

# Recente ontwikkelingen in de gewasbescherming - samenvattingen

## Recent developments in crop protection - abstracts

### KEYNOTE

#### **Pathogenicity chromosomes in *Fusarium oxysporum***

Martijn Rep

Swammerdam Institute for Life Sciences, Faculty of Science,  
University of Amsterdam

Effectors are small proteins secreted by plant pathogenic microorganisms that promote virulence by suppression of, or protection against, plant defenses. The genes for effectors of the tomato xylem colonizing fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) are encoded on a single chromosome. This chromosome is one of four chromosomes in Fol that have no counterpart in the sister species *F. verticillioides* and are absent even in other strains of *F. oxysporum*. We have shown that the 'effector chromosome' is mobile; it can move from Fol to another strain, turning the latter into a pathogen towards tomato.

### KEYNOTE

#### **Molecular diversity of *Phytophthora infestans* populations at local and regional scales**

David Cooke<sup>1,3</sup>, Alison Lees<sup>1</sup>, Jens Hansen<sup>2</sup> and Paul Birch<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SCRI, Invergowrie, Dundee DD2 5DA, United Kingdom

<sup>2</sup> University of Aarhus, Faculty of Agricultural Sciences, Dept. of Agroecology and Environment, Blichers Allé 20, P.O. BOX 50, DK-8830 Tjele, Denmark

<sup>3</sup> david.cooke@scri.ac.uk

The effectiveness of both short and long-term late blight management strategies is influenced by the local populations of the causal agent, *Phytophthora infestans*. In most potato-growing regions, populations of *P. infestans* are dominated by one or a few highly successful clonal

lineages. However, sexual recombination of the pathogen does occur in some regions and can be a concern. The resultant long-lived oospores affect the aetiology of the disease and the rate of evolutionary change in the pathogen with knock-on effects on its management. Tracking the transitions in *P. infestans* populations and understanding the mechanisms and processes driving such change is challenging but this is an exciting time in *Phytophthora* research and a few recent advances are presented.

The genome sequence of *P. infestans* has proved a great source of genetic markers to study populations. Neutral Simple Sequence Repeat (SSR) markers (Lees *et al.*, 2006) are valuable tools for understanding the structure and relatedness of populations at scales from single plants to whole continents (Cooke & Lees, 2004). A multiplex PCR protocol has been developed at SCRI and is being updated through collaboration with PRI (Wageningen). Several thousand isolates have now been genotyped and the resolution of the SSR fingerprinting has proven appropriate for both global and local studies. We have observed a marked increase in the frequency of the A2 mating type in parts of Western Europe and used SSR markers to confirm this is due to a single genotype termed genotype 13\_A2 which has had an impact on practical control in the field. Data is being stored in a European database of 25,000 *P. infestans* isolates from 22 countries ([www.eucablight.org](http://www.eucablight.org)). This key resource can be interrogated and the main results are presented using a range of powerful web-based tools (Cooke *et al.*, 2007; Hansen *et al.*, 2007). Some examples of the advantage of this approach will be presented. This improved understanding of population structure is occurring in parallel with great advances in our understanding of the mechanisms *P. infestans* uses invade its host. The study of *P. infestans* effector genes (pathogen-secreted proteins with a function in virulence) is likely to underpin new approaches to resistance breeding. It is thus important that we understand the diversity and evolution of such *P. infestans* effec-

VERGADERING

tor genes in the pathogen population. Current data on effector diversity will be presented.

### References

- Cooke DEL & Lees AK (2004) Markers, old and new, for examining *Phytophthora infestans* diversity. *Plant Pathology* 53, 692-704.
- Cooke DEL, Lees AK, Hansen JG, Lassen P, Andersson B & Bakonyi J (2007) EUCABLIGHT one year on: an update on the European blight population database. Proceedings of the 10th workshop of an European network for the development of an integrated control strategy for late blight – PPO special report No. 12, 129-136
- Hansen JG, Colon LT, Cooke DEL, Lassen P, Nielsen B, Cooke LR, Andrivon D & Lees AK (2007) Eucablight – collating and analysing pathogenicity and resistance data on a European scale. Proceedings of conference: 'Computer Aids for Plant Protection' in Wageningen, the Netherlands, Oct 17-19, 2006. OEPP/EPPO, Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 37, 383-390
- Lees AK, Wattier R, Sullivan L, Williams NA, Cooke DEL (2006) Novel microsatellite markers for the analysis of *Phytophthora infestans* populations. *Plant Pathology* 55, 311-9

## SESSIE 1A

### Paprikatelers en de fyto-sanitaire dreiging van de Afrikaanse fruitmot

Jeannette Vriend en Harmen Hummelen

LTO Groeiservice Gewasbeschermingspecialisten

Het binnenkomen van nieuwe plagen in Nederland is zeer actueel. In de groenteteelt onder glas zijn daar de voorbeelden van de *Tuta absoluta* en dit jaar de Afrikaanse fruitmot. De overheid wil de verantwoordelijkheid voor het nemen van maatregelen bij de sector leggen; de vraag is of de sector deze verantwoordelijkheid aan kan.

De Afrikaanse fruitmot is in Nederland één keer gevonden in de teelt (oktober 2009 op een bedrijf dat pepers importeerde uit Afrika) en Amerika eist nu maatregelen van kwekers en exporteurs. Op alle bedrijven moet één van de medewerkers een cursus hebben gevolgd voor het herkennen van de mot. Dit omdat op kwekerijen en de exporterende bedrijven verplicht feromoonvallen hangen die gecontroleerd moeten worden. De officiële controle wordt uitgevoerd door het KwaliteitsControleBureau (KCB) op kosten van het bedrijf. Op dit moment is de Plantenziektkundige dienst bezig met een *Pest Risk Analysis* (PRA). Op het moment dat het organisme een Quarantaine-status krijgt zijn de kosten van monitoring voor de PD. Sommige telers zien dit als een voordeel, maar voor de handel en sector-breed is dit meestal niet gewenst.

Het verantwoordelijkheidsgevoel is kleiner als de binnenkomende ziekte in het betreffende gewas of bij de handel geen directe negatieve gevolgen heeft. De gewas- of ketenoverschrij-

dende effecten kunnen wel heel groot zijn. Denk hier ook aan het imago van de totale Nederlandse agri-keten.

De financiële gevolgen liggen nu bij de individuele bedrijven. Er wordt al lang gedacht over een fyto-sanitair en er wordt al lang aan gewerkt. Telers die de laatste jaren niet geconfronteerd zijn met ziekten en plagen geven echter een lage prioriteit aan het tot stand komen van een dergelijk fonds. De vraag is of met de toename van de bedrijfsomvang en handelsstromen er niet een zekere verplichting moet gaan gelden.

De conclusie is dat de sector een veel grotere verantwoordelijkheid krijgt. Dit vereist nog steeds een tijdige signalering, risico-inventarisatie en kennis van een nog onbekende plaag. De Plantenziektkundige dienst speelt hierin een belangrijke rol. Het vereist ook een hoger kennisniveau van de telers om een goed hygiëne-protocol op te stellen en te handhaven op de bedrijven. Dit vraagt een zekere omslag bij de huidige telers.

Waar wij met u graag verder over discussiëren is of de overheid zich moet terugtrekkende of zich actief moet inzetten om de goede naam van de Nederlandse agri-keten te waarborgen.

### Een Nationale Richtlijn voor de validatie van detectie- en identificatiemethoden voor plantenpathogenen en -plagen

Michaël van den Berg

Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

Door vertegenwoordigers van NAK, Naktuinbouw, BKD, Blgg en de Plantenziektenkundige Dienst is onlangs een Nationale Richtlijn voor de validatie van detectie- en identificatiemethoden voor plantenpathogenen en -plagen gepresenteerd. Dit document wordt in deze presentatie nader onder de loep genomen. Methoden die volgens de ISO:17025 norm ter accreditatie worden aangeboden, moeten gevalideerd zijn. Valideren wordt omschreven als 'het bevestigen door onderzoek dat aan bepaalde eisen voor specifiek beoogd gebruik wordt voldaan'. Een belangrijk element van elk validatietraject is de 'scope'. Deze omschrijft precies wat het doelpathogeen is en in welke matrix ('drager') deze getoetst wordt, wat de gebruikte analysemethode is, en wat het toepassingsgebied is. Objectief bewijs dat aan de scope voldaan wordt, wordt geleverd door het vaststellen en beoordelen van een aantal prestatiekenmerken. Een voorbeeld hiervan is de aantoonbaarheidsgrens.

## **Validatie van de detectie van *Ralstonia solanacearum* door uitplaten op de selectieve voedingsbodem SMSA**

Marijn van der Veen, Eveline Metz en Maria Bergsma

Plantenziektenkundige Dienst, Geertjesweg 15, Wageningen, m2.van.der.veen@minlnv.nl

Er is een validatierichtlijn voor de detectie- en identificatiemethoden voor plantenpathogenen en plagen opgesteld. Deze richtlijn geeft aan hoe een validatie idealiter uitgevoerd wordt. Plantenpathogenen zijn meestal moeilijk exact in de richtlijn te passen. Het doel van dit praatje is dan ook om aan de hand van een praktijkvoorbeeld te laten zien hoe dit in de praktijk kan werken.

Het voorbeeld is de uitplaattoets voor de detectie van *Ralstonia solanacearum* uit aardappel. De 'scope' voor deze validatie was: het opkweken, isoleren en herkennen van de koloniemorfologie van *R. solanacearum* in aardappelknolextract door middel van kweek op het semi-selectieve medium SMSA. De scope van een validatie is belangrijk, omdat hierin vastgelegd wordt wat er precies gevalideerd wordt. Daarnaast wordt aandacht gegeven aan de eisen waar een toets aan moet voldoen. Als laatste wordt de validatie van deze toets voor detectie van *R. solanacearum* uit pelargonium besproken. Hoe kun je creatief omgaan met data die al uit eerdere validaties bekend zijn.

### **SESSIE 1B**

#### **Bestrijding *Botrytis* in bollen; alternatieven of een verlaagde dosering effectief en verantwoord?**

Marjan de Boer, Suzanne Breeuwsma, Arie van der Lans, Jan van der Bent en Bram Buitenwerf

WUR - Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Bloembollen; Postbus 85, 2160 AB Lisse; e-mail: marjan.deboer@wur.nl

*Botrytis* is een probleem in verschillende bolgewassen en dan met name in tulp en lelie. Op dit moment spuiten de meeste telers op wekelijkse basis tegen *Botrytis*, resulterend in ongeveer 25 kg actieve stof / ha en relatief hoge milieubelasting.

Is het nodig om elke week ongeacht het weer de volle dosering van een cocktail van verschillende middelen op het gewas te spuiten?

#### **Stadium-afhankelijke dosering**

Uit eerder onderzoek uit 2006 en 2007 is gebleken dat er gespoten kan worden op basis van het stadium van de plant. Dit betekent starten met het spuiten van een lage dosering van een middel bijvoorbeeld 12.5%. De dosering loopt in zes tot acht bespuitingen op tot de 100% vlak voor de bloei.

Lelies zijn namelijk voor de bloei minder gevoelig voor vuur. Bovendien groeit de plant van opkomst tot aan de bloei en is het niet nodig om op een nog niet volgroeid gewas met 100% dosering van een vuurbestrijdingsmiddel te spuiten.

#### **Alternatief Gewasbeschermingsmiddel van Natuurlijke Oorsprong (GNO) zonder milieubelasting**

Uit een screeningsprogramma naar effectieve GNO's is een middel naar voren gekomen dat een redelijk werkend alternatief is voor chemische vuurbestrijdingsmiddelen en geen milieubelasting heeft. Aangezien dit middel vooral werkt tegen kiemende sporen wordt dit middel altijd op basis van een vuurwaarschuwingssysteem (VWS) gespoten. Echter dit middel is niet zo hard en effectief onder zware vuuromstandigheden als de meeste chemische alternatieven. Het is daarom ook ingezet in een systeem waarbij op basis van een vuurwaarschuwingssysteem het GNO wordt ingezet bij een lage infectiekans en een fungicide bij een hoge infectiekans.

In 2008 en 2009 zijn op een proefveld in Drenthe midden in het lelieteelt gebied bovenstaande methoden in veldproeven uitgetest. Hieruit bleek dat:

- Stadiumafhankelijk spuiten met een aangepaste dosering (20% minder middel) voor de bloei resulteert in een hoge bolopbrengst
- Spuiten met alleen het GNO op basis van het VWS een bolopbrengst oplevert die afhankelijk van het seizoen slechter of vergelijkbaar is met de standaardbespuiting waarbij elke week met 100% met een chemisch middel is gespoten
- Spuiten op basis van het VWS met het GNO óf een chemisch middel, afhankelijk van de infectiekans, resulteert in een hoge bolopbrengst die minimaal vergelijkbaar is met die van de standaardbespuiting. Met deze behandeling kan afhankelijk van het seizoen en cultivar 50 tot 75% middel worden bespaard.

Deze nieuw-ontwikkelde maatregelen zijn zeer perspectiefvol. Echter, de risicobeleving bij de telers bij het sterk verminderde verbruik staat de doorontwikkeling richting de praktijk in de weg.

Met name de toepassing van een verlaagde dosering voor de bloei roept de vraag op bij telers of dit niet leidt tot resistentie-opbouw bij Botrytis.

### Mijtbestrijding in bollen alleen mogelijk in combinatie met een Actellic-filter

Arie van der Lans

WUR - Praktijkonderzoek Plant & Omgeving Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit; Postbus 85, 2160 AB, Lisse; e-mail: arie.vanderlans@wur.nl

Actellic (werkzame stof pirimifos-methyl) is een insecticide dat wereldwijd wordt ingezet bij de bestrijding van insecten in granen en mijten in bolgewassen. Tijdens de warme bewaring van bollen wordt het middel enige malen verneveld toegepast in een gesloten cel om aantasting door mijten in de bewaring te voorkomen. De werking van Actellic berust namelijk op verdamping van pirimifos-methyl.

Ondanks de toepassing in een gesloten cel treffen de waterschappen pirimifos-methyl al een aantal jaren aan in het oppervlaktewater. De concentraties die men aantreft liggen ruim boven het Maximaal Toelaatbaar Risico (MTR) van 0,002µg/l.

De vraag is waar deze hoge concentraties pirimifos-methyl vandaan komen. Uit onderzoek van PPO bleek dat het probleem ontstaat bij koude bewaring van de bollen die volgt op de warme bewaring. Bij de koude bewaring komt condensvocht vrij. In dit condensvocht blijkt een zeer hoge concentratie pirimifos-methyl aanwezig te zijn. Dit is vastgesteld door het condensvocht van een bewaarcel gedurende de zes maanden koude bewaring regelmatig te bemonsteren en te analyseren. Zo bleek dat de pirimifos-methylconcentraties gedurende die zes maanden altijd ruim boven het MTR lagen waarbij bij één meting 280.000 keer het MTR werd overschreden. Bij veel bedrijven komt het condenswater direct in de sloot en dus in het oppervlaktewater terecht.

Om dit probleem op te lossen ontwikkelt en test PPO samen met Alterra en Amafiltergroep een filteropstelling die condenswater van bollenbedrijven reinigt van pirimifos-methyl.

Uit de eerste metingen blijkt dat het filter met vier actiefkool-filterkaarsen het gehalte aan pirimifos-methyl terug brengt van 280.000 keer het MTR naar 10 keer het MTR. Naar verwachting zal een extra filterkaars het gehalte verder terugbrengen naar minder dan de norm van 0,002µg/l. Deze filteropstelling is dus een zeer goede optie om pirimifos-methyl uit het con-

denswater te halen. Momenteel wordt samen met de waterschappen, bollenteeltbedrijven en de filterleverancier onderzocht hoe deze filteropstelling op een praktische manier kan worden geïnstalleerd. Daarbij krijgt de optie 'vrijwillig' verplichte invoering in het bedrijfsleven waarschijnlijk de voorkeur. Want één ding is zeker; alleen door te voorkomen dat Actellic in de sloot terecht komt, blijft Actellic voorlopig behouden voor de bollenteelt als het enige middel om mijten in de bewaring te bestrijden.

Dit onderzoek wordt gefinancierd door het Productschap Tuinbouw, het ministerie van LNV en de Waterschappen.

### CAPRI TWIN: een nieuwe referentie voor de onkruidbestrijding in granen

Hilde Eelen

Dow AgroSciences B.V., Prins Boudewijnlaan 41, B-2650 Edegem, België; e-mail: heelen@dow.com

CAPRI TWIN\*, het nieuwe herbicide van Dow AgroSciences werd recent toegelaten in Nederland voor de voorjaarsbestrijding van breedbladige en grasonkruiden in enkele wintergraangewassen. CAPRI TWIN is samengesteld uit twee actieve stoffen: florasulam en pyroxsulam. Beide actieve stoffen behoren tot de chemische familie van de triazolopyrimidine-sulfonamiden, en remmen in de plant het acetolactaat-synthase-enzym. CAPRI TWIN is geformuleerd als een wateroplosbaar granulaat (WG) en bevat 68,3 g/kg pyroxsulam plus 22,8 g/kg florasulam met daarbij nog 68,3 g/kg van de beschermstof cloquintocet-mexyl. CAPRI TWIN is een systemisch herbicide, dat zowel via het blad als de wortels opgenomen wordt, en daarna via het xyleem en het floeem naar de groeipunten van de plant gevoerd wordt. In de groeipunten interfereren de actieve stoffen de aminozuursynthese, waardoor de plant niet meer groeit en afsterft.

CAPRI TWIN kan veilig toegepast worden met een dosis van 275 g/ha in wintertarwe, triticale, spelt en rogge vanaf het driebladstadium tot tweede knoop. Verder wordt een toepassing ontwikkeld voor zomertarwe. CAPRI TWIN heeft een breed werkingsspectrum, en bestrijdt zowel onkruidgrassen als breedbladige onkruiden zoals ondermeer duist (*Alopecurus myosuroides*), windhalm (*Apera spica-venti*), wilde haver (*Avena* sp.), raaigras (*Lolium* sp.), dravik (*Bromus* sp.), straatgras (*Poa annua*), ereprijssoorten (*Veronica* sp.), akkerviooltje (*Viola arvensis*), kamille (*Matricaria recutita*), kleefkruid (*Galium aparine*), vogelmuur (*Stellaria media*) en kruisbloemigen.

CAPRI TWIN heeft een gunstig profiel richting volggewassen en groenbemesters: door de korte nawerking van de actieve stoffen kunnen deze gewassen gezaaid worden zonder beperkingen.

## SESSIE 2A

### **Soil suppressiveness of *Meloidogyne*, *Verticillium* and *Pythium* in diverse agricultural soils: possible mechanisms, and options for sustainable management**

André van der Wurff<sup>1</sup>, Marc van Slooten<sup>1</sup>, Roel Hamelink<sup>1</sup>, Sabine Böhne<sup>1</sup>, Wim van Wensveen<sup>1</sup>, Gera van Os<sup>2</sup>, Joeke Postma<sup>3</sup> en Jaap Bloem<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Wageningen UR Glastuinbouw;  
e-mail: Andre.vanderwurff@wur.nl

<sup>2</sup> PPO-BBF

<sup>3</sup> Plant Research International

<sup>4</sup> Alterra

Soils originating from fourteen greenhouse horticultural companies were assessed in bioassays for suppressiveness against major pathogens of vegetables and flowers, namely the root knot nematode *Meloidogyne incognita*, *Pythium aphanidermatum* and *Verticillium dahliae*. As controls, three well-documented soils in terms of disease suppressiveness (Os *et al.*, 2008) and coarse sand were included for each pathogen. In total 5640 bio-assays were examined.

Soils were homogenized by sieving and distributed over three treatments with each 40 replicates according to a random block design under standardized conditions. Each soil was sterilized by  $\gamma$ -radiation in order to assess the contribution of abiotic properties to disease suppressiveness. Non-sterilized soils served as a measure of abiotic- and biotic factors; and soil without the addition of pathogens served as a control to determine background contamination of indigenous pathogens.

Soils were acclimatized for one week. Afterwards, irrigation was started and pathogens were inoculated. Survival stages of *V. dahliae* or *P. aphanidermatum* were added as pure suspensions, *i.e.*, microsclerotia or oospores. For *Meloidogyne*, second stadium larvae (J2) were used. Seedlings were planted for *M. incognita*, while for *P. aphanidermatum* and *V. dahliae*, seeds were used according to Schreuders & Wurff (2009). Experimental time frame varied from six weeks for *P. aphanidermatum* till almost five months for *V. dahliae*.

A large variation in the level of suppressiveness was observed mainly attributed to biological

soil characteristics and bacteria. The impact of physical- and chemical- *versus* biological features of soils on each pathogen is discussed based on multivariate analyses of more than 50 soil parameters, ranging from nutrients, pore space, organic matter identity, soil classifications, to measures of biological activity, bacterial-, fungal- en nematode biomass, antagonists, actinomycetes as well as nematode- and bacterial communities. The results provide a framework in which suppressiveness can be classified according to soil type and biota depending on the pathogen. This framework will be used in ongoing research to test hypotheses for sustainable and integrated soil management in which mechanisms of suppressiveness are stimulated.

### References

- Schreuders H & Wurff AWG van der (2009) Optimaliseren van biotoetsen voor het meten van bodemweerbaarheid van *Verticillium dahliae* en *Pythium* spp. *Gewasbescherming* 40: 256.  
Os GJ van, Bent J van der & Conijn C (2009) Organische stof en ziektevering in de sierteelt. *Gewasbescherming* 40: 22.

### **A temporal escape of one of two pest species from control by *Amblyseius swirskii*, when a second prey is present**

Roos van Maanen<sup>1</sup>, Gerben J. Messelink<sup>2</sup> en Arne Janssen<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute for Biodiversity and Ecosystem Dynamics, Section Population Biology, Science Park 904, 1098 XH Amsterdam, The Netherlands

<sup>2</sup> Wageningen UR Greenhouse Horticulture, PO Box 20, 2265 ZG Bleiswijk, The Netherlands

The effectiveness of using one species of predator as control agent against several pests simultaneously is difficult to predict. This is because two pest species can affect each other's densities indirectly through the shared natural enemy and, depending on the time scale, the indirect interaction mediated by a predator may be detrimental or in favour of biological control. We present evidence for a temporal escape of one of two pest species from control when a second prey is present. *Amblyseius swirskii* is a generalist predator, widely used for control of whitefly and thrips in greenhouse crops. Initially, we found significantly higher numbers of thrips larvae in greenhouse compartments where both pests were present compared to compartments where only one pest was present. More thrips larvae escaped predation because the predators dispersed slower in compartments with two pests present. After six weeks this effect was overruled by the higher total number of predators in

greenhouses with two prey species. Moreover, the average yield of cucumbers did not differ between compartments with or without a second pest present.

Successful biological control was achieved, despite the temporal higher numbers of thrips.

Bleiswijk; e-mail: daniel.ludeking@wur.nl

<sup>3</sup> Plant Research International B.V., Postbus 16, 6700 AA Wageningen; e-mail: corrie.schomaker@wur.nl

### **Biologische plaagbestrijding in de glastuinbouw: recente vorderingen en uitdagingen voor de toekomst**

Gerben Messelink, Juliette Pijnakker, Anton van der Linden en Pierre Ramakers

Wageningen UR Glastuinbouw, Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk; e-mail: gerben.messelink@wur.nl

Biologische bestrijding van plagen is niet meer weg te denken uit de Nederlandse glastuinbouw. In de groenteteelt is al vanaf de jaren 70 van de vorige eeuw massaal overgestapt naar het inzetten van natuurlijke vijanden. Ook in de sierteelt wordt de biologische bestrijding gestaag belangrijker en zelfs essentieel voor een goede beheersing van sommige plagen. De huidige ‘winkel’ van natuurlijke vijanden werkt echter niet afdoende in alle gewassen of tegen alle plagen, terwijl de noodzaak voor effectieve bestrijders juist nu zeer groot is. De sector staat voor grote uitdagingen door het smaller geworden pakket van chemische middelen, resistentieproblemen met pesticiden, toenemende druk om emissies en residuen van pesticiden tot nul te reduceren en door het verschijnen van nieuwe plagen. In deze presentatie geven we een overzicht van de recente ontwikkelingen in de biologische bestrijding van plagen in de glastuinbouw en schetsen we de uitdagingen voor de toekomst. Wat zijn goede criteria voor het selecteren van nieuwe natuurlijke vijanden en welke visie ligt daar aan ten grondslag? Welke bestrijders zijn recent op de markt gekomen of kunnen we binnenkort verwachten? In welke gewassen en tegen welke plagen is dringend een oplossing gewenst? En tot slot, met welke methoden kunnen we de biologische bestrijding verbeteren?

### **De bodem onder biologische grondontsmetting**

Willemien Runia<sup>1</sup>, Leendert Molendijk<sup>1</sup>, Pim Paternotte<sup>2</sup>, Daniël Ludeking<sup>2</sup> en Corrie Schomaker<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Postbus 430, 8200 AK Lelystad; e-mail: willemien.runia@wur.nl

<sup>2</sup> Wageningen UR Glastuinbouw, Postbus 20, 2665 ZG

Biologische grondontsmetting (BGO) werkt tegen schadelijke bodemorganismen maar de vraag is hoe? Het antwoord daarop is nodig om deze manier van grondontsmetting breder toe-pasbaar te maken. Het gebruik van gedefinieerde producten in plaats van gras biedt daarvoor perspectief.

Biologische grondontsmetting is een niet-chemische manier om grond te ontsmetten die berust op vertering van grote hoeveelheden organisch materiaal onder zuurstofloze omstandigheden, ook wel fermentatie genoemd. Op dit moment gebeurt dat met gras dat in de zomer in de grond wordt gewerkt waarna de grond gedurende zes weken wordt afgedicht met gasdichte folie om het verteringsproces te versnellen en omzettingen producten in de grond te houden. Aspergetelers en aardbeivermeerders passen BGO toe om schadelijke bodemschimmels en aaltjes te doden. In deze teelten zijn de resultaten meestal goed en aspergetelers constateren nog jarenlang na toepassing van BGO een productieverhoging.

Er is echter nog maar weinig kennis over de processen die zich in de grond afspelen tijdens de ontsmetting en waarom BGO meestal goed werkt maar niet altijd. We weten dat zuurstofloosheid een rol speelt en ook de omzettingen producten, maar de details zijn niet bekend. BGO heeft de potentie om uit te groeien tot een volwaardig alternatief voor chemische grondontsmetting in de landbouw en stomen in de tuinbouw mits het werkingsmechanisme wordt ontrafeld.

In opdracht van het ministerie van LNV wordt onderzoek uitgevoerd naar het werkingsmechanisme van BGO in het project “Doorontwikkelen biologische grondontsmetting”. In dit project wordt onderzocht welke afbraakproducten worden gevormd tijdens de fermentatie en in hoeverre ze invloed hebben op de effectiviteit. Uit de literatuur weten we dat er gassen en vetzuren worden gevormd in de grond tijdens de omzetting van fermentatieproducten en dat sommige daarvan schadelijke bodemorganismen kunnen doden. Dit wordt nu uitgezocht voor de Nederlandse omstandigheden met verschillende fermentatieproducten. Naast gras worden ook diverse producten onderzocht die verschillen in koolstof/stikstof-ratio. Deze producten worden zeer snel in de grond omgezet waardoor de behandelingstijd van BGO mogelijk kan worden ingekort. Door het meten van de gevormde gas-

sen en vetzuren in verschillende grondsoorten en bij verschillende bodemtemperaturen tijdens BGO zien we fluctuaties in concentraties. Door deze gegevens te koppelen aan de effectiviteit groeit het inzicht over de vereiste randvoorwaarden voor effectieve BGO.

### Biologische grondontsmetting '2.0'

Daniel Ludeking<sup>1</sup>, Pim Paternotte<sup>1</sup>, Willemien Runia<sup>2</sup> en Leendert Molendijk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Wageningen UR Glastuinbouw, Postbus 20, 2665 ZG BLEISWIJK, daniel.ludeking@wur.nl

<sup>2</sup> Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Postbus 430, 8200 AK LELYSTAD, willemien.runia@wur.nl

Om hardnekkige grondgebonden plagen zoals aaltjes en ziekten zoals *Verticillium dahliae* te onderdrukken is in het verleden veel onderzoek gedaan naar biologische grondontsmetting met gras en andere verse materialen. Na afdekken en het creëren van anaërobe omstandigheden worden natuurlijke omzettingsprocessen gestimuleerd, die een ontsmettend effect hebben op de grond. De resultaten zijn veelbelovend en geven meestal goede resultaten te zien. In de praktijk blijkt dat het toepassen van gras of andere verse materialen als fermentatieproduct onvoldoende bedrijfszeker is. De samenstelling van het verse plantaardige materiaal bepaalt in belangrijke mate de effectiviteit. Ook wordt het toepassen van grote hoeveelheden organisch materiaal als lastig en arbeidsintensief ervaren. Deze punten belemmeren een brede toepassing in teelten onder glas. Daarom is er gekeken naar alternatieve grondstoffen voor biologische grondontsmetting en is er onderzoek uitgevoerd met organische fermentatieproducten.

#### Biologische grondontsmetting '2.0': rijp voor de praktijk?

Door een gemakkelijker toediening en versnelde werking schept deze methode mogelijkheden om biologische grondontsmetting in de glastuinbouw toe te gaan passen als alternatief voor stomen. De resultaten van deze grondontsmetting met fermentatieproducten zijn tot nu toe veelbelovend. Enkele van deze producten laten 100% doding zien van aaltjes en microsclerotieën van *Verticillium dahliae* bij bepaalde doseringen en behandelingstijden.

Echter de wachttijd van twee weken is voor de meeste teelten onder glas nog steeds te lang. De kosten van twee weken niet produceren zijn moeilijk in te passen in het teeltsysteem. Daartegenover staat dat er ook veel valt te besparen: bij

een stoomronde wordt 35000 m<sup>3</sup> gas per hectare verbruikt. Er zijn aanwijzingen dat door biologische grondontsmetting met gras schadelijke bodemorganismen langer op een laag niveau blijven dan na een chemische ontsmetting. Als met de nieuwe fermentatieproducten ook een meerjarig effect kan worden bereikt dan is een langere niet-productieve periode te rechtvaardigen.

Vervolgonderzoek moet gaan uitwijzen welke bodemprocessen ten grondslag liggen aan dit fenomeen, wat de duurwerking is van biologische grondontsmetting met gestandaardiseerde fermentatieproducten en of deze methode toepasbaar is voor grondgebonden glasteelten.

### SESSIE 2B

#### Alternaria and Alternaria-like lesions on potato crops in the Netherlands in 2009

Lo Turkensteen, Jan Spoelder and Nol Mulder

HLB, Kampsweg 27, 9418 PD, Wyster, The Netherlands

In the period June till September 18, 2009, a survey was made by HLB (Hilbrands Laboratory on Soil-borne Diseases) on *Alternaria* leaf spots on potato leaflets in The Netherlands. This survey was in the frame of the so called 4D-project (Digitale Detectie en Diagnosis Dienst). *Alternaria* leaf spots are marked by concentric rings and a light brown to dark colour. Leaflets with such lesions were sampled and sent in to HLB. These lesions were examined microscopically and through culturing on the presence of the three fungi *Alternaria solani*, *A. alternata* and *Cladosporium cladosporioides*, which organisms are considered as pathogenic, weakly pathogenic and non-pathogenic to potato foliage, respectively. In addition, other sporulating fungi were scored as well.

In total, 112 samples were obtained yielding 768 lesions laid out on water agar. It was found that 97 lesions were void of any of the three target organisms, 549 were free of *A. solani* and 248 lesions were free of both *A. solani* and *A. alternata*. So, many lesions not distinguishable from *Alternaria* did not carry any *Alternaria* species along. Further it was found that *A. solani* showed up late during the growing season. The first sample carrying *A. solani* came in on July 21 and more than 50% of all samples with *A. solani* were collected in the period September 4 till 18. From these results it is to be concluded that throughout the growing season of 2009, *A. solani* was not the main cause of *Alternaria*-like lesions.

From the ratios of lesions with and without *A. solani* colonized by *A. alternata*, it is to be concluded that *A. alternata* acts like an invader of necrotic lesions instead of creating lesions by itself. Among the other organisms identified, there were no ones to be causal organisms for the lesions concerned. In case lesions were not associated with *A. solani*, these lesions are attributed to the effect of ozone stress.

### Het genus *Torradovirus*, een nieuw geslacht van plantenvirussen

Martin Verbeek<sup>1</sup>, Annette Dullemans<sup>1</sup>, Paul Maris<sup>2</sup> en René van der Vlugt<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Plant Research International, onderdeel van Wageningen UR, Wageningen; e-mail: martin.verbeek@wur.nl

<sup>2</sup> Monsanto Vegetable Seeds Division, Bergschenhoek

Enkele jaren geleden dook er een nieuwe ziekte op in de tomatenteelt in het Zuidwesten van Spanje. De symptomen waren desastreus: zware necrose op de bladeren en vruchten. De lokale tomatentelers noemden de ziekte "Torrado", wat geroosterd betekent, vanwege het 'verbrande' uiterlijk van de tomatenplanten.

De veroorzaker van deze ziekte bleek een plantenvirus te zijn. Nadat wij een aantal eigenschappen van het virus (zoals vorm, samenstelling eiwitmantel en gehele nucleotidenvolgorde van het erfelijk materiaal) hadden bepaald, bleek het een geheel nieuw virus te zijn. Zo nieuw zelfs, dat het niet in één van de bekende virusgeslachten geplaatst kon worden. Het virus kreeg de naam tomatentorradovirus (ToTV) en het werd de type-soort voor het nieuwe geslacht *Torradovirus*.

Een tweede virus dat in hetzelfde nieuwe geslacht geplaatst kon worden vonden wij ook in tomaat, dit keer in Mexico. Het veroorzaakt in de tomatenteelt daar een ziektebeeld dat erg doet denken aan dat van tomatentorradovirus en kreeg de naam Marchitez (= verdord). De veroorzaker van deze ziekte bleek nauw verwant te zijn aan ToTV, maar was genetisch toch zo verschillend dat het een nieuw virus bleek. Het virus kreeg de naam tomatenmarchitezvirus (ToMarV).

Recent werd een derde virus uit hetzelfde plantenvirusgeslacht door ons beschreven. Dit virus werd gevonden in de tomatenteelt in Guatemala, waar het ook necrose veroorzaakt in de bladeren en vruchten van tomatenplanten. Het virus is duidelijk verwant aan ToTV en ToMarV, maar ook hier gaf de genetische analyse duidelijk aan dat dit virus niet tot de soorten ToTV of ToMarV

kon behoren. Het nieuwe virus werd net als zijn voorgangers vernoemd naar de lokale naam voor de ziekte (chocolàte disease) die het veroorzaakt: tomatenchocolàtevirus (ToChV).

Torradovirussen zijn kleine (28 nm) bolvormige virussen die worden overgedragen door wittevliegen. Van ToTV is bekend dat dit virus door zowel de kaswittevlieg (*Trialeurodes vaporariorum*) als de tabakswittevlieg (*Bemisia tabaci*) wordt overgebracht. Ondertussen worden in een groot aantal landen vondsten van ToTV gemeld (Spanje, Polen, Hongarije, Canarische eilanden, Australië, Panama etc.). ToMarV en ToChV werden tot nu toe alleen nog in Centraal Amerika gevonden. De grote vraag is nu: "Hoe lang duurt het nog voordat de Nederlandse tomatenteelt met deze virussen te maken krijgt"?

### X-ray allows the automated detection of beetle damage in wood

Roel Jansen<sup>1</sup>, Henk Jalink<sup>1</sup> en Willem Jan de Kogel<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Wageningen UR Greenhouse Horticulture, Wageningen, The Netherlands

<sup>2</sup> Plant Research International, Wageningen, The Netherlands

In December 2009, exit holes and the larvae of Asian long horned beetles (*Anoplophora chinensis*) were discovered in Boskoop, The Netherlands. This beetle appears on the EU list of quarantine organisms. As a result, the Plant Protection Service of the Netherlands (PD) immediately took measures: all deciduous trees within a range of 100 m were removed and destroyed. Furthermore, European legislation requires that a buffer zone with a range of 2 kilometres had to be applied. The Asian longhorned beetle is native to China and other nearby Pacific Rim countries. They were probably introduced in The Netherlands through import of wood material from one of these countries. After import, such suspicious wood material should be monitored for the presence of beetle damage to reduce the incidence of beetle infestation. X-ray provides an important contribution to current research related to early and non-invasive detection of wood damage. Work on this line was carried out by Fisher and Tasker (1945) who used X-ray photographs to manually detect insect infested timber. The objective of this research was to evaluate the use of X-ray for the automated detection of beetle damage in wood. An X-ray setup, designed for inspection of flowers was used to produce high resolution X-ray images of long horned beetle damaged wood pieces. In addition, X-ray im-



ages were produced of artificially damaged wood pieces to quantify results. Preliminary results demonstrate that long horned beetle damage in wood is detectable by X-ray. Holes having a diameter of at least 2 mm were not only detected but also automatically quantified using image analysis. These results suggest that X-ray allows the automated detection of beetle damage in wood. Future work should include the improvement of yet-existing X-ray equipment, and the development of handheld X-ray instruments for onsite inspection. Furthermore, the effect of other types of wood damage on X-ray results should be studied. This work has been initiated by the PD and is part of a research project which focuses on non-invasive inspection methods for agricultural products.

### Reference

Fischer RC & Tasker HS (1945) The detection of wood-boring insects by means of X-rays. *Annals of Applied Biology* 27, 92-100

### Multiplex-detectie van plantenpathogenen

Jan Bergervoet<sup>1</sup>, Jeroen Peters<sup>2</sup>, René van der Vlugt<sup>1</sup>, Jan van der Wolf<sup>1</sup>, Marjanne de Weerd<sup>1</sup> en José van Beckhoven<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Plant Research International, Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB, Wageningen; e-mail: Jan.Bergervoet@wur.nl

<sup>2</sup> RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid, Akkermaalsbos 2, 6708 WB Wageningen

Plant-pathogene virussen worden in de praktijk vaak gedetecteerd en gekarakteriseerd met behulp van ELISA. Voor de detectie van plant-pathogene bacteriën wordt deze methode, aangevuld met immunofluorescentiemicroscopie en/of selectieve media ook gebruikt. Al deze methoden detecteren echter meestal maar één plantenpathogeen per bepaling.

Een manier om de kosteneffectiviteit van de detectie van plantenpathogenen te verbeteren is door het tegelijkertijd detecteren van meerdere pathogenen in één monster (zgn. multiplexen). Dit heeft niet alleen als voordeel dat het aantal handelingen per monster lager wordt maar het leidt ook tot een afname van het gebruik van consumables en reagentia. Het gebruik van de Luminex xMAP-technologie biedt een uitgelezen platform om bestaande reagentia in te zetten in een multiplex-setting.

Op de verschillende Luminex xMAP-beads kunnen per beadadres verschillende specifieke antistoffen gekoppeld worden maar bijvoorbeeld ook DNA-probes. Er zijn momenteel 500 verschillend gekleurde beads beschikbaar waarmee

in principe 500 verschillende pathogenen gelijktijdig in één monster zouden kunnen worden gedetecteerd.

De Luminex xMAP-technologie is vergelijkbaar met een DAS-ELISA, waarbij de virussen of bacteriën niet in de ELISA-plaat maar op de xMAP-beads gevangen worden. De uitvoering van Luminex xMAP-test en een standaard 96-wells ELISA zijn vergelijkbaar en hierdoor past deze detectie methode naadloos in de huidige laboratoriumpraktijk en automatisering. De Luminex xMAP-technologie is ook een kwantitatieve toetsmethode omdat de gemeten hoeveelheid positieve beads een maat is voor de hoeveelheid pathogeen. De gevoeligheid van de meetmethode blijkt gelijk of zelfs beter dan die van een DAS-ELISA en daarnaast kan de Luminex-test binnen twee uur worden uitgevoerd.

### Referenties

Bergervoet JHW, Peters J, Beckhoven JRCM van, Bovenkamp GW van den, Jacobson JW & Wolf JM van der (2008) Multiplex microsphere immuno-detection of potato virus Y, X and PLRV. *Journal of Virological Methods* 149(1): 63-68

Bergervoet, JHW, Wolf JM van der & Peters J (2007) Detection and Viability Assessment of Plant Pathogenic Microorganisms using Flow Cytometry. In "Flow Cytometry with Plant Cells" (Dolezel J, Greilhuber J & Suda J, Eds), Vol XXIV, pp 455 Wiley-VCH, Weinheim

Peters J, Sledz W, Bergervoe, J H W & Wolf JM van der (2007) An enrichment microsphere immunoassay for the detection of *Pectobacterium atrosepticum* and *Dickeya diantholica* in potato tuber extracts. *European Journal of Plant Pathology* 117(2): 97-107

### Multiplex-detectie van *Phytophthora*: "padlock-based Universal Multiplex detection Array" (pUMA)

Katarzyna Gaszczyk, Odette Mendes, Els Verstappen, Peter Bonants en Cor Schoen

Plant Research International, Wageningen UR, Wageningen, The Netherlands

Detectie van *Phytophthora* speelt een belangrijke rol bij het internationale handelsverkeer, maar ook in het openbaar groen. Er worden steeds meer *Phytophthora*-soorten beschreven, hiervoor zijn vaak nog geen goede detectiemethoden ontwikkeld. Indien deze beschikbaar zijn, betreft het testen voor individuele *Phytophthora*-soorten. In dit onderzoek is een diagnostische methode ontwikkeld die toe te passen is *in planta*, en ook de meest recent beschreven (quarantaine-) soorten omvat. De methode omvat de ontwikkeling van een generieke *Phytophthora*-methode gevolgd door een *Phytophthora*-identificatie, d.w.z. één test voor meerdere *Phytophthora*-soorten. Er is rekening gehouden met het geslacht *Pythium*, dat nauw

verwant is aan *Phytophthora*, en voor in planta toepassingen met valse meeldauwgeslachten.

Op basis van DNA-sequentiegegevens (zelf gegenereerd of beschikbaar in internationale databases) is een generieke TaqMan PCR-test voor *Phytophthora* ontwikkeld en gevalideerd. Op basis van sequentieverschillen zijn vervolgens padlock probes voor twintig relevante *Phytophthora*-soorten voor NL ontwikkeld. De lijst is samengesteld in nauw overleg met CBS en PD. Een micro-array-platform is opgezet om de individuele *Phytophthora*-specifieke padlock probes te identificeren waarbij het kostenaspect van de te gebruiken procedure is meegenomen. Voorbeelden vanuit diverse hoeken zullen worden besproken.

### SESSIE 3A

#### Duurzaam telen begint bij jou



Peter Leendertse<sup>1</sup>, Yvonne Gooijer<sup>1</sup>, Puck Gerritsen<sup>2</sup>, Jacob Dogterom<sup>3</sup>, Heidi Schalk<sup>4</sup>, Mark de Jong<sup>5</sup> en Michiel Janzen<sup>6</sup>

<sup>1</sup> CLM Onderzoek & Advies, Postbus 62, 4100 AB Culemborg; e-mail: pele@clm.nl

<sup>2</sup> Projecten LTO Noord, Postbus 240 8000 AE Zwolle.

<sup>3</sup> DLV Plant, Postbus 7001, 6700 CA Wageningen.

<sup>4</sup> Arvalis, Postbus 1257, 6040 KG Roermond.

<sup>5</sup> ZLTO, Postbus 91, 5000 EA Tilburg.

<sup>6</sup> GBE communicatie, Postbus 97752, 2509 GD Den Haag.

Afgelopen jaren zijn in alle sectoren, van glas-tuinbouw tot akkerbouw, een aantal succesvolle methoden ontwikkeld die telers nu ter beschikking staan om de teelt te verduurzamen en te verbeteren. Het is echter nodig deze ontwikkelde innovaties ook breed in de praktijk te brengen. Dat blijkt vaak moeilijk vanwege onzichtbare drempels.

De campagne 'Duurzaam telen begint bij jou' brengt in 2010 in opdracht van LNV haalbare en effectieve methoden (*Good Practices*) zoals nieuwe spuittechnieken, waarschuwingssystemen, natuurlijke vijanden, emissiebeperking en mechanische onkruidbestrijding, extra onder de aandacht bij de Nederlandse telers. Voor open teelten zijn bijvoorbeeld beslissingsondersteunende systemen voor een kosteneffectieve bestrijding van *Phytophthora* in aardappels, bladschimmels in uien, fruitmot in appels, en *Botrytis* in aardbei en asperges beschikbaar. Voor glasteelt vormen voldoende drainwateropvang,

preventieve maatregelen en bedrijfshygiene belangrijke *Good Practices*.

Centraal in deze campagne staan spotlighttelers en hun partners die laten zien hoe zij duurzame methoden in de dagelijkse praktijk toepassen. Ook handelaren, bestuurders en collega-telers brengen hun kijk op duurzaam telen onder de aandacht tijdens deze campagne. Boegbeeld van de campagne is 11-studentocht winnaar Henk Angenent. Hij is nauw betrokken bij de agrarische sector en weet dat ook telen topsport is waarbij goed materiaal van cruciaal belang is.

#### Referenties

www.duurzaamtelenbegintbijjou.nl  
www.telenmettoekomst.nl

#### Fytosanitaire risicobeheersing in plantaardige sectoren: verdediging is de beste aanval

Annemarie Breukers, Youri Dijkhoorn en Johan Bremmer

LEI Wageningen UR, Hollandseweg 1, 6701 KN Wageningen; e-mail: Annemarie.breukers@wur.nl

De dreiging van fytosanitaire risico's neemt toe. Denk bijvoorbeeld aan de groeiende aaltjesproblematiek in vollegrondsteelten en de recente *Clavibacter*-uitbraken in tomaat. Dergelijke incidenten hebben grote economische gevolgen voor getroffen ondernemers en schaden het imago van sectoren. Bovendien leiden ze tot groeiende regeldruk. Het ministerie van LNV wil daarom toe naar een effectiever fytosanitair beleid met meer aandacht voor risicobeheersing in de sector zelf. Dat werkt alleen als alle ondernemers meedoen. Maar in hoeverre *willen* en *kunnen* ondernemers hun verantwoordelijkheid nemen?

Om hier een beter beeld van te krijgen heeft het LEI een analytisch kader ontwikkeld, gebaseerd op de Theorie van Gepland Gedrag van Ajzen (Ajzen 1991, Breukers et al. 2009). Verondersteld wordt dat de *risicoperceptie* van de ondernemer het nemen van bedrijfsmaatregelen beïnvloedt. Immers, een ondernemer die zich niet bewust is van enig risico zal niet snel geneigd zijn hier maatregelen tegen te treffen. Risicoperceptie bepaalt dus mede de houding (*attitude*) van de ondernemer ten aanzien van het nemen van bedrijfsmaatregelen. Ook het sociale netwerk, de druk die de ondernemer ervaart om al dan niet maatregelen te nemen (*subjectieve norm*) is van invloed op zijn gedrag. En tot slot moet de ondernemer zelf ervan overtuigd zijn dat hij in staat

is om maatregelen te treffen (*verwachte zelfcontrole*), wil hij daadwerkelijk actie ondernemen. Deze vier elementen worden beïnvloed door een scala aan persoons-, bedrijfs- en risicogebonden factoren, die verklaren waarom de ene ondernemer de andere niet is.

Het analytisch kader is in eerste instantie kwalitatief toegepast voor verkenning van drie sectoren. Per sector is een discussiebijeenkomst met vertegenwoordigers georganiseerd, waarbij gebruik gemaakt werd van een *Group Decision Room*. Vervolgens zijn in een grootschalige kwantitatieve praktijktoetsing ruim 300 ondernemers in de tomaten-, tulpenbollen- en aardbeisector mondeling geïnterviewd. Op basis hiervan zijn veronderstelde relaties getoetst en zijn verschillen binnen en tussen sectoren geanalyseerd. De resultaten weerspiegelen de verschillende karakters van de sectoren, maar geven ook inzicht in aspecten als kennisniveau, verantwoordelijkheidsgevoel en belemmeringen in het nemen van maatregelen. Enkele *highlights* zullen tijdens de voorjaarsbijeenkomst gepresenteerd worden.

Het onderzoek biedt handvatten om overheid en sector dichterbij elkaar te brengen voor wat betreft beheersing van fytosanitaire risico's. De praktijktoetsing heeft het belang van fytosanitaire risicobeheersing bij ondernemers onder de aandacht gebracht. Resultaten ervan laten zien waar knelpunten liggen in de beheersing van fytosanitaire risico's, waardoor gericht gezocht kan worden naar oplossingen. Ook kunnen communicatie en kennisoverdracht beter worden afgestemd op de behoeftes van de doelgroep.

### Referenties

- Ajzen, I (1991) The theory of planned behaviour. *Organisational behaviour and human decision processes* 50: 179-211
- Breukers MLH, Bremmer J, Dijkshoorn Y & Janssens SRM (2009) Phytosanitary risk perception and management; development of a conceptual framework. Rapport 2009-078, LEI, Den Haag: 109 pp

### Aaltjesschema.nl, de aaltjesvraagbaak

Thea van Beers en Leendert Molendijk

Wageningen UR, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving

De website [www.aaltjesschema.nl](http://www.aaltjesschema.nl) is naar de praktijk gebracht als aaltjesvraagbaak voor akkerbouwers, vollegrondsgroente telers, vaste plantentelers en bloembollenkwekers. Op de website kunnen ze tips en informatie vinden hoe ze planmatig kunnen omgaan met aaltjesbesmettingen op hun bedrijf.

Het hart van de website is een database waarin per gewas bijgehouden wordt hoe het zit met

de waardplantgeschiktheid en de schadegevoeligheid voor elk aaltje. Dit wordt schematisch aangegeven met stippen en kleuren. Elk vakje in het schema is een hyperlink naar informatie, fotomateriaal en onderzoeksrapporten. Nieuw op de website is het snelzoekmenu waar heel gericht gezocht kan worden op één specifieke gewas aaltjes combinatie. Ook nieuw is het menu maatregelen waar een opsomming gegeven wordt van alle bekende maatregelen om aaltjes te beheersen of bestrijden. In de KNPV-bijdrage zal de website worden gedemonstreerd en toekomstige ontwikkelingen bediscussieerd.

### Global Needs, een nieuw initiatief voor het ontwikkelen van een database met informatie over Kleine Toepassingen

#### Global Needs, a new initiative for the development of a database to assist in finding solutions for Minor Uses

- Deze presentatie zal in het Nederlands worden gehouden -

Roland Verweij<sup>1</sup> and Fritz Schuster<sup>2</sup>

<sup>1</sup> MSI Agro, P.O. Box 2110, 3800 CC Amersfoort, The Netherlands; e-mail: [r.verweij@management-services.biz](mailto:r.verweij@management-services.biz)

<sup>2</sup> Agrobases-Logigram, Bat. Athena I, Business Park 74160, Archamps, France; e-mail: [fritz.schuster@agrobases-logigram.com](mailto:fritz.schuster@agrobases-logigram.com)

The availability of pest management solutions for Minor Uses are of an increasing global concern. Many activities to cope with the Minor Use issue are undertaken. Nothing is done so far, to get an overview of the global needs in case of Minor Uses, as well as the many and diverse activities undertaken to solve Minor Use issues. This presentation will focus on the initiative of developing a Global Needs database in which information on Minor Use issues will be gathered and made available to stakeholders active in the field of Minor Uses.

Objective of the presentation will be informing stakeholders about the initiative for a Global Needs database, as well as gathering support for the further development of it.

A short description will be given about the background of the initiatives and the work done so far. The objectives of Global Needs will be outlined and the benefits for stakeholders will be listed. The proposed content of Global Needs will be sketched and some preliminary screens will be shown. Also the relation to Homologa™, the first international database about registered plant protection products and its maximum residue limits in foodstuff, will be explained.

Ideas will be shared with the audience about how to fill the Global Needs database with the relevant information, how to keep this information up to date and the way the data in Global Needs would be made available to potential users.

Finally it will be discussed how to finance this initiative and what contribution the audience could make to this.

**'Pulstec-allround', a new tool for applying agrochemicals and fertilizers enabling controlled spraying at various droplet sizes**

Gert R.J. Smit

Agri Technics Projects, Kervelveld 10, 7006 TA Doetinchem, the Netherlands; e-mail: [info@agritechnics.nl](mailto:info@agritechnics.nl)

**Introduction**

Applying sufficient droplets to plant leaves in dense canopies is a well known problem in fieldspraying. Attempts to increase an overall coverage of droplets have been made for many years. Nevertheless practice shows increasing infections with plant pathogens like *Phytophthora infestans*, resulting in an increased use of chemicals. This is conflicting with the interest of farmers and conflicting with a common desire to grow agricultural products with reduced quantities of agrochemicals. So, what to do?



*Fine droplet spraying.*

An obvious reaction is to research the possibilities of enhancing the efficacy of the agrochemicals involved. Assuming that the basic molecules of allowed chemicals are capable to do the job, common application technology should be questioned once more. Could an insufficient coverage with droplets on various spots on plant leaves and stems be the cause of the mentioned increase of infections, and if so what tools do we have to increase the efficacy of the necessary disease control. An interesting possibility could be the re-introduction of spraying with fine droplets

in a way that offers the well known benefits of spraying with fine droplets, .....but without the disadvantages. This can be done by a new technology called: **Pulstec Controlled application technology.**



*Injecting.*

**The abstracts goal**

The abstracts goal is to awaken the creativity of the people present, and make them start thinking of possible new applications in the various crops they are dealing with. In Holland, Agri Technics Projects is involved in various research programs that will be executed by departments of WUR. Prototypes have been assembled injecting fertilizer, and plans to use Pulstec technology in horticultural and open field spraying are being studied. Supported by interesting video registrations of prototypes in action, I will challenge the audience to take the pictures back home and create research programs. In order to make it easy for researchers and those who are responsible for field trials, Agri Technics has designed an affordable handheld instrument called: **Pulstec all-round spraylance.**

The spraylance offers hi-impact pulstec spraying with droplet sizes up from 25 microns to solid-stream injections down to 20 cm into the soil. At the end of the presentation the new spraylance will be demonstrated life, offering every attendant to try for himself.



*Spraylance.*

## SESSIE 3B

### **Homologues of *Cladosporium fulvum* effector proteins are present in species of Dothideomycetes, are recognized by cognate Cf tomato resistance proteins, and can be exploited in molecular resistance breeding**

Ioannis Stergiopoulos<sup>1,2</sup>, Harrold A. van den Burg<sup>1,2</sup>, Bilal Ökmen<sup>1</sup>, Henriek G. Beenen<sup>1</sup>, Gert H. J. Kema<sup>3</sup> and Pierre J. G. M. De Wit<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Phytopathology, Wageningen University & Research Centre, Droevendaalsesteeg 1, 6708PB, Wageningen, The Netherlands; e-mail: ioannis.stergiopoulos@wur.nl

<sup>2</sup> Centre for BioSystems Genomics, P.O. Box 98, 6700 AB Wageningen, The Netherlands

<sup>3</sup> Plant Research International BV, PO Box 16, 6700 AA, Wageningen, The Netherlands

*Cladosporium fulvum* is a non-obligate biotrophic fungus that belongs to the Dothideomycete class of fungi and causes leaf mould of tomato. During infection and colonization of its host, *C. fulvum* secretes effectors that function as virulence factors in the absence of cognate Cf resistance proteins and induce effector-triggered immunity in their presence. Till now, fungal effector proteins were assumed to be species specific and homologues of the *C. fulvum* effectors had never been found in other fungal species. Here we provide evidence for the first time for the existence of homologous *C. fulvum* effectors in species of Dothideomycetes that are pathogenic on distantly related monocot and dicot plant species. In particular, we have identified functional homologues of the *C. fulvum* Avr4 and/or Ecp2 effectors in *Mycosphaerella fijiensis*, causal agent of the devastating black Sigatoka disease of banana, *Cercospora beticola*, causing Cercospora leaf spot of sugar beet and other phylogenetically related fungal pathogens. We further demonstrate that *M. fijiensis* Avr4 is a functional orthologue of *C. fulvum* Avr4 that protects chitinous fungi against plant chitinases and, very importantly, triggers a Cf-4- and Hcr9-Avr4-mediated hypersensitive response (HR) in tomato. Three homologues of Ecp2 were identified in *M. fijiensis*, one of which induces an HR in a Cf-Ecp2 tomato line. Collectively, our data suggest that Avr4 and Ecp2 represent core effectors with conserved domains that are recognized by single cognate Cf proteins. The presence of homologous effectors in fungal pathogens that are collectively recognized by

single Cf-like resistance proteins provides novel strategies for disease resistance breeding, by transferring such resistance proteins into distantly related plant species. This concept of exploiting Cf-like genes from *Solanaceous* species, for achieving broad spectrum resistance in monocot and dicot plant species attacked by Dothideomycete fungal pathogens that produce functional homologues of *C. fulvum* effectors is currently tested in our laboratory. As a first target we will generate banana transgenic for Cf-4 and Hcr9-Avr4s that will be tested for resistance to the black Sigatoka fungus.

### **Functional Analysis of *Cladosporium fulvum* Effector Catalog**

Bilal Ökmen<sup>1</sup>, Mattias De Hollander<sup>1,2</sup>, Ioannis Stergiopoulos<sup>1</sup>, Harrold A. van den Burg<sup>1</sup> and Pierre J.G.M. De Wit<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Phytopathology, Wageningen University & Research Centre, Droevendaalsesteeg 1, 6708PB, Wageningen, The Netherlands

<sup>2</sup> Applied Bioinformatics, Plant Research International, PO Box 16, 6700AA Wageningen, The Netherlands

In their natural environment, plants are continuously exposed to a wide range of abiotic and biotic stresses. Virus, bacteria, fungi, oomycetes, nematodes and insects are the most important biotic agents that can cause serious yield losses in plants.

*Cladosporium fulvum* (syn. *Passalora fulva*) is a non-obligate fungal pathogen that mainly infects tomato (*Solanum lycopersicum*) and other wild *Solanaceous* species, causing the disease known as leaf mould. During infection, *C. fulvum* secretes various small (<21 kDa), cysteine rich proteins into the tomato leaf apoplast that were known as effectors. The *C. fulvum*-tomato pathosystem is a good model in order to study plant-microbe interaction. Recently, the genome sequencing of *C. fulvum* has been done by using the 454 technology. The main objectives on this study are the identification and characterization of novel effectors, which likely contribute the fungal virulence by manipulating the host metabolism to support fungal growth and reproduction, and as well as confirmation of the gene models for *C. fulvum* genome via bioinformatics, transcriptomics and proteomics approaches. By using gene models prediction software programs, 1,275 putative secreted proteins have been identified out of the approximately 1,4000 gene models for *C. fulvum*. So far,

VERGADERING

ten effector proteins have been identified in *C. fulvum* and all of them have some common characteristics such as their relatively small size and even number of cysteine residues. Considering these characteristics, bioinformatic analyses identified a subset of 255 putative effectors (smaller than 300 aa and contains 4 or more cysteine residues) out of the *C. fulvum* secretomes, while additional proteomics analyses of apoplastic fluids from tomato leaves infected by *C. fulvum* revealed 30 proteins that are specifically produced in the compatible interaction. At this moment we are performing functional profiling of these novel effector proteins by examining their ability to inhibit PAMP-triggered immunity and/or effector-triggered immunity in custom made assays.

### An eco-metabolomic approach to study host plant resistance

Kirsten Leiss<sup>1</sup>, Federica Maltese<sup>2</sup>, Young Choi<sup>2</sup>, Robert Verpoorte<sup>2</sup> and Peter Klinkhamer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Plant Ecology and Phytochemistry, Institute of Biology, Leiden University, Sylviusweg 72, 2333 BE Leiden, The Netherlands; e-mail: K.A.Leiss@biology.leidenuniv.nl

<sup>2</sup> Division Pharmacognosy, Section Metabolomics, Institute of Biology, Leiden University, Einsteinweg 55, 2300 RA Leiden, The Netherlands; e-mail: Y.Choi@chem.leidenuniv.nl

Due to a massive increase in international movement of plant material, key insects pests of agricultural and horticultural crops have spread worldwide. To control these, multiple tactics in the framework of an integrated pest management (IPM) programme are necessary. One important strategy of IPM is the use of chemical host plant resistance. Up to now the study of chemical host plant resistance has, for technical reasons, been restricted to the identification of single compounds applying specific chemical analyses adapted to the compound in question. In biological processes however, usually different compounds, which identity are *a priori* unknown, are involved. A way to solve this problem is to use metabolomics. NMR (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy) is one of the most universally used metabolomic approaches. It allows the simultaneous detection of a wide range of metabolites providing a general overview of the plant metabolome. We have developed an eco-metabolomic approach, using NMR, to identify candidate compounds involved in host plant resistance. We classify

resistant and susceptible plants using *in-vivo* bioassays. Subsequently, we compare their metabolomic profiles by applying multivariate statistical analysis to identify metabolites involved in host plant resistance. The negative effect of the candidate compounds is validated with *in-vitro* bioassays. As a proof of principle we used western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) in different host systems including *Senecio* as a wild plant (Leiss *et al.*, 2009a), chrysanthemum as an ornamental (Leiss *et al.*, 2009b) and tomato as a crop. (Mirnezhad *et al.*, 2010). In all three host systems the metabolomic profiles of thrips-resistant and -susceptible plants were significantly different leading to a range of different metabolites involved in thrips resistance (Leiss *et al.*, 2010). Thrips-resistant *Senecio* contained higher amounts of the pyrrolizidine alkaloids (PA) jacobine and jaconine and the flavanoid, kaempferol glucoside. Both are known for their inhibitory effect on herbivores and pathogens. Chrysanthemums resistant to thrips contained higher amounts of the phenylpropanoids chlorogenic acid and feruloyl quinic acid, which have an anti-feedant effect on herbivores. Tomatoes with little thrips damage contained high amounts of acylsugars, known for their defensive properties against herbivores. Besides their negative effect on herbivores kaempferol and the phenylpropanoids are investigated for their positive effect on human health preventing cancer development. This unique combination makes them the candidates of choice for development of host plant resistance. Our results show that NMR-metabolomics constitutes a significant advance in the study of plant-insect relationships providing key information for the implementation of herbivore resistance breeding programmes in plants.

### References

- Leiss KA, Choi YH, Abdel-Farid IB, Verpoorte R & Klinkhamer PGL (2009a) NMR metabolomics of thrips (*Frankliniella occidentalis*) resistance in *Senecio* hybrids. *Journal of Chemical Ecology* 35: 219-229
- Leiss K A, Maltese F, Choi YH, Verpoorte R & Klinkhamer PGL (2009b) Chlorogenic acid and thrips resistance in chrysanthemum. *Plant Physiology* 150: 1567-1575
- Leiss KA, Choi YH, Verpoorte R & Klinkhamer PGL (2010) An overview of NMR-based metabolomics to identify secondary plant compounds involved in host plant resistance. *Phytochemistry reviews* DOI 10.1007/s11101-010-9175-z
- Mirnezhad M, Romero-González RR, Leiss KA, Choi YH, Verpoort, R & Klinkhamer PGL (2010) Metabolomic analysis of host plant resistance to thrips in wild and cultivated tomatoes. *Phytochemical analysis* 21: 110-117

## Agrobacterium-mediated transformation of *Mycosphaerella fijiensis*, the devastating Black Sigatoka pathogen of bananas

Caucasella Díaz-Trujillo<sup>1,2</sup>, Adilson K. Kobayashi<sup>1,3</sup>, Lute-Harm Zwiers<sup>4</sup>, Manoel T. Souza Jr.<sup>5</sup> and Gert H.J. Kema<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Plant Research International, P.O. Box 16, 6700 AA Wageningen, The Netherlands

<sup>2</sup> Wageningen University Graduate School of Experimental Plant Sciences, P.O. Box 16, 6700 AA Wageningen, The Netherlands

<sup>3</sup> Embrapa Mid-North, Av. Duque de Caxias, 5650, CEP64006-220, Teresina/PI, Brazil

<sup>4</sup> CBS, Fungal Biodiversity Centre, P.O. Box 85167, 3508 AD Utrecht, The Netherlands

<sup>5</sup> Embrapa LABEX Europe, P.O. Box 16, 6700 AA Wageningen, The Netherlands

*Mycosphaerella fijiensis* is the causal agent of black leaf streak disease, commonly known as black Sigatoka, the most devastating foliar disease in bananas. Together with *M. musicola* and *M. eumusae*, *M. fijiensis* forms the Sigatoka disease complex. *M. fijiensis* is present in almost all banana plantations around the world, is highly diverse and has outcompeted *M. musicola*, which now only appears in cooler highlands. *M. eumusae*, on the other hand, has been recorded only in Asia and Africa, where bananas are a major staple food. *M. fijiensis* reduces the photosynthetic capacity of plants easily reducing yields by 50%. Moreover, it induces premature ripening that results in substantial post harvest damage as such fruits are unfit for export. Due to the high disease susceptibility of Cavendish banana cultivars the mere disease control option is the use of fungicides. The frequency of fungicide applications on banana crops has reached extraordinary levels with frequently over 50 applications per year. Apart from clear environmental and worker safety disadvantages, this also boosts fungicide resistance development. In order to reduce pesticide inputs we have initiated the Pesticide Reduction Program for Banana (PRPB) that is a multidisciplinary research program aiming at 50% reduction in 10 years. PRPB also invests in genotyping and phenotyping tools for *M. fijiensis*, including *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation (ATMT). We initially focused on the generation of GFP/RFP mutants that were validated by (quantitative) viability analyses under *in vitro* and *in vivo* conditions using Fluorescence Protein Imaging® software. We conclude that the developed ATMT protocol is robust and indispensable for functional genomic analyses in *M. fijiensis*.

## Identification of a new resistance gene to septoria tritici blotch in wheat

S. M. Tabib Ghaffary<sup>1</sup>, Justin D. Faris<sup>2</sup>, Timothy L. Friesen<sup>2</sup> and Gert H.J. Kema<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Plant Research International, Biointeractions and Plant Health; P.O. Box 16, 6700 AA Wageningen, The Netherlands; e-mail: mahmod.tabib@wur.nl

<sup>2</sup> USDA-ARS Cereal Crops Research Unit, Northern Crop Science Laboratory, 1307 18th Street North, Fargo, ND 58105-5677

Septoria tritici blotch (STB) caused by the ascomycete *Mycosphaerella graminicola* is one of the most devastating foliar diseases of bread wheat in North-Western Europe, Central- and West Asia and also of durum wheat in North Africa. STB generally causes 10-15% yield losses, but under conducive weather conditions yield loss can easily exceed 50%. Disease control is mainly achieved with fungicides that cost hundreds of millions of dollars globally each year (e.g. 600 M€ in Western Europe and 35.5 M£ in England). Resistance development in the fungal populations is a continuous concern. Disease management can be strongly supported by growing resistant cultivars and hence, breeding for resistance to STB is important, particularly for areas where access to fungicide control is limited. In recent years, 15 major resistance genes and QTLs, *Stb1-Stb15*, were identified and are currently being used by breeders in breeding programs. However, this is still a very limited number compared to other cereal diseases. Hence, the identification of new genes is crucial to enable breeders to diversify STB resistance in new wheat cultivars. This can be achieved by rigid screening on available adapted germplasm but also by screening wild relatives or derived synthetic hexaploids. We screened a wide range of germplasm including 54 hexaploid wheat lines as well as several synthetic hexaploids (SH) with a global set of 18 *M. graminicola* isolates. Some of these SHs showed an extraordinary high and broad level of resistance. We subsequently screened a population of recombinant inbred lines (RILs) derived from the SH M3 and the highly susceptible cv. Kulm with isolates of *M. graminicola* and identified a novel QTL with major effects on chromosome 3D, which has not previously been reported to carry *Stb* genes. QTL and Chi-square analysis provide sufficient evidence that this QTL is related to a single locus with 1:1 segregation ratio of resistance /susceptible individuals. Hence, we consider the 3D QTL to be a novel *Stb* gene, designated *Stb17*, associated to SSR marker *Xg-wmc 494.2* with 2 cM distance that can be easily deployed using the closely linked marker.

VERGADERING

**KEYNOTE**

**Politologie van gewasbescherming; lessen uit de jaren 1996-2008**

Jan Buurma

LEI Wageningen UR

In de jaren 1996-2008 werd de gewasbescherming geteisterd door rechtszaken over het toelatingsbeleid en campagnes over residuen van bestrijdingsmiddelen in groenten en fruit. Nu de rust is weergekeerd, ontstaat de vraag hoe het allemaal zo heeft kunnen gebeuren en (wellicht interessanter) welke conclusies we daaruit kunnen trekken voor de toekomst.

Bij het bestuderen van Kamervragen en de berichtgeving in landelijke dagbladen kwam een opvallend verschil in woordkeus te voorschijn. Waar de vertegenwoordigers van de burgerij voortdurend over bestrijdingsmiddelen spraken, daar hadden de vertegenwoordigers van de landbouwsector het voortdurend over gewasbeschermingsmiddelen. Dit patroon verraaft een belangentegenstelling tussen de burgermaatschappij en de landbouwgemeenschap.

Achteraf bekeken kunnen de conflicten in de beschouwde periode worden verklaard door gebeurtenissen in de jaren 1993-1996: de ketenomkering na het rapport van AT Kearney, de kopersstaking rond de Brent Spar, de erkenning van niet-gouvernementele organisaties (NGO's) als partij in rechtszaken tegen overheidsbeslis-

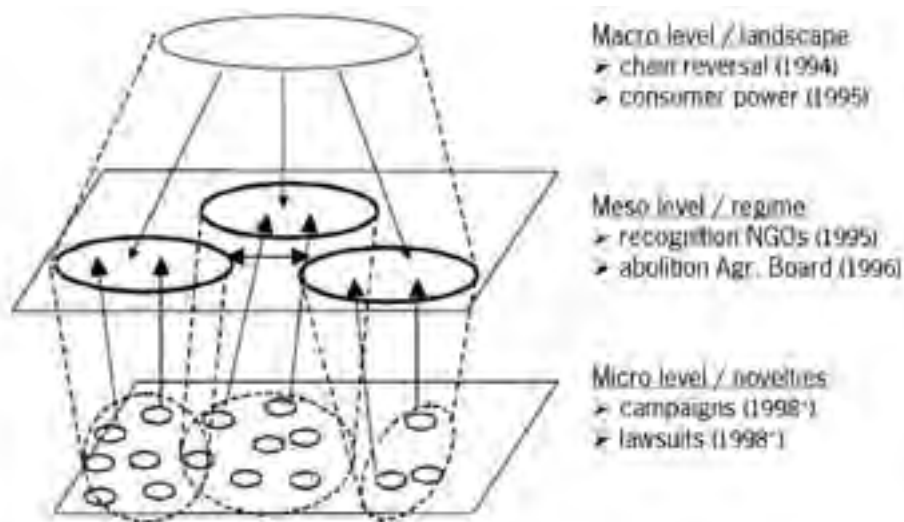
singen, de opheffing van het Landbouwschap. Door deze gebeurtenissen waren de machtsverhoudingen tussen burgermaatschappij en landbouw grondig veranderd.

In de presentatie wordt getoond, dat de overheid zijn uiterste best deed om de bestaande spelregels en procedures te handhaven. Relatieve buitenstaanders als supermarktbedrijven en de fytofarmaceutische industrie trokken hun conclusies uit de campagnes en rechtszaken. Zij zorgden ervoor dat de naleving van maximale residulimieten (MRLs) in groenten en fruit goed werd geregeld en dat het toelatingsbeleid werd afgestemd op de EU-regelgeving. Door hun toedoen zijn er nieuwe spelregels en procedures gekomen en is de maatschappelijke onrust weggeëbd.

De empirische inzichten uit het verloop van het transformatieproces passen naadloos in het perspectief van de transitietheorie. Redenerend vanuit die theorie kunnen inschattingen van toekomstige veranderingen worden gemaakt. Er kunnen ook aanbevelingen uit worden afgeleid over hoe maatschappelijke organisaties, overheden en bedrijfsleven elkaar kunnen ondersteunen bij het doorvoeren van socio-technische veranderingen richting duurzame gewasbescherming. Tijdens de presentatie worden enkele suggesties in die richting gedaan.

**Referentie**

Vellema, S & Schans JW van der (eds.) (2010) Transitions of socio-technical systems in agriculture and food: a discussion between social theory, practice and policy (forthcoming).



Multi-level perspective of the public debate on pesticides and crop protection

Schema van de transitietheorie.

VERGADERING