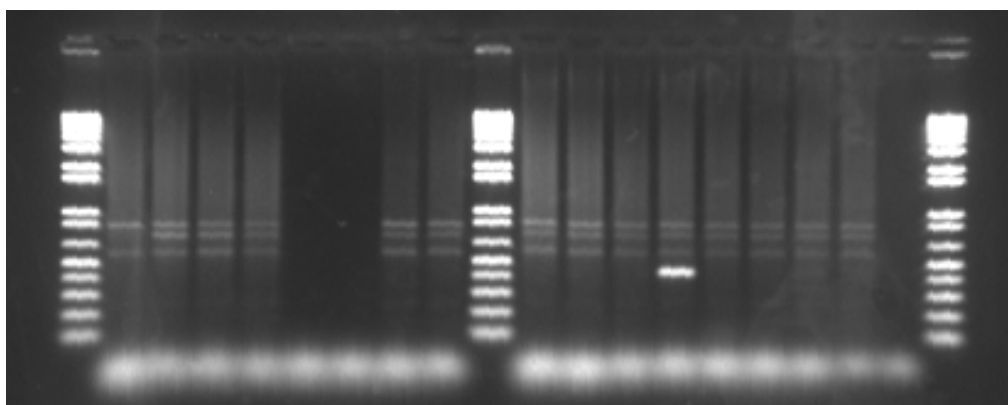
De vraag deed zich voor kunnen er mengmonsters gemaakt worden van meerdere plantuizen. Hierdoor krijg je een verdunning van de hoeveelheid valse meeldauw in het monster. Kan valse meeldauw desondanks nog aangetoond worden.

9.2 Proefopzet

Een partij plantuizen, werd geanalyseerd op besmetting met valse meeldauw met behulp van een PCR – methode. Hierbij werden zowel individuele plantuizen als mengmonsters van meerdere plantuizen (20, 50, 100, 200 en 400 uien) geanalyseerd. Daartoe werden de uien gepeld. Van de individuele uitjes werden er 200 apart geanalyseerd. Nadat de mengmonsters gemaakt zijn werd nog een 1 op 10 en 1 op 100 verdunning toegepast, om te kijken naar de gevoeligheid van de analyse. De proef werd uitgevoerd in 4 herhalingen.

9.3 Resultaat

Van de individuele uitjes bleek er niet één aantoonbaar besmet met *P. destructor*. Van de 4 mengmonsters van elk 20 planten bleek 1 mengmonster besmet (Figuur 19).



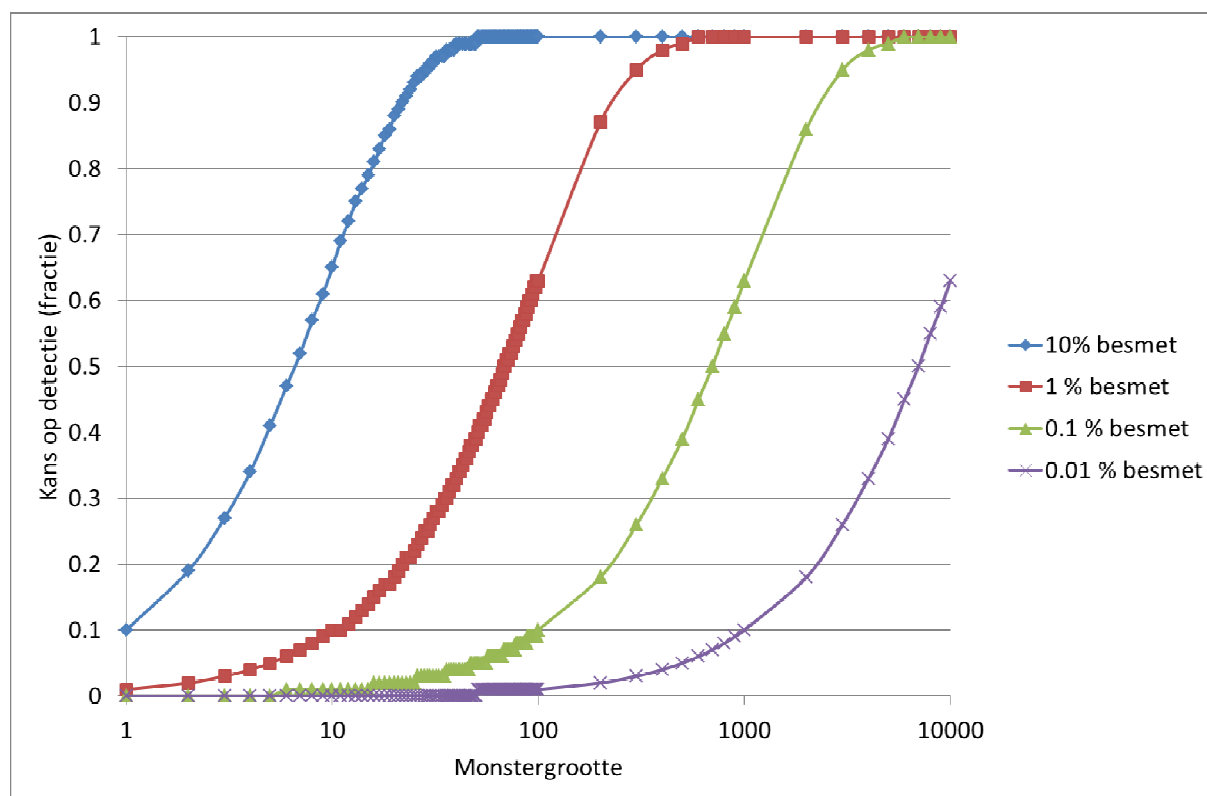
Figuur 19 PCR, met 1 positieve uitslag afkomstig van mengmonster met 20 plantuizen.

Monsters van 50 en 100 plantuizen bleken niet besmet. Alle 4 mengmonsters van 200 en 400 plantuizen bleken een PCR signaal te geven. Indien het originele monster een signaal gaf dan werd ook bij 1 op 10 en 1 op 100 verdunning een signaal gevonden. Dit geeft aan dat de PCR methode zeer gevoelig is.

Tabel 17 Aantal monsters waarin valse meeldauw is aangetoond met de PCR methode, bij verschillende groottes van mengmonsters en verdunning.

verdunning	meng monster				
	20	50	100	200	400
1:1	1/4	0/4	0/4	4/4	4/4
1:10	1/4	0/4	0/4	4/4	4/4
1:100	1/4	0/4	0/4	4/4	4/4

Theoretisch kan berekend worden met welke kans een bepaalde mate van besmetting aangetoond kan worden. Om 10% besmetting met 99% kans aan te tonen kan volstaan worden met het toetsen van 40 plantuien (Figuur 20). Voor een besmetting van 1% bij 99% detectiekans zullen ongeveer 500 getoetst moeten worden. Voor 0.1% neemt dat toe met een factor 10.



Figuur 20. Relatie tussen monstergrootte en de kans op het aantonen van valse meeldauw, bij verschillende mates van besmetting.

9.4 Discussie

Uit de resultaten blijkt dat toeval een rol speelt bij het vinden van een besmetting. Uit de biotoets was naar voren gekomen dat ongeveer 1% van de plantuien besmet zou zijn met valse meeldauw. Toetsing van 200 individuele uitjes leverde echter geen positief signaal op, ze waren dus vrij van valse meeldauw. Van de mengmonsters waarbij 20 plantuien bij elkaar werden gedaan gaf 1 van de 4 herhalingen een positief resultaat. Echter werden 50 of 100 plantuien bij elkaar gedaan dan werd geen positief signaal gevonden. Werde het monster 200 of 400 uien groot dan werd in alle 4 herhalingen valse meeldauw aangetoond. Worden al deze gegevens in beschouwing genomen dan is de verwachte mate van besmetting volgens de PCR 0.6 %. Met hetzelfde materiaal werden twee biotoetsen uitgevoerd. Het percentage planten dat tot sporulatie kwam was 0.8 en 1.1%, en daarmee in dezelfde orde van grootte als de PCR resultaten.

Theoretisch kan de monstergrootte bepaald worden. Indien het acceptabel is dat 1% besmetting met 90% zekerheid kan worden aangetoond dan volstaat een mengmonster van ongeveer 250 plantuien (Figuur 20).

Dat de PCR gevoelig is blijkt wel uit het feit dat bij een 1 op 10 of zelfs 1 op 100 verdunning van de oorspronkelijke monsters nog steeds valse meeldauw kon worden gevonden. Dit geeft aan dat als er één of meerdere besmette uien in een partij zit deze in een 100 keer zo grote partij nog steeds gevonden wordt.

Tevens komt hieruit naar voren dat de monstername cruciaal is voor het te verwachten resultaat.

Bij de methode zoals die gebruikt is zijn de uien gepeld, wat zeer bewerkelijk is. Praktischer is als een willekeurig plantuien gepakt kunnen worden en gezamenlijk als mengmonster geanalyseerd, zonder verdere bewerkingen. Echter af land zitten de rokken nog om de uien en zijn er ook verontreinigingen aanwezig. Onduidelijk is hoe de PCR methode reageert op ongeschoond product. Mogelijk dat het signaal vertroebeld wordt door de vervuiling. Dit zal in 2012 verder uitgezocht worden.

9.5 Conclusies

- Valse meeldauw kan aangetoond worden met de PCR methode; de geschatte besmettingsgraad ligt in dezelfde orde van grootte als vastgesteld in biotoetsen.
- De PCR methode lijkt zeer gevoelig, gezien het feit dat bij een 1 op 100 verdunning nog steeds een positief signaal wordt verkregen.
- Valse meeldauw wordt minstens zo efficiënt aangetoond in mengmonsters dan in individuele plantuien. Analyse van mengmonsters met de PCR lijkt een kosteneffectieve methode om valse meeldauw in (plant)uien aan te tonen.
- De te nemen monstergrootte wordt bepaald door het gewenste aantastingsniveau dat aangetoond moet worden en de mate van zekerheid waarmee dat moet gebeuren.
- Uien pellen als voorbereiding van de PCR is bewerkelijk. Uitgezocht moet worden of ook ongeschoond materiaal geschikt is om met een PCR valse meeldauw aan te tonen.

Bijlage 1: Output 2011

Publicaties

- Evenhuis, A. & Spruijt, J., 2011. Hou valse meeldauw eronder. Akker magazine, 6(5), 24-25.
- Evenhuis, A. & Spruijt, J., 2011. Beheersing van valse meeldauw in de uienteelt. BioKennis bericht Akkerbouw & vollegrondsgroenten, 2011(34).- BO-12.10-007.01-009

Verslagen

- Evenhuis, A., Spruijt, J., Topper, C.G., Krijger, M.C. & Kessel, G.J.T., 2011. Beheersing valse meeldauw (*Peronospora destructor*) in uien : proefjaar 2010. PPO rapport. Wageningen: Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Biovak 2011

- Poster Bert Evenhuis, Joanneke Spruijt, Rinske Meier, Corina Topper. Beheersing valse meeldauw in ui; presentatie.