

Biologische bestrijding van akkerdistel met de roestschimmel *Puccinia punctiformis*

J. Frantzen en P.C. Scheepens

cabo-dlo

ISA 272511

Verslag 184, juli 1993



0000 0541 5563

Het DLO-Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO-DLO) is onderdeel van de Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) van het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij.

DLO heeft tot taak het genereren van kennis en het ontwikkelen van expertise ten behoeve van de uitvoering van de landbouwpolitiek van de Nederlandse regering, het versterken van de agrarische industrie, het plannen en beheren van het landelijk gebied en het beschermen van het milieu. CABO-DLO heeft tot taak het verrichten van fundamenteel-strategisch, zowel experimenteel als modelmatig, onderzoek aan planten. De resultaten hiervan dragen bij aan de realisatie van:

- optimale en duurzame plantaardige produktiesystemen;
- produktvernieuwing en produktkwaliteit;
- natuurwaarden en milieukwaliteit in het landelijk gebied.

Adres:

CABO-DLO

Postbus 14

6700 AA Wageningen

tel. 08370-75700

fax. 08370-23110

e-mail postkamer@cabo.agro.nl

Inhoudsopgave

	Pagina
Samenvatting	1
1. Inleiding	3
2. Probleembeschrijving	5
2.1 Oecologie van akkerdistel	5
2.2 Akkerdistel als onkruid	6
2.3 Bestrijding	6
2.3.1 Mechanisch	7
2.3.2 Chemisch	7
2.3.3 Biologisch	7
3. Doelstelling onderzoek	9
4. Beschrijving pathosysteem <i>Cirsium arvense</i> / <i>Puccinia punctiformis</i>	11
4.1 Specificiteit	11
4.2 Infectiecyclus <i>P. punctiformis</i> op akkerdistel	11
4.3 Keuzes ten aanzien van onderzoek	12
5. Manipuleerbaarheid van infectieniveau	15
5.1 Hoeveelheid teliosporen	15
5.2 Verspreiding teliosporen	16
5.3 Tijdsaspect	17
5.4 Resistentie	18
5.5 Veldproeven	18
6. Effect <i>Puccinia punctiformis</i> op akkerdistel	21
6.1 Generatieve vermeerdering	21
6.2 Vegetatieve vermeerdering	21
6.3 Gewenst aantastingsniveau	22
7. Biologische bestrijding akkerdistel	23
8. Perspectief biologische bestrijding onkruiden	25
8.1 Rol van overheid	25
8.2 Rol van producenten bestrijdingsmiddelen	26
8.3 Rol van onderzoekers	26
9. Conclusies en aanbevelingen	29
Dankwoord	30
Literatuur	31

Voorwoord

De akkerdistel kan op verschillende standplaatsen zowel binnen de landbouw als daarbuiten, overlast veroorzaken. Doordat de soort zich via zaad bovendien over aanzienlijke afstanden kan verspreiden, kunnen planten ook op plaatsen waar ze geen overlast geven een bedreiging vormen voor die standplaatsen waar de plant wel als onkruid wordt gezien.

De manier waarop en de mate waarin akkerdistels moeten worden bestreden vormt een belangrijk discussie-onderwerp. De in vele landen ingestelde "distelverordeningen" en de hier tegen gevoerde oppositie vormen hiervan een duidelijke illustratie.

Wat betreft de manier van bestrijden, staat de tot nog toe meest gangbare en meest effectieve methode, de chemische bestrijding, sterk ter discussie. Het gebruik van herbiciden wordt in natuurterreinen niet op prijs gesteld en in de landbouw is er een sterk streven naar minimalisering van de chemische bestrijding.

Van belang is daarom te zoeken naar alternatieve methoden. De biologische bestrijding vormt hierbij een mogelijkheid. In dit project, waarvan de realisatie mogelijk was dankzij medefinanciering door het Ministerie van Ruimtelijke Ordening en Milieuhygiëne, is het gebruik van de inheemse roestschimmel *Puccinia punctiformis* nader bestudeerd.

De onderzoeker Drs. J. Frantzen, stond hierbij voor het probleem om in betrekkelijk korte tijd zowel een aantal fundamentele aspecten van de interactie tussen de waardplant en de schimmel te moeten onderzoeken, als een aantal meer toegepaste aspecten betreffende eventuele toepassing in de praktijk. Beide aspecten krijgen aandacht in dit verslag.

Toediening van schimmelsporen in het veld heeft nog niet tot het gewenste resultaat geleid. De verkregen inzichten vormen echter voldoende basis om het onderzoek bij CABO-DLO voort te zetten.

Dr. ir. J.H.J. Spiertz
(directeur)

Samenvatting

De plaatselijk uitbundige bloei van akkerdistel in natuurgebieden geeft aanleiding tot conflicten tussen landbouw en beheerders van natuurgebieden. Chemische bestrijding van akkerdistel met gangbare chemische bestrijdingsmiddelen is ongewenst in natuurgebieden. Biologische bestrijding zou een alternatief kunnen bieden voor de chemische bestrijding.

De roestschimmel *Puccinia punctiformis* infecteert scheuten van akkerdistel systemisch hetgeen leidt tot vroegtijdig, voor de bloei, afsterven van de scheuten. Het percentage aangetaste scheuten is van nature beperkt (gemiddeld 0-10 % in een perceel). Verhoging van dit van nature lage percentage zou kunnen leiden tot een biologische bestrijding van akkerdistel. Aangezien *P. punctiformis* specifiek is voor akkerdistel, lijkt toepassing van deze roestschimmel in natuurgebieden mogelijk zonder dat andere soorten aangetast worden.

De relatief complexe infectiecyclus van *P. punctiformis* op akkerdistel biedt, theoretisch, verschillende mogelijkheden om het percentage aangetaste scheuten te verhogen. Gekozen is om het stadium van teliosporen te manipuleren. Teliosporen zijn overlevingseenheden van *P. punctiformis* die, na kieming, leiden tot infectie van (wortel)knoppen van akkerdistel. Met het uitgroeien van de knoppen tot bovengrondse scheuten ontwikkelt zich de systemische infectie.

Een eerste aandachtspunt voor het onderzoek was de productie van *P. punctiformis* teliosporen onder geconditioneerde omstandigheden (fytotrons). Vanwege het biotroof parasitaire karakter van *P. punctiformis* is de roestschimmel op distelplanten gekweekt. Het kiezen van specifieke licht en temperatuur verhoudingen was noodzakelijk om de productie van teliosporen te induceren. Het handmatig afzuigen van teliosporen van de distelplanten bleek tamelijk arbeidsintensief en de hoeveelheden geproduceerde teliosporen waren relatief gering gelet op de arbeidsinvestering. De beschikbaarheid van teliosporen bleek een beperkende factor te zijn bij het uitvoeren van veldexperimenten.

In diverse terreinen in Nederland zijn in het najaar 1990 en in het najaar 1991 teliosporen gespoten om het percentage systemisch geïnfecteerde scheuten in het volgende voorjaar te verhogen. Noch in het voorjaar 1991 noch in het voorjaar 1992 werd een verhoging van het percentage systemisch geïnfecteerde scheuten waargenomen. Uit begeleidend onderzoek aan de infectiecyclus van *P. punctiformis* op akkerdistel zijn mogelijke verklaringen te destilleren voor het ontbreken van een verhoging: belemmeringen voor het transport van de gespoten teliosporen naar de knoppen (par. 5.2), ongunstige omstandigheden voor infectie van de knoppen na het spuiten (par. 5.3), onvoldoende knoppen in een vatbaar stadium na de bespuiting (par. 5.4.) en/of resistentie van de aanwezige distelklonen tegen het gebruikte *P. punctiformis*-isolaat.

Op basis van de verkregen resultaten zijn diverse aandachtspunten geformuleerd om de potentie van *P. punctiformis* als biologisch bestrijdingsmiddel voor akkerdistel verder te ontwikkelen. Vooral een verbetering van de teliosporenproductie, het ontwikkelen van handzame apparatuur om teliosporen bij de knoppen van akkerdistel te brengen en het bepalen van de meest geschikte tijdstippen om teliosporen bij de wortelknoppen te brengen verdienen aandacht.

Het onderzoek naar de biologische bestrijding van akkerdistel illustreert dat het ontwikkelen van biologische onkruidbestrijdingsmiddelen een aanzienlijke inzet van onderzoekscapaciteit vergt. Voor toepassing van biologische onkruidbestrijding op ruime schaal lijkt een ruime inzet van onderzoekscapaciteit door het bedrijfsleven noodzakelijk. De rol van onderzoekers buiten het bedrijfsleven zal zich waarschijnlijk richten op het formuleren van algemene werkingsprincipes voor de biologische onkruidbestrijding. De overheid lijkt een cruciale rol te vervullen bij het stimuleren van de biologische onkruidbestrijding.

1. Inleiding

In de afgelopen jaren is de maatschappelijke druk toegenomen om het gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen terug te dringen. Het beleid van de overheid is gericht op het beperken van het gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen (zie bv. het Meerjarenplan Gewasbescherming). Het onderhavige project 'Biologische bestrijding van akkerdistel met de roestschimmel *Puccinia punctiformis*' past binnen het geformuleerde overheidsbeleid.

In de Verenigde Staten zijn inmiddels enige successen geboekt met de biologische bestrijding van onkruiden door middel van inheemse schimmels. In Europa is slechts één succesvolle toepassing van biologische onkruidbestrijding met een inheemse schimmel bekend: de loodglansschimmel *Chondrostereum purpureum* (Pers. ex Fr.) Pouzar tegen Amerikaanse vogelkers (*Prunus serotina* Ehrh.).

Gesteld kan worden dat er een gebrek aan kennis en ervaring is om de mogelijkheden van biologische onkruidbestrijding binnen Europa in te schatten. Doel van het onderhavige project was om aan de hand van een concreet onkruidprobleem, de akkerdistel, de toepasbaarheid van biologische onkruidbestrijding in Nederland te onderzoeken. Dit doel zal in hoofdstuk 2 nader gespecificeerd worden.

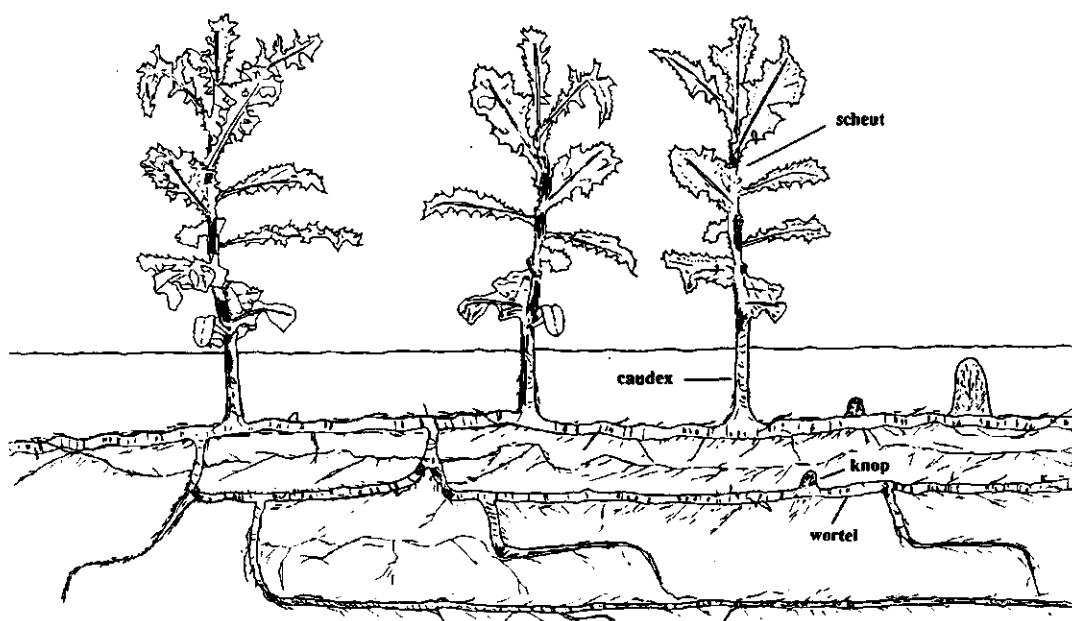
Het onderhavige verslag geeft de hoofdlijnen van het onderzoek naar de biologische bestrijding van akkerdistel met de roestschimmel *Puccinia punctiformis*. Voor meer inzicht in de gehanteerde methoden en de resultaten zij verwezen naar een proefschrift (Frantzen, in voorbereiding) en persoonlijke communicatie met de auteurs.

2. Probleembeschrijving

Dit hoofdstuk is grotendeels samengesteld op basis van Donald (1990) en de in zijn artikel vermelde literatuur. Een handzaam, Nederlandstalig, overzicht biedt de brochure 'De akkerdistel beschouwd vanuit landbouw, natuur en landschap' van de Nederlandse Raad voor Landbouwkundig Onderzoek (1978).

2.1 Oecologie van akkerdistel

Het klonaal groeiende, meerjarige, kruid *Cirsium arvense* (L.) Scop. bloeit en produceert zaad in de periode mei - oktober. Kieming van zaad is sterk afhankelijk van vocht, temperatuur en licht. Kiemplanten vormen een primaire, verticale wortel die na circa 2 maanden vertakt in horizontale wortels. In deze eerste fase van vestiging zijn kiemplanten erg gevoelig voor ongunstige abiotische omstandigheden (droogte, hoge temperatuur) en concurrentie van andere planten. Concurrentie is de reden dat vestiging van kiemplanten in grasland zelden voorkomt. Na vestiging groeit het wortelstelsel verder uit met horizontale en verticale wortels (Fig. 1). De diepte van het wortelstelsel wordt bepaald door de grondwaterstand. In natte bodems zitten de meeste wortels in de bovenste 20 cm. In erg droge bodems gaan de wortels tot 1 à 2 m diep.



Figuur 1 Morfologie van *Cirsium arvense* (akkerdistel)

Reservestoffen worden van de bovengrondse delen naar de wortels getransporteerd en voor een deel opgeslagen in de horizontale wortels. Op de horizontale wortels en caudices worden knoppen gevormd die kunnen uitlopen tot nieuwe bovengrondse scheuten. Factoren als aanbod van reservestoffen, temperatuur, stikstofvoorziening en vochtgehalte bepalen de knopvorming en het uitlopen van de knoppen tot nieuwe scheuten. Door afmaaien van de bovengrondse scheuten wordt het uitlopen van knoppen gestimuleerd. De opslag van reservestoffen in de wortels wordt door maaien, tijdelijk, onderbroken.

Scheuten zijn in aanleg mannelijk en vrouwelijk maar functioneel meestal mannelijk of vrouwelijk. De vorming van vruchtbaar zaad is afhankelijk van de afstand tussen mannelijke en vrouwelijke scheuten. Bij grotere afstanden vindt er onvoldoende bestuiving via insecten plaats.

Uit één kiemplant of één wortelstukje kan door klonale groei een distelhaard met een omtrek van vele tientallen meters groeien. Er is dan sprake van één genetisch individu met vele scheuten (distelkloon). Aangezien na één à twee jaar wortels afsterven, is de onderlinge, genetische, samenhang tussen scheuten na verloop van tijd niet meer zichtbaar. Dit is een complicerende factor voor onderzoek naar de akkerdistel.

2.2 Akkerdistel als onkruid

De akkerdistel wordt wereldwijd als onkruid beschouwd. Door het vermogen van klonale groei is de akkerdistel moeilijk te bestrijden. Een wortelstukje van één centimeter of één zaadje kan leiden tot een distelhaard met een omtrek van vele meters. Vandaar dat landbouwers beducht zijn voor het vestigen van akkerdistel in hun percelen via overwaaiend zaad. Eenmaal gevestigde distelklonen nemen ruimte, licht en voedingsstoffen weg voor landbouwkundig nuttige soorten, met als gevolg derving van opbrengsten.

Ten gevolge van de Deltawerken zijn veel schorren en slikken in zuid-west Nederland drooggevallen. Op dergelijke plekken kan akkerdistel massaal tot ontwikkeling komen met de daarmee gepaard gaande overvloedige verspreiding van zaad. Dit heeft met name rond het Markiezaatsgebied geleid tot conflicten tussen landbouwers en natuurbeschermers. Landbouwers eisen dat akkerdistel op de voormalige schorren en slikken in het Markiezaatsgebied wordt bestreden (o.a. Backes, 1989). Beheerders van het gebied weigeren dit omdat mechanische bestrijding van akkerdistel in het gebied niet mogelijk is en chemische bestrijding schadelijke neveneffecten heeft.

De akkerdistel kan ook massaal tot ontwikkeling komen in graslanden die extensief beheerd worden ten behoeve van natuurdoelen en in wegbermen. Ook in dergelijke situaties geldt dat verspreiding van zaad tot problemen met omliggende landbouwbedrijven kan leiden.

2.3 Bestrijding

Op basis van de beschikbare literatuur is het moeilijk om de effecten van de diverse bestrijdingsmethoden in te schatten. De uitgevoerde onderzoeken zijn erg divers wat betreft:

- geografie en klimaat (bv. Noord-Amerika versus Europa);
- teelten (granen, grasland);
- tijdstip (verschillen binnen en tussen jaren);
- gehanteerde onderzoeksmethoden.

Het inzicht ontbreekt welke biologische mechanismen de bestrijdingseffecten kunnen verklaren. Vooral de rol van genotypische en fenotypische variatie van akkerdistel is onderbelicht.

2.3.1 Mechanisch

Mechanische bestrijding is ruwweg te verdelen in grondbewerking (vooral in akker- en tuinbouw) en maaien (vooral in grasland). Tijdig vernietigen van de bovengrondse delen voorkomt bloei en produktie van zaad. Door het vernietigen van de bovengrondse plantdelen wordt ook de opbouw van reservestoffen in de wortels verhinderd. Grosso modo geldt dat frequenter maaien of bewerken van de grond leidt tot meer uitputting van de wortels. Een hoge frequentie is echter niet altijd mogelijk. In akker- en tuinbouw zal de frequentie afhankelijk zijn van het soort gewas en gewasrotatie, in natuurgebieden van de beoogde natuurwaarden.

2.3.2 Chemisch

Er is een heel skala aan chemische bestrijdingsmiddelen. In Nederland zijn middelen op basis van fenoxyzijnezuren (o.a. MCPA) het meest gangbaar. Bij hardnekkige problemen wordt ook wel glyfosaat (merknaam Roundup) toegepast. Fenoxyzijnezuren en vooral glyfosaat zijn zogenaamde breed werkende stoffen: gericht tegen meerdere soorten onkruid. De brede werking is uit kostenoverwegingen een voordeel maar een nadeel door het potentieel beschadigen van andere soorten dan de onkruiden: gewassen of te beschermen soorten in natuurgebieden.

2.3.3 Biologisch

Strikt genomen valt beweiding ook onder biologische bestrijding. De effecten van beweiding op akkerdistel zijn niet eenduidig. In de literatuur wordt beweiding met schapen en geiten als manier van bestrijding vermeld maar gedegen onderzoek ontbreekt. Beweiding wordt eerder als een bevorderende factor voor uitbreiding van akkerdistel gezien door het open-trappen van de grasmat.

Bij de biologische bestrijding in engere zin worden twee strategieën gevolgd: de klassieke en de bioherbicide. De klassieke strategie is gebaseerd op het introduceren van één of meerdere natuurlijke vijanden in het gebied waar de betreffende plantesoort een onkruid is. Het meest toegepast is de introductie van natuurlijke vijanden uit Europa in Noord-Amerika. De bioherbicide strategie is gebaseerd op het vergroten van de aantasting door natuurlijke vijanden die reeds in het probleemgebied aanwezig zijn. Om praktische redenen is de bioherbicide strategie tot nu toe beperkt tot schimmels als natuurlijke vijanden van de onkruiden. Er zijn diverse soorten insecten in Europa verzameld ter bestrijding van de akkerdistel in Noord-Amerika. Echte successen zijn nog niet geboekt. De klassieke strategie ter bestrijding van akkerdistel in Europa is niet onderzocht.

De bioherbicide strategie tegen akkerdistel wordt onderzocht met diverse soorten schimmels. Bladschimmels zijn of werden onderzocht door het Deense bedrijf Novo Nordisk (o.a. *Phomopsis spec.*). Over dit onderzoek is geen nadere informatie beschikbaar. In de Verenigde Staten wordt *Sclerotinia sclerotiorum* onderzocht. Onder bepaalde omstandigheden is de schimmel effectief tegen akkerdistel (Brosten & Sands, 1986). Probleem is dat deze schimmel een breed waardplantbereik heeft inclusief gewassen. Genetische modificatie wordt over-

wogen om dit gebrek aan selectiviteit te verhelpen (Sands e.a., 1990). De roestschimmel *Puccinia punctiformis* (Str.) Röhl. wordt reeds lang als kandidaat voor biologische bestrijding beschouwd (bv. Cockayne, 1915). Op dit moment wordt door de groep van French in de Verenigde Staten en op het CABO-DLO in Nederland met *P. punctiformis* gewerkt. De mogelijkheden van, en de problemen met, het gebruik van deze schimmel als biologisch bestrijdingsmiddel worden in dit verslag beschreven.

3. Doelstelling onderzoek

Voor het onderhavige project zijn 3 doelen geformuleerd:

1. het, onder praktijkomstandigheden, verhogen van het natuurlijke aantastingsniveau van akkerdistel door *Puccinia punctiformis*;
2. bepalen welk aantastingsniveau bereikt moet worden om de generatieve (via zaadvorming) en vegetatieve vermeerdering (via worteluitlopers) van akkerdistel te beperken;
3. generaliseren van de onderzoeksresultaten naar de toepasbaarheid van biologische onkruidbestrijding in Nederland.

ad.1. In (semi-)landbouwkundig gebruikte percelen is gemiddeld 0-5 % van de distelscheuten systemisch geïnfecteerd door de roestschimmel. De vraag is welke factoren de aantasting op een dergelijk laag niveau houden. Als dit bekend is, is de volgende vraag of de effecten van dergelijke factoren te reduceren zijn om een hoger aantastingsniveau te krijgen. Deze vragen staan centraal in hoofdstuk 5.

ad.2. Bekend is dat systemisch geïnfecteerde scheuten zelden tot bloei komen en, in vergelijking met niet-systemisch geïnfecteerde scheuten, vroegtijdig afsterven (Watson & Keogh, 1980). De vraag is of dit verlies aan fotosynthesecapaciteit en produktievermogen aan zaad, wordt gecompenseerd door niet geïnfecteerde scheuten. En zo ja, tot welk aantastingsniveau compensatie mogelijk is. In hoofdstuk 6 zal dit aspect belicht worden.

ad.3. Akkerdistel is maar één van de onkruiden die in aanmerking komen voor biologische bestrijding. Het onderhavige project biedt inzicht in methoden van onderzoek náár en toepassing van biologische bestrijding in Nederland. Na een evaluatie van de biologische bestrijding van akkerdistel met *P. punctiformis* in hoofdstuk 7, komt in hoofdstuk 8 de biologische onkruidbestrijding in het algemeen aan bod.

4. Beschrijving pathosysteem *Cirsium arvense* / *Puccinia punctiformis*

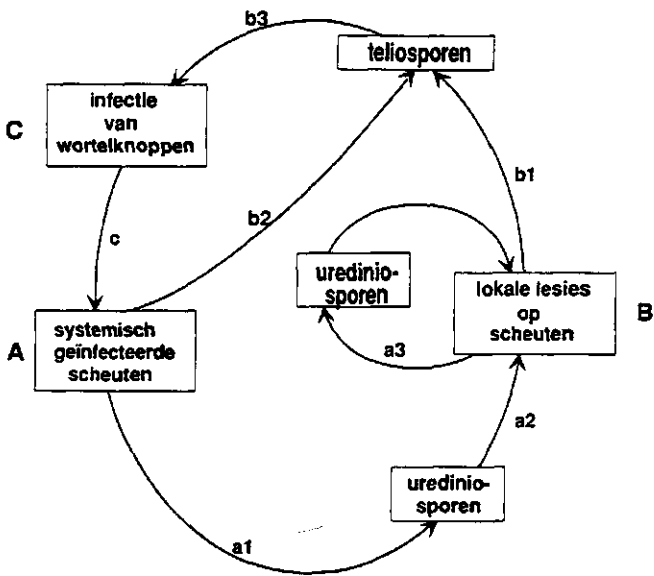
Een gedegen beschrijving van het pathosysteem is niet beschikbaar in de literatuur. Een proefschrift met bronvermeldingen (Frantzen, in voorbereiding) biedt wel een vrij volledig overzicht en vormt dan ook de grondslag voor dit hoofdstuk.

4.1 Specificiteit

In 1799 wordt aantasting van akkerdistel door de roestschimmel *P. punctiformis* voor het eerst beschreven. Sindsdien wordt akkerdistel bijna uitsluitend als enige aangetaste plantesoort vermeld. Afwijkende mededelingen zijn er respectievelijk in 1863 en 1884 met *Taraxacum officinale* L. (Paardebloem) en *Centaurea cyanus* L. (Korenbloem). Deze waarnemingen zijn nooit bevestigd, mogelijk omdat er sprake was van lokale varianten van schimmel en/of waardplant of omdat soorten roestschimmels verwisseld zijn. Dat laatste is niet geheel onwaarschijnlijk aangezien alle twee de voormelde plantesoorten door andere roestschimmels dan *P. punctiformis* worden aangetast. Buller (1950) concludeert, mede op basis van eigen infectie-experimenten, dat akkerdistel (*Cirsium arvense*) als enige waardsoort voor *P. punctiformis* te beschouwen is.

4.2 Infectiecyclus *P. punctiformis* op akkerdistel

De infectiecyclus wordt beschreven aan de hand van figuur 2. In deze figuur wordt de infectiecyclus enigzins vereenvoudigd weergegeven (basidiosporen en pycniosporen ontbreken).



Figuur 2. Infectiecyclus *Puccinia punctiformis* op *Cirsium arvense* (akkerdistel). Voor verklaring van de letters, zie tekst.

De beschrijving van de infectiecyclus begint met het boven de grond komen van systemisch geïnfekteerde scheuten in het voorjaar (A). De scheuten zijn doorwoekerd met de schimmel hetgeen resulteert in chlorose, energieverlies, vervormingen en vroegtijdige sterfte. Systemisch geïnfekteerde scheuten komen zelden tot bloei.

Op de systemisch geïnfekteerde scheuten worden urediniosporen gevormd. De hoeveelheid geproduceerde urediniosporen verschilt van scheut tot scheut maar onbekend is welke factor of factoren deze verschillen veroorzaken. Urediniosporen raken los van de scheuten (a_1) en komen terecht op andere scheuten. De roestschimmel penetreert de bladeren en stengels via de huidmondjes (a_2). In tegenstelling tot systemisch geïnfekteerde scheuten, blijft de schimmelgroei beperkt tot enkele millimeters rond de plek van penetratie (lokale lesie, B). De factoren die het aantal scheuten met lokale lesies en het aantal lokale lesies per scheut bepalen, zijn vrij summier onderzocht. Uit onderzoek in de Verenigde Staten blijkt dat de groei van de schimmel geremd kan worden nadat de roestschimmel via het huidmondje is binnengedrongen (resistentie). In een lokale lesie komt een schimmelstructuur tot ontwikkeling (urediniosorus) die een verzameling urediniosporen bevat. Op vergelijkbare wijze als bij (a_1) en (a_2) komen urediniosporen vrij (a_3) en landen weer op dezelfde scheut of op andere scheuten (a_4). In vergelijking met systemische infectie lijkt lokale lesie infectie weinig schade te veroorzaken aan de scheuten.

Zowel op systemisch geïnfekteerde scheuten (A) als scheuten met lokale lesies (B) gaat de vorming van urediniosporen over in de vorming van teliosporen (b_1 , b_2). Welke factoren deze overgang veroorzaken is nog onduidelijk maar waarschijnlijk spelen ongunstige groeiomstandigheden voor akkerdistel en/of de roestschimmel een rol. Onder laboratoriumomstandigheden zorgt koude en weinig licht, respectievelijk hyperparasitisme door de schimmel *Aphanocladium album*, voor de overgang. Teliosporen zijn overlevingseenheden die na kortere of langere tijd kiemen. Kieming van teliosporen wordt bevorderd door stoffen uit de wortels van akkerdistel. Gekiemde teliosporen leiden tot infectie van wortelknoppen (b_3). Over factoren die de knopinfectie (C) kunnen beïnvloeden was aan het begin van het onderhavige project nog niets bekend.

De kennis over de volgende stap in de infectiecyclus, ontwikkeling van knopinfectie tot systemisch geïnfekteerde scheut (c), is beperkt. Wel is bekend dat aanwezigheid van de schimmel in het meristematisch weefsel van de uitlopende knop leidt tot een verstoring van de hormonenbalans en de daarmee samenhangende karakteristieke symptomen van systemische infectie.

4.3 Keuzes ten aanzien van onderzoek

Gelet op de schade aan de akkerdistel biedt het stadium van systemische infectie meer perspectief voor de biologische bestrijding dan het stadium van lokale lesie infectie. Het onderzoek was dan ook gericht op het verhogen van de fractie systemisch geïnfekteerde scheuten in distelhaarden. Uitgangspunten van het onderzoek waren:

- a. Infectie van kiemplanten door de roestschimmel zal alleen in specifieke situaties (kolonisatie van een terrein door akkerdistel) mogelijkheden tot bestrijding bieden. In gevestigde situaties spelen kiemplanten niet of nauwelijks een rol. Het onderzoek was gericht op gevestigde situaties en de mogelijkheden van kiemplantinfectie zijn niet in beschouwing genomen.

- b. Een toename van het aantal knopinfecties leidt tot een evenredige toename van het aantal systemisch geïnfecteerde scheuten.

Theoretisch gezien kan manipulatie van elke stap in de infectiecyclus (figuur 2) leiden tot een toename van het aantal systemisch geïnfecteerde scheuten. Manipulatie van de overgang teliosporen - knopinfecties (b_3 in figuur 2) is echter de meest directe weg. De onderzoeksvragen zijn dan gereduceerd tot:

1. Is de hoeveelheid teliosporen te verhogen en leidt dit tot een toename van het aantal knopinfecties;
2. Wat is de kans op contact tussen teliosporen en knoppen en is deze kans te manipuleren;
3. Op welk tijdstip en onder welke omstandigheden is, na contact tussen teliosporen en knoppen, penetratie van de roestschimmel in de knop mogelijk;
4. Wordt de penetratie en groei van de roestschimmel in de knop geremd door een intern verdedigingsmechanisme van de knop (resistentie).

Deze vragen worden in afzonderlijke paragrafen in hoofdstuk 5 behandeld. Vooruitlopend op de beantwoording van deze vragen zijn, op basis van een aantal aannamen, veldproeven uitgevoerd om de toepasbaarheid van de roestschimmel als biologisch bestrijdingsmiddel te toetsen onder (semi-)praktijkomstandigheden.

5. Manipuleerbaarheid van infectieniveau

5.1 Hoeveelheid teliosporen

Om de van nature aanwezige hoeveelheid teliosporen in het veld te verhogen, is onderzoek verricht aan de productie van teliosporen onder geconditioneerde omstandigheden (fytotrons).

De roestschimmel is gekweekt op distelplanten. Door keuze van specifieke omstandigheden is de schimmel aangezet tot het produceren van teliosporen. Teliosporen werden afgezogen met een vacuümpomp voorzien van een cydoontje. Teliosporen zijn seriegewijs geproduceerd. Van drie series zijn de productiegegevens vergeleken (tabel 1).

Tabel 1. Productie van *P. punctiformis* sporen uitgedrukt in gebruikte fytotronruimte (1^e kolom) en kostprijs berekend op basis van de gebruikte fytotronruimte (2^e kolom)

Serie	mg sporen / (m ² ·dag)	kostprijs / mg (f)
1	70	0,04
2	91	0,03
3	29	0,10

De productie was bij twee series duidelijk hoger dan bij de derde. De fractie produktieve planten (planten die sporen droegen en af te zuigen waren) van het oorspronkelijke aantal ingezette planten was bepalend voor de sporenproductie per oppervlakte fytotronruimte. De fractie produktieve planten was afhankelijk van de fractie door de roestschimmel geïnfecteerde planten van het oorspronkelijke aantal planten, de groei­kracht van de planten en versturende factoren als aantasting door luis en een niet nader geïdentificeerde schimmel. Het percentage produktieve planten was voor de series 1 t/m 3 respectievelijk 28, 35 en 5 % van het oorspronkelijke aantal gebruikte planten in een serie.

Aanbeveling: de fractie produktieve planten verhogen door selectie van schimmel- en plantmateriaal en/of verbeteren van de kweekomstandigheden.

De produktiviteit per produktieve plant verschilde aanzienlijk binnen een serie. Naar de oorzaak van deze verschillen is geen onderzoek verricht. Behalve heterogene omstandigheden binnen de fytotrons, kunnen specifieke interacties tussen fenotypen van de roestschimmel en fenotypen van akkerdistel de verschillen veroorzaakt hebben.

Aanbeveling: de produktiviteit van produktieve planten verhogen door aanpassen van de omstandigheden in de fytotrons (indien technisch mogelijk) en/of selectie op produktieve combinaties van fenotypen van roestschimmel en akkerdistel.

Gerelateerd aan de geïnvesteerde arbeidstijd waren de verschillen tussen de series veel geringer (Tabel 2). Niet-produktieve planten namen wel ruimte in beslag maar vergden geen tijdsinvestering wat betreft het afzuigen van sporen. De geïnvesteerde arbeidstijd werd vooral bepaald door het, arbeidsintensieve, handmatige afzuigen van sporen.

Tabel 2. Produktie van *P. punctiformis* sporen uitgedrukt in geïnvesteerde arbeidstijd (1^e kolom) en kostprijs berekend op basis van de geïnvesteerde arbeidstijd (2^e kolom)

Serie	mg sporen / arbeidstuur	kostprijs / mg (f)
1	367	0,07
2	518	0,05
3	315	0,08

Afhankelijk van de serie komt de totale kostprijs van een milligram sporen (Tabel 1 plus 2) op 0,08 - 0,18. Een kostprijs die, zeker qua arbeidsluon, nog aanzienlijk te reduceren is.

Aanbeveling: mechaniseren van het verzamelen van sporen om het rendement (kosten/opbrengst) van de sporenproduktie te verbeteren.

Om in te schatten welk effect 1 mg geproduceerde sporen kan hebben op akkerdistel, moet het gewicht vertaald worden naar het aantal teliosporen. De in paragraaf 5 beschreven veldproeven zijn daarvoor gebruikt. Uit de 3 spuitbeurten in 1990 resulteerde een gemiddelde van 1 mg = 89000 teliosporen. Uit de 3 spuitbeurten in 1991 kwam een gemiddelde van 1 mg = 69000 teliosporen. Zowel variatie in de sporenproduktie als variatie in omstandigheden tijdens het spuiten kunnen het verschil tussen beide jaren verklaren.

In het algemeen geldt dat teliosporen zelfs na jarenlang bewaren nog vitaal zijn (Anikster, 1986). In het onderhavige onderzoek zijn teliosporen standaard in de koelkast bewaard bij een luchtvochtigheid van circa 45 %. Er zijn echter aanwijzingen verkregen dat sporen ook bij 20 °C te bewaren zijn. Bewaren bij 20 °C zou goedkoper zijn dan bewaren in de koelkast.

Aanbeveling: onderzoek naar het bewaren van teliosporen bij kamertemperatuur om opslagkosten te reduceren.

Teliosporen, geproduceerd in fytotrons, zijn gebruikt om de van nature aanwezige hoeveelheid teliosporen in het veld te verhogen. Deze veldproeven zijn in paragraaf 5 van dit hoofdstuk beschreven.

5.2 Verspreiding teliosporen

Het aantal teliosporen dat wortelknoppen bereikt zal allereerst afhankelijk zijn van het aantal dat op de grond valt. Van nature varieert dat aantal sterk van 0 tot enkele duizenden per cm². Bij spuiten van teliosporen, die in fytotrons geproduceerd zijn, is de verdeling veel homogener (zie par. 5).

De tweede stap is de verplaatsing van teliosporen van het bodemoppervlak naar de bodem. De vraag is welke fractie van de teliosporen in de bodem komt en onder welke omstandigheden. Verschillende methoden zijn toegepast om het transport van de teliosporen te kwantificeren. De verschillende methoden bleken echter in technisch opzicht ongeschikt en/of te arbeidsintensief. Voorlopig zal dit onderdeel een lancune in de kennis van het infectieproces blijven.

Aanbeveling: nader onderzoek van het transport van teliosporen van de bodemoppervlakte naar de bodem.

Een derde stap is het contact tussen teliospore en knop in de bodem. De kans dat een teliospore een knop treft is theoretisch te berekenen. Deze is afhankelijk van de verdeling van de knoppen binnen een terrein, de lengte en diameter van de knoppen, en de verplaatsingsrichting van de teliospore. Van de gegevens van één van de proefterreinen is de gemiddelde dichtheid aan knoppen genomen en de mediane waarden voor knoplengte en -diameter. Op basis van deze gegevens is de trefkans het grootste bij een horizontale verplaatsingsrichting van de teliospore (1 op de 2000) en het kleinste bij een verticale verplaatsingsrichting (1 op de 10000). De berekende trefkansen kunnen groter of kleiner zijn al naar gelang de teliosporen specifieke kanalen volgen in de bodem. Het maken van zogenoemde slijpplaten kan inzicht bieden in het type kanalen dat geschikt is voor het verplaatsen van teliosporen in de bodem. Op het Staringcentrum is de specifieke deskundigheid en het materiaal aanwezig om dergelijke slijpplaten te vervaardigen. Door gebrek aan menskracht is de medewerking beperkt gebleven tot het vervaardigen van één slijpplaat. In deze slijpplaat waren teliosporen in de wortelkanalen te zien.

Aanbeveling: onderzoek bij het DLO-Staringcentrum om de kanalen te identificeren die teliosporen in de bodem gebruiken.

5.3 Tijdsaspect

Er zijn aanwijzingen dat alleen infectie van knoppen in een jong stadium tot systemische infectie leidt. Scheuten die in het voorjaar boven de grond komen, kunnen reeds in de voorafgaande nazomer als knoppen aanwezig zijn. Om systemische infectie van scheuten in het voorjaar te krijgen lijkt infectie van knoppen in nazomer en/of najaar noodzakelijk. De vraag is dan of de omstandigheden in nazomer en najaar optimaal zijn voor knopinfectie.

Temperatuur en vochtgehalte zijn factoren die meestal invloed hebben op de kieming van schimmelsporen en infectie van planten door schimmels.

Teliosporen van de roestschimmel kiemen in het traject 5 - 20 °C. Bij 25 °C kiemt nog maar een gering deel van de teliosporen (< 5 %). Onder laboratoriumomstandigheden is knopinfectie aangetoond bij 10, 15 en 20 °C. Bij 5 °C is geen knopinfectie gevonden hoewel dat op grond van de kieming van teliosporen te verwachten was. Een verklaring kan zijn dat knopontwikkeling en kieming van sporen relatief traag is bij deze temperatuur en dat de tijd van waarnemen, 8 weken, te kort was om infectie te ontdekken. Vooralsnog is de conclusie dat knopinfectie mogelijk is in het traject van circa 10 °C tot circa 20 °C. Uit temperatuurmetingen op 10 en 30 cm bodemdiepte in de proefterreinen is af te leiden dat een dergelijk temperatuurtraject kenmerkend is voor nazomer en herfst. Gelet op temperatuur zal het aanbrengen van teliosporen in nazomer en najaar tot knopinfectie kunnen leiden.

Kiem- en infectie-experimenten in het laboratorium zijn uitgevoerd onder hoge luchtvochtigheid en beschikbaarheid van vrij water. Wanneer en waar deze omstandigheden in de bodem optreden is niet te meten. Alleen grofweg is aan te geven dat nazomers met weinig of geen neerslag ongunstig zullen zijn voor knopinfectie. In het najaar zal meestal voldoende neerslag vallen. Dan bestaat echter het gevaar dat de bodem waterverzadigd raakt. De resulterende anaërobie van de bodem kan de kieming van de teliosporen negatief beïnvloeden. In laboratoriumproeven zijn aanwijzingen verkregen voor een dergelijk effect van anaërobie.

Aanbeveling: effect van anaërobie, door waterverzadiging van de bodem, op kieming van teliosporen en knopinfectie onderzoeken.

5.4 Resistentie

Bij infectie-experimenten onder geconditioneerde omstandigheden werden teliosporen op wortelstukken zonder, zichtbare, knoppen gebracht. Het tijdstip van knopvorming bleek de kans op knopinfectie te bepalen. Relatief laat ontwikkelde knoppen hadden een geringere kans op infectie dan eerder gevormde knoppen. De meest waarschijnlijke verklaring is dat teliosporen een beperkte tijd infectieus zijn. Knoppen die na de infectieuze periode worden gevormd, zullen infectie vermijden. De praktische consequentie van dit effect kan zijn dat het aanbrengen van teliosporen in het veld op één tijdstip slechts tot beperkte knopinfectie leidt. Knopinfectie zal beperkter zijn naarmate de variatie in knopvorming groter is.

Aanbeveling: uitgebreider onderzoek naar infectiekansen op basis van variatie in de knopvorming en verspreiding van teliosporen.

Na correctie voor het vermijdingseffect bleek er een significant verschil in knopinfectie te zijn tussen distelklonen: verschil in resistentie. Variatie in resistentie was er zowel bij het vergelijken van distelklonen uit hetzelfde proefterrein als bij het vergelijken van distelklonen uit verschillende proefterreinen.

Gemiddeld over alle experimenten en distelklonen was er een kans van 1 op de 11 dat een teliospore een knop infecteerde mits er contact tussen knop en teliospore was. Het is waarschijnlijk dat de infectiekans afhankelijk is van het gebruikte isolaat (isolaat = verzameling schimmelsporen oorspronkelijk afkomstig uit één terrein) van *P. punctiformis*.

Aanbeveling: onderzoek naar (combinaties van) isolaten om de infectiekans te vergroten (beperken resistentie).

5.5 Veldproeven

In november 1990, zijn zes proefvlakken van 4m bij 4m bespoten met een suspensie van *P. punctiformis* sporen. Proefvlakken in drie terreinen zijn bespoten (Almere, Dinteloord, Yerseke). De uitgangssuspensie bevatte 139 mg sporen (63 % teliosporen op basis van aantallen) in 100 ml gedestilleerd water en 0.67 volume procent lecithine (NAT6007 van de firma Nattermann). Uitgangspunt was 94 ml per m² te spuiten. Gespoten is met een spuitboom van 4m lengte voorzien van 12 Birchmeier-doppen (type 1.6-173a-1.3 mm tol). Spuitdruk op de boom was 2,5 Bar. Het aantal teliosporen dat binnen de bespoten vlakken op de grond kwam, werd bepaald. Gemiddeld over de zes vlakken en drie terreinen resulteerde het spuiten in 1158 teliosporen per cm² (standaardfout 40 teliosporen). De behandeling leidde in geen van de drie terreinen tot een significante verhoging van de fractie systemisch geïnfecteerde scheuten in juni 1991.

In 1991 zijn de veldproeven in gewijzigde opzet uitgevoerd. Enerzijds vanwege de teleurstellende resultaten in het voorgaande jaar anderzijds vanwege een beperkte beschikbaarheid aan teliosporen. Eind september zijn in twee terreinen (Dinteloord en Yerseke) zes proefvlakken bespoten. De uitgangssuspensie bevatte 70 mg sporen (60 % teliosporen op getalsbasis) per 100 ml gedestilleerd water en 0.34 volume procent lecithine. De verdere uitvoering was vergelijkbaar met het voorgaande jaar. In één van de terreinen werd de behandeling begin oktober herhaald om de kans op gunstige omstandigheden voor inspoelen en infectie te vergroten. Gemiddeld over de drie spuitbeurten resulteerde het spuiten in 451 teliosporen per cm² (standaardfout 23 teliosporen). In geen van beide terreinen leidde de

bespuiting tot een significante verhoging van de fractie systemisch geïnfecteerde scheuten in juni 1992.

Uit gegevens van de natuurlijke produktie en verspreiding van teliosporen is af te leiden dat de hoeveelheid gespoten teliosporen in beide jaren vergelijkbaar of zelfs vele malen groter was dan de hoeveelheid die van nature verspreid wordt in de nazomer en najaar. Gelet op de hoeveelheid gespoten teliosporen zou een significante verhoging van de fractie systemisch geïnfecteerde scheuten in het voorjaar te verwachten zijn. Mogelijke verklaringen voor het ontbreken van een spuiteffect zijn in het voorgaande al aangestipt: belemmeringen voor het transport van de teliosporen naar de knoppen (par. 5.2), een ongunstig tijdstip van spuiten t.a.v. de omstandigheden voor knopinfectie (par. 5.3), een grote variatie in het tijdstip van knopvorming (par. 5.4) en resistentie (par. 5.4).

Aanbeveling: in een tijdreeks, binnen nazomer en najaar, teliosporen verspreiden om de meest gunstige tijdstippen voor knopinfectie te bepalen. Deze tijdstippen relateren aan knopontwikkeling van akkerdistel, weersomstandigheden en bodemfactoren. De factor transport naar de knoppen kan worden uitgeschakeld door teliosporen direct bij de wortels te brengen in plaats van bovengronds spuiten.

6. Effect *Puccinia punctiformis* op akkerdistel

Dit deel van het onderzoek was oorspronkelijk gekoppeld aan de veldproeven beschreven in hoofdstuk 5.5. Experimenteel ingrijpen in de fractie systemisch geïnfekteerde scheuten is de enige manier om een oorzakelijk verband tussen infectie en de groei en bloei van distelhaarden te bepalen. Aangezien het manipuleren van het infectieniveau niet is gelukt, is getracht op andere wijze inzicht te krijgen in het effect van de roestschimmel op distelhaarden.

6.1 Generatieve vermeerdering

Binnen één van de proefterreinen (Yerseke) was van nature een relatief hoge mate van, en veel variatie in, aantasting van de akkerdistel door de schimmel. Voor dit terrein is bloei en zaadproductie gerelateerd aan de fractie systemisch geïnfekteerde scheuten. Significante correlaties werden echter niet gevonden. Dit resultaat betekent dat er geen sterk oorzakelijk verband tussen fractie systemisch geïnfekteerde scheuten en bloei/zaadproductie was. Dit, gegeven een variatie in de fractie systemisch geïnfekteerde scheuten van 0,08 - 0,21 in de 8 onderzochte proefvlakken.

Tellingen tijdens het onderzoek toonden eens te meer aan dat minder dan 1 % van de systemisch geïnfekteerde scheuten tot bloei komt. Dat desondanks geen effect van systemische infectie op bloei en zaadproductie van de gehele distelhaard werd gevonden kan duiden op compenserende mechanismen. Een distelkloon zou extra, niet geïnfekteerde, scheuten kunnen vormen die bloeien en zaad produceren óf de reeds aanwezige, niet-geïnfekteerde, scheuten zouden meer bloeiwijzen kunnen vormen en extra zaad produceren. Het is wel de vraag of dit soort compenserende mechanismen, indien aanwezig, ook nog voldoende zijn bij hoge fracties systemisch geïnfekteerde scheuten (bv. > 0,50).

6.2 Vegetatieve vermeerdering

Gegevens van twee terreinen (Almere, Huissen) zijn gebruikt in een matrix populatiemodel. Uit de simulaties is af te leiden dat:

- a. gegeven de natuurlijke infectieniveaus in de terreinen (fractie systemisch geïnfekteerde scheuten < 0,10) werd de persistentie van distelhaarden weinig beïnvloed door systemische infectie;
- b. de vorming van scheuten op distelvrije plekken via uitgroeiende wortels is de bepalende factor voor de persistentie van distelhaarden.

De model resultaten duiden erop dat het gebruik van de roestschimmel alleen de persistentie van distelhaarden kan reduceren indien systemische infectie leidt tot een verminderde groei-capaciteit van de wortels. Indien de schimmel al een effect op de groeicapaciteit van de wortels in de onderzochte proefterreinen had, was dit effect te gering om de persistentie te beïnvloeden. Of bij hogere infectieniveaus, dan bepaald in de onderzochte terreinen, de persistentie wordt beïnvloed, is met experimenten onder geconditioneerde omstandigheden in te schatten.

6.3 Gewenst aantastingsniveau

De gewenste fractie systemisch geïnfecteerde scheuten, om groei en bloei van distelhaarden te reduceren, lijkt in sterke mate bepaald te worden door mechanismen van akkerdistel die verliezen als gevolg van de infectie kunnen compenseren. In welke mate compensatie kan optreden is een nog te beantwoorden vraag.

Aanbeveling: onderzoek onder geconditioneerde omstandigheden naar mechanismen van de akkerdistel om schade door *P. punctiformis* infectie te compenseren.

7. Biologische bestrijding akkerdistel

Het is niet gelukt om in veldproeven de fractie systemisch geïnfecteerde scheuten te manipuleren (H 5.5). Akkerdistel blijkt over meer mogelijkheden te beschikken om de negatieve invloed van schimmelaantasting te beperken dan aan het begin van het onderzoek verwacht werd. De verkregen resultaten bieden echter voldoende aanknopingspunten om alsnog een geschikte methode van biologische bestrijding te ontwikkelen. In de hoofdstukken 5 en 6 zijn reeds diverse aanbevelingen geformuleerd die elk afzonderlijk hun waarde hebben. In dit hoofdstuk worden prioriteiten gesteld en wordt de grote lijn geschetst voor een vervolg op het onderhavige project.

Zowel voor een commerciële toepassing van *P. punctiformis* ter bestrijding van akkerdistel als het uitvoeren van grootschalige veldexperimenten is een efficiënte produktie van teliosporen noodzakelijk. De kostprijs van sporen wordt hier als maat voor efficiëntie genomen. In het onderhavige project werd een kostprijs van circa f100,- per gram sporen, exclusief kosten van bewaren, gerealiseerd. Ter vergelijking, van der Wal & Zadoks (1975) kwamen voor het produceren van urediniosporen van tarweroest tot een kostprijs van f 100,- per gram sporen. Twee belangrijke rendementsverbeteringen van de produktie van *P. punctiformis* teliosporen liggen voor de hand. Ten eerste zou door selectie van geschikte schimmel-plant combinaties de sporenproduktie per produktieve plant aanzienlijk verhoogd kunnen worden. Ten tweede lijkt een aanzienlijke kostenbesparing mogelijk door mechanisatie van de sporenoogst en de daarmee gepaard gaande besparing aan arbeidskosten. In plaats van planten individueel af te zuigen, kunnen planten op een geschikt tijdstip geoogst en vermalen worden. Teliosporen en plantdelen dienen vervolgens gescheiden te worden met een, nog te ontwikkelen, scheidingsmethode. Een andere mogelijkheid is om een gemechaniseerde afzuiginstallatie te ontwikkelen die grote aantallen planten tegelijk kan verwerken. Dit naar analogie van een methode die in de Verenigde Staten wordt toegepast voor de commerciële produktie van de roestschimmel *Puccinia canaliculata* (Schw.) Lagerh. tegen *Cyperus esculentus* L. (Knolcyperus) (Mondelinge mededelingen Weidemann, Universiteit van Arkansas, 1991).

Cruciaal voor het ontwikkelen van een methode voor de biologische bestrijding is het bepalen van het tijdstip dat contact tussen teliosporen en knoppen tot infectie kan leiden.

Het tijdstip wordt hier geïnterpreteerd als:

- knoppen aanwezig in een vatbaar stadium;
- de abiotische omstandigheden (temperatuur, vocht) zijn gunstig voor knopinfectie.

Gelet op de genotypische/fenotypische variatie in knopvorming bij akkerdistel zullen teliosporen waarschijnlijk meerdere keren op een gunstig tijdstip bij de wortels aanwezig moeten zijn. Dit lijkt beter te realiseren door teliosporen rechte reeks bij de wortels te brengen dan door, bovengronds, teliosporen te spuiten. Bij spuiten bovengronds is het onzeker of, en op welk tijdstip, teliosporen de knoppen bereiken. Teliosporen kunnen d.m.v. injecteren (bv. in grasland) of ploegen (bv. ruderaal terreinen) bij de wortels gebracht worden. Aan een dergelijke wijze van teliosporen aanbrengen, kleven echter ook nadelen. De aanwezige vegetatie wordt beschadigd, hetgeen met name in natuurterreinen ongewenst kan zijn. In terreinen als de voormalige slikken en schorren in het Markiezaatsgebied zal het gebruik van het gangbare materieel (ploeg, mestinjecteur) op problemen stuiten. Ook zullen de kosten hoger zijn dan bij het gebruik van spuitapparatuur. Deze nadelen waren even zovele redenen om in de veldproeven van het onderhavige project te kiezen voor spuiten. Nu de voordelen van inwerking van teliosporen in de bodem zo evident lijken te zijn, verdient deze werkwijze toch de voorkeur. De voormelde nadelen van inwerken kunnen voor een deel opgeheven worden

door het ontwikkelen van handzame apparatuur die ook in moeilijk toegankelijke gebieden te gebruiken is.

De efficiëntie van de teliosporenproductie, de mate van efficiëntie van teliosporentoediening in het veld en het bestrijdingseffect bepalen de uiteindelijke prijs van de biologische bestrijding van akkerdistel met *P. punctiformis*. Zowel een verlaging van het aantal benodigde teliosporen per m² veldoppervlak als een verhoging van het aantal geproduceerde teliosporen per m² fytotronruimte/arbeidsuur zorgen voor een lagere prijs. Of een concurrerende marktprijs te realiseren is, zal echter niet alleen afhankelijk zijn van de technische mogelijkheden maar ook van de maatschappelijke context (zie hoofdstuk 8).

8. **Perspectief biologische bestrijding onkruiden**

In Nederland zal vooralsnog de bioherbicide strategie op basis van inheemse schimmels gevolgd worden voor de biologische onkruidbestrijding. Bij de klassieke strategie van biologische bestrijding, introductie van natuurlijke vijanden in Nederland, bestaat het risico dat andere plantesoorten dan het beoogde onkruid worden aangetast (Scheepens & Hoogerbrugge, 1991). Bezien op wereldschaal, zijn tot nu toe alleen schimmels gebruikt bij de bioherbicide strategie. Verondersteld wordt dat schimmels makkelijker te produceren en toe te passen zijn dan andere typen organismen. Niet uit te sluiten is dat in de toekomst andere natuurlijke vijanden worden toegepast.

Het onderzoek van de groep Scheepens van het CABO-DLO aan de loodglansschimmel *Chodrostereum purpureum* (Pers. ex Fr.) Pouzar tegen de Amerikaanse vogelkers (*Prunus serotina* Erhr.) heeft de potentie van biologische onkruidbestrijding in Nederland aangetoond. Afhankelijk van de toelatingsprocedure zal op kortere of langere termijn de loodglansschimmel als bioherbicide op de markt komen. De vraag of dit produkt een incident of een koploper is, zal belicht worden door de rol van diverse actoren in de biologische onkruidbestrijding te beschrijven.

8.1 **Rol van overheid**

De overheid, in casu de Rijksoverheid, dient de belangen van diverse maatschappelijke groeperingen af te wegen en in beleid te vertalen. Bij de biologische bestrijding zijn diverse geledingen van de maatschappij betrokken.

Consumenten eisen voedsel en water dat vrij is van schadelijke stoffen voor de gezondheid. Al dan niet terecht, chemische bestrijdingsmiddelen worden als schadelijk en ongewenst beschouwd. Voedsel en water raken meer en meer verontreinigd door het huidige gebruik aan chemische bestrijdingsmiddelen. Er is druk op de overheid om het gebruik aan chemische bestrijdingsmiddelen terug te dringen.

Landbouwers gebruiken chemische bestrijdingsmiddelen om verliezen in gewasopbrengst te voorkomen. Er wordt echter een kosten-baten analyse gemaakt. Een mogelijke opbrengstderiving wordt afgewogen tegen de kosten van de onkruidbestrijding. Landbouwers zijn minder geïnteresseerd in de wijze van onkruidbestrijding dan wel de kosten van onkruidbestrijding. Er is druk op de overheid om goedkope methoden van onkruidbestrijding toe te staan. Voor producenten van chemische bestrijdingsmiddelen geldt een analoog verhaal als voor de landbouwers. Zij zijn primair geïnteresseerd in de financiële opbrengsten van hun produkten. Omschakeling van chemische bestrijdingsmiddelen naar biologische bestrijdingsmiddelen betekent respectievelijk kapitaalvernietiging en investering in nieuwe produktiemethoden. Een verhoogde, financiële, omzet zal deze kosten moeten compenseren. Er is druk op de overheid om bedrijven met een winstgevende omzet te laten draaien.

Onderzoekers willen onderzoek verrichten. Persoonlijke overtuigingen buiten beschouwing gelaten, maakt het niet uit welk type onderzoek mits het maar aansluit bij het eigen vakgebied. Er is druk op de overheid om onderzoek te laten verrichten dat interessant is voor de onderzoeker in kwestie.

Uit deze min of meer tegengestelde belangen dient beleid ontwikkeld te worden. Te verwachten is (zie bijvoorbeeld het Meerjarenplan Gewasbescherming) dat het gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen beperkt wordt door de overheid. Enerzijds door het ver-

bieden van middelen die het meest schadelijk worden geacht anderzijds door het gebruik duurder te maken. Naarmate een dergelijk beleid krachtiger zal worden gevoerd, lijkt biologische onkruidbestrijding voor zowel industrie als landbouwers interessanter te worden. Behalve een restrictief beleid ten aanzien van chemische bestrijdingsmiddelen kan de overheid ook een positief beleid voeren om de biologische onkruidbestrijding te stimuleren. Hoewel subsidies voor landbouwers, bestrijdingsmiddelenindustrie en onderzoekers voor de hand liggen, zijn er ook andere mogelijkheden voor een stimulerend beleid. Ten eerste door de patentering van (het ontwikkelen van) biologische bestrijdingsmiddelen beter te regelen. Ten tweede door duidelijkheid te creëren rond de toelating van biologische bestrijdingsmiddelen. De regelgeving ten aanzien van patentrechten en toelating wordt door het bedrijfsleven als belemmering ervaren voor het op de markt brengen van biologische bestrijdingsmiddelen. Een nieuw aanvraagformulier voor de toelating van biologische bestrijdingsmiddelen is inmiddels opgesteld naar aanleiding van de geuite kritiek.

8.2 Rol van producenten bestrijdingsmiddelen

Op de industrie zal druk uitgeoefend worden om selectief werkende, snel afbreekbare bestrijdingsmiddelen te produceren. Het ontwikkelen van dergelijke middelen zal leiden tot een kostenverhoging. Het toetsen van meer chemische verbindingen zal noodzakelijk zijn om een verbinding te vinden die tot een commercieel bestrijdingsmiddel te ontwikkelen is. Ter compensatie van de gestegen kosten zal óf de afzet van bestrijdingsmiddelen in volume moeten toenemen óf de prijs van het produkt omhoog moeten. De marges voor beide opties lijken smal.

Selectiviteit en een snelle afbraak is voor schimmels meer regel dan uitzondering. In vergelijking met chemische verbindingen zal het toetsen van een gering aantal schimmels al een selectief werkende, snel afbreekbare schimmel opleveren. Dit kan een kostenvoordeel zijn ten opzichte van chemische bestrijdingsmiddelen. Het optimaliseren van de werking lijkt voor een schimmel meer tijd te vergen dan voor een chemische verbinding. Het formuleren van algemene werkingsprincipes voor de biologische bestrijding (zie par. 3) kan bijdragen aan het versnellen van het optimalisatieproces. In de produktiefase zijn geen al te grote verschillen in kosten te verwachten tussen biologische en chemische bestrijdingsmiddelen. Dit onder voorwaarde dat een bedrijf voldoende kennis van, en ervaring met, produktie van schimmels heeft. Het grotendeels ontbreken van deze kennis en ervaring bij de huidige producenten van chemische bestrijdingsmiddelen kan de aanwezige huiver voor biologische bestrijding misschien verklaren. De kwaliteit van een bestrijdingsmiddel is de basis voor afzet op de markt. Op dit punt scoort de biologisch bestrijding lager dan de chemische door de variatie die inherent is aan organismen. Indien producenten en gebruikers leren omgaan met deze variatie lijkt dit punt geen belemmering te zijn voor de toepassing van biologische onkruidbestrijding.

8.3 Rol van onderzoekers

De rol van onderzoekers buiten de industrie wordt hier belicht. Onderzoekers bij onderzoeksinstellingen hebben een voortrekkersrol gespeeld bij het introduceren van biologische bestrijdingsmiddelen tegen onkruiden. Op wereldschaal bezien zijn er nu enkele sprekende voorbeelden. Het is echter irreëel om te verwachten dat onderzoekers op ruime schaal voor biologische bestrijdingsmiddelen zullen zorgen. Dit is noch wetenschappelijk gezien interessant noch qua onderzoekscapaciteit mogelijk. De resultaten van het onderhavige project, en ervaringen elders met het ontwikkelen van biologische bestrijdingsmiddelen, geven aan dat

een aanzienlijke onderzoeksinvestering vereist is om een schimmel tot biologisch bestrijdingsmiddel te ontwikkelen. Onderzoekers kunnen wel een belangrijke rol vervullen bij het formuleren van meer algemene werkingsprincipes van biologische onkruidbestrijding die toegepast kunnen worden bij het ontwikkelen van biologische bestrijdingsmiddelen door de industrie. In concreto lijken drie kernvragen van belang voor toekomstig onderzoek naar biologische onkruidbestrijding:

1. Wat zijn de belangrijkste afweermechanismen van onkruiden tegen schimmels en verschillen dezen tussen éénjarige en meerjarige, klonaal groeiende onkruiden?
2. Welke typen schimmels (bv. biotroof/facultatief) zijn het meest geschikt om deze afweermechanismen te doorbreken, en onder welke omstandigheden?
3. Wat zijn de risico's van het gebruik van de diverse typen schimmels (aantasting niet-beoogde plantesoorten, verontreiniging milieu, gezondheidseffecten)?

Door de onderzoeksstrategie van het onderhavige project, elders meer uitvoerig beschreven (Frantzen, in voorbereiding), op verschillende typen onkruiden en schimmels toe te passen, zijn de eerste twee vragen te beantwoorden. Met het beantwoorden van de derde vraag is ervaring opgedaan voor een aantal aspecten (bv. De Jong e.a., 1990) maar een duidelijke onderzoeksstrategie is nog niet geformuleerd.

9. Conclusies en aanbevelingen

Akkerdistel beschikt over diverse mechanismen om infectie door de roestschimmel *Puccinia punctiformis* en de daaraan verbonden negatieve effecten te beperken. Deze mechanismen kunnen verklaren dat veldproeven om akkerdistel met *P. punctiformis* te bestrijden zonder resultaat bleven. Het verkregen inzicht in deze mechanismen biedt echter aanknopingspunten om de potentie van *P. punctiformis* als biologisch bestrijdingsmiddel met meer succes te ontwikkelen.

Prioriteiten voor het verder ontwikkelen van *Puccinia punctiformis* als biologisch bestrijdingsmiddel voor akkerdistel zijn:

1. De kostprijs van teliosporen verlagen door de productie te mechaniseren en productieve combinaties van plant- en schimmelmateriaal te selecteren;
2. Het ontwikkelen van handzame apparatuur om teliosporen bij de wortelknoppen te brengen;
3. Bepalen van het meest geschikte tijdstip om teliosporen van de roestschimmel bij wortelknoppen te brengen.

De overheid heeft een centrale rol bij het op ruime schaal toepassen van biologische onkruidbestrijding in Nederland, zowel door een restrictief beleid t.a.v. chemische bestrijdingsmiddelen als een stimulerend beleid t.a.v. biologische bestrijdingsmiddelen. Onderzoekers buiten de industrie kunnen aan de toepassing van biologische bestrijdingsmiddelen bijdragen door het formuleren van algemene werkingsprincipes van biologische onkruidbestrijding. Het onderzoek naar, en het ontwikkelen van, biologische bestrijdingsmiddelen voor het hele scala aan onkruiden is primair een taak van het bedrijfsleven.

Dankwoord

Wij zijn dank verschuldigd aan de beherende instanties van de onderzoeksterreinen, vooral hun medewerkers, voor de bereidwillige medewerking bij het onderzoek.

Medewerking werd verleend door:

Rijksdienst voor de IJsselmeerpolders / Rijkswaterstaat Flevoland

Rijksdienst voor de IJsselmeerpolders, afdeling Delta

Staatsbosbeheer

Natuurmonumenten

Zeeuws Landschap

Dank zijn wij ook verschuldigd aan de leden van de wetenschappelijke begeleidingscommissie voor hun kritisch en inspirerend meedenken bij de uitvoering van het onderzoek:

Dr. Ir. M. Hoogerkamp (CABO-DLO)

Ir. H. Naber (LUW)

Dr. Ir. H. van de Baan (VROM)

Mr. Drs. P. van der Meer (VROM)

Dr. B. van Leeuwen (LNV)

Prof. Dr. J.C. Zadoks (LUW)

Literatuur

- Anikster Y. 1986.
Teliospore germination in some rust fungi. *Phytopathology* 76: 1026-1030.
- Backes C. 1989.
Complicaties bij de toepassing van bestuursdwang na een verplichte lastgeving.
Nederlands Tijdschrift voor Bestuursrecht 89/1: 2-8.
- Brosten S.B. & D.S. Sands, 1986.
Field trials of *Sclerotinia sclerotiorum* to control Canada thistle (*Cirsium arvense*). *Weed Science* 34: 377-380.
- Buller A.H.R., 1950.
Researches on fungi VII. Toronto University Press, Toronto.
- Cockayne A.H., 1915.
Californian thistle rust. *The Journal of Agriculture* 12: 300-302.
- De Jong M.D., P.C. Scheepens & J.C. Zadoks, 1990.
Risk analysis for biological control: a Dutch case study in biocontrol of *Prunus serotina* by the fungus *Chondrostereum purpureum*. *Plant Disease* 74: 189-194.
- Donald W.W., 1990.
Management and control of Canada thistle (*Cirsium arvense*). *Reviews of Weed Science* 5: 193-250.
- Frantzen J., In voorbereiding.
Dovetailing plant population biology and phytopathology for biological weed control: *Puccinia punctiformis* against *Cirsium arvense*. Proefschrift LU Wageningen.
- Nationale Raad voor Landbouwkundig Onderzoek. 1978.
De akkerdistel: beschouwd vanuit landbouw, natuur en landschap.
- Sands D.C., E.J. Ford & R.V. Miller, 1990.
Genetic manipulation of broad host-range fungi for biological control of weeds. *Weed Technology* 4: 471-474.
- Scheepens P.C. & A. Hoogerbrugge, 1991.
Host specificity of *Puccinia canaliculata*, a potential biocontrol agent for *Cyperus esculentus*. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 97: 245-250.
- Van der Wal A.F. & J.C. Zadoks, 1975. De kunstmatige besmetting van tarwe met uredosporen van de bruine roest (*Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici* Eriks.).
Landbouwuniversiteit Wageningen.
- Watson A.K. & W.J. Keogh, 1980. Mortality of Canada thistle due to *Puccinia punctiformis*. In: E.S. Delfosse (ed.) *Proceedings of the V International Symposium on Biological Control of Weeds*. CSIRO, Melbourne, 325-332.