

Beheersing valse meeldauw (*Peronospora destructor*) in uien

Proefjaar 2008

R. Meier, A. Evenhuis, H.G. Spits (PPO-AGV)
& C. Waalwijk (PRI)

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

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



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

pagina

1	INLEIDING	5
2	WARMTEBEHANDELING PLANTUITJES.....	7
3	OPTREDEN BOLBESMETTING	9
3.1	Veldproef 2008	9
3.2	Bespreking.....	9
4	PREVENTIEVE BEREKENING TEGEN VALSE MEELDAUW IN UI.....	11
4.1	Proefopzet 2008	11
4.2	Resultaten 2008.....	11
4.2.1	Adviezen en berekening	12
4.2.2	Aantasting door valse meeldauw	12
4.3	Bespreking.....	13
5	BESTRIJDING VALSE MEELDAUW OP HET LOOF MET BIOLOGISCHE MIDDELEN.....	15
5.1	Veldproef 2008	15
5.2	Resultaten en bespreking	15
6	EFFECT UV-C BELICHTING OP VALSE MEELDAUW AANTASTING	17
6.1	Veldproef UV-C belichting	17
6.2	UV-C belichting op door valse meeldauw aangetaste uien.....	17
7	MOLECULAIRE DETECTIE <i>PERONOSPORA DESTRUCTOR</i> IN PLANTUITJES 2008	19
7.1	Materiaal/methode	19
7.2	DNA extractie	20
7.3	PCR	20
7.4	Resultaten.....	20
7.5	Conclusie/discussie	21
8	SPORULATIE VALSE MEELDAUW.....	23
8.1	Inleiding	23
8.2	Materiaal en methode.....	23
8.3	Resultaat.....	24
8.4	Bespreking.....	25
BIJLAGE 1	OUTPUT 2008.....	27

1 Inleiding

Valse meeldauw (*Peronospora destructor*) in uien is een terugkerend probleem. De winteruien en 2^e-jaars plantuien worden, zoals men over het algemeen aanneemt, het eerst aangetast waarna de infectie van 1^e jaars plantuien en zaaiuien volgt. De schimmel kan zich bij gunstige weersomstandigheden met sporen door de lucht verspreiden en zich explosief uitbreiden en is bij onvoldoende beheersing teeltbedreigend. De problemen met de bestrijding worden veroorzaakt door een combinatie van diverse kritische omstandigheden. In vroegere opeenvolgende jaren met gunstige weersomstandigheden voor de ontwikkeling van valse meeldauw, toen er niet voldoende effectieve fungiciden beschikbaar waren, zijn 1^e-jaars plantuien systemisch besmet geraakt en waren de infecties die vanuit de 2^e-jaars plantuien teelt ontstonden (samen met infecties uit winteruien) niet goed te bestrijden. Doordat vervolgens de 1^e-jaars plantuien ook weer besmet werden is de cirkel rond.

Omdat de eerste vroege aantastingen in percelen met geplante uien meestal pas gezien worden als er al haarden gevormd zijn en deze haarden hoogst waarschijnlijk zijn ontstaan rondom een systemisch aangetaste plant, is bestrijding van deze haarden met chemische middelen moeilijk. De huidige fungiciden werken alleen goed als ze preventief worden toegepast. Ze hebben nauwelijks of geen effect op aantasting die al in de plant zit, zoals bij systemisch aangetaste planten.

Om dit probleem het hoofd te bieden is in 2004 in opdracht van het Hoofdproductschap Akkerbouw (HPA) 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 2008 gepresenteerd. Het onderzoek is grotendeels gefinancierd door Productschap Akkerbouw, met co-financiering door het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit.

Als eerste doel is het terugdringen van initiële infectiebronnen gesteld.

- Als er een partij plantuitjes met systemische aantasting van valse meeldauw gevonden is, wordt het effect van een warm water behandeling en warme lucht behandeling op de valse meeldauw infectie in de plantuien getoetst.
- Het PRI heeft een monster in het veld aangetaste 1e-jaars plantuitjes met een prototype van een moleculaire detectietoets onderzocht op aanwezigheid van valse meeldauw.

Naast het terugdringen van primaire infectiebronnen is gezocht naar beheersmaatregelen om aantasting van uien door valse meeldauw te voorkomen of te onderdrukken.

- In zaaiui is de invloed van bespuitingen met biologische middelen op het ontstaan en de beheersing van valse meeldauw aantasting in het loof onderzocht.
- In een veldproef is getest of toepassing van fungiciden tot aan de oogst de systemische aantasting van plantuitjes kan tegengaan.
- Ook zijn 's nachts beregeningen uitgevoerd op zaaiuien om sporulatie van valse meeldauw op het blad tegen te gaan.
- In een pottenproefje is onderzocht wat het effect van UV-licht is op valse meeldauw sporen.
- Bij een aantal uienpercelen zijn sporenvangers geplaatst, om het rondvliegen van valse meeldauw sporen te registreren.

2 Warmtebehandeling plantuitjes

Plantmateriaal, waaronder plantuitjes, kan besmet zijn met valse meeldauw. Na het uitplanten van plantuitjes kunnen hieruit systemisch besmette planten ontstaan. Deze systemisch besmette planten kunnen zorgen voor het begin van een valse meeldauw epidemie. Uit eerder onderzoek van PPO-AGV is gebleken dat een warm water behandeling (1 uur bij 40°C) valse meeldauw in het plantmateriaal effectief bestrijdt. De proeven werden destijds uitgevoerd in relatief kleine eenheden. Doel van het onderzoek is opschaling van de methode van warm water behandeling naar de praktijksituatie. Warm water behandeling is een relatief bewerkelijke methode. Een alternatief voor warm water behandeling zou kunnen zijn de plantuien op te warmen door warme lucht ventilatie. Onduidelijk is of warme lucht behandeling valse meeldauw in plantmateriaal afdoende kan bestrijden.

Het onderzoek naar de effectiviteit van een warm water behandeling op door valse meeldauw besmette plantuitjes, wordt uitgevoerd op een aantal gespecialiseerde bedrijven, die op praktijkschaal andere bolgewassen behandelen.

Om na te gaan of eenzelfde effect kan worden bereikt met warme lucht wordt een proef uitgevoerd in een cel. Op semi-praktijk schaal wordt warme lucht gedurende 2-4-8 en 12 dagen door een kuubskist plantuitjes geblazen.

Na de warm water- en warme lucht behandeling worden de uitjes uitgeplant in de biotoets en in het veld. Tevens zal geïnventariseerd worden of het mogelijk is om in de huidige bewaarfaciliteiten van plantuitjes, een gedegen warme luchtbehandeling uit te voeren.

Ondanks intensief zoeken is het niet gelukt om een partij plantuitjes met aantasting van valse meeldauw op de kop te tikken. Partijen die aan het eind van de teelt op het veld aangetast werden, bleken in de biotoets toch geen aantoonbare aantallen systemisch zieke uitjes te bevatten. Het bleek dat vlak vóór het oogsten van betreffende plantuitjes het vaak nog groene loof tot de grond toe afgebrand werd. Misschien dat het afbranden van het loof, i.p.v. het natuurlijk laten afsterven, heeft voorkomen dat de valse meeldauw schimmel via het blad de bol ingroeide.

Het geplande onderzoek is daarom in 2008 niet uitgevoerd en wordt doorgeschoven naar 2009. Er wordt ondertussen naarstig verder gezocht naar aangetaste plantuitjes.

3 Optreden bolbesmetting

Het is nog niet duidelijk wanneer een valse meeldauw aantasting op het uienloof resulteert in een aantasting van de uienbol. Het is vooral onduidelijk of infectie van de bol in de periode tussen strijken en het afsterven van het loof nog kan optreden. In 2005 is daarom een veldproef uitgevoerd in 1^e-jaars plantuien, met en zonder bespuitingen op advies van BOS (Opticrop) en met en zonder beregening na sporulatie van valse meeldauw op de bladeren. Op een aantal tijdstippen in het teeltseizoen zijn monsters uien genomen, die in de herfst ingezet zijn in de biotoets om het percentage systemisch aangetaste uitjes te bepalen. Omdat de biotoets nogal wat tijd vraagt en er eigenlijk op meerdere tijdstippen in de bewaring getoetst moet worden is besloten om te wachten met het onderzoek zoals uitgevoerd in 2005, totdat er door het PRI een snelle accurate moleculaire detectietoets voor valse meeldauw in ui, ontwikkeld is. In 2008 is een veldproef aangelegd om te onderzoeken of het noodzakelijk is om tot aan de oogst bespuitingen uit te voeren tegen valse meeldauw, om zodoende aantasting van uienbollen te voorkomen.

3.1 Veldproef 2008

Op 2 mei zijn de 1^e-jaars plantuien (ras: Sturon) gezaaid in een blokkenproef met 4 herhalingen. Langs de proef zijn 3 rijen 2^e-jaars plantuien geplant, waarin om de 4 meter een cluster kunstmatig met valse meeldauw (aug. 2007) geïnfecteerde plantuitjes zijn geplaatst, om als infectierij te fungeren. De objecten zijn gespoten met Tridex DG 2,75 kg/ha (mancozeb 75%), Acrobat DF 2,5 kg/ha (mancozeb+dimethomorf 667+75 g/kg) of middel X, in een frequentie van één maal per week. Er werd gespoten tot het strijken van de uien of tot het stadium waarop het loof begon af te sterven.

Tijdens het seizoen werd de aantasting door valse meeldauw en bladvlekken wekelijks waargenomen.

Tabel 1. **Aantal bespuitingen, de bladvlekken index en het % afgestorven loof per object 2008**

fungicide	spuitregime	aantal bespuitingen	Bladvlekken*		% loof	
			index		geel/bruin	dood
			31-07	05-08	31-07	05-08
Tridex DG 2,75 kg/ha	tot afsterven loof	6	5,0	-	50	81
Tridex DG 2,75 kg/ha	tot strijken loof	4	4,9	-	70	80
Acrobat DF 2,5 kg/ha	tot afsterven loof	6	4,1	-	45	72
Acrobat DF 2,5 kg/ha	tot strijken loof	4	4,4	-	53	75
Middel X	tot afsterven loof	6	1,8	3,0	0,1	0
Middel X	tot strijken loof	4	1,9	4,1	0	0
Onbehandeld		0	5,0	-	55	87

* = 0 = geen *Botrytis* bladvlekken, 5 = helemaal vol met bladvlekken

** -= loof is bruin/zwart verdroogd

3.2 Bespreking

Op 10 mei kwamen de uitjes boven en op 10 juni waren ze in het 3-blad stadium. De eerste bespuiting is uitgevoerd op 20 juni, gevolgd door toepassingen op 30 juni, 9, 15, 22 en 29 juli. Een paar dagen later (25 juni) zijn in de veldjes gespoten met Middel X witte bladpunten waargenomen. Dit symptoom kwam niet sterker tot uiting bij vervolgbespuitingen. Het is bij de firma bekend dat Middel X soms witte bladtopjes kan veroorzaken.

Op 2 en 7 juli is over de infectierij een sporensuspensie van valse meeldauw gespoten, om de vorming van infectiebronnen te bevorderen. Op 16 juli werden een paar bladeren met valse meeldauw gesignaleerd in de infectierij en een haard in een randbed van één onbehandeld veldje. Het loof begon toen al te strijken, waardoor verdere aantasting met valse meeldauw uitbleef. De uitjes uit de valse meeldauwhaard zijn

geogst. Een gedeelte van deze uitjes zijn met een PCR detectie toets onderzocht op aanwezigheid van valse meeldauw (systemische aantasting) in de uitjes (zie hoofdstuk 7). De rest van deze uitjes wordt begin 2009 ingezet in de biotoets. De resultaten van de PCR-toets en de biotoets zullen daarna met elkaar vergeleken worden.

Op 15 juli is het hele proefveld ook gespoten met Daconil vlb om de bladvlekken (*Botrytis squamosa*) nog even op afstand te houden. Op 25 juli raasden de bladvlekken door het uienloof. Het middel X heeft een goede werking tegen bladvlekken (zie tabel 1). De bespuitingen met Middel X houden het loof langer groen.

4 Preventieve beregening tegen valse meeldauw in ui

De omstandigheden voor sporulatie van valse meeldauw (*Peronospora destructor*) zijn zeer kritisch. Bekend is dat sporulatie niet/minder optreedt als er tussen 0:00 uur en 6:00 uur meer dan 0,2 mm neerslag valt. Als er gezien de weersomstandigheden een hoge kans is op sporulatie en de voorspelling is dat nadien ook de omstandigheden gunstig zijn voor infectie, dan kan met een nachtelijke beregening sporulatie voorkomen worden.

Volgens recent Duits onderzoek speelt de neerslaghoeveelheid ook een belangrijke rol. Met 2 mm wordt het maximale effect bereikt en vanaf 1 mm was het effect ook al groot. In hoofdstuk 8 wordt de relatie tussen neerslag in de nacht beschreven.

Zolang er in een perceel geen uienbladeren zijn waarop de schimmel gaat sporuleren (m.a.w. als er geen aantasting in het perceel aanwezig is), heeft beregening dus geen nut. Probleem hierbij is echter dat een infectie pas duidelijk zichtbaar wordt zodra er sporulatie optreedt. De periode van infectie tot sporulatie duurt minimaal tien dagen.

4.1 Proefopzet 2008

In 2008 is de proef aangelegd op het gangbare bedrijf van PPO-AGV. Dit als gevolg van de vruchtwisseling en het verkrijgen van een beter ontwikkeld gewas.

Het doel van deze proef was om inzicht te krijgen wanneer (tijdstip gedurende de nacht en morgen) en bij welke voorspelde ziektedruk (berekende meeldauw waarde door een BOS) beregenen het grootste effect had. De verschillende objecten staan weergegeven in Tabel 2. Er werd in de proef met beregenen begonnen zodra als er in de omgeving valse meeldauw werd gevonden. In 2008 is er kunstmatig ziektedruk aangebracht door de randrijen van de bedden te inoculeren (2 en 10 juli) met een suspensie met sporen van valse meeldauw.

Als er beregend diende te worden gebeurde dit met circa 2 mm dmv sprinklers en pompen. De pompen werden in- en uitgeschakeld door middel van tijd klokken op de stroomvoorziening. Gedurende het seizoen werden er (ziekte)waarnemingen uitgevoerd in 2 telveldjes van 1 m² per object.

Tabel 2. **Gehanteerde valse meeldauw waarde en beregeningstijdstip per object beregenen van zaaiuien.**

Object	omschrijving	Criterium valse meeldauw-waarde	Aanvangstijdstip beregening
A	Onbehandeld	n.v.t.	
B	Elke nacht	n.v.t.	2:00
C	Beregening op advies DOWNCAST	≥ 2	23:00
D	Beregening op advies DOWNCAST	≥ 2	2:00
E	Beregening op advies DOWNCAST	≥ 2	5:00
F	Beregening op advies DOWNCAST	≥ 2	8:00
G	Beregening op advies DOWNCAST	≥ 2	11:00
H	Beregening op advies DOWNCAST	≥ 3	2:00
I	Beregening op advies DOWNCAST	≥ 1	2:00

4.2 Resultaten 2008

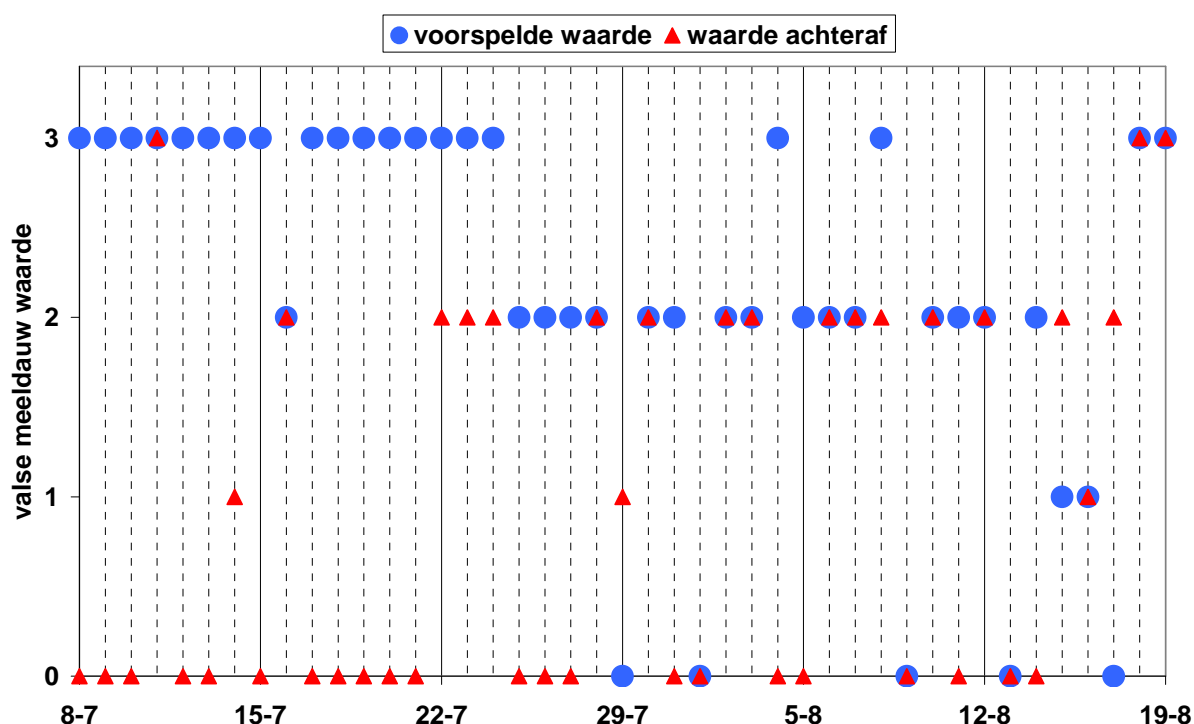
In de proef te Lelystad werd bekeken of er beregend moest worden vanaf 8 juli tot 19 augustus. De voorspelde en achteraf berekende meeldauw waarden zijn weergegeven in Figuur 1.

In de proefperiode werden er veel valse meeldauw waarden van 2 of 3 voorspeld terwijl er achteraf geen sporulatie- en infectiekansen werden berekend (0 waarde). In Tabel 3 is het aantal uitgevoerde beregeningen per object weergegeven. Na de derde week van augustus is gestopt met het opvragen van adviezen en het beregenen.

4.2.1 Adviezen en berekening

Tabel 3. **Aantal uitgevoerde berekeningen per object in 2008.**

Object	omschrijving	criterium valse meeldauw-waarde	Aantal berekeningen
A	Onbehandeld	n.v.t.	0
B	Elke nacht	n.v.t.	43
C, D, E, F en G	Berekening op advies DOWNCAST	≥ 2	36
H	Berekening op advies DOWNCAST	≥ 3	20
I	Berekening op advies DOWNCAST	≥ 1	38



Figuur 1. **Overzicht van de voorspelde en achteraf berekende valse meeldauw waarde te Lelystad (2008).**

4.2.2 Aantasting door valse meeldauw

De inoculatie van 2 juli is geslaagd. Op 16 juli werd de eerste valse meeldauw waargenomen in de geïnoculeerde planten. De dagen daarna breidde de aantasting zich sterk uit.

In Tabel 4 is de aantasting per object weergegeven. Het aantal aangetaste bladeren is het laagst als er werd berekend tussen 2.00 uur en 11.00 uur (drempelwaarde 2; op 28 juli).

Op 28 juli gaf het beregenen bij een drempelwaarde 3 (20 nachten berekend) meer aangetaste bladeren dan bij een drempelwaarde 2 (36 nachten berekend). Het beregenen bij een drempelwaarde 1 (38 nachten berekend) gaf een aantasting die vergelijkbaar is het beregenen bij een drempelwaarde 2.

Op 4 augustus was de aantasting zo zwaar dat de epidemie niet onder controle kon worden gehouden. Verschillen tussen beregenen op basis van drempelwaardes gaf geen verschil. Wel was er nog verschil in mate van aantasting tussen de berekening op de verschillende tijdstippen. Het aantal aangetaste bladeren is het laagst als er werd berekend om 5.00 uur of 8.00 uur.

Tabel 4. **Aantal aangetaste bladeren per beregeningsobject (som van de twee telvelden) en datum in 2008.**

behandeling	drempel	tijd	21-jul	28-jul	4-aug
A Onbehandeld	n.v.t.		17	28	415
B Elke nacht	n.v.t.	2:00	13	26	649
C Beregening op advies DOWNCAST	≥ 2	23:00	17	32	339
D Beregening op advies DOWNCAST	≥ 2	2:00	11	16	418
E Beregening op advies DOWNCAST	≥ 2	5:00	8	14	272
F Beregening op advies DOWNCAST	≥ 2	8:00	11	19	246
G Beregening op advies DOWNCAST	≥ 2	11:00	15	15	336
H Beregening op advies DOWNCAST	≥ 3	2:00	14	30	537
I Beregening op advies DOWNCAST	≥ 1	2:00	16	18	508

4.3 Bespreking

In 2008 (tot 3^e week juli) werden er veel valse meeldauw waarden van 3 voorspeld terwijl er achteraf geen sporulatie- en infectiekansen werden berekend. Dit is te verklaren door het zeer wisselvallige weer in die periode. Er werd vaak regen verwacht (in kleine hoeveelheden, maar deze viel niet, of viel wel maar dan niet in de kritieke periode (voor de berekening van de meeldauw waarde). Dit jaar toont wederom aan dat een goede weerverwachting van essentieel belang is voor het goed berekenen van de infectie en sporulatiekansen en daaraan verbonden het aantal nachten met beregening.

In 2008 werd er voor de eerste keer aantasting in de velden waargenomen. Een complicerende factor bij dit onderzoek (in de gekozen opzet) is dat er vanuit niet behandelde buurvelden mogelijk sporen konden inwaaien. Dit zou het effect van de beregening nadelig beïnvloed kunnen hebben. Met name in die objecten waar vaak beregend werd, wordt mogelijk de sporulatie wel onderdrukt, maar doordat sporen van andere plotjes aan kwamen waaien werd mogelijk de infectie gestimuleerd. In de praktijk zal dit veel minder een rol spelen, omdat we daar te maken hebben met grote velden en niet met kleine veldjes, waardoor inwaaien van sporen van een veel geringere betekenis is.

Conclusies

Het onderzoek van 2008 liet zien dat:

- Nachtelijke beregening kan de epidemie van valse meeldauw vertragen.
- Elke nacht beregenen is mogelijk schadelijk
- Het beste tijdstip van beregenen lag rond 5.00 uur 's ochtends.
- Het effect van de drempelwaarde niet bepaald kon worden doordat er tot de derde week juli bijna alleen maar valse meeldauw waarden van 3 werden voorspeld.

Aanbevelingen

- Gevoeligheidsanalyse op het sporulatiemodel uitvoeren om te zien of de voorspelling van de meeldauwwaarde verbeterd kan worden.
- Het systeem testen op grotere velden.
- Onderzoek naar neveneffecten van nachtelijke beregening op andere bladschimmels.

5 Bestrijding valse meeldauw op het loof met biologische middelen

Uit eerder onderzoek kwam naar voren, dat een aantal biologische middelen, goedgekeurd door de SKAL, enig effect hadden op valse meeldauw. Maar met een spuitfrequentie van zeven dagen waren deze middelen niet in staat om bij hoge infectiedruk later in het teeltseizoen de valse meeldauw aantasting tegen te houden. Waarschijnlijk is de werkingsduur van betreffende middelen korter dan één week.

In 2008 is op het gangbare bedrijfsgedeelte PPO-AGV te Lelystad een veldproef aangelegd met de middelen zwavel, algen extract, celkalk, kaliumbicarbonaat, een hulpstof met Cu en KBV9901 (van Koppert). De spuittijdstippen (behalve voor KBV9901) werden bepaald door BOS (Opticrop), waarbij ingesteld werd dat de werkingsduur van de middelen 3 dagen is. Op deze manier zijn de spuittijdstippen beter afgestemd op de kritieke infectie omstandigheden en de verwachte efficiëntie van de middelen. KBV9901 doodt de sporen van valse meeldauw en heeft een zeer korte werkingsduur. Het is een stop (sporen dodend) middel en wordt alleen toegepast als er sporulerende valse meeldauw vlekken op het uienloof aanwezig zijn.

5.1 Veldproef 2008

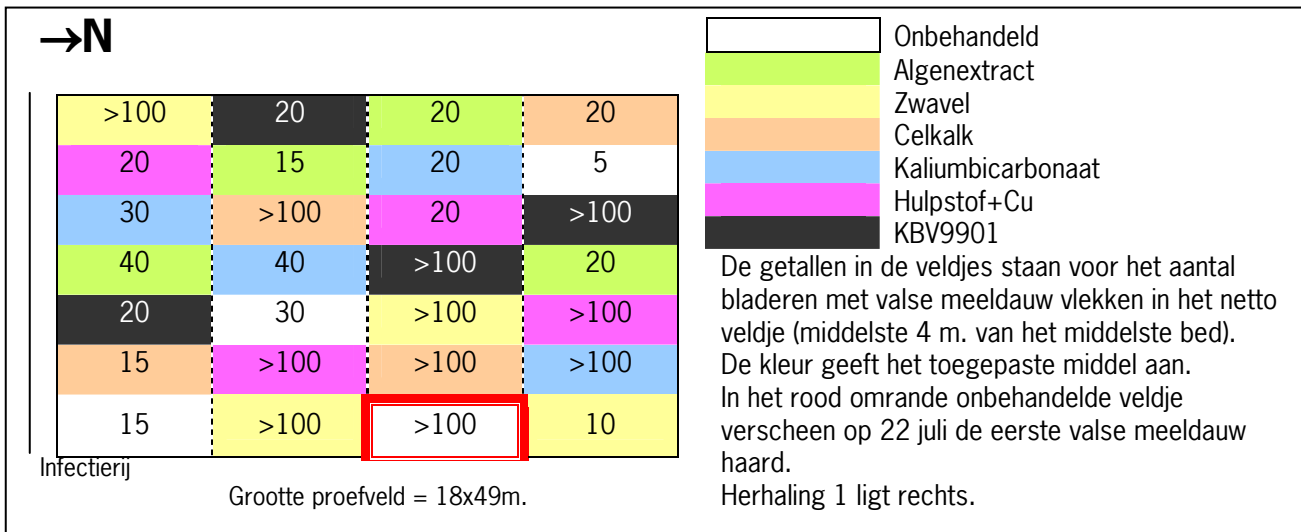
Op 19 april zijn de uien (ras: Hyfield) gezaaid in een blokkenproef met 4 herhalingen. Langs de proef zijn 3 rijen 2^e-jaars plantuien geplant, waarin om de 4 meter een cluster kunstmatig met valse meeldauw (aug. 2007) geïnfecteerde plantuitjes zijn geplaatst, om als infectierij te fungeren. Op 20 mei zijn de uien in het zweepstadium en op 2 juni in het 2-blad stadium. De 1e bespuiting is uitgevoerd op 20 juni. De daaropvolgende bespuitingen zijn toegepast op 24 en 30 juni, 9, 14, 17, 22, 25, 29 juli en 4 en 12 augustus. In tabel 5 staan de getoetste middelen vermeld. KBV9901 is alleen gespoten op 12 augustus, toen er sporulerende vlekken op de uienbladeren zaten. Om de vorming van infectiehaarden te bevorderen is op 2 en 7 juli over de infectierij een sporensuspensie van valse meeldauw gespoten.

Tabel 5. **De getoetste middelen in 2008**

middel	dosering
Algenextract	5 l/ha
Zwavel (80%)	0,5% oplossing
Celkalk (Neccal-20)	5% oplossing
Kaliumbicarbonaat	6 kg/ha
Hulpstof+Cu (50 g/l)	2 l/ha
KBV9901	Afgepaste hoeveelheid
Onbehandeld	-

5.2 Resultaten en bespreking

De eerste paar valse meeldauw vlekken werden half juli gesignaleerd. Een week later had zich een flinke haard (1 m doorsnede) gevormd in het randbed van het onbehandelde veldje van herhaling 2. Daarna breidde de aantasting zich langzaam en grillig verdeeld over het proefveld uit. Eind juli waren door de droge zonnige weersomstandigheden de vlekken weer verdroogd. In de eerste week van augustus begon hier en daar het loof te strijken. Op 11 augustus worden er weer nieuwe valse meeldauwvlekken zichtbaar. De volgende morgen (12 aug.) waren deze vlekken aan het sporuleren. Helaas begon het weer te regenen en werd het pas aan het begin van de middag weer droog. Nadat het gewas opgedroogd was, werd de laatste bespuiting uitgevoerd. Hoewel er door de regen van die ochtend veel sporen van de valse meeldauw vlekken werden afgespoeld, bleven er toch genoeg sporulerende bladeren over om ook KBV9901 te spuiten. Door de harde wind en regen in de ochtend was het loof massaal gaan strijken.



Figuur 2. Proefveldschema met notatie van valse meeldauw aantasting in de netto veldjes op 11 aug. 2008.

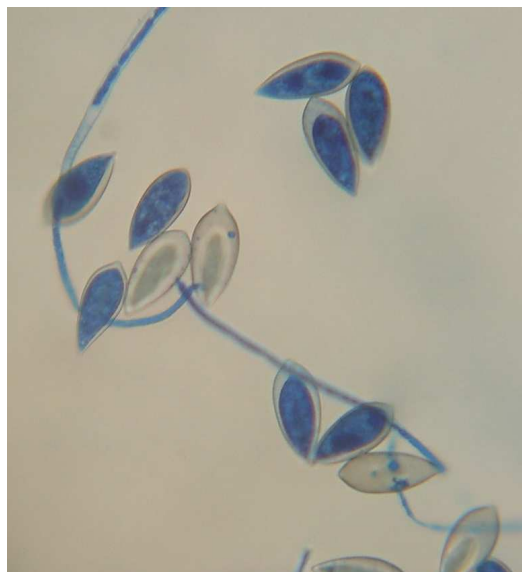
Omdat de valse meeldauw aantasting zo grillig verdeeld was over het proefveld (Figuur 2), zijn de verschillen tussen de diverse behandelingen niet significant. Rond de plek van de eerste aantasting werden de velden met de meeste aantasting gevonden.

Nadat op 12 augustus de laatste bespuitingen waren uitgevoerd, werden uit de vier KBV9901 veldjes en uit een onbehandeld veldje een aantal sporulerende bladeren geplukt en in afgesloten bakken weggezet in een ruimte van 10 - 15°C. De volgende morgen regende het weer en waren in het proefveld alle sporen van de valse meeldauw vlekken afgespoeld. Er was dus niet te zien of KBV9901 misschien ook effect had op verdere sporulatie op de vlekken.

Op (13 aug.) werden de sporen op agar-platen te kiemen gezet. Op het oog leken er minder sporen op de valse meeldauw vlekken uit de KBV9901 veldjes te zitten dan op de vlekken uit het onbehandelde veldje. Twee dagen later zijn de schalen beoordeeld.

- Geen van de sporen van de KBV9901 behandelde veldjes kiemde.
- Van de sporen uit het onbehandelde veldje kiemde globaal gezien 35% (Figuur 3).

Het middel van Koppert lijkt de kieming van de sporen te verhinderen. Meer onderzoek is nodig om het effect van KBV9901 op een valse meeldauw epidemie in een uienveld te kunnen vaststellen.



Figuur 3. Kiemende sporen van *Peronospora destructor*

6 Effect UV-c belichting op valse meeldauw aantasting

Ultra Violet (UV) licht is onder te verdelen in UV-A, UV-B en UV-C licht. UV-A licht heeft een golflengte van 315 tot 400 nanometer, UV-B van 280 tot 315 nanometer en UV-C van 100 tot 280 nanometer. UV-C licht kan brandwondjes op de huid veroorzaken bij langdurige blootstelling binnen 2 meter afstand. UV-C licht kan niet door glas heen dringen, zodat trekker chauffeurs in de veiligheidscabine van de trekker voldoende tegen UV-C licht zijn beschermd. Het licht kan wel "lasogen" veroorzaken, dus een veiligheidsbril wordt aangeraden.

De Eindhovense lampenfabrikant Philips ontwikkelde in 1972 UV-C lampen voor zonnebanken en ontdekte daarbij dat met name UV-C licht een dodende werking heeft op schimmels en bacteriën. UV-licht wordt al toegepast in gesloten watersystemen om het water schimmel- en bacterievrij te houden. Met deze gegevens is Cleanlight BV in samenwerking met DUBEX BV aan de slag gegaan om praktische toepassingen te ontwikkelen voor de bestrijding van schimmelziekten in tuin- en akkerbouwgewassen in de kas en op het veld. Laboratoriumonderzoek op PRI-WUR (2006) heeft uitgewezen dat kiemingspercentage van sporangia van *Phytophthora infestans* substantieel gezakt was na blootstelling aan 10mJ UV-C licht. Doel van het onderzoek is om het effect van UV-C op valse meeldauw te onderzoeken.

6.1 Veldproef UV-C belichting

In 2008 is een veldproef aangelegd in Lelystad voor het toetsen het effect van UV-C op valse meeldauw. Daarnaast is samenwerking gezocht met DLV. DLV had een veldproef liggen in Colijnsplaat. Beide veldproeven waren er op gericht UV-C toe te passen op basis van een Beslissing Ondersteunend Systeem. Verder is in overleg met de KBG gevraagd om een proef in de praktijk te kunnen aanleggen op het moment dat zich valse meeldauw in het gebied zou voordoen.

Zowel in Lelystad als in Colijnsplaat werd in de proef geen valse meeldauw waargenomen. Vanuit de praktijk werden evenmin velden met aantasting gemeld.

Het effect van UV-C op valse meeldauw onder praktijkomstandigheden kon niet vastgesteld worden.

6.2 UV-C belichting op door valse meeldauw aangetaste uien

Om enig inzicht te krijgen in het effect van UV-C op valse meeldauw is een potproef uitgevoerd. Doel van de proef was om een indicatie te krijgen van het effect van herhaalde behandeling van het plantmateriaal met UV-C.

Op kunstmatige wijze zijn plantuitjes geïnoculeerd met valse meeldauw. De aangetaste planten zijn over 6 objecten in 2 herhalingen gebruikt. In object A werd niet belicht (Tabel 6). De andere objecten werden 's ochtends belicht met UV-C. Een van Dubex gehuurd UV-C apparaat geschikt voor toepassing in uien werd gebruikt. De opgepotte uitjes werden opgesteld in rijen, waarna er met trekker + UV-C apparaat langs gereden werd. Er werd gereden met een snelheid van 4 km / uur. Dit is een snelheid die vergelijkbaar is met de snelheid waarmee gereden wordt in praktijkpercelen. Nadat de behandelingen zijn uitgevoerd werden de valse meeldauw sporen op de derde dag van de plant afgespoeld en werd het aantal sporen en het kiempercentage bepaald.

Tabel 6. **Proefopzet voor de belichting van met valse meeldauw aangetast plantmateriaal.**

object	dag 1; 21 juli	dag 2; 22 juli	dag 3; 23 juli
A	- *	-	-
B	UV	-	-
C	UV	UV	-
D	UV	UV	UV
E	-	UV	UV
F	-	-	UV

* -: geen behandeling; UV-C: belichting van de planten met UV-C in de ochtend.

Ten opzichte van de onbehandelde controle waren er geen verschillen in aantal gevormde sporen, behalve in behandeling F waar meer sporen werden gevonden (Tabel 7). Het percentage kieming werd niet significant beïnvloed door UV-C. De spreiding in de mate van kieming binnen de behandelingen was echter groot.

Tabel 7. **Effect van UV-C op sporulatie en kieming van valse meeldauw in een potproef**

Object	UV-C			Sporen aantal	%kieming		
	Dag 1	Dag 2	Dag 3				
A	0	0	0	416	a. *	5.3	a
B	1	0	0	1102	a.	2.0	a
C	1	1	0	1210	a.	6.0	a
D	1	1	1	418	a.	1.9	a
E	0	1	1	401	a.	3.5	a
F	0	0	1	3406	.b	11.7	a

*: Objecten aangeduid met verschillende letters zijn significant verschillend.

Een eenduidig oordeel over de mogelijkheden voor toepassing van UV-C is op basis van de resultaten niet te geven. De kieming werd bij geen van de UV-C behandelingen in z'n geheel geremd. Mogelijk dat de lichtopbrengst en de snelheid van rijden hierop moeten worden aangepast.

7 Moleculaire detectie *Peronospora destructor* in plantuitjes 2008

Door Marjon Krijger, Cees Waalwijk (PRI) & Bert Evenhuis (PPO-AGV)

Om te onderzoeken of het prototype PCR detectietoets voor valse meeldauw in ui in staat is aantasting in plantuitjes te detecteren, is een monster van 400 1e-jaars plantuitjes getoetst. Het aangetaste materiaal was afkomstig uit een veldproef met 1^e jaarsplantuitjes gelegen in Lelystad (Hoofdstuk 3).

7.1 Materiaal/methode

In één van de onbehandelde controles van de bolbesmettingsproef, werd valse meeldauw waargenomen in het loof. Bolletjes van deze plek werden handmatig gerooid. Omdat niet duidelijk was waar de mogelijke aantasting in de bol precies zit werd besloten om het gehele bolletje te vriesdrogen nadat eerst de buitenste rokken, het bovenste deel, en de worteltjes zijn verwijderd (Figuur 4). De bolletjes werden fijngesneden en in plastic potjes bij -20 °C bewaard.

Na ieder bolletje werden mesjes, handen en snij-oppervlak met alcohol 96% afgenomen. Vanuit de diepvries werden de uitjes gevriesdroogd.

Het gevriesdroogde materiaal werd bewaard bij -20 °C totdat het fijngemalen werd met een stalen kogel in een "beadbeater", per 2 monsters tegelijk.

Uiteindelijk werd een poeder verkregen waarmee een DNA-extractie werd uitgevoerd (Figuur 5). De poeders werden bewaard bij -20 °C.



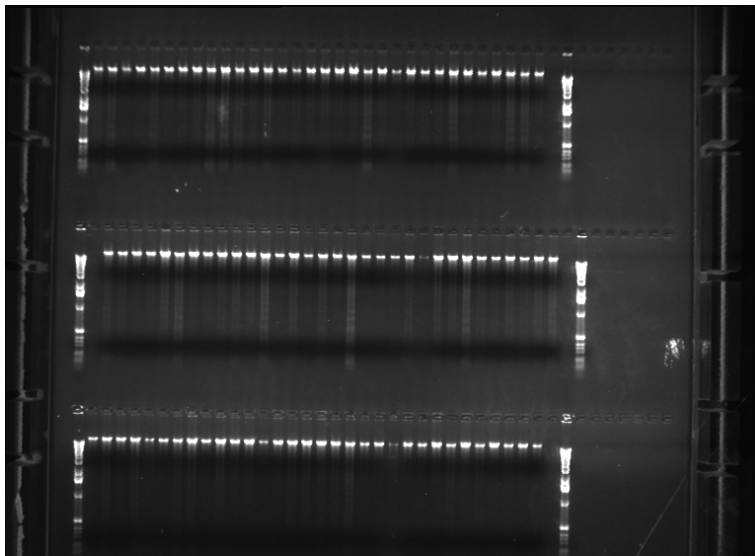
Bolletjes
aangeleverd

Zo worden
De bolletjes
Fijngehakt en
gevriesdroogd

Figuur 4. Uienbolletjes, zoals aangeleverd en klaargemaakt voor verwerking.

7.2 DNA extractie

Een DNA-extractie werd uitgevoerd met de DNeasy 96 Plant Kit van Qiagen. Met behulp van dit protocol konden per keer 192 DNA-extracties uitgevoerd worden. Per monster wordt precies 10 mg uienpoeder afgewogen en hieruit werd 200 μ l DNA verkregen.



DNA
Vanuit uienpoeder
Sample 1 t/m96

Figuur 5. DNA opbrengst vanuit uienpoeder.

7.3 PCR

De moleculaire test werd uitgevoerd met specifieke primers voor *Peronospora destructor*, beschreven in de literatuur (Saracchi et al.)

Als positieve controle werd DNA, verkregen vanuit een sporensuspensie van valse meeldauw, meegenomen. De PCR reactie werd uitgevoerd volgens:

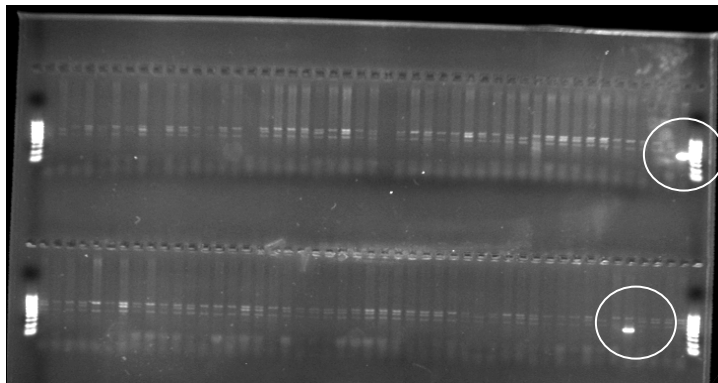
Taqbuffer	2,5	μ l
DNTP (600 μ M)	2,5	μ l
Fpdes.1 (60 μ M)	0,25	μ l
Rpdes.1 (60 μ M)	0,25	μ l
Taq	0,2	μ l
MQ	17,3	μ l
DNA	<u>2,0</u>	μ l
Totaal	25	μ l

95°C	2min
95°C	30sec.
55°C	30sec.
72°C	1min 25X
72°C	10min

De PCR producten (15 μ l) werden op 1% agarose gel gezet. Verwacht product bij aantasting van de bol door valse meeldauw is 412 bp.

7.4 Resultaten

Van de 400 getoetste monsters werden er 2 positief gescoord (Figuur 6). Met de PCR – methode kon op deze wijze in een half procent van de monsters valse meeldauw worden aangetoond.

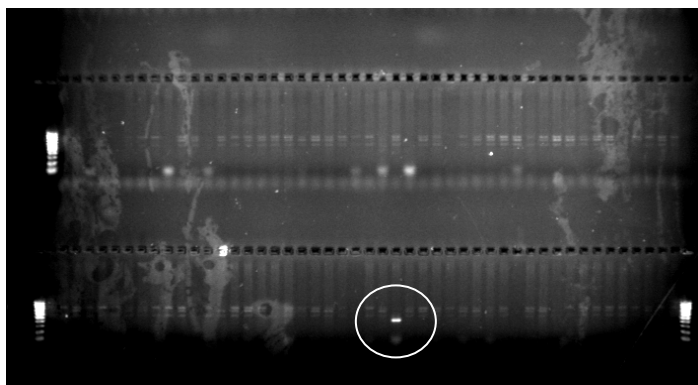


Monster 97t/m 191

Slechts 1 sample
positief
No. 142 (onder)

Bandje boven is
positieve controle

Marker= 100bp



Monster 1t/m 95

1 positief (onder)
no.22

Figuur 6. De twee monsters waarin valse meeldauw met de PCR methode konden worden aangetoond, zijn aangeduid met witte cirkels. Alle overige DNA monsters geven geen amplicon op gel te zien na de PCR.

7.5 Conclusie/discussie

Voor bladmateriaal en zaden is de PCR toets okay. Dit geeft aan dat met de PCR toets valse meeldauw kan worden aangetoond.

Van de 400 plantuitjes zijn er 2 positief gescoord op aanwezigheid van valse meeldauw. Dit is erg weinig en gezien de aantasting in het gewas minder dan verwacht. Remming van de PCR is uitgesloten, omdat van een aantal DNA-monsters verdunningen zijn gemaakt, 10X en 100X en deze getoetst werden in de PCR.

Ook hierin zijn geen positieve monsters gevonden. Het kan misschien liggen aan het feit dat de uitjes van 1 partij afkomstig waren. Echter van de partij is wel bekend dat het loof aangetast was door valse meeldauw. Het bemonsterde veld is niet behandeld met fungiciden tegen valse meeldauw. Echter het is onduidelijk of deze aantasting ook daadwerkelijk tot bolbesmetting heeft geleid. Om hierover meer zekerheid te krijgen wordt een biotoets uitgevoerd. De resultaten van de PCR-toets worden daarmee in het voorjaar van 2009 geverifieerd.

Het bewaren van de gesneden uien bij -20C° is misschien nog te warm geweest, beter is wellicht direct overgieten met vloeibare stikstof -200 C°, en ze direct te vriesdrogen.

Vragen die nog blijven staan:

- Is de PCR robuust genoeg voor het toetsen van valse meeldauw in uibolletjes?
- Is 10 mg uienpoeder te weinig om een positief signaal te vinden?
- Onder welke omstandigheden gaat loofaantasting over tot besmetting van de uienbol.

In de toekomst zullen monsters van verschillende partijen worden getoetst en binnen een partij gepooled. Hiervoor is het echter nodig dat partijen met aangetaste plantuitjes vanuit praktijkpercelen ter beschikking worden gesteld.

8 Sporulatie valse meeldauw

Door: Bert Evenhuis, Corina Topper, W. van den Berg (PPO AGV) & Marieke Förch (PRI)

8.1 Inleiding

Het al of niet optreden van sporulatie is afhankelijk van de weersomstandigheden en de aanwezigheid van bronnen voor valse meeldauw. Zoals in hoofdstuk 4 beschreven is de kwaliteit van de weersvoorspelling doorslaggevend voor het voorspellen van een correcte meeldauw waarde. Een van de voorwaarden voor sporulatie is het niet regenen in de nacht. Doel van het onderzoek is nagaan of sporulatie en de daaruit voortvloeiende ziektedruk beter voorspeld kan worden aan de hand van weersgegevens. Dit onderdeel is uitgevoerd in opdracht van het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit.

8.2 Materiaal en methode

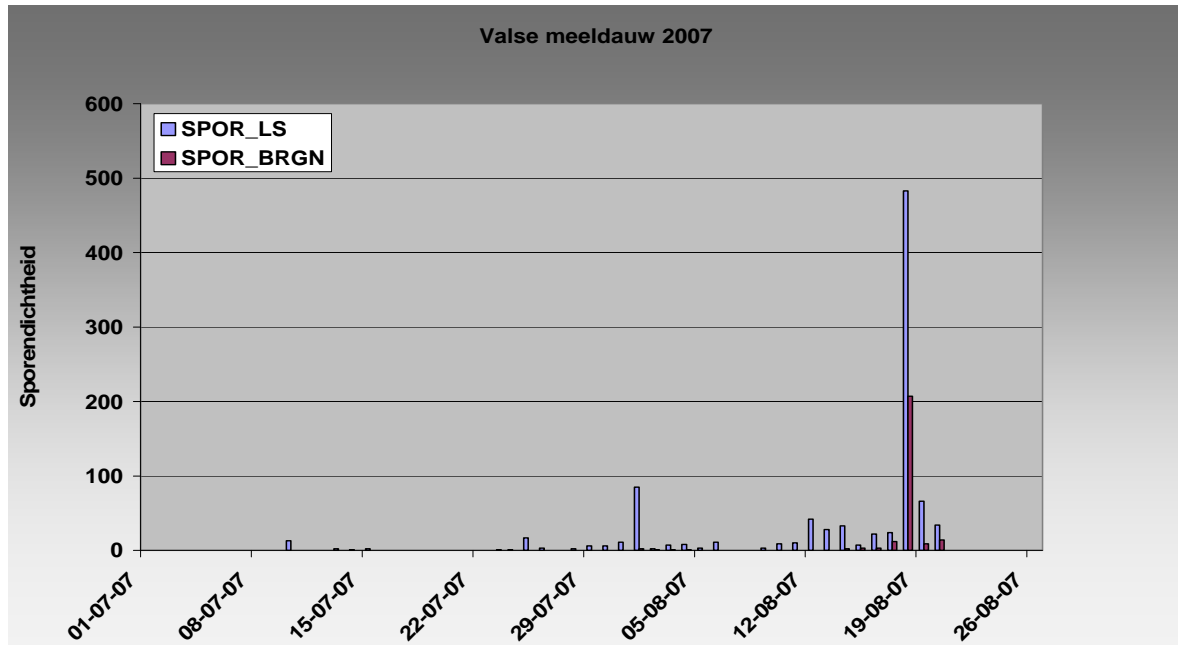
Om sporulatie te kunnen meten is gebruik gemaakt van sporenvangers. In 2006, 2007 en 2008 zijn sporenvangers (Figuur 7) geplaatst bij uienpercelen. In 2006 en 2007 zijn twee sporenvangers geplaatst in Lelystad, bij 2 verschillende percelen. In 2008 zijn naast de twee sporenvangers in Lelystad, ook nog sporenvangers geplaatst in Colijnsplaat en Wageningen. De sporenvangers zijn geplaatst bij de beregeningsproeven (BRGN) en de tussen de andere valse meeldauw proeven (LS) in Lelystad. De tapes met de sporen werden onder de microscoop geteld, waarbij het moment van de sporenvangst per uur nauwkeurig werd vastgesteld. Weersgegevens op uur-basis werden ter beschikking gesteld door Agrovision BV. Vervolgens werden de weersgegevens gebruikt om de mate van sporulatie te verklaren.



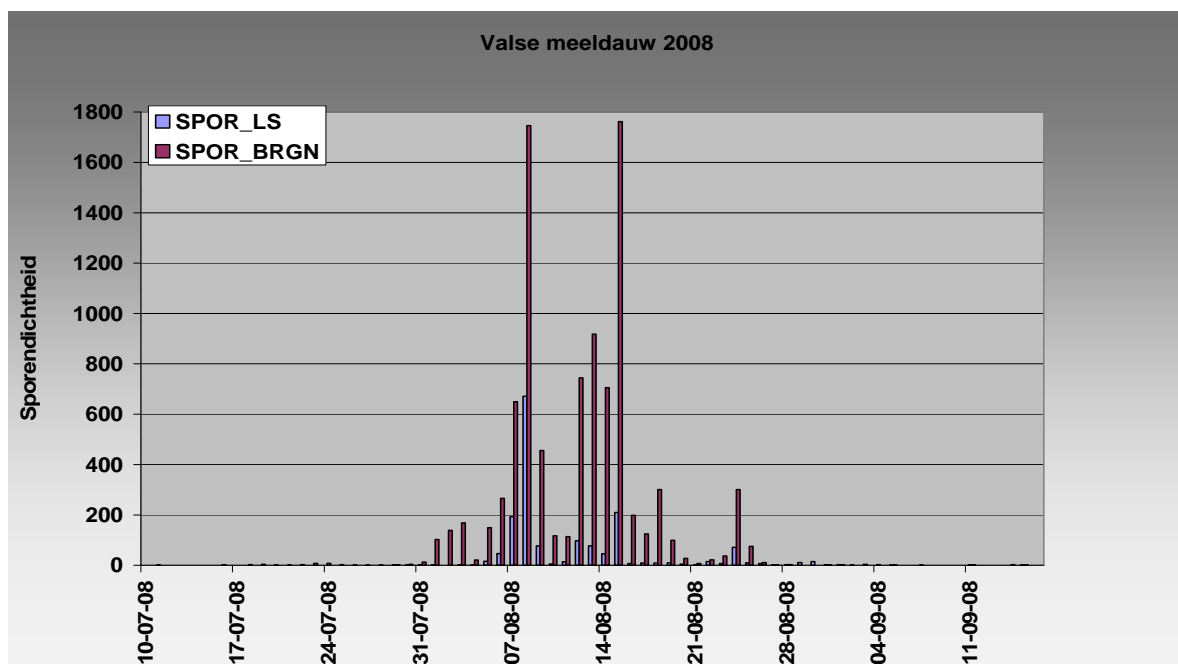
Figuur 7. Sporenvanger om valse meeldauw sporen te vangen.

8.3 Resultaat

In 2006 en in 2008 in Colijnsplaat en Wageningen is geen valse meeldauw van betekenis opgetreden in het gewas. Een beperkt deel van de tapes van deze locaties zijn geteld, maar valse meeldauw sporen zijn, zoals verwacht, niet gevonden. In Lelystad werd in 2007 een beperkt aantal sporen waargenomen (Figuur 8). In 2008 werden meer sporen gevangen (Figuur 9), voornamelijk aan het eind van het teeltseizoen.

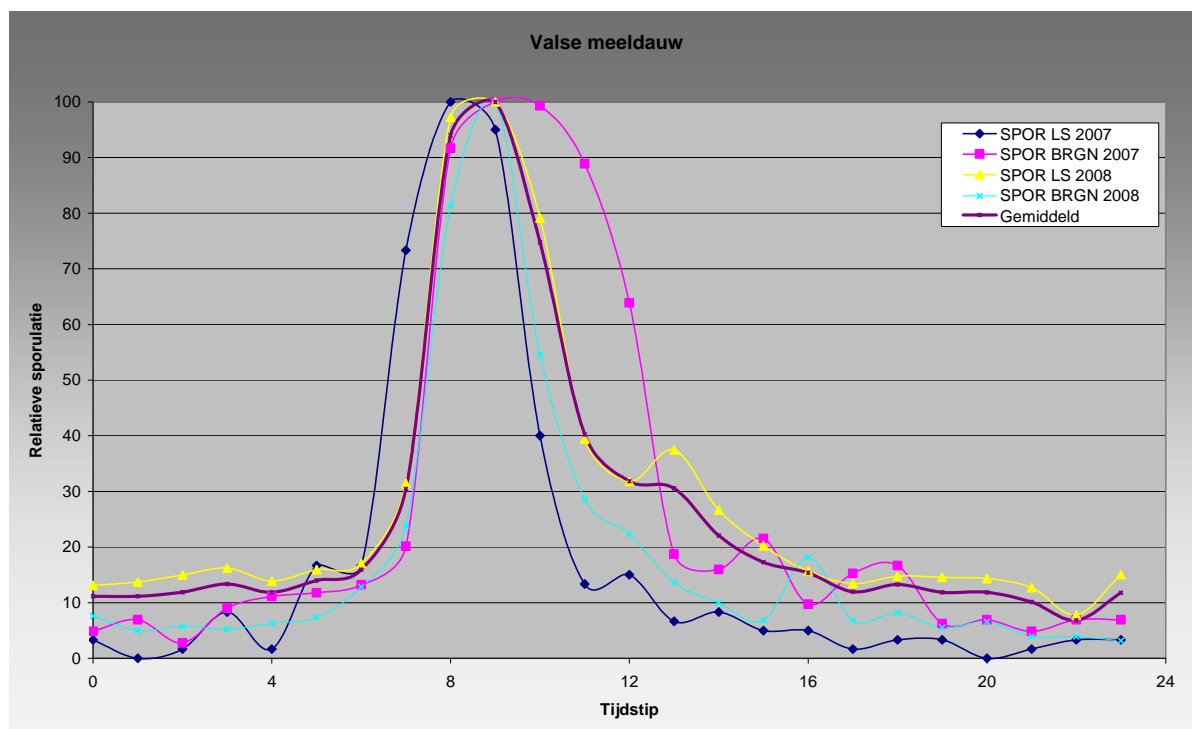


Figuur 8. Sporulatie van valse meeldauw, waargenomen met twee sporenvangers bij verschillende uienpercelen in Lelystad 2007.



Figuur 9. Sporulatie van valse meeldauw, waargenomen met twee sporenvangers bij verschillende uienpercelen in Lelystad 2008.

Uit Figuur 10 blijkt dat de meest sporen in het gewas vrij komen in de ochtend op het moment dat de relatieve luchtvochtigheid omlaag gaat.



Figuur 10. Relatie tussen tijdstip van de dag en de sporendichtheid in de lucht. Het moment op de dag met de maximale sporendichtheid is op 100 gesteld.

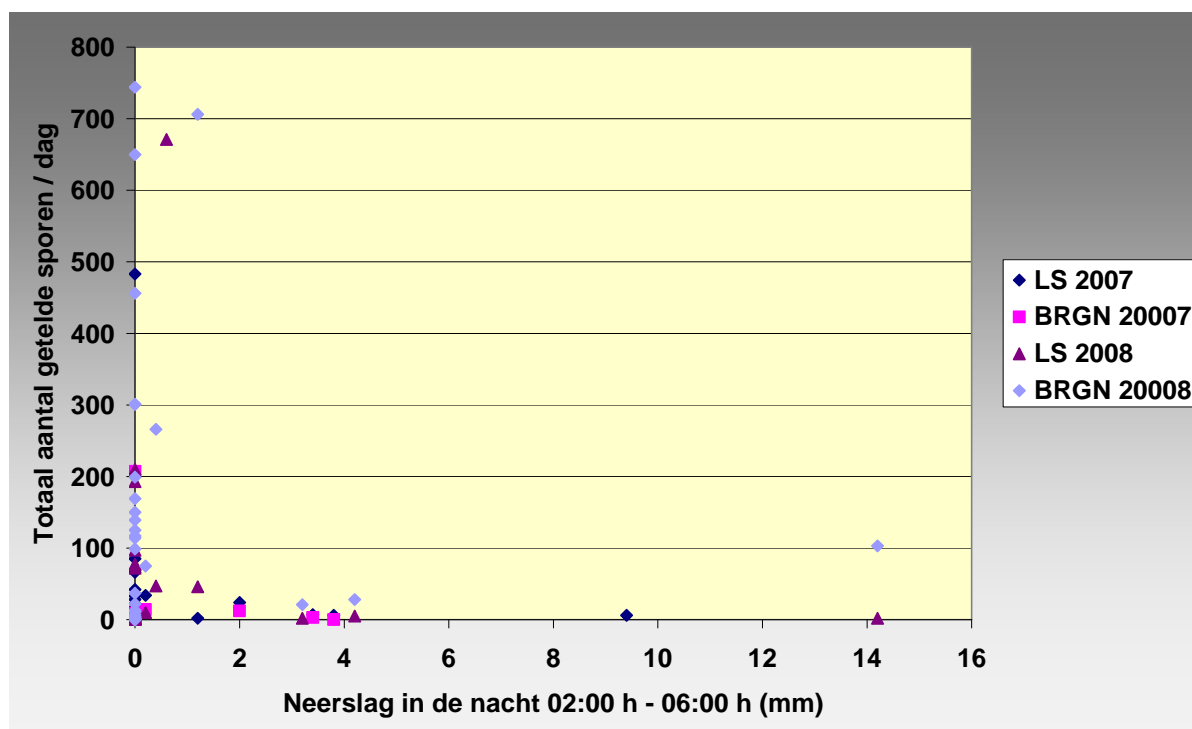
8.4 Bespreking

Sporulatie is een voorwaarde voor verdere verspreiding van valse meeldauw. Uit de resultaten blijkt dat sporulatie pas later in het seizoen gevonden werd. Dit heeft uiteraard te maken met bronnen in de omgeving. Zolang er geen aantasting is in het veld kunnen de omstandigheden voor sporulatie en infectie gunstig zijn, maar zal er geen valse meeldauw in het betreffende perceel vallen. Waarschuwingssystemen houden hier rekening mee. De afstand waarover sporen zich kunnen verspreiden is niet bekend, maar is wel van belang voor de mate van relevantie van bronnen in de omgeving.

Uit figuur 8 en 9 blijkt dat als er eenmaal aantasting is dat op een relatief groot aantal dagen wel wat sporen worden gevangen. Het aantal dagen met pieken in sporulatie is beperkt. Een goede relatie met weersomstandigheden kon niet worden gevonden. Wel lijkt neerslag (meer dan 2 mm) in de nacht de sporulatie te onderdrukken (Figuur 11). Echter een geringe hoeveelheid neerslag leek sporulatie juist te bevorderen. Dit zou nog verder uitgezocht moeten worden. In één geval was er na een nacht met neerslag toch nog een behoorlijke mate van sporulatie. In dit specifieke geval had sporulatie vroeg in de nacht plaats gevonden voor de neerslag. In hoeverre dit regelmatig voorkomt en wat de betekenis is voor de valse meeldauw epidemie zal nog verder uitgezocht moeten worden.

Sporulatie werd positief beïnvloed door een hogere luchtvochtigheid en negatief door hoge temperaturen. Toepassing van de rekenregels uit het Zwipero-model (waarschuwingstelsel) voor sporulatie konden de waargenomen sporendichtheden echter onvoldoende verklaren.

Er leek een relatie te zijn tussen sporulatie vandaag en de mate van sporulatie gisteren. Dit is in zekere mate logisch omdat aangetast plantmateriaal op meerdere dagen achtereen kan sporuleren.



Figuur 11. Relatie tussen neerslag in de nacht en de mate van valse meeldauw sporulatie

De kans dat deze sporen leiden tot een infectie hangt samen met de weersomstandigheden na het vrijkomen van de sporen en met de aantallen sporen die vrij komen. Op een beperkt aantal dagen werden zeer hoge pieken gevonden. Identificatie van omstandigheden waaronder deze pieken optreden kan leiden tot een betere timing van de gewasbespuitingen ter beheersing van valse meeldauw. In hoeverre de sporulatiedichtheden overeenkomen met de sporulatiewaarden gegeven in waarschuwingssystemen die in Nederland worden gebruikt zal nog verder uitgezocht moeten worden. Zonodig moeten de modellen hierop worden aangepast.

Concluderend kan gesteld worden dat:

- sporulatiepieken voornamelijk vroeg in de ochtend worden gevonden. Af en toe worden ook op andere momenten wat hogere dichtheden valse meeldauw sporen in de lucht waargenomen.
- een bron voor valse meeldauw aanwezig moet zijn om sporulatie te kunnen meten en dat dit direct in relatie staat tot de start van de epidemie. Onduidelijk is op welke afstand van het perceel bronnen relevant zijn.
- de sporendichtheid in de lucht gecorreleerd is met de sporendichtheid op de voorgaande dag, en naast weersomstandigheden dus ook bepaald wordt door bronsterkte.
- sporulatie met de huidige weerparameters nog onvoldoende worden voorspeld, en dat dit verder uitgezocht zou moeten worden.
- het criterium waarbij na nachtelijke berekening geen sporulatie optreedt bijgesteld moet worden van 0 tot 2 mm.

Bijlage 1 Output 2008

Lezing

- C. Bouma & A. Evenhuis. Biobvakbeurs 6 februari 2008 Apeldoorn.
- H. Schepers, Verdiepingsdag DLV, 17 december 2008 Wageningen.

Publicaties

- Evenhuis, Bert, 2008. Veel aandacht voor valse meeldauw op Ui & Peen Manifestatie. Electronische Nieuwsbrief van KennisOnline [L_KENNISONLINE@NIC.SURFNET.NL];[30 sep 2008].

Verslagen

- R. Meier, A. Evenhuis, H.G. Spits, H.T.A.M. Schepers (PPO-AGV) M. Zanen en A.J.T.M. Hospers-Brands (LBI). Beheersing valse meeldauw (*Peronospora destructor*) in uien. Proefjaar 2007.

Open dag

- R. Meier & A. Evenhuis. Ui en peen manifestatie Lelystad 14 aug. 2008