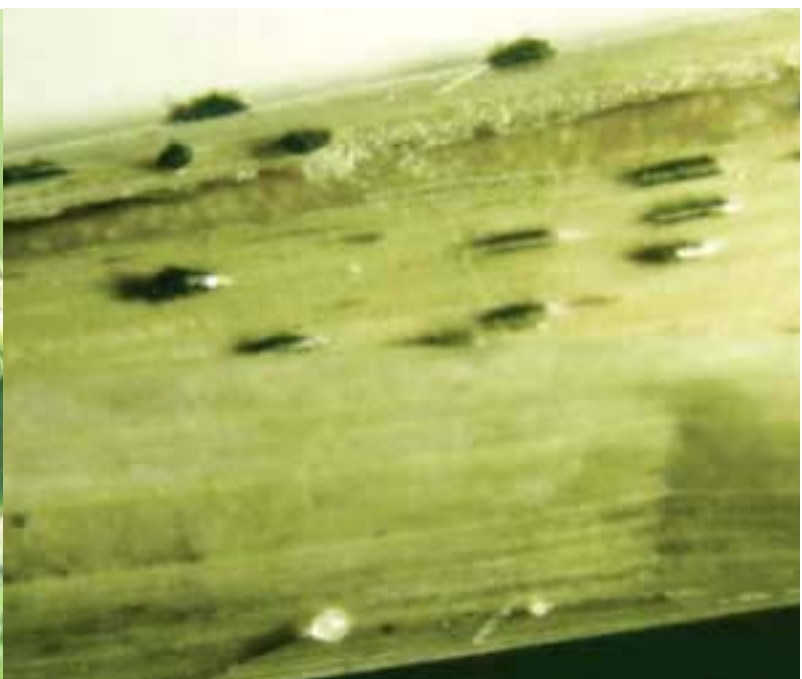


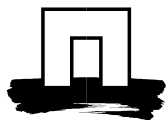
Inventarisatie en preventie van de belangrijkste bladvlekkenziekten in tarwe veroorzaakt door *Pyrenophora tritici-repentis* (DTR) en *Septoria tritici*

Verslag over Deel 2

J. Köhl, G.H.J. Kema, N.J. Fokkema, M. Gerlagh, H.M. Goossen-van de Geijn,
P. Kastelein & E.C.P. Verstappen



Rapport 43



‘Inventarisatie en preventie van de belangrijkste bladvlekkenziekten in tarwe veroorzaakt door *Pyrenophora tritici-repentis* (DTR) en *Septoria tritici*’

Verslag over Deel 2

J. Köhl, G.H.J. Kema, N.J. Fokkema, M. Gerlagh, H.M. Goossen-van de Geijn,
P. Kastelein & E.C.P. Verstappen

Plant Research International B.V., Wageningen
december 2003

Rapport 43

© 2002 Wageningen, Plant Research International B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Plant Research International B.V.

Exemplaren van dit rapport kunnen bij de (eerste) auteur worden besteld. Bij toezending wordt een factuur toegevoegd; de kosten (incl. verzend- en administratiekosten) bedragen € 50 per exemplaar.

Projectleider van het in de hoofdstukken 2 t/m 4 beschreven onderzoek:

J. Köhl
BU Gewas- en Productie Ecologie
Cluster Beheersing van Ziekten en Plagen

Projectleider van het in de hoofdstukken 5 en 6 beschreven onderzoek:

G.H.J. Kema
BU Biointeracties en Plantgezondheid
Cluster Genetica van Pathogenen

Plant Research International B.V.

Adres : Droevendaalsesteeg 1, Wageningen
: Postbus 16, 6700 AA Wageningen
Tel. : 0317 - 47 70 00
Fax : 0317 - 41 80 94
E-mail : post@plant.wag-ur.nl
Internet : <http://www.plant.wageningen-ur.nl>

Inhoudsopgave

	pagina
Voorwoord	1
Samenvatting en aanbevelingen	3
Synopsis	3
Landelijke inventarisaties 1999 en 2000 van ziekten en plagen in wintertarwe	3
Biologie en epidemiologie van DTR	3
Veldproeven op Proefboerderij Ebelsheerd	6
Karakterisering van DTR-populaties	6
Resistentieonderzoek	6
1. Achtergrond en doelstelling	9
2. Landelijke inventarisaties 1999 en 2000 van ziekten en plagen in wintertarwe	11
2.1 Inleiding	11
2.2 Methodiek en uitvoering	11
2.3 Weersgesteldheid groeiseizoenen 1998-1999 en 1999-2000	14
2.4 Gewasontwikkeling groeiseizoenen 1998-1999 en 1999-2000	17
2.5 Incidentie en severity van DTR en <i>Septoria tritici</i>	18
2.6 Overige ziekten en plagen	24
2.7 Discussie	29
2.8 Samenvatting	29
3. Biologie en epidemiologie van DTR	31
3.1 Inleiding	31
3.2 Herkenning en morfologische ontwikkeling van DTR-peritheciën	33
3.3 Tarwestrodekken met natuurlijke besmetting en hun betekenis als infectiebron	35
3.4 DTR in tarwe-praktijkpercelen naast stoppels, opslag en strodekken	42
3.5 Stro van andere gewassen dan tarwe als bron voor DTR	43
3.6 Conditie voor ascosporenproductie	46
3.7 Effect van strobilurine op de overleving van DTR op stro en stoppels	52
3.8 Grassen als reservoir voor DTR	54
3.9 DTR-sporenluchten	56
3.10 Vatbaarheid grassen en granen voor DTR-isolaten	59
4. Veldproeven op Proefboerderij Ebelsheerd	67
4.1 Inleiding	67
4.2 Effect van grondbewerking op DTR	67
4.3 Effect van rij-afstand en vroege stikstofgift op DTR	69
4.4 Besmet tarwestro als infectiebron voor aangrenzende percelen	72
5. Karakterisering van DTR populaties	81
5.1 Inleiding	81
5.2 Karakterisering van isolaten die op grassen werden aangetroffen	81
5.3 AFLP analyse van Nederlandse <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> isolaten	83
5.4 Pathogeniteitsbepalingen van Nederlandse <i>P. tritici-repentis</i> isolaten	86
5.5 Conclusies	87

	pagina
6. Resistentie onderzoek	89
6.1 Inleiding	89
6.2 Vergelijking oude en nieuwe <i>Mycosphaerella graminicola</i> isolaten	89
6.3 Frequentieverdeling een kandidaat avirulentiegen en de mating type alleen in Nederlandse en Franse <i>M. graminicola</i> populaties	90
6.4 Conclusies	93
Referenties	95
7. Literatuur	97
Bijlage I. Projectvoorstel inventarisatie en preventie van de belangrijkste bladvlekkenziekten in tarwe, veroorzaakt door <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (DTR) en <i>Septoria tritici</i>	8 pp.
Bijlage II. Akkerbouwbedrijven betrokken bij de landelijke inventarisaties 1999 en 2000	1 p.
Bijlage III. Gegevens van de in 1999 op ziekten en plagen geïnventariseerde tarwepercelen	1 p.
Bijlage IV. Gegevens van de in 2000 op ziekten en plagen geïnventariseerde tarwepercelen	1 p.
Bijlage V. Ontwikkeling van DTR bij de inoculatieproeven van november 1999 tot en met oktober 2000	5 pp.
Bijlage VI. Kenmerken van de in vatbaarheids- en pathogeniteitsproeven gebruikte inocula	2 pp.
Bijlage VII. Proefveldgegevens veldproeven Ebelsheerd	3 pp.
Bijlage VIII. Temperatuur- en neerslaggegevens veldproeven Ebelsheerd	2 pp.
Bijlage IX. Isolaten collectie Nederlandse <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> isolaten	5 pp.
Bijlage X. Pathogeniteitstoetsen Nederlandse <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> isolaten	1 p.

Voorwoord

In de Nederlandse akkerbouw vervullen granen een belangrijke rol in de gewasrotatie. Zij dragen bij aan het herstel van de bodemstructuur en verhinderen de opbouw van een aantal belangrijke ziekten, plagen en onkruiden in aardappel en suikerbiet. Ook in de granen zelf kunnen verschillende ziekten en plagen optreden.

Om tijdig problemen in de teelt van wintertarwe te onderkennen worden sinds 1993 op initiatief van het voormalige Stichting Nederlands Graancentrum jaarlijks de ziekten en plagen geïnventariseerd die optreden in percelen met dit gewas. Na het opheffen van het Graancentrum in 1996 zijn de landelijke inventarisaties tot en met 1997 voortgezet onder auspiciën van het Productschap voor Granen, Zaden en Peulvruchten. Er werd niet alleen gelet op de aanwezigheid van ziekten en plagen, maar ook of er verschillen zijn tussen bedrijfssystemen. Door de inventarisaties is een goed beeld verkregen van de mate van optreden van de verschillende schadelijke organismen in de tarweteelt in Nederland. Het meest opvallende is het vanaf 1994 in Oost-Groningen en later vanaf 1996 in geheel Nederland optreden van de schimmel *Pyrenophora tritici-repentis* (DTR), een agressief pathogeen dat al wel in Oost- en Midden-Europa en Noord-Amerika veel schade aanricht maar vooralsnog niet of nauwelijks in Nederland is geconstateerd. De ziekte met jaarlijks de hoogste incidentie is *Septoria tritici* geweest.

In de jaren 1998 tot en met 2000 zijn in het kader van het project 'Inventarisatie en preventie van de belangrijkste bladvlekkenziekten in tarwe, veroorzaakt door *Pyrenophora tritici-repentis* (DTR) en *Septoria tritici*' de landelijke inventarisaties in beperkte vorm voortgezet en is onderzoek gestart naar de biologie en epidemiologie van DTR in Nederland.

Vanuit het Productschap voor Granen, Zaden en Peulvruchten is het project (zie Bijlage I voor het projectvoorstel) begeleid door een commissie samengesteld uit onderstaande leden:

H. Brinks (De Landbouw Voorlichting, Bennekom),
 J. de Buck (CZAV, Wemeldinge),
 J. Geluk (Dinteloord),
 F. Hamminga (Semundo, Ulrum),
 D. Hartkamp (Productschap Granen, Zaden en Peulvruchten, Den Haag),
 H.C. de Jong (Cebeco Zaden B.V., Lelystad),
 J. de Keijzer (Nederlandse Vereniging van Meelfabrikanten, Rotterdam),
 C.A.M. Marcelis (Productschap Granen, Zaden en Peulvruchten, Den Haag),
 H.A.T.M. Schepers (Praktijkonderzoek voor de Akkerbouw en de Vollegrondsgroenteteelt, Lelystad),
 D. van der Wal (Wageningen).

Verscheidene keren per jaar is de begeleidingscommissie op de hoogte gebracht van de resultaten van de inventarisaties en de vorderingen van het onderzoek. Bij die gelegenheden heeft de commissie actief deelgenomen aan een kritische beschouwing van de behaalde resultaten en aan de besluitvorming over bijstellingen en accentverschuivingen gedurende de loop van het project. De basis voor de landelijke inventarisaties wordt gevormd door de percelen van de, in Bijlage II genoemde, akkerbouwers. Zonder hun medewerking was het niet mogelijk geweest het project uit te voeren. De ondersteuning van J.P. Blok, B. Hoeksema en G.J. Roseboom van Proefboerderij Ebelsheerd te Nieuw Beerta (Gr), M. van den Bogert, J.H. den Dunnen, M.R. Holdinga, J. Mekking en M.A.J. van der Scheur van het Proefbedrijf Plant te Wageningen is bij de werkzaamheden in het veld onmisbaar geweest.

Samenvatting en aanbevelingen

Synopsis

DTR is in 1999 en 2000 respectievelijk op 75 en 25% van de geïnventariseerde tarwepercelen aangetroffen. De aantasting was in het algemeen gering; toch wijzen de ernstige aantastingen die op enkele percelen zijn aangetroffen op een potentieel gevaar. Het onderzoek heeft aangetoond dat het risico van een zware DTR-aantasting, naast ruime vruchtwisseling, sterk vermindert door intensieve grondbewerking waardoor de eerste infecties door ascosporen van besmette tarwestoppels onmogelijk worden. Om dezelfde reden dient ook de aanwezigheid van tarwestoppels of dekstro langs de randen van tarwepercelen te worden vermeden. Stro kan alleen besmet worden wanneer het desbetreffende gewas voordat het afsterft door DTR wordt aangetast. Deze gunstige omstandigheid is waarschijnlijk te danken aan de van nature aanwezige niet-pathogene microflora. Van belang is de constatering dat besmet stro gedurende meerdere jaren infectieus kan zijn. Veldtoepassingen met strobilurine-bevattende DTR-fungiciden bleken geen effect te hebben op de ontwikkeling van DTR op stro en op de afbraak hiervan. Bij het onderzoek naar de rol van wilde grassen en andere granen als waardplant voor DTR bleek met name kweek een risicovolle besmettingsbron.

De genetische diversiteit van de schimmel die DTR veroorzaakt, *Pyrenophora tritici-repentis*, is fijn verdeeld, bestaat uit meerdere fysio's en is gedeeltelijk afkomstig van onkruiden c.q. grassen in de akkerranden. Een zelfde fijne verdeling is ook waargenomen voor de veroorzaker van septoria tritici bladvlekkenziekte, de belangrijkste tarweziekte in Europa, de schimmel *Mycosphaerella graminicola*. Het effect van resistentie in tarwerassen heeft waarschijnlijk maar een zeer beperkt effect op de samenstelling van de schimmelpopulatie. Dit bemoeilijkt de langdurige bestrijding van deze schimmel in ernstige mate, temeer omdat recent ook grootschalige fungicidenresistentie is opgetreden.

Landelijke inventarisaties 1999 en 2000 van ziekten en plagen in wintertarwe

In vijf verschillende regio's is in 1999 en 2000 op in elk jaar 40 percelen wintertarwe het optreden van *Pyrenophora tritici-repentis* (DTR, Gele bladvlekkenziekte), 'Septoria bladvlekkenziekte' en overige ziekten en plagen in drie rondes (tijdens uitstoeeling, bloei en afrijping van de gewassen) geïnventariseerd. De aantasting door DTR was in beide jaren gering. Tijdens de uitstoeeling en bloei kwam DTR nog maar sporadisch voor. Tijdens de afrijping werd in 1999 op 30 percelen DTR aangetroffen. In 2000 kwam DTR op slechts 10 van de 40 percelen voor. Met name in Zuid-Limburg en in het Oldambt kon DTR zich in beide jaren op een aantal individuele percelen sterk ontwikkelen. *Septoria tritici* kwam in 1999 algemeen voor, maar de aantasting was zeer gering. In 2000 was 'Septoria bladvlekkenziekte' dominant aanwezig, maar meestal beperkt tot de onderste bladlagen.

De algemene ziektedruk was in 1999 en 2000 laag. Naast DTR en 'Septoria bladvlekkenziekte' kwam 'Meeldauw' algemeen voor. In beide jaren was de 'Oogvlekkenziekte' de belangrijkste voetziekte en het 'Graanhaantje' de belangrijkste plaag.

Biologie en epidemiologie van DTR

Herkenning en morfologische ontwikkeling van DTR-peritheciën

De peritheciën van DTR zijn zwart, 0,5 mm lang en hebben vaak stekels. De vruchtlichamen verschijnen vaak pas na de oogst in groepjes op het stro en zijn met het blote oog moeilijk te onderscheiden van vruchtlichamen van andere schimmels die gelijktijdig in de directe nabijheid van DTR-peritheciën

kunnen voorkomen. Microscopisch onderzoek van de vruchtlichamen is noodzakelijk voor de vaststelling van de identiteit.

De peritheciën van DTR doorlopen van winter tot zomer de volgende stadia: jonge peritheciën met een inhoud van dicht opeen gepakte schimmeldraden; peritheciën met jonge ascosporen; peritheciën met rijpe ascosporen; oude peritheciën met weinig inhoud.

Tarwestrodekken met natuurlijke besmetting en hun betekenis als infectiebron

De waarnemingen aan stro afkomstig van zwaar door DTR aangetaste tarwe tonen aan dat dit stro een belangrijke bron van ascosporen van DTR is. De ascosporen worden alleen gedurende het voorjaar gevormd en uitgestoten. Na begin juli werden in beide jaren geen peritheciën met ascosporen meer gevonden. Naast oude peritheciën die leeg waren, werden er in de zomermaanden steeds ook tussen de 10 en 20% jonge peritheciën met een inhoud van ongedifferentieerde schimmeldraden op het stro waargenomen. Van groot belang zijn de waarnemingen aan overjarig stro die aantonen dat overjarig stro nog een even sterke inoculumbron kan zijn als vers stro.

Op met DTR geïnfecteerd stro en op de peritheciën worden zeer weinig ongeslachtelijke sporen (conidiën) gevormd. Conidiën spelen vooral een rol bij de verspreiding van DTR vanuit sporulerende bladvlekken. Dit betekent dat de verspreiding van DTR vanuit besmet stro via ascosporen plaatsvindt. In een proef met vangplanten rond besmet stro konden ascosporen slechts tarweplanten infecteren die op minder dan een meter afstand van het besmette stro stonden.

Bij gebruik van stro als afdeklaag bij de teelt van vorstgevoelige gewassen in gebieden met veel tarwe-teelt [zie het verslag over Deel 1 van het huidige project (Kema *et al.*, 1999) voor voorbeelden], is het risico op verspreiding van DTR te beperken door inwaaien van stro in tarwepercelen te voorkomen door bufferzones van enkele meters (onbeteelde wendakkers, sloten, kavelpaden, e.d.) tussen strodekken en tarwepercelen.

DTR in tarwe-praktijkpercelen naast stoppels, opslag en strodekken

Mede doordat in 1999 en 2000 de aantasting door DTR in Nederland gering was en bovendien in 2000 laat op gang kwam is uit de drie gerichte observaties niet duidelijk geworden in welke mate een naburig stoppelveld of dekstro een risico vormt voor DTR-aantasting in een aangrenzend tarwegewas. Dit in tegenstelling tot de eerder beschreven observaties in 1998. De positionering ten opzichte van de overheersend westelijke windrichting was niet optimaal. Bovendien was bij de observaties in 1999 de besmetting van stoppels en stro met DTR gering. Wel is duidelijk dat, indien stro of stoppels besmet zijn met DTR-peritheciën, DTR zich via de vrijkomende ascosporen in de tarweopslag kan vestigen. Voor de vaststelling van dit risico moeten vruchtlichamen op verdacht stro microscopisch worden onderzocht. De voorgeschiedenis van de percelen en/of het optreden van bladvlekjes in opslagplanten geeft onvoldoende informatie.

Stro van andere gewassen dan tarwe als bron voor DTR

Op het in mei 2000 bemonsterde stro van haver, gerst, raaigras en koolzaad, dat in 1999, als gewas, van nature was blootgesteld aan vluchten van DTR-conidiën, konden geen DTR-peritheciën worden gevonden. DTR-peritheciën met ascosporen werden alleen op het stro van een door DTR aangetast perceel aangetroffen. De waarnemingen aan stro van haver, gerst, raaigras en koolzaad uit Oost-Groningen waar DTR endemisch is, geven dus aan dat deze gewasresten geen belangrijke rol spelen in de epidemiologie van DTR.

Wanneer het stro van deze gewassen vooraf wordt gesteriliseerd kan DTR het stro wel koloniseren en worden er rijpe ascosporen gevormd. DTR kan zich dus onder natuurlijke omstandigheden alleen goed op stro vestigen en daar overwinteren wanneer dit stro van een gewas betreft dat in een vroeg stadium (groen blad) door DTR is geïnfecteerd. Als DTR in een later stadium met stro in contact komt dan heeft het pathogeen, waarschijnlijk vanwege concurrerende schimmels en bacteriën, geen kans meer.

Conditie voor ascosporenproductie

De ontwikkeling van DTR-peritheciën is nader onderzocht op stro met DTR dat maandelijks van november 1999 tot oktober 2000 buiten is uitgelegd. Op geautoclaveerd stro ontwikkelt DTR zich net zo als op stro met een natuurlijke besmetting. De ontwikkeling van DTR op de maandelijks op het veld neergelegde strocultures en porties stro met natuurlijk inoculum maakt duidelijk dat de peritheciën voor de vorming van ascosporen enige tijd aan lage (winterse) temperaturen moeten zijn blootgesteld.

Doordat er een koude periode nodig is voor de peritheciën om rijpe ascosporen te ontwikkelen kunnen er in het groeiseizoen geen secundaire generaties van ascosporen worden gevormd om bij te dragen aan de verspreiding van de DTR-aantasting in het gewas. Wel blijft DTR minstens één jaar in staat peritheciën met ascosporen te vormen, waardoor ook overjarig stro een infectiebron kan zijn. Stro dat door DTR is gekoloniseerd kan dus gedurende minimaal twee jaar rijpe ascosporen vormen.

Effect van strobilurine op de overleving van DTR op stro en stoppels

De waarnemingen aan stro en stoppels van tarwe die met strobilurine bevattende fungiciden (o.a. Allegro, Amistar) is behandeld, tonen aan dat, hoewel de mate van besmetting met DTR na toepassing van strobilurine uiteraard lager is, deze groep fungiciden vrijwel geen effect heeft op de ontwikkeling van de schimmel op gewasresten en de afbraak hiervan. Na onderploegen bepaalt het bodemtype in zekere mate de snelheid van de afbraak van gewasresten en de mogelijkheid voor DTR om hierop te overleven. De snelheid van rijping van de peritheciën verschilt op ondergrondse gewasresten niet essentieel van de rijping bovengronds. De na een jaar nog aangetroffen jonge peritheciën op in zand begraven stro geven aan dat ingegraven gewasresten gedurende meer dan een jaar, zodra ze boven de grond komen, een infectiebron kunnen zijn.

Grassen als reservoir voor DTR

De resultaten van de inventarisaties van grasvegetaties rond tarwepercelen maken het aannemelijk dat kweek een reservoir is voor DTR in tarwe. In de directe omgeving van zestig procent van de door DTR aangetaste tarwepercelen is kweek gevonden met DTR-infecties. Er zijn echter ook aangetaste percelen met in de nabijheid kweek zonder DTR en niet aangetaste tarwepercelen met in de nabijheid kweek met DTR. Van zeven verschillende wilde grassen, met verdachte bladvlekken in de nabijheid van de geïnventariseerde tarwepercelen, is alleen kweek onomstotelijk door DTR aangetast. De bladvlekken op Engels raaigras waren ook verdacht, maar bleken niet door DTR te zijn veroorzaakt. Verder blijkt wintergerst een waard voor DTR te kunnen zijn.

DTR-sporenluchten

In 1999 en in 2000 zijn er op de Ebelsheerd gedurende de zomer en herfst, en in 2000 ook al in de lente, DTR-conidiënvluchten waargenomen die waarschijnlijk afkomstig zijn van door DTR aangetaste kweek in de directe nabijheid van de sporenval. Dit geeft aan dat door DTR aangetaste kweek gedurende deze periodes in principe een infectiebron voor naburige tarwe is. Ascosporen worden in veel geringere aantallen aangetroffen. De ontwikkeling van de ascosporen in de peritheciën in kweek lijkt niet af te wijken van die in tarwe. Het risico van kweek als inoculumbron kan gezien worden als het risico van een overblijvende tarwe. Aanwezigheid van kweek en met name door DTR aangetaste kweek in tarwepercelen is dus een reëel risico.

Vatbaarheid grassen en granen voor DTR-isolaten

Van de in de vatbaarheidsproeven getoetste granen en grassen is alleen tarwe sterk vatbaar gebleken voor DTR. Na elke inoculatie werden na enkele dagen grote aantallen bladvlekken gevormd. Met uitzondering van haver, waren de andere granen minder vatbaar (gerst en rogge) of ongevoelig (maïs). Daar DTR niet sporuleerde op haver, is er in dit geval mogelijk sprake van overgevoeligheid. Van de grassen is kweek het meest vatbaar gebleken voor DTR. Steeds werden na inoculatie bladvlekken gevormd. Van de andere grassen is niet duidelijk in hoeverre zij vatbaar zijn. In sommige experimenten werden bladvlekken gevormd of stierven de bladpunten af, terwijl de betreffende soort in andere experimenten geen reactie vertoonde. Mogelijk duiden de waargenomen reacties op resistentie of overgevoeligheid.

Van kweek afkomstige DTR-isolaten zijn even pathogeen voor tarwe als van tarwe afkomstige isolaten. Verder is aangetoond dat DTR van tarwe na infectie en kolonisatie van kweek bij herisolatie even pathogeen voor tarwe is gebleven. Het risico op een DTR-besmetting is te beperken door een goede bestrijding van kweek.

Veldproeven op Proefboerderij Ebelsheerd

Effect van grondbewerking op DTR

De in Nederland gebruikelijke praktijk om tarwepercelen kort na de oogst onder te ploegen draagt bij aan de beheersing van DTR. Het is duidelijk aangetoond dat een meer oppervlakkige grondbewerking de ziekte, wanneer deze eenmaal aanwezig is, in stand houdt. De gevonden effecten van de grondbewerking op de ontwikkeling van DTR komen overeen met resultaten van buitenlands onderzoek (Bockus & Claassen, 1992; Frahm, persoonlijke mededeling; Von Kröcher, persoonlijke mededeling).

Effect van rij-afstand en vroege stikstofgift op DTR

Door het geringe optreden van DTR in 2000, bevestigt alleen het veldexperiment in 1999 (EH911) de in 1998 door Kema *et al.* (1999) gevonden effecten, met dien verstande dat met name het stimulerend effect van een verhoogde vroege stikstofgift (150 kg/ha) op DTR kon worden aangetoond. Dit nadelig effect van een hoge vroege stikstofgift op DTR had, wellicht mede door het lage aantastingsniveau, geen consequenties voor de opbrengst.

Besmet tarwestro als infectiebron voor aangrenzende percelen

Stoppelveldjes van door DTR aangetaste tarwe vormen een besmettingsbron voor tarwe in aangrenzende percelen. Het verschijnen van de eerste symptomen van DTR in de strook grenzend aan het stoppelveldje van veldproef EH0010, in een periode waarop ascosporen vrijkwamen uit de peritheciën van DTR op de stoppels, wijzen erop dat deze stoppels de bron waren van de infecties in het tarwegewas. Vanaf de rand van het stoppelveld tot op 25 m van het stoppelveld was een afname van de aan de rand sterk verhoogde DTR-aantasting waar te nemen.

Voorkoming van deze eerste besmetting door zorg te dragen voor een stoppelvrije bufferzone van 15 m is een belangrijke maatregel voor de beheersing van DTR.

DTR en *Septoria tritici* lijken elkaar te beconcurreren, waardoor de kans op extra schade door het gelijktijdig optreden van beide pathogenen onwaarschijnlijk is.

Karakterisering van DTR-populaties

De genetische diversiteit van de *Pyrenophora tritici-repentis* populatie in Nederland is fijn verdeeld en is niet afkomstig van één bepaalde bron. Desondanks is de populatie in Ebelsheerd sterk bepalend voor het geheel van de populatie. Er zijn meerdere fysio's vastgesteld waarbij Fysio 1 veel voorkomt en het grootste verspreidingsgebied heeft. Isolaten van kweek kunnen een bron van infectie vormen voor tarwe onder Nederlandse omstandigheden. De samengestelde *P. tritici-repentis* collectie is een uitstekend uitgangspunt voor resistentieonderzoek.

Resistentieonderzoek

Mycosphaerella graminicola veroorzaakt septoria tritici bladplekkenziekte, de belangrijkste tarweziekte in Europa. De oude en nieuwe *M. graminicola* populaties verschillen niet met betrekking tot de frequentie van de mating type alleen en een gen (ORF43) dat betrokken is bij de pathogenese in tarwe. Lokale *M. graminicola* populaties verkeren in een random mating evenwicht, maar desondanks verschilt de frequentie van ORF43 significant in *M. graminicola* populaties van vergelijkbare grootte. De selectiedruk

van resistentie in tarwerassen op de frequentie van ORF43 is vooralsnog onduidelijk. Fundamentele informatie over de frequentie van avirulentiefactoren in lokale *M. graminicola* populaties, in relatie tot de resistentie van tarwerassen en de grote genetische diversiteit van dergelijke populaties, is van fundamenteel belang voor het begrijpen van duurzaamheid van resistentie en het ontwikkelen van een effectief resistentiemanagement tegen deze schimmel. Te meer omdat resistentie tegen strobilurine fungiciden zich recent grootschalig heeft ontwikkeld en verspreid.

1. Achtergrond en doelstelling

In de jaren 1993 tot en met 1997 is op het DLO-Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek een project 'Inventarisatie graanziekten in veranderende bedrijfssystemen' uitgevoerd in opdracht van het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij (LNV; DWK-programma 265: 'Optimalisatie biologisch teeltproces') en de Stichting Nederlands Graan-Centrum (later Productschap voor Granen, Zaden en Peulvruchten). Eén van de resultaten van dit project was de documentatie van het, vanaf 1994, optreden in Nederland van de gele bladvlekkenziekte (DTR) van tarwe veroorzaakt door de schimmel *Pyrenophora tritici-repentis*. Het vervolgproject 'Inventarisatie en preventie van de belangrijkste bladvlekkenziekten in tarwe veroorzaakt door *Pyrenophora tritici-repentis* (DTR) en *Septoria tritici*' is van 1998 tot en met 2001 uitgevoerd in opdracht van LNV (DWK-programma 337: 'Management van plantenpathogene schimmels en bacteriën' en DWK-programma 342: 'Ecologisering van de plantaardige productie in de akkerbouw en de vollegrondsgroenteteelt') en het Productschap voor Granen, Zaden en Peulvruchten. De oorspronkelijke doelen van het project zijn:

- een verklaring te geven voor het plotselinge optreden van DTR in Nederland,
- een verklaring te geven voor de snelle verspreiding van DTR door het gewas en door Nederland,
- factoren te identificeren die het optreden van DTR en *Septoria tritici* bevorderen,
- ontwikkeling van beheersingstrategieën,
- inzicht te geven in de populatiesamenstelling van DTR en *Septoria tritici*,
- op grond daarvan aanbevelingen te doen ten aanzien van rassenkeuze,
- een bijdrage te leveren aan resistentieveredelingsprogramma's.

Voor de uitvoering van het project worden de volgende activiteiten onderscheiden:

- literatuuronderzoek/kennisinventarisatie,
- gerichte ziekteninventarisatie,
- ecologie van DTR (de ecologie van *Septoria tritici* is voldoende bekend),
- verklarende veldproeven,
- karakterisering DTR en *Septoria tritici* populaties,
- rassenproeven (i.s.m. veredelingsbedrijven en PAV).

Literatuuronderzoek/kennisinventarisatie en gerichte ziekteninventarisatie vormden Deel 1 van het project met een separate verslaglegging die begin 1999 is verschenen (IPO-DLO Rapport nr. 99-01). Hierin zijn de resultaten samengevat van de, in 1998, met behulp van literatuuronderzoek en interviews uitgevoerde inventarisatie van in het buitenland aanwezige kennis over DTR, de landelijke ziekteninventarisatie 1998 alsmede de statistische analyse op preventieve teeltfactoren voor de ziekte. Op grond van de resultaten van het eerste deel van het project is besloten het project in zijn geheel uit te voeren.

In het voorliggende Verslag over Deel 2 van het project worden de resultaten samengevat van de in 1999 en 2000 uitgevoerde landelijke inventarisaties van ziekten en plagen in wintertarwe, van onderzoek gericht op het verkrijgen van inzicht in inoculumbronnen en epidemiologie van DTR in voor Nederland relevante teeltsystemen alsmede van genetisch onderzoek aan DTR en *Septoria tritici* populaties en resistentieonderzoek.

2. Landelijke inventarisaties 1999 en 2000 van ziekten en plagen in wintertarwe

2.1 Inleiding

Sinds 1993 wordt wintertarwe jaarlijks geïnventariseerd op de aanwezigheid van ziekten en plagen. Tot 1998 zijn de, in het kader van het project 'Inventarisatie graanziekten in veranderende bedrijfssystemen' uitgevoerde, inventarisaties gericht geweest op het vaststellen van eventuele effecten van gangbare, geïntegreerde en ecologische teeltsystemen op de aanwezigheid en druk van de verschillende ziekten en plagen. De resultaten van deze inventarisaties zijn samengevat in de onderzoeksrapporten 'Inventarisatie van ziekten en plagen in wintertarwe in gangbare, geïntegreerde en ecologische teeltsystemen in Nederland in de periode 1993-1997' (Tamis & Van den Brink, 1998) en 'Inventarisatie en preventie van de belangrijkste bladplekkenziekten in tarwe, veroorzaakt door *Pyrenophora tritici-repentis* (DTR) en *Septoria tritici*. Verslag over Deel 1' (Kema *et al.*, 1999), alsmede in een wetenschappelijke publicatie (Tamis & Van den Brink, 1999).

Ten opzichte van voorgaande jaren zijn de landelijke inventarisaties van ziekten en plagen van 1999 en 2000 kleiner in omvang geweest en niet gericht op het analyseren van verschillen tussen bedrijfssystemen, regio's en jaren. Deze inventarisaties hebben vooral een signalerende functie betreffende de mate van voorkomen van de, in Tabel 2.1 vermelde, belangrijkste ziekten en plagen.

In dit hoofdstuk worden na een beschrijving van de werkwijze bij de landelijke inventarisaties 1999 en 2000, de weersgesteldheid en ontwikkeling van wintertarwe in de groeiseizoenen 1998/1999 en 1999/2000, de resultaten van de in beide jaren uitgevoerde inventarisaties gepresenteerd.

2.2 Methodiek en uitvoering

Selectie van percelen

Voor de selectie van de percelen in de inventarisatiejaren 1999 en 2000 is gebruik gemaakt van het bestand van akkerbouwbedrijven die in 1998 hebben meegewerkt aan de eerste fase van het project 'Inventarisatie en preventie van de belangrijkste bladplekkenziekten in tarwe, veroorzaakt door *Pyrenophora tritici-repentis* (DTR) en *Septoria tritici*'. De in dit onderzoek betrokken bedrijven liggen verspreid over de belangrijkste akkerbouwgebieden van Nederland (Tabel 2.2) en hebben ook in de jaren 1993 t/m 1997 meegewerkt aan het project 'Inventarisatie graanziekten in veranderende bedrijfssystemen'.

Tabel 2.1. De belangrijkste ziekten en plagen van wintertarwe in Nederland tijdens de inventarisaties in de periode 1993 – 1997¹.

Ziekte of plaag	Wetenschappelijke naam	Mate van voorkomen ²
<i>Voetziekten</i>		
Fusarium-voetziekte	<i>Fusarium</i> spp.	***
Oogvlekkenziekte	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i>	**
Scherpe oogvlekkenziekte	<i>Rhizoctonia cerealis</i>	**
Tarwehalmdoder	<i>Gaeumannomyces graminis</i>	*
<i>Bladziekten</i>		
Gele roest	<i>Puccinia striiformis</i>	*
Bruine roest	<i>Puccinia recondita</i>	**
Meeldauw	<i>Blumeria graminis</i>	***
Septoria bladvlekkenziekte	<i>Septoria tritici</i>	***
Kafjesbruin	<i>Stagonospora nodorum</i>	**
DTR	<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	**
Sneeuwschimmel	<i>Fusarium nivale</i>	**
Gerstevergelingsvirus	Barley Yellow Dwarf Virus (BaYDV)	*
<i>Aarziekten</i>		
Kafjesrood	<i>Fusarium</i> spp.	**
Kafjesbruin	<i>Stagonospora nodorum</i>	*
Meeldauw	<i>Blumeria graminis</i>	**
Moederkoren	<i>Claviceps purpurea</i>	*
<i>Plagen</i>		
Graanhaantje	<i>Lema cyanella</i>	***
Bladmineerder	o.a. <i>Hydrellia</i> sp.	**
Tarwestengelgalmug	<i>Haplodiplosis</i> sp.	*
Slak	o.a. <i>Arion</i> sp.	*
Bladluis	o.a. <i>Sitobion</i> sp., <i>Rhopalosiphum</i> sp.	***

¹ Gegevens ontleend aan Tabel 1.3 van het onderzoeksrapport 'Inventarisatie van ziekten en plagen in wintertarwe in gangbare, geïntegreerde en ecologische teeltsystemen in Nederland in de periode 1993 - 1997' (Tamis & Van den Brink, 1998).

² Mate van voorkomen: * = weinig, ** = matig, *** = veel voorkomend.

Tabel 2.2. Regionale spreiding van de in 1999 en 2000 bemonsterde percelen.

Regio	Sub-regio	Aantal percelen	
		1999	2000
Centrale Zeeklei (CZK)	Noordoostpolder	3	3
	Oost-Flevoland	6	3
	Zuid-Flevoland	3	4
Noordelijke Zeeklei (NZK)	Oost-Groningen	5	4
	West-Groningen	3	3
	Wieringermeer	4	3
Zuidwestelijke Zeeklei (ZWK)	Hoeksewaard	4	4
	Zeeuwse eilanden	3	3
	Zeeuws Vlaanderen	3	2
Noordoost Nederland (NON)	Drenthe	2	3
Zuidoost Nederland (ZON)	Achterhoek	1	3
	Betuwe	2	2
	Zuid-Limburg	2	3

De akkerbouwbedrijven zijn in de maand februari aangeschreven met het verzoek percelen met winter-tarwe aan te melden voor de inventarisatie. Op het voor dit doel gebruikte registratieformulier diende informatie verstrekt te worden over de aangemelde percelen (o.a. oppervlakte, grondsoort, vruchtwisseling en grondbewerking) en het erop geteelde gewas (o.a. ras en zaaidatum).

In 1999 werden tot de sluitingsdatum in maart in totaal 60 percelen aangemeld. Uit de percelen van gangbare en geïntegreerde bedrijven zijn 38 percelen geselecteerd. Bij de selectie is vooral gelet op het geteelde ras (Bercy, Residence, Ritmo, Tower of Vivant) en zaaidatum (november 1998 of eerder, rond de vorstperiode van begin december 1998 of in januari 1999). Voor de overige criteria (teeltsysteem, voorvrucht en ruimtelijke spreiding binnen de sub-regio) zijn de percelen op dezelfde manier via een gewogen loting geselecteerd als tijdens het project 'Inventarisatie graanziekten in veranderende bedrijfssystemen'. Dit wil zeggen dat het aantal geïnventariseerde percelen per sub-regio ongeveer evenredig is met het areaal wintertarwe, dat er zowel gangbare als geïntegreerde bedrijven bij betrokken zijn en dat de variatie in grondsoort, grondbewerking en voorvrucht zo groot mogelijk is. Daarnaast zijn in Zuidelijk Flevoland twee ecologische percelen Tambor geïnventariseerd. Om ecologische percelen wintertarwe in andere akkerbouwgebieden in het onderzoek te betrekken, is in Zeeland een extra (41^e) perceel geïnventariseerd met een mengsel van de wintertarwerassen Hereward, Herzog, Rector, Renan en Tambor. Dit extra perceel is van een bedrijf dat in voorgaande jaren niet betrokken is geweest bij de inventarisaties van het project 'Inventarisatie graanziekten in veranderende bedrijfssystemen'. Een overzicht van de in 1999 bezochte tarwepercelen en informatie over de betrokken bedrijven is opgenomen in Bijlage III.

In 2000 werden in totaal 109 percelen aangemeld. Uit de percelen ingezaaid met de rassen Drifter, Residence, Ritmo, Tower en Vivant zijn 37 percelen geselecteerd volgens de criteria van het project 'Inventarisatie graanziekten in veranderende bedrijfssystemen'. Daarnaast zijn in Zuidelijk Flevoland twee ecologische percelen Renan en in Zeeland één ecologisch perceel met een mengsel van wintertarwerassen (Hereward, Herzog, Rector en Tambor) geïnventariseerd. Een overzicht van de bedrijven waarvan in 2000 tarwepercelen zijn geïnventariseerd, is opgenomen in Bijlage IV.

Inventarisatieronden

In beide jaren is voor het inventariseren van de geselecteerde percelen de procedure van voorgaande inventarisaties gevolgd (Tamis & van den Brink, 1998). Het inventarisatiewerk is door één en dezelfde persoon uitgevoerd. Zowel in 1999 als in 2000 zijn de geselecteerde percelen driemaal bezocht. In 1999 zijn de percelen tussen 20 april en 5 mei (Decimale Code 23 – 32), tussen 4 en 19 juni (Decimale Code 45 – 68) en tussen 13 en 23 juli (Decimale Code 75 – 89) respectievelijk voor de eerste, tweede en derde maal bemonsterd. Tijdens de inventarisatie 2000 is tussen 5 en 20 april (Decimale Code 22 – 31), tussen 26 mei en 9 juni (Decimale Code 43 – 64) en tussen 28 juni en 11 juli (Decimale Code 78 – 85) bemonsterd. Bij elke inventarisatieronde zijn eerst de percelen in het zuiden van het land bezocht. De rondes zijn steeds in Groningen geëindigd.

Bemonsteringsmethodiek

Bij elke bemonstering is volgens eenzelfde patroon, via een diagonaal, door hetzelfde deel van het perceel gelopen. Na elke 5 – 10 meter is een plant uitgetrokken. Tijdens de eerste ronde zijn van 25 planten de twee meest ontwikkelde spruiten beoordeeld op de aanwezigheid van ziekten en plagen. Bij de latere rondes is van 50 planten de hoofdspruit beoordeeld. Per perceel is voor elke waargenomen ziekte of plaag de incidentie bepaald. De incidentie is het percentage eenheden (halm, blad of kafje), waarop de ziekte of plaag is geconstateerd. Elke halm is beoordeeld op de aanwezigheid van voetziekten en bladluizen. Van de halmen zijn alle groene bladeren (ca. 3-5 bladeren per halm) beoordeeld op de aanwezigheid van bladziekten en schade door insecten en slakken. Tijdens het laatste veldbezoek zijn de kafjes (ca. 30 per aar) op afrijpingsziekten beoordeeld. Er zijn geen gegevens verzameld over onkruiden, nematoden, gebreksziekten en andere fysiologische verschijnselen.

Tijdens de laatste ronde van 1999 is van de ‘Gele bladvlekkenziekte’ (DTR) naast de incidentie (het percentage groene bladeren waarop één of meerdere vlekken van DTR aanwezig waren) ook de severity (zwaarte van de aantasting) geschat. Voor het schatten van de severity zijn alle door DTR aangetaste bladeren in het monster verzameld en gerangschikt naar toenemende percentage door de ziekte aangetast bladoppervlak. Vervolgens is de mediaan van de percentages aangetast bladoppervlak gebruikt als maat voor de severity van DTR.

Evenals in voorgaande jaren, is voor elk perceel via een registratieformulier informatie verzameld over de genomen teeltmaatregelen. Deze gegevens zijn verzameld met het doel het vanaf 1993 opgebouwde bestand aan te vullen. Deze in 1999 en 2000 verzamelde data zijn niet bewerkt. De data kunnen eventueel in de toekomst gebruikt worden bij het analyseren van effecten van teeltmaatregelen op het optreden van ziekten en plagen.

2.3 Weersgesteldheid groeiseizoenen 1998-1999 en 1999-2000

In navolging van voorgaande verslagen van de landelijke ziekteninventarisaties loopt het groeiseizoen van wintertarwe van september tot en met augustus. De beschrijvingen van de weersgesteldheid zijn gebaseerd op de door het Koninklijk Nederlands Meteorologisch Instituut (KNMI) gepubliceerde maandoverzichten van het weer in Nederland (Anonymus, 1998, 1999, 2000).

Groeiseizoen 1998-1999

De maandgemiddelden voor temperatuur, zonneschijn en neerslag voor het groeiseizoen 1998/1999 staan in Tabel 2.3.

Tabel 2.3. *Maandgemiddelden voor temperatuur, zonneshijns en neerslag in het groeiseizoen 1998-1999 in Nederland.*

Maand	Temperatuur (°C)						Zonneshijns (uren)		Neerslag (mm)	
	Gemid	Norm	Gemid dag max	Norm	Gemid dag min	Norm	Gemid	Norm	Gemid	Norm
<i>1998</i>										
Sept	15,0	14,3	18,4	18,3	12,0	10,4	110	133	139	69
Okt	10,1	10,8	12,5	14,2	7,3	7,5	58	100	174	73
Nov	4,1	6,3	6,7	8,9	1,3	3,6	85	54	94	80
Dec	4,1	3,5	6,7	5,7	2,2	1,0	55	36	76	78
<i>1999</i>										
Jan	5,2	2,3	7,5	4,5	2,7	-0,2	71	42	83	67
Feb	3,3	2,5	5,8	5,2	0,5	-0,1	98	72	62	47
Maart	7,1	4,8	10,4	8,1	3,9	1,7	113	104	78	61
April	9,7	7,7	13,6	11,6	5,9	3,9	178	154	54	50
Mei	13,9	11,9	18,2	16,2	9,4	7,7	229	201	46	57
Juni	15,0	14,9	19,5	19,1	10,3	10,6	227	190	76	67
Juli	18,9	16,6	23,5	20,7	14,2	12,5	258	190	47	75
Aug	17,7	16,7	22,1	21,0	13,3	12,5	173	185	87	69

Gegevens ontleend aan de maandoverzichten van het weer in Nederland van het KNMI; Gemid: etmaal-gemiddelden; Norm: klimatologische normaal voor 1961-1990; Gemid dag max: gemiddelde van de dagelijkse maxima; Gemid dag min: gemiddelde van de dagelijkse minima.

Het groeiseizoen begon met een zeer natte en koude herfst. De winter was aan de natte kant en zacht. De lente en zomer van 1999 waren warm en zonnig met een normale hoeveelheid neerslag.

Het KNMI heeft het maandelijks weerbeeld als volgt gekarakteriseerd:

September 1998 was warm, zeer nat en somber.

Oktober 1998 was aan de koele kant, zeer nat en zeer somber. De regen was niet alleen intensief maar het heeft ook langdurig geregend. Oktober 1998 was één van de natste en somberste oktobermaanden van de eeuw.

November 1998 was koud, nat en aan de zonnige kant. De eerste tien dagen waren zeer nat. De regenrijke dagen waren een voortzetting van een extreem natte periode vanaf september. Deze eeuw heeft nog niet zo'n natte herfst gehad. Na de natte herfst viel de winter vroeg in. Tussen 17 en 25 november vroom het bijna iedere dag.

December 1998 was zacht, zonnig en wat de neerslag betreft, normaal. Toch begon de maand koud. Tot 8 december vroom het bijna elke nacht. De rest van de maand voerde een krachtige zuidweststroming van tijd tot tijd zeer zachte lucht aan.

Januari 1999 was zeer zacht en nat, maar toch ook zonnig. In het begin van de maand leek het voorjaar met temperaturen tussen 10 en 15°C. Vanaf 6 januari ging de temperatuur flink omlaag. Tussen 9 en 13 januari vroom het 's nachts en steeg de temperatuur overdag tot het vriespunt. Na deze korte periode met vorst werd het tot het eind van de maand weer zacht en regenachtig. De laatste dagen van januari waren weer koud met matige vorst in de nacht.

Februari 1999	bracht veel sneeuw. Toch was februari geen koude maand en was de zon vaak te zien.
Maart 1999	was zeer zacht en nat. De eerste 10 dagen waren zeer nat en somber. Ondanks het sombere begin was maart aan de zonnige kant.
April 1999	was zeer zacht en zonnig met ongeveer een normale hoeveelheid neerslag. Alleen tussen 14 en 20 april was er een koude periode met nachtvorsten. Tegen het eind van de maand was het zacht lenteweer.
Mei 1999	was zeer warm, zonnig en aan de droge kant.
Juni 1999	was zonnig en aan de natte kant met een voor deze eerste zomermaand vrijwel normale temperatuur.
Juli 1999	was zeer warm, zeer zonnig en droog.
Augustus 1999	was nat en somber, maar wel warm. Tijdens de eerste vier dagen van de maand was er sprake van droog en heet weer. Daarna kreeg het weer een sterk wisselvallig en onstabiel karakter.

Groeiseizoen 1999-2000

De weergesteldheid van het groeiseizoen 1999-2000 is samengevat in Tabel 2.4.

De herfst was warm, zonnig en droog. Daarna volgden een zeer zachte en natte winter en lente. De zomer van 2000 was een normale Nederlandse zomer.

Het maandelijkse weerbeeld is door het KNMI als volgt omschreven:

September 1999	was extreem warm, zonnig en aan de droge kant. Op enkele dagen halverwege de maand was er sprake van tropische temperaturen.
Oktober 1999	was droog en zonnig. Na een zacht begin volgde een koude periode rond het midden van de maand. Oktober eindigde weer zacht, waardoor het maandgemiddelde van de temperatuur vrijwel normaal was.
November 1999	was zacht, droog en zonnig. Alleen in het midden van de maand had het weer een winters karakter.
December 1999	was stormachtig, zacht en zeer nat, maar toch ook zonnig. In het midden van de maand was het tijdelijk wat kouder met vorst in de nacht.
Januari 2000	was, ondanks enkele korte perioden van koude, zacht. Verder was de maand droog en zonnig.
Februari 2000	was zeer zacht, zeer nat, maar door het sterk wisselvallige weer ook zeer zonnig.
Maart 2000	was nat, zacht en somber. Aan het einde van de maand was het ongebruikelijk koud.
April 2000	begon koud, maar eindigde warm. Verder was april aan de droge en zonnige kant.
Mei 2000	was een enigszins zonnige en zeer warme, maar wel natte maand.
Juni 2000	was warm, droog en zonnig.
Juli 2000	was een zeer sombere, koele en nogal natte maand.
Augustus 2000	was daarentegen warm, zonnig en droog.

Tabel 2.4. *Maandgemiddelden voor temperatuur, zonneshijns en neerslag in het groeiseizoen 1999-2000 in Nederland.*

Maand	Temperatuur (°C)						Zonneshijns (uren)		Neerslag (mm)	
	Gemid	Norm	Gemid dag max	Norm	Gemid dag min	Norm	Gemid	Norm	Gemid	Norm
<i>1999</i>										
Sept	17,7	14,3	22,0	18,3	13,8	10,4	160	133	65	69
Okt	11,0	10,8	14,2	14,2	8,0	7,5	124	100	62	73
Nov	6,9	6,3	9,6	8,9	3,9	3,6	75	54	60	80
Dec	4,9	3,5	7,1	5,7	2,4	1,0	56	36	144	78
<i>2000</i>										
Jan	4,4	2,3	6,4	4,5	2,1	-0,2	60	42	47	67
Feb	5,8	2,5	8,5	5,2	3,0	-0,1	108	72	92	47
Maart	6,7	4,8	9,4	8,1	3,7	1,7	83	104	71	61
April	9,7	7,7	14,0	11,6	5,6	3,9	163	154	43	50
Mei	14,3	11,9	18,8	16,2	9,9	7,7	220	201	87	57
Juni	15,8	14,9	20,2	19,1	11,1	10,6	226	190	45	67
Juli	15,3	16,6	18,8	20,7	12,0	12,5	125	190	98	75
Aug	17,6	16,7	22,2	21,0	13,0	12,5	220	185	47	69

Gegevens ontleend aan de maandoverzichten van het weer in Nederland van het KNMI; Gemid: etmaal-gemiddelden; Norm: klimatologische normaal voor 1961-1990; Gemid dag max: gemiddelde van de dagelijkse maxima; Gemid dag min: gemiddelde van de dagelijkse minima.

2.4 Gewasontwikkeling groeiseizoenen 1998-1999 en 1999-2000

Groeiseizoen 1998-1999

Door de extreem natte nazomer en herfst van 1998 was meer dan de helft van de geïnventariseerde percelen laat tot zeer laat ingezaaid (27% rond de vorstperiode van begin december 1998 en 24% in januari 1999). Op veel van deze percelen werd de grond in bevroren toestand bewerkt en ingezaaid.

Voor de in januari gezaaide percelen bevonden zich ten tijde van de eerste waarnemingsronde eind april nog in het groeistadium van uitstoeiing (Decimale Code lager dan 30). Alleen bij de relatief vroeg (meest in de maand november) gezaaide gewassen waren één of twee knopen voelbaar (Decimale Code 31 en 32).

Het zonnige en warme weer in mei liet een voorspoedige ontwikkeling toe van de gewassen. Ten tijde van de tweede waarnemingsronde in de eerste helft van juni was op alle percelen de stengelstrekking voltooid. Op één uitzondering na kwamen de in januari ingezaaide percelen in de aar (Decimale Code 55 - 59). De rond de vorstperiode van begin december 1998 en eerder ingezaaide percelen stonden volop in bloei (Decimale Code 61 - 68).

De droogte van juli zorgde ervoor dat een deel van de gewassen in de Betuwe (regio: Zuidoost Nederland, ZON), de IJsselmeerpolders (regio: Centrale Zeeklei, CZK), de Wieringermeer en het Oldambt (regio: Noordelijke Zeeklei, NZK) tijdens de derde ronde eind juli verschijnselen van

verdroging vertoonde. De meeste gewassen waren toen laat melkrijp (Decimale Code 75 - 79) tot vroeg deegrijp (Decimale Code 81 - 85).

Groeiseizoen 1999-2000

Door het gunstige weer tijdens de herfst van 1999 was meer dan de helft van de percelen (60%) in oktober ingezaaid. De overige percelen waren in november (35%), in december (één perceel), of in januari 2000 (één perceel) ingezaaid.

Met uitzondering van de percelen WT111 en WT224 waren ten tijde van de eerste waarnemingsronde in de maand april de meeste gewassen het stadium van uitstoeling gepasseerd. Echter slechts op negen percelen was de stengelstrekking zover gevorderd dat de eerste knoop voelbaar was (Decimale Code 31). De meeste gewassen hadden drie geheel ontwikkelde groene bladeren.

Evenals in het groeiseizoen 1998-1999, lieten de weersomstandigheden tijdens de lente een voorspoedige ontwikkeling van de gewassen toe. Ten tijde van de tweede waarnemingsronde tussen eind mei en begin juni waren, met uitzondering van het in januari met Vivant ingezaaide perceel WT111, de gewassen het stadium van aarzwelling (Decimale Code 49) gepasseerd. Op de meeste van de eind mei geïnventariseerde percelen was de aar nog niet geheel verschenen. Het betreft voornamelijk de in de zuidelijke regio's Zuidoost Nederland (ZON) en de Zuidwestelijke Zeeklei (ZWK) gelegen percelen. Op 24, meest begin juni, bemonsterde percelen was de bloei reeds begonnen (Decimale Code 61 - 65).

Tijdens de derde waarnemingsronde tussen eind juni en midden juli waren de gewassen, met uitzondering van drie percelen, het stadium van melkrijpheid gepasseerd. Het betreft het in de regio Zuidoost Nederland (ZON) gelegen perceel WT111 en de percelen WT424 en WT431 op de Centrale Zeeklei (CZK), waarvan de korrels laat melkrijp (Decimale Code 78) waren. De overige percelen waren in het stadium van deegrijpheid (Decimale Code 82 - 85).

2.5 Incidentie en severity van DTR en *Septoria tritici*

Incidentie en severity van DTR en *Septoria tritici* in 1999

Het optreden van DTR en *Septoria tritici* tijdens de inventarisatie 1999 is per regio samengevat in Tabel 2.5. Tabel 2.6 toont de ontwikkeling van DTR op de individuele percelen en geeft informatie over tarveras en fungicidenbehandeling.

DTR ('Gele bladvlekkenziekte', *Pyrenophora tritici-repentis*)

Tijdens de eerste waarnemingsronde is DTR gevonden op vier van de in totaal 41 bemonsterde percelen. Op drie van deze percelen (WT132 gelegen in de Betuwe, WT233 in de Hoekse Waard en WT534 in Oost-Groningen) werd in 1998 ook al wintertarwe geteeld. Op het vierde, in de Hoekse Waard gelegen perceel WT234, werd in 1997 voor het laatst wintertarwe geteeld. De mate van aantasting was ten tijde van de eerste bemonstering over het algemeen gering en beperkte zich tot enkele bladeren met een gering aantal vlekken.

Tussen de eerste en tweede waarnemingsronde nam het aantal door DTR aangetaste percelen (de prevalentie van DTR) in Oost-Groningen sterk toe. Bij de tweede bemonstering werd DTR in vier van de vijf in deze sub-regio gelegen percelen aangetroffen. Ook in Zuid-Limburg (regio ZON) was DTR aanwezig in één perceel waarop aanvankelijk de ziekte niet werd aangetroffen. Op de twee boven-

genoemde percelen in de Hoekse Waard en het perceel in de Betuwe daarentegen, was de incidentie tijdens de tweede ronde zo laag dat het monster vrij was van DTR.

Tijdens de derde ronde in de maand juli is op in totaal 30 van de 41 bij de inventarisatie betrokken percelen DTR waargenomen. In de meeste gevallen bleek de aantasting licht te zijn en beperkte deze zich tot enkele vlekken per geïnfecteerd blad. Op een vijftal percelen was de aantasting zwaarder met een incidentie boven de 25%. DTR is, met uitzondering van Noordoost Nederland (waar slechts twee percelen zijn bemonsterd), in alle regio's aangetroffen. In de Wieringermeer (regio NZK) werd DTR niet aangetroffen op de bij de ziekteninventarisatie betrokken percelen, maar wel op een perceel Vivant nabij Slootdorp.

Op de meeste percelen zijn één of meer bespuitingen met fungiciden uitgevoerd. Met uitzondering van de percelen WT424, 511, 303, 304 en 132 zijn alle percelen de eerste helft van juni eenmaal met strobilurine (Alleagro) behandeld. De variaties in DTR-aantasting lijken niet te verklaren uit het al dan niet toedienen van dit DTR-bestrijdend middel. In hoeverre de bespuitingen het aantastingsniveau hebben beïnvloed, blijft gezien de opzet van de inventarisatie onbekend.

***Septoria tritici* ('Bladvlekkenziekte')**

Septoria tritici bleek in 1999 wijd verbreid, echter de mate van aantasting was over het algemeen gering en beperkte zich tot enkele vlekken op de onderste twee groene bladeren. Opvallend was dat in West-Groningen (regio NZK) de ziektedruk door *Septoria tritici* tussen de tweede en derde ronde was toegenomen en de vrijwel afwezigheid van de ziekte in de monsters van de laatste inventarisatieronde in Oost-Groningen.

Tabel 2.5. Prevalentie, incidentie en severity van DTR en *Septoria tritici* tijdens de drie inventarisatieronden van 1999.

Regio	Centrale Zeeklei			Noordelijke Zeeklei			Zuidwestelijke Zeeklei			Noordoost Nederland			Zuidoost Nederland				
Aantal bemonstrende percelen	12				12			10			2						
Ronde	1	2	3		1	2	3	1	2	3	1	2	3		1	2	3
<i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (DTR)																	
Prevalentie*	0	0	83		8	33	58		20	0	80		0	0	20	20	100
Incidentie** op percelen met DTR		–	–	10	11	8	13		2	–	9		–	–	1	<1	26
		–	–	2	–	<1	1		1	–	<1		–	–	–	–	9
		–	–	27	–	27	100		2	–	37		–	–	–	–	76
Severity***			3				7				2		–				6
			<1				1				<1		–				<1
			12				35				8		–				15
<i>Septoria tritici</i>																	
Prevalentie*	92	92	100		92	92	75		90	100	90		100	100	100	100	100
Incidentie** op percelen met <i>S. tritici</i>		6	2	6	8	4	21		13	5	5		1	<1	1	4	4
		1	<1	2	2	<1	2		2	<1	1		<1	<1	<1	1	1
		17	4	11	13	6	73		32	56	55		1	1	9	12	10

* Percentage percelen in een regio met de bladklekziekte.

** Percentag bladeren van een perceel met symptomen van de bladklekziekte; –: niet van toepassing.

*** Mediaan van de percentages door DTR aangetast bladoppervlak bij de bladeren van een perceel met de bladklekziekte; severities zijn alleen tijdens ronde 3 bepaald.

Tabel 2.6. Incidentie en severity van DTR bij de in 1999 op ziekten en plagen geïncventariseerde tarwepercelen.

Code	Tarweras	Vorige teelt wintertarwe	Incidentie van DTR (%)			Severity (%)	Totaal fungicide*	
			Ronde 1	Ronde 2	Ronde 3	Ronde 3	Besputingen	Hoeveelheid
Centrale Zeeklei (CZK)								
WT411	Tambor	voor 1997	0,0	0,0	8,5	1	0	–
WT412	Tambor	onbekend	0,0	0,0	0,0	–	0	–
WT413	Vivant	voor 1997	0,0	0,0	2,2	1	2	0,47
WT414	Vivant	voor 1997	0,0	0,0	26,8	12	2	0,53
WT421	Residence	voor 1997	0,0	0,0	0,0	–	2	0,53
WT422	Bercy	voor 1997	0,0	0,0	3,7	1	2	0,51
WT423	Ritmo	1997	0,0	0,0	14,7	1	2	0,63
WT424	Vivant	voor 1997	0,0	0,0	11,4	1	1	0,50
WT425	Residence	voor 1997	0,0	0,0	3,5	1	geen opgave	geen opgave
WT431	Vivant	voor 1997	0,0	0,0	18,3	6	2	0,43
WT432	Vivant	voor 1997	0,0	0,0	4,7	1	1	0,25
WT433	Vivant	voor 1997	0,0	0,0	5,1	6	2	0,53
Noordelijke Zeeklei (NZK)								
WT511	Residence	voor 1997	0,0	0,0	0,0	–	1	0,38
WT512	Vivant	voor 1997	0,0	0,0	0,0	–	1	0,25
WT513	Bercy	voor 1997	0,0	0,0	0,0	–	2	0,35
WT514	Residence	1998	0,0	0,0	0,0	–	0	–
WT521	Vivant	voor 1997	0,0	0,0	0,0	–	3	1,78
WT522	Bercy	1997	0,0	0,0	1,0	1	1	0,25
WT523	Ritmo	voor 1997	0,0	0,0	5,7	1	6	2,54
WT531	Vivant	1998	0,0	1,4	26,3	8	1	0,25
WT532	Residence	1997	0,0	0,0	2,4	2	2	0,58
WT533	Vivant	1998	0,0	0,4	6,1	1	4	1,17
WT534	Ritmo	1998	10,9	27,4	100,0	35	2	0,58
WT535	Residence	1997	0,0	0,4	3,6	1	2	0,58
Zuidwestelijke Zeeklei (ZWK)								
WT211	Vivant	1997	0,0	0,0	0,0	–	2	0,58
WT212	Ritmo	1997	0,0	0,0	12,8	1	1	0,25
WT213	Residence	1997	0,0	0,0	0,6	1	2	0,33
WT221	Ritmo	1997	0,0	0,0	2,5	1	2	0,33
WT222	Residence	1997	0,0	0,0	6,0	1	2	0,33
WT231	Bercy	voor 1997	0,0	0,0	36,7	8	3	0,69
WT232	Residence	1997	0,0	0,0	6,0	1	2	0,33
WT233	Vivant	1998	1,3	0,0	16,5	2	3	0,48
WT234	Vivant	1997	1,7	0,0	9,4	1	3	0,48
Noordoost Nederland (NON)								
WT303	Tower	onbekend	0,0	0,0	0,0	–	1	0,50
WT304	Tower	voor 1997	0,0	0,0	0,0	–	2	1,00
Zuidoost Nederland (ZON)								
WT111	Vivant	voor 1997	0,0	0,4	17,0	3	2	0,58
WT112	Vivant	1997	0,0	0,0	75,5	15	2	0,58
WT121	Ritmo	voor 1997	0,0	0,0	12,1	1	2	1,00
WT131	Vivant	1997	0,0	0,0	9,2	1	3	0,56
WT132	Vivant	1998	0,7	0,0	19,8	12	2	0,88
Extra perceel op Zuidwestelijke Zeeklei								
WT223	mengsel	1997	0,0	0,0	0,0	–	0	–

* Totaal fungicide: weergegeven is het totaal aantal besputingen (Besputingen) en de totale hoeveelheid toegediende actieve stof in kg/ha (Hoeveelheid)

Incidentie van DTR en *Septoria tritici* in 2000

Het optreden van DTR en *Septoria tritici* in 2000 is samengevat in Tabel 2.7.

DTR ('Gele bladvlekkenziekte', *Pyrenophora tritici-repentis*)

Tijdens de eerste ronde werd bij de inventarisatie in 2000 geen DTR gevonden. Wel werden, buiten het te bemonsteren gebied, in de kopakker van perceel WT531 in het Oldambt (NZK) enkele teerspatjes gezien.

Tijdens de tweede waarnemingsronde werd alleen op perceel WT112 in Zuid-Limburg (ZON) voor het eerst een beginnende aantasting door DTR waargenomen. De zeer lichte aantasting op perceel WT 531 bleef beperkt tot de kopakker.

Pas tijdens de derde waarnemingsronde werd op meer percelen DTR waargenomen. Inclusief de twee hierboven genoemde percelen, bleek DTR voor te komen in de monsters van in totaal tien van de 40 percelen. Het betreft de drie geïnventariseerde percelen in Zuid-Limburg (WT111, WT112 en WT113), de vier percelen in de Hoeksewaard (WT231, WT232, WT233 en WT234) en drie (WT531, WT532 en WT533) van de vier percelen in Oost-Groningen. Op de Centrale Zeeklei en in Noordoost Nederland is in 2000 dus geen DTR aangetroffen. Met uitzondering van de twee percelen waar al DTR in de tweede ronde was waargenomen, was de incidentie van DTR lager dan 10%. De percelen WT112 en WT531 gaven met respectievelijk 46 en 29% de hoogste incidenties te zien.

In alle percelen bleef de mate van aantasting (severity) beperkt tot enkele vlekken per blad.

***Septoria tritici* ('Bladvlekkenziekte')**

Op alle 40 geïnventariseerde percelen kwam vanaf het begin *Septoria tritici* voor.

Tijdens de eerste ronde bleken vooral de onderste bladlagen aangetast door 'Bladvlekkenziekte'. Op de onderste, vaak deels vergeelde bladeren was de aantasting het zwaarst. Vaak was meer dan de helft van het blad ziek. In de erboven gelegen bladlaag bleek de aantasting veelal beperkt tot enkele bladvlekken.

Ook tijdens de tweede waarnemingsronde werd *Septoria tritici* aangetroffen op de onderste twee groene bladeren. Op de onderste bladlaag was vaak meer dan de helft van het blad ziek. In de twee bovenste bladlagen bleek de aantasting veelal beperkt tot enkele kleine bladvlekken.

Tijdens de derde ronde was *Septoria tritici* de meest op de voorgrond tredende bladziekte. Met uitzondering van een viertal percelen was de aantasting beperkt gebleven tot de onderste, vaak deels vergeelde bladeren. Op twee percelen in Zuidoost Nederland (ZON), één perceel op de Centrale Zeeklei (CZK) en één perceel op de Noordelijke Zeeklei (NZK) bleken ook veel vlagbladeren zwaar aangetast.

Tabel 2.7. Prevalentie, incidentie en severity van DTR en *Septoria tritici* tijdens de drie inventarisatieronden van 2000.

Regio	Centrale Zeeklei			Noordelijke Zeeklei			Zuidwestelijke Zeeklei			Noordoost Nederland			Zuidoost Nederland		
Aantal bemonstrende percelen	10			10			9			3			8		
Ronde	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (DTR)															
Prevalentie*	0	0	0	0	0	30	0	0	44	0	0	0	0	12	38
Incidentie** op percelen met DTR	—	—	—	—	—	11	—	—	4	—	—	—	—	2	12
	—	—	—	—	—	1	—	—	2	—	—	—	—	—	2
	—	—	—	—	—	29	—	—	7	—	—	—	—	—	46
<i>Septoria tritici</i>															
Prevalentie*	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	50	100	100	100
Incidentie** op percelen met <i>S. tritici</i>	26	36	60	32	27	59	28	21	52	28	8	29	29	35	63
	2	9	35	20	9	22	15	5	36	22	2	13	1	15	38
	45	60	93	37	35	99	40	39	95	36	14	60	49	63	100

* Percentage percelen in een regio met de bladplekkenziekte.

** Percentage bladeren van een perceel met symptomen van de bladplekkenziekte; —: niet van toepassing.

2.6 Overige ziekten en plagen

Ziekteninventarisatie 1999

In Tabel 2.8 staan per regio de gemiddelden van de tijdens de ziekteninventarisatie 1999 gevonden incidenties (het percentage stengels of bladeren waarop een bepaalde ziekte of plaag op een perceel aanwezig was) van de meest voorkomende ziekten en plagen van wintertarwe. Deze gemiddelde incidenties betreffen alle percelen, dus inclusief de percelen met incidentie 0. Hierdoor treden voor DTR en *Septoria tritici* soms verschillen op met de incidentiewaarden in de Tabellen 2.5 en 2.6, waarin de incidentie betrekking heeft op alleen percelen met aantasting. Met uitzondering van een enkel perceel, was de ziektedruk in het jaar 1999 laag.

Voetziekten

Tijdens de eerste waarnemingsronde bleek de incidentie aan voetziekten laag te zijn. Door voetziekten aangetaste planten werden vooral waargenomen in, voor het seizoen 1998 - 1999 relatief vroeg ingezaaide, percelen in de Betuwe (regio ZON), Zeeland en de Hoekse Waard (regio ZWK). Na de eerste ronde nam op de zwaardere gronden van de regio's CZK, NZK, ZWK en ZON de druk van de voetziekten toe. Er werd vooral 'Oogvlekkenziekte' aangetroffen.

Aantasting door de 'Tarwehalmdoder' was te gering om in de bemonsterde diagonalen door de percelen aan te treffen.

Bladziekten

Naast 'Bladvlekkenziekte' was 'Meeldauw' wijd verbreid. Echter, de mate van aantasting door 'Meeldauw' was ten tijde van de eerste bemonstering over het algemeen gering en beperkte zich tot enkele puistjes. Ook tijdens de tweede ronde bleek de mate van aantasting door 'Meeldauw' over het algemeen gering en beperkte deze zich tot de onderste twee groene bladeren. Alleen op de lichtere gronden van Noordoost Nederland (NON) en de Achterhoek (regio ZON) was de aantasting door 'Meeldauw' aanzienlijk. Op deze gronden werd deze ziekte zelfs een aantal malen op vlagbladeren aangetroffen.

De andere bladziekten waren minder algemeen. 'Bruine roest' werd tijdens de eerste waarnemingsronde aangetroffen op vijf percelen (ZON: 1; ZWK: 3; CZK: 1). 'Gele roest' werd in die periode waargenomen in de regio's ZWK (1 perceel) en NZK (1 perceel). Doordat het aantal met 'Bruine roest' bezette bladeren van het perceel uit de regio CZK gering was, is deze aantasting niet terug te vinden in Tabel 2.8. Dit is ook het geval bij de 'Gele roest' aantasting in het perceel uit de regio NZK. Tussen de eerste en de tweede ronde nam de ziektedruk door de roesten toe. Tijdens de tweede ronde zijn op een aantal percelen haarden van 'Gele roest' gezien. De aantasting door 'Bruine roest' beperkte zich veelal tot een enkel puistje op de aangetaste bladeren. Na de tweede ronde is de ziektedruk door 'Gele roest' afgenomen en de druk door 'Bruine roest' toegenomen. Vooral op ecologisch geteelde tarwe was de mate van aantasting door 'Bruine roest' aanzienlijk.

Tabel 2.8. Gemiddelde incidenties van ziekten en plagen tijdens de inventarisatieronden 1999.

Regio	Centrale Zeeklei			Noordelijke Zeeklei			Zuidwestelijke Zeeklei			Noordoost Nederland			Zuidoost Nederland			Landelijk		
Aantal bemonsterde percelen	12	1	2	3	12	1	2	3	10	2	1	2	3	5	1	2	3	41
Ronde	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Voetziekten: gemiddeld percentage aangedaste stengels</i>																		
Aantal per perceel bemonsterde stengels: 50																		
Fusarium voetziekte	0,0	3,0	4,3	0,0	0,0	0,0	1,3	4,0	0,4	2,4	4,8	0,0	0,0	2,0	0,4	11,6	5,6	0,2
Oogvlekkenziekte	0,0	0,2	12,2	0,0	0,0	0,0	0,0	3,5	1,4	8,6	17,4	0,0	0,0	3,0	0,0	4,8	24,4	0,3
Scherpe oogvlekkenziekte	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Blauwziekten: gemiddeld percentage groene bladeren met symptomen</i>																		
Gemiddeld aantal beoordeelde bladeren	169	226	108	185	221	112	159	221	127	196	235	126	150	228	118	172	226	118
Gele roest	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,4	0,1	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,1
Bruine roest	0,0	1,1	11,3	0,0	0,4	0,8	0,4	2,5	8,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	2,4	0,1	0,8	4,4
Meeldauw	6,9	3,6	1,3	1,6	2,9	1,6	9,4	2,1	0,8	11,0	22,6	14,3	27,1	36,7	25,4	10,7	13,8	8,8
<i>Septoria tritici</i>	5,8	1,4	5,5	7,3	3,6	16,5	11,4	5,3	5,1	0,8	0,6	0,4	3,9	4,4	4,2	5,7	3,0	6,1
<i>Stagonospora (Septoria) nodorum</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	6,0	8,8	0,0	7,5	7,8	0,4	2,8	3,4
<i>Pyrenophora tritici-repentis (DTR)</i>	0,0	0,0	8,1	0,9	2,6	7,8	0,3	0,0	7,4	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	25,9	0,9	0,9	9,7
Sneeuwschimmel	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	1,1	0,0	0,0	3,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7	0,0	0,0	1,6
Gerstevergelingsvirus	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Aarziekten: gemiddeld percentage aangedaste kafjes</i>																		
Gemiddeld aantal beoordeelde kafjes	1619					1601	159	221	127	196	235	126	150	228	118	172	226	118
Kafjesbruin	0,0					0,0			0,0			0,7			2,8			0,7
Kafjesrood	4,0					7,1			1,8			0,1			1,8			2,9
Meeldauw	0,0					0,0			0,0			0,0			0,0			0,0
<i>Plagen: gemiddeld percentage groene bladeren met vruchtschade</i>																		
Gemiddeld aantal beoordeelde bladeren	169	226	108	185	221	112	159	221	127	196	235	126	150	228	118	172	226	118
Graanhaantje	2,3	9,0	8,4	5,3	12,4	19,0	4,5	13,2	19,4	1,8	7,7	3,6	1,3	11,3	23,7	3,1	10,7	14,8
Bladmineerder	1,2	2,5	1,4	0,4	2,1	0,4	0,4	4,1	1,8	0,8	10,2	1,6	0,7	1,4	1,0	0,7	4,1	1,3
Slak	3,3	3,0	1,1	0,2	2,2	1,6	0,0	3,3	3,4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	5,1	0,7	2,0	2,2
<i>Bladluizen: gemiddeld percentage halmen met bladluizen</i>																		
Aantal per perceel bemonsterde halmen: 50																		
Bladluis	0,2	6,7	8,3	0,0	0,7	8,3	0,0	1,6	10,0	0,0	12,0	10,0	0,0	13,6	21,2	0,0	6,9	11,6

Voor elke regio is het gemiddelde weergegeven van het percentage stengels, bladeren of kafjes waarop een bepaalde ziekte of plaag op de bemonsterde percelen in de betreffende regio aanwezig was.

Alleen op de lichtere gronden van Noordoost Nederland (NON) en de Achterhoek (regio ZON) was er sprake van een in de loop van het seizoen toenemende druk van *Stagonospora nodorum* (de veroorzaker van 'Kafjesbruin') op de bladeren.

Aarziekten

In alle regio's kwam Fusarium in de aar ('Kafjesrood') voor. De mate van aantasting was beperkt. Incidenties van meer dan 5% aangetaste kafjes werden gevonden ingeval van drie percelen op de Centrale Zeeklei (CZK) en acht percelen op de Noordelijke Zeeklei (NZK). 'Kafjesbruin' (*Stagonospora nodorum*) is voornamelijk in de Achterhoek (regio ZON) en in Noordoost Nederland (NON) gevonden.

Plagen

Van de dierlijke belagers was het 'Graanhaantje' het meest aanwezig. Nergens was de hoeveelheid vraat ernstig. In alle sub-regio's is zeer lichte beschadiging door bladmineerders waargenomen. Op drie percelen (Flevoland: 1, Oost-Groningen: 2) is vraatschade door slakken waargenomen. In de loop van het seizoen nam de druk van deze gewasbelagers toe. De schade bleef echter het gehele seizoen beperkt tot vraat aan de onderste bladeren.

Tijdens de eerste waarnemingsronde werden vrijwel geen bladluizen waargenomen. Na deze eerste ronde nam de luizendruk over het hele land toe. Nergens was er sprake van grote aantallen.

Ziekteninventarisatie 2000

In Tabel 2.9 staan per regio de gemiddelden van de tijdens de ziekteninventarisatie 2000 gevonden incidenties (het percentage stengels of bladeren waarop een bepaalde ziekte of plaag per perceel aanwezig was) van de meest voorkomende ziekten en plagen van wintertarwe. Deze gemiddelde incidenties betreffen alle percelen, dus inclusief de percelen met incidentie 0. Hierdoor treden voor DTR en *Septoria tritici* soms verschillen op met de incidentiewaarden in Tabel 2.7. Naast de door *Septoria tritici* veroorzaakte 'Bladvlekkenziekte' werd in 2000 vaak 'Oogvlekkenziekte' waargenomen.

Voetziekten

In de monsters van de eerste waarnemingsronde zaten weinig tot geen door voetziekten aangetaste stengels. Slechts bij vier percelen op zware klei werden op 1 – 3 stengels 'Oogvlekkenziekte' waargenomen.

In vergelijking met de tijdens de eerste ronde genomen monsters, waren in de monsters van de tweede ronde meer door voetziekten aangetaste stengels aanwezig. Bij acht percelen op zware grond in de regio's Zuidoost Nederland (ZON), Zuidwestelijke Zeeklei (ZWK) en Noordelijke Zeeklei (NZK) werden in de monsters zelfs op meer dan 20% van de stengels 'Fusarium voetziekte' en/of 'Oogvlekkenziekte' aangetroffen. De hoogste incidentie was 38%.

Tijdens de derde waarnemingsronde bleek de in de tweede ronde gesignaleerde toename in voetziekten zich op veel percelen te hebben voortgezet. Vooral de incidentie van de 'Oogvlekkenziekte' was sterk toegenomen. Bij twaalf percelen werd op meer dan de helft van de stengels één of meer oogvlekken waargenomen. Het betreft vier percelen in Zuidoost Nederland (ZON), drie percelen op de Zuidwestelijke Zeeklei (ZWK), één perceel op de Centrale Zeeklei (CZK) één perceel in Noordoost Nederland (NON) en drie percelen op de Noordelijke Zeeklei (NZK). De hoogste incidentie was 92%. De incidentie van 'Fusarium voetziekte' bleek niet te zijn toegenomen. Op een perceel in Noordoost Nederland (NON) werd de 'Scherpe oogvlekkenziekte' waargenomen.

Aantasting door de ‘Tarwehalmdoder’ was te gering om in de bemonsterde diagonalen door de percelen aan te treffen.

Bladziekten

Naast ‘Bladvlekkenziekte’ (*Septoria tritici*) kwam ‘Meeldauw’ vaak voor.

Met uitzondering van de percelen op de lichtere gronden van de Achterhoek (een sub-regio van Zuidoost Nederland) en Noordoost Nederland, bleek ‘Meeldauw’ ten tijde van de eerste bemonstering weinig actief. ‘Meeldauw’ werd gevonden in vijf van de acht percelen in Zuidoost Nederland (ZON), zes van de negen percelen op de Zuidwestelijke Zeeklei (ZWK), één van de tien percelen op de Centrale Zeeklei (CZK) en de drie percelen van Noordoost Nederland (NON). In de monsters van de andere regio’s werden geen bladeren met ‘Meeldauw’ gevonden. Tussen de eerste en tweede ronde nam de incidentie van de ziekte enigszins toe, vooral in Zuidoost en Noordoost Nederland. Later in het groeiseizoen nam de druk door ‘Meeldauw’ weer af.

Ten opzichte van de ‘Septoria bladvlekkenziekte’ en ‘Meeldauw’ waren de andere bladziekten minder algemeen.

Op de lichtere gronden van de Achterhoek (regio ZON) en Noordoost Nederland (NON) was er sprake van een in de loop van het seizoen toenemende druk van *Stagonospora nodorum* (de veroorzaker van ‘Kafjesbruin’) op de bladeren. In de monsters uit de vijf percelen (ZON: 2; NON: 3), waar *Stagonospora nodorum* werd gevonden, waren geen zwaar aangetaste bladeren aanwezig.

‘Gele roest’ werd slechts één maal aangetroffen in een monster van een perceel op de Centrale Zeeklei (CZK).

‘Bruine roest’ werd aangetroffen op in totaal vier percelen in de zuidelijke regio’s (Zuidoost Nederland en Zuidwestelijke Zeeklei). Op deze percelen waren de incidenties laag en de aantasting bleek veelal beperkt tot een paar puistjes.

Ten tijde van de tweede waarnemingsronde werd op twee percelen op de Noordelijke Zeeklei (NZK) in lage incidenties bladaantasting door de ‘Sneeuwschimmel’ gevonden. Daarna breidde deze ziekte zich uit. Tijdens de laatste ronde werden nl. op 15 percelen verspreid over alle regio’s door ‘Sneeuwschimmel’ aangetaste bladeren aangetroffen. Met uitzondering van drie percelen op de Zuidwestelijke Zeeklei (ZWK) en één perceel op de Noordelijke Zeeklei (NZK) met rond de 10% aangetaste bladeren, waren de incidenties laag.

Aarziekten

In alle regio’s kwam Fusarium in de aar (‘Kafjesrood’) voor. De zwaarste aantastingen werden gevonden in Oost-Groningen (Noordelijke Zeeklei). Met uitzondering van één perceel in laatst genoemde sub-regio met een incidentie van 8%, was in geen van de bemonsterde percelen meer dan 5% van de kafjes aangetast.

‘Kafjesbruin’ is voornamelijk in de Achterhoek (regio ZON) en in Noordoost Nederland (NON) gevonden. In de monsters uit drie van de in totaal vijf percelen met ‘Kafjesbruin’ werd meer ‘Kafjesbruin’ dan ‘Kafjesrood’ gevonden.

Tabel 2.9. Gemiddelde incidentie van ziekten en plagen tijdens de inventarisatieronden 2000.

Regio	Centrale Zeeklei			Noordelijke Zeeklei			Zuidwestelijke Zeeklei			Noordoost Nederland			Zuidoost Nederland			Landelijk		
Aantal bemonsterde percelen	10			10			9			3			8			40		
Ronde	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>Voetziekten: gemiddeld percentage aangetaste stengels</i>																		
Aantal per perceel bemonsterde stengels: 50																		
Fusarium voetziekte	0,0	3,4	2,0	0,0	2,0	1,4	0,0	1,3	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	6,8	1,5	0,0	2,7	1,3
Oogvlekkenziekte	0,0	3,6	14,2	0,4	9,6	35,6	0,4	10,4	35,6	0,0	4,7	40,7	0,8	6,0	39,0	0,3	6,9	33,0
Scherpe oogvlekkenziekte	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	1,3	9,3	0,0	1,3	0,0	0,0	0,6	1,9
<i>Bladziekten: gemiddeld percentage groene bladeren met symptomen</i>																		
Gemiddeld aantal beoordeelde bladeren	136	199	132	151	209	135	148	206	125	155	222	114	139	225	124	146	212	126
Gele roest	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Bruine roest	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,4
Meeldauw	0,1	0,4	0,2	0,0	0,3	0,0	0,6	2,7	2,8	21,3	33,2	7,3	11,6	29,7	28,3	6,9	13,9	7,5
<i>Septoria tritici</i>	25,7	35,5	60,2	31,7	26,9	58,6	27,8	21,3	52,0	28,4	7,5	28,9	29,2	34,8	63,1	28,6	25,1	53,1
<i>Stagonospora (Septoria) nodorum</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	6,2	12,3	0,0	1,1	4,9	0,0	1,5	3,2
<i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (DTR)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0	0,0	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	4,8	0,0	0,0	2,0
Snecuwschimmel	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	1,9	0,0	0,0	4,2	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	1,4
Gerstevergelingvirus	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Aarziekten: gemiddeld percentage aangetaste kafjes</i>																		
Gemiddeld aantal beoordeelde kafjes			1704			1662			1694			1687			1787			1707
Kafjesbruin			0,0			0,0			0,0			0,8			3,5			0,9
Kafjesrood			0,7			2,7			0,9			0,8			0,7			1,2
Meeldauw			0,0			0,0			0,0			0,0			0,0			0,0
<i>Plagen: gemiddeld percentage groene bladeren met vrachtschade</i>																		
Gemiddeld aantal beoordeelde bladeren	136	199	132	151	209	135	148	206	125	155	222	114	139	225	124	146	212	126
Graanhaantje	0,0	6,3	7,8	0,3	11,8	13,9	0,7	12,2	19,4	0,0	6,2	4,1	0,0	11,8	23,5	0,2	9,7	13,8
Bladmineerder	0,0	1,8	0,8	0,0	1,0	0,4	0,0	2,2	1,3	0,0	5,3	0,0	0,0	1,7	1,9	0,0	2,4	0,9
Slak	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	1,0	1,7	3,6	0,4	0,0	0,0	0,0	0,2	0,5	2,0	0,4	1,0	0,7
Bladluizen: gemiddeld percentage halmen met bladluis																		
Aantal per perceel bemonsterde halmen:	50																	
Bladluis	0,0	2,8	6,6	0,0	2,6	5,2	0,0	1,8	6,2	0,0	9,3	6,0	0,0	9,5	12,5	0,0	5,2	7,3

Voor elke regio is het gemiddelde weergegeven van het percentage stengels, bladeren of kafjes waarop een bepaalde ziekte of plaag op de bemonsterde percelen in de betreffende regio aanwezig was.

Plagen

Van de dierlijke belagers was het ‘Graanhaantje’ het meest aanwezig. Dit insect werd op 37 percelen gevonden. De incidentie varieerde tussen 0,5% en 46%. De hoeveelheid aangevreten blad was zelden groot.

Op in totaal 33 percelen, verspreid over alle sub-regio’s, werden bladeren met zeer lichte beschadiging door bladmineerders waargenomen. Nergens werden incidenties hoger dan 8% gevonden.

Vraatschade door slakken werd waargenomen op 14 percelen. Het betreft percelen in de regio’s Zuid-oost Nederland (ZON), Zuidwestelijke Zeeklei (ZWK) en Noordelijke Zeeklei (NZK). De hoogste incidentie was 13% op een perceel in de Betuwe, een sub-regio van Zuidoost Nederland. De schade bleef het gehele seizoen beperkt tot vraat aan de onderste bladeren.

Tijdens de eerste waarnemingsronde werden vrijwel geen bladluizen waargenomen. Na deze eerste ronde nam de luizendruk over het hele land toe. Tijdens de derde ronde bleken op 35 percelen één tot 15 van de 50 verzamelde halmen bezet met bladluizen. Nergens was er sprake van grote kolonies.

2.7 Discussie

De inventarisaties van 1999 en 2000 zijn uitgevoerd om op de hoogte te blijven van de ontwikkeling van ziekten en plagen in de teelt van winter tarwe en om inzicht te verkrijgen in eventueel in of rond tarwepercelen aanwezige inoculumbronnen van DTR.

Hoewel de geïnventariseerde percelen over de voornaamste teeltgebieden verspreid liggen, laat het relatief geringe aantal percelen en tarwerassen geen statistisch betrouwbare uitspraken toe over de verschillen in ziektedruk tussen regio’s of bedrijfssystemen. Een vergelijking van de landelijke gemiddelden van de periode 1993 – 2000 maakt het mogelijk om eventuele over deze jaren optredende trends te signaleren in de mate van aanwezigheid van de belangrijkste ziekten en plagen. Echter, voor de meeste in Tabel 2.1 genoemde ziekten en plagen valt een dergelijke analyse buiten de doelstelling van het huidige project. Voor wat betreft DTR en *Septoria tritici* geeft Tabel 2.10 een overzicht van de in de jaren 1994 – 2000 tijdens de waarnemingsronden gevonden gemiddelde landelijke incidenties. Tabel 2.11 geeft inzicht in het weerbeeld in deze periode. In de droge groeiseizoenen 1996 en 1997 waren de incidenties van DTR hoger dan in de daarop volgende groeiseizoenen, die minder droog waren. Dit komt overeen met het feit dat DTR met name in drogere klimaten een ernstige ziekte is. Uit de gemiddelde jaarlijkse incidenties (Tabel 2.10) en met name uit de ontwikkeling van DTR op individuele percelen (Tabel 2.6) blijkt dat DTR tussen de tweede en derde waarnemingsronde sterk kan toenemen. Het is daarom belangrijk inzicht te krijgen in de potentiële risicofactoren voor DTR.

De in het voorgaande verslag over Deel 1 van dit project (Kema *et al.*, 1999) gesignaleerde mogelijke negatieve invloed van *Septoria tritici* op DTR verklaart misschien de lage DTR-aantasting in 2000. De lage aantasting door *Septoria tritici* in 1999 is waarschijnlijk vooral veroorzaakt door de late inzaai van tarwe in dit seizoen.

2.8 Samenvatting

In vijf verschillende regio’s is in 1999 en in 2000 op 40 percelen winter tarwe het optreden van DTR (‘Gele bladvlekkenziekte’), ‘Septoria bladvlekkenziekte’ en overige ziekten en plagen in drie rondes (uitstoeling, bloei en afrijping) geïnventariseerd. De aantasting door DTR was in beide jaren gering. Tijdens de uitstoeling en bloei kwam DTR nog maar sporadisch voor. Tijdens de afrijping werd in 1999 op 30 percelen DTR aangetroffen. In 2000 kwam DTR op slechts tien van de 40 percelen voor. Met

name in Zuid-Limburg en in het Oldambt kon DTR zich in beide jaren op een aantal individuele percelen sterk ontwikkelen. *Septoria tritici* kwam in 1999 algemeen voor, maar de mate van aantasting was zeer gering. In 2000 was 'Septoria bladvlekkenziekte' dominant aanwezig, maar meestal beperkt tot de onderste bladlagen.

De algemene ziektedruk was in 1999 en 2000 laag. Naast DTR en *Septoria tritici* kwam 'Meeldauw' algemeen voor. In beide jaren was de 'Oogvlekkenziekte' de belangrijkste voetziekte en het 'Graanhaantje' de belangrijkste plaag.

Tabel 2.10. Landelijke gemiddelde incidenties van *Septoria tritici* en DTR in de periode 1994 – 2000¹.

Groeiseizoen	<i>Septoria tritici</i>			DTR		
	Ronde 1	Ronde 2	Ronde 3	Ronde 1	Ronde 2	Ronde 3
1994	4,0	21,0	25,0	-	-	-
1995	23,0	16,0	50,0	-	-	-
1996	0,6	1,3	1,7	5,0	0,7	16,0
1997	4,0	13,8	17,4	0,6	2,9	17,6
1998	20,7	12,6	3,9	2,8	4,8	3,2
1999	5,7	3,0	6,1	0,9	0,9	9,7
2000	28,6	25,1	53,1	0,0	0,0	2,0

¹ De gegevens van 1994 tot 1998 zijn ontleend aan Bastiaans (1995), Bastiaans & Van den Brink (1995) en Van den Brink (1996, 1997).

Tabel 2.11. Het weer tijdens de groeiseizoenen in de periode 1994 – 2000¹.

	Temperatuur (°C)				Neerslag (mm)			
	Herfst	Winter	Lente	Zomer	Herfst	Winter	Lente	Zomer
Norm	10,5	2,8	8,1	16,0	222	192	168	211
1994	- 2,1	+ 1,1	+ 1,0	+ 1,9	+ 37	+ 80	+ 56	- 48
1995	+ 0,7	+ 2,8	+ 0,8	+ 1,8	+ 71	+ 54	+ 8	- 63
1996	+ 1,0	- 2,9	- 0,8	+ 0,3	- 54	- 100	- 98	- 27
1997	- 0,4	- 1,0	+ 1,1	+ 1,8	+ 15	- 73	- 17	- 88
1998	0,0	+ 2,5	+ 2,2	0,0	- 40	- 28	+ 92	+ 121
1999	- 1,0	+ 1,7	+ 2,0	+ 1,0	+ 246	+ 52	+ 11	- 2
2000	+ 1,4	+ 2,4	+ 2,1	+ 0,1	- 34	+ 97	+ 52	- 22

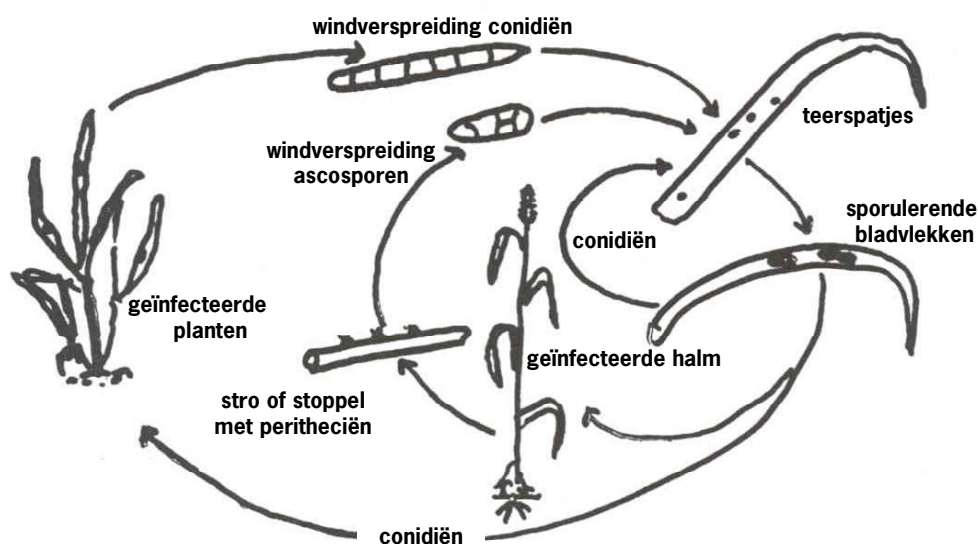
¹ Weergegeven zijn de afwijkingen van het klimatologische normaal voor 1961 – 1990; Temperatuur: gemiddelde temperatuur; Neerslag: cumulatieve neerslag; Herfst: september t/m november; Winter: december t/m februari; Lente: maart t/m mei; Zomer: juni t/m augustus.

3. Biologie en epidemiologie van DTR

3.1 Inleiding

In de semi-aride teeltgebieden van tarwe (Canada, VS, Brazilië en Australië) is DTR de meest schadelijke bladziekte van tarwe (De Wolf & Francl, 1997; Krupinsky, 1992a). Uit onderzoek in deze gebieden is gebleken dat de daar gebruikelijke teeltsystemen, met het jaar-in jaar-uit telen van (zomer)tarwe op hetzelfde perceel (monocultuur) en een gereduceerde grondbewerking zonder inwerking van stoppels in de grond, het optreden van DTR bevorderen. Bij tarwe-monocultuur zijn stoppels de bron van DTR-infecties in de gewassen (Adee & Pfender, 1989; Schuh, 1990; Bockus & Claassen, 1992). De kennis over de biologie van DTR in deze gebieden is recent samengevat door De Wolf *et al.* (1998). In het groeiseizoen komt DTR voor in bladvlekken op groene bladeren. Tijdens de afrijping van het gewas worden vanuit de bladvlekken eerst afstervende bladeren en vervolgens de stengels gekoloniseerd. Op de stengelresten, die na de oogst op het veld achterblijven, overwintert de schimmel. In de loop van de herfst en winter vormt DTR op de gewasresten vruchtlichamen (peritheciën) met geslachtelijke sporen (ascosporen). In het voorjaar komen de ascosporen vrij en worden door de wind over afstanden van enkele meters verspreid. Wanneer ascosporen terechtkomen op tarwebladeren worden deze geïnfecteerd. Op de geïnfecteerde bladeren ontstaan bladvlekken waarin ongeslachtelijke sporen (conidiën) gevormd worden. Via windverspreiding van conidiën kan de ziekte zich snel uitbreiden in het gewas. Gedurende een seizoen kunnen er meerdere ongeslachtelijke cycli zijn. De conidiën van DTR kunnen ook over afstanden in de orde van kilometers door de wind worden meegenomen en verder weg gelegen tarwepercelen infecteren.

De levenscyclus van DTR is complexer gebleken dan hierboven beschreven. Op de stoppels worden niet alleen ascosporen gevormd. In het late voorjaar kunnen op de peritheciën ook conidiën gevormd worden. Ook deze conidiën kunnen bijdragen aan het totstandkomen van een DTR-epidemie. Verder kunnen enkele grassoorten en andere granen (Krupinsky, 1992 b en c) ook als waardplant optreden en dus een potentiële infectiebron vormen. De belangrijkste aspecten van de levenscyclus van DTR zijn schematisch weergegeven in Figuur 3.1.



Figuur 3.1. Belangrijkste aspecten van de levenscyclus van DTR in Nederland. Naar: Schilder & Bergstrom, 1992.

Over het optreden van DTR in Noordwest-Europa is niet veel gepubliceerd. De eerste beschrijvingen betreffen door Wolf (1991) aangehaalde Duitse publicaties uit 1902 en 1937 over DTR op respectievelijk kweek (*Agropyron repens*) en tarwe. In Nederland is DTR voor het eerst in tarwe waargenomen in 1981 (Boerema *et al.*, 1984). Publicaties waarin DTR als schade veroorzakende bladziekte van tarwe in Noordwest-Europa wordt beschreven, zijn na 1980 verschenen [België: 1981 (Maraite & Weyns, 1982); Frankrijk, Eschenbrenner (1983); Engeland: 1987 (Cook & Yarham, 1989); Duitsland, Obst (1983)]. Deze achtergrondinformatie is uitvoerig beschreven in het verslag over Deel I van het huidige project (Kema *et al.*, 1999).

Vanaf 1994 wordt DTR weer in Nederland aangetroffen in percelen met wintertarwe. De ziekte is toen door Bastiaans (1995) in het kader van het project 'Inventarisatie van graanziekten in veranderende bedrijfssystemen' gevonden in het Oldambt (regio Noordelijke Zeeklei). In latere jaren is DTR in toenemende mate in andere delen van Nederland geconstateerd (Kema *et al.*, 1999). De oorzaak van de toenemende uitbreiding van DTR is onduidelijk. Zo kunnen diverse veranderingen in de teeltsystemen (zaaidatum, fungicidegebruik enz.) en/of veranderingen binnen de pathogeenpopulatie (agressiviteit, competitievermogen ten opzichte van andere schimmels, aanpassing aan veel verbouwde tarwerassen enz.) een rol spelen.

Omdat klimaat en teeltsystemen in Nederland verschillen van die in andere gebieden van de wereld waar DTR al langer een probleem is, is het vaak niet mogelijk de resultaten van elders verricht onderzoek te vertalen naar Nederlandse omstandigheden. Hiervoor is kennis nodig van het effect van de locale omstandigheden op de biologie en epidemiologie van de schimmel. In dit hoofdstuk worden de resultaten gepresenteerd van zowel beschrijvend als experimenteel onderzoek dat tot doel heeft inzicht te krijgen in de rol van gewasresten en grassen bij de ontwikkeling van een DTR-epidemie.

Overwintering op stro

Dat gewasresten belangrijk zijn voor DTR om waardplant-vrije tijden te overbruggen is duidelijk aangetoond (De Wolf *et al.*, 1998). Op stoppels en stro worden peritheciën met geslachtelijke ascosporen gevormd. De ascosporen kunnen een nieuw gewas infecteren. Het tijdstip waarop de peritheciën gevormd worden en rijpen is bepalend voor hun rol in de DTR-epidemie en afhankelijk van klimatologische omstandigheden in het teeltgebied.

Dit hoofdstuk beschrijft voornamelijk de, gedurende de groeiseizoenen 1998/1999 en 1999/2000 onder Nederlandse omstandigheden, waargenomen ontwikkeling en rijping van peritheciën op stro van door DTR aangetaste percelen. Om te beschikken over materiaal waarop alleen structuren van DTR tot ontwikkeling komen en ten behoeve van experimenteel onderzoek naar de condities voor de vorming en rijping van de peritheciën, is ook van kunstmatig in het laboratorium met DTR besmet stro gebruik gemaakt.

Achtereenvolgens wordt beschreven:

- 3.2 Herkenning en morfologische ontwikkeling van DTR-peritheciën
- 3.3 Tarwestrodekken met natuurlijke besmetting en hun betekenis als infectiebron
- 3.4 DTR in tarwe-praktijkpercelen naast stoppels, opslag en strodekken
- 3.5 Stro van andere gewassen dan tarwe als bron voor DTR
- 3.6 Condities voor ascosporenproductie
- 3.7 Effect van strobilurine op de overleving van DTR op stro en stoppels

Alternatieve waardplanten

Met het oog op de onbegrepen uitbreiding van DTR in Nederland en gezien de aanwezigheid van grassen in weilanden, aan akker- sloot- en wegranden en in graszaadpercelen zijn de volgende aspecten onderzocht:

- 3.8 Grassen als reservoir voor DTR
- 3.9 DTR-sporenluchten
- 3.10 Vatbaarheid grassen en granen voor DTR-isolaten

3.2 Herkenning en morfologische ontwikkeling van DTR-peritheciën

Werkwijze

In de herfst van 1998 en de daaropvolgende winter is stro afkomstig van ernstig door DTR aangetaste percelen (survey 1998: WT458 en WT540) microscopisch onderzocht met het doel het leren herkennen van de verschillende ontwikkelingsstadia van de peritheciën van DTR. Naast dit natuurlijk geïnfecteerd materiaal is ook gebruik gemaakt van in november 1998 met DTR geïnoculeerd stro.

Het stro is met een stereomicroscop bij een vergroting van 15 - 25x onderzocht op aanwezigheid van schimmelstructuren die voldoen aan de beschrijvingen van de vruchtlichamen (peritheciën) van DTR (Shoemaker, 1962; Wolf, 1991). Op DTR- peritheciën lijkende vruchtlichamen zijn m.b.v. een preparaat van het stro losgemaakt en bij een sterkere vergroting (100 – 400x) microscopisch onderzocht op de aanwezigheid van sporen.

Resultaten

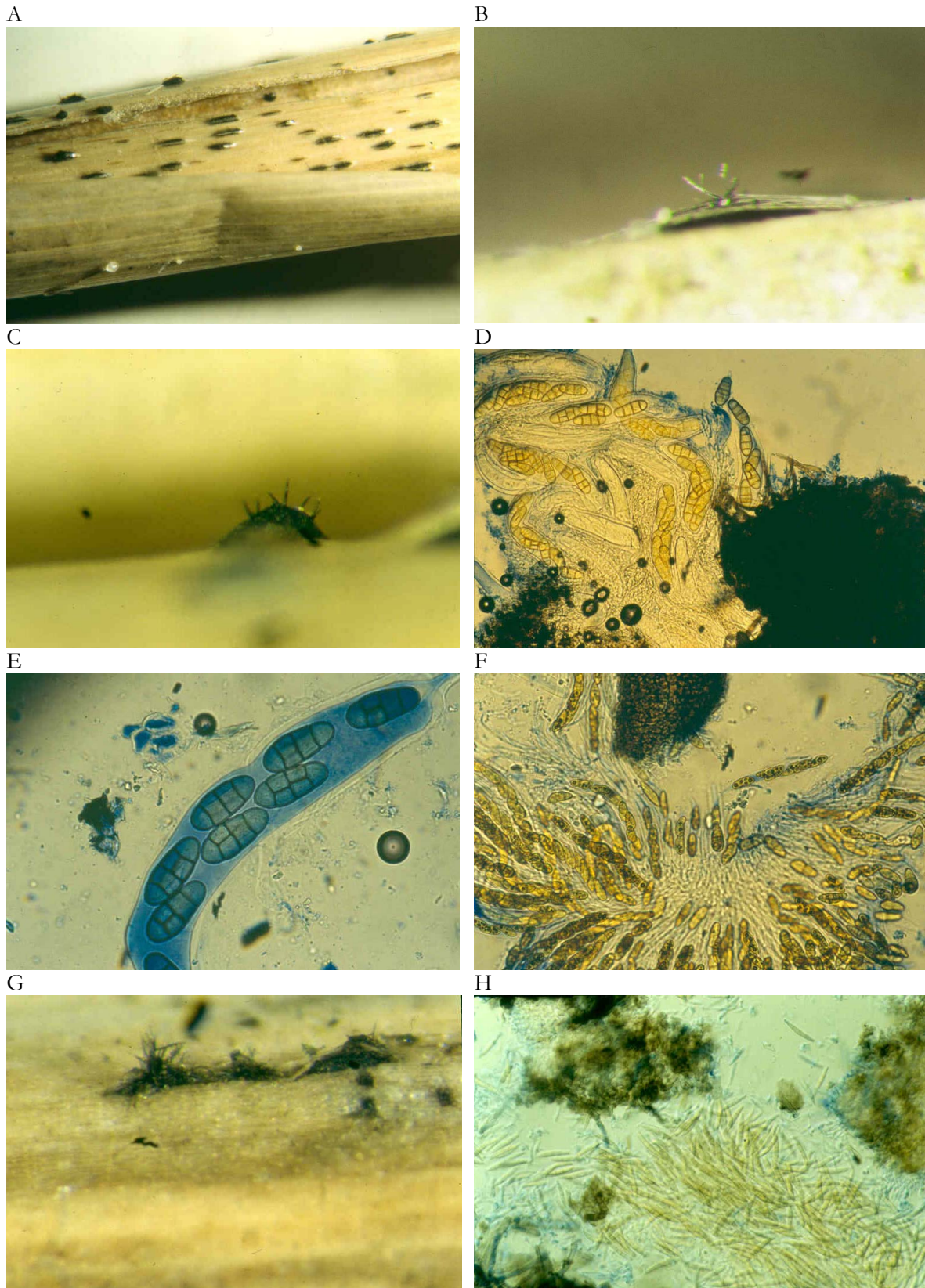
In de eerste weken werden tal van schimmelstructuren op het stro gezien welke slechts ten dele voldeden aan de beschrijvingen van de vruchtlichamen van DTR. Een deel van deze structuren bleken achteraf pycnidia van *Stagonospora nodorum* ('Kafjesbruin') of peritheciën van *Pleospora* sp. (een saprofyt) te zijn.

Na enige oefening was het mogelijk zich ontwikkelende peritheciën van *Pyrenophora tritici-repentis* te herkennen en te onderscheiden van de andere op stro voorkomende schimmelstructuren (Figuur 3.2). Voor het verwerven van de benodigde kennis is vooral gebruik gemaakt van in november 1998 met een mengsel van DTR-isolaten (zie Tabel 3.2 op blz. 43) geïnoculeerd stro. Door de variatie in vorm en afmetingen van de peritheciën van DTR is gebleken dat deze alleen met zekerheid van de vruchtlichamen van *Stagonospora nodorum* en *Pleospora* sp. te onderscheiden zijn op grond van de morfologie van in de vruchtlichamen aanwezige ascosporen.

Op pas geoogst stro zijn geen peritheciën van DTR op de stengels gezien. Wel zijn donkere structuren onder het oppervlak waargenomen. Bij latere waarnemingen is gezien dat bij de vorming van de peritheciën van DTR de stengel van binnenuit openscheurt, waarna de vruchtlichamen uiteindelijk door het oppervlak naar buiten steken. Door hun stevigheid voelt het stro dan ruw aan.

Volgroeide peritheciën zijn zwart, langwerpig en glad. Op de $\pm 0,5$ mm lange peritheciën zitten meestal enkele stevige setae (stekels). Ze zijn veelal gegroepeerd in clusters van tien of meer peritheciën. Losstaande peritheciën zijn minder vaak gezien.

De inhoud van jonge peritheciën (Figuur 3.3a) bestaat aanvankelijk uit dicht opeen gepakte schimmelraden. Tegen het eind van de winter worden in deze jonge peritheciën dunne flesvormige structuren (asci) gevormd.

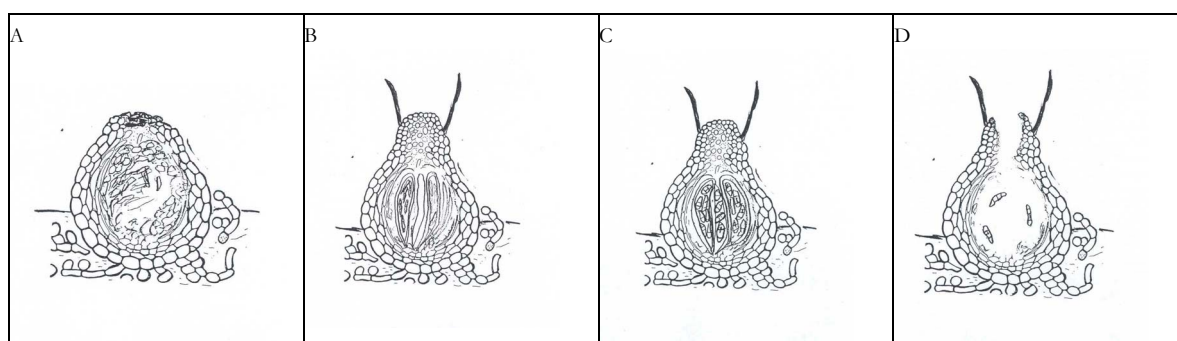


Figuur 3.2. *Vruchtlichamen en sporen van DTR, Pleospora sp. (een algemeen voorkomende saprofyt) en Stagonospora nodorum (de veroorzaker van 'Kaffesbruin') op tarwestro. A: stro met vruchtlichamen van diverse schimmels (10x); B: jong nog ingezonken perithecium van DTR (35x); C: verder ontwikkeld perithecium van DTR (35x); D: inhoud van een rijp perithecium van DTR (200x); E: ascus met rijpe ascosporen van DTR (400x); F: ascosporen van Pleospora sp. (400x); G: pycnidia van Stagonospora nodorum (30x); H: sporen uit pycnidium van Stagonospora nodorum (200x).*

In het vroege voorjaar wordt de inhoud van de asci korrelig en worden er per ascus acht ascosporen gevormd. Jonge ascosporen (Figuur 3.3b) zijn lang en smal. De later in de sporen te vormen dwarswanden ontbreken nog of zijn vaag zichtbaar.

Later in het voorjaar zijn de meeste peritheciën goed gevuld met rijpe ascosporen bevattende asci (Fig. 3.3c). Rijpe ascosporen van DTR zijn halfbolvormig en vijfcellig.

Na verloop van tijd geraken de peritheciën leeg of verschrompelen de daarin gevormde ascosporen. Soms zijn op deze oude peritheciën (Figuur 3.3d) geringe aantallen conidiën gezien. Uiteindelijk gaan de oude peritheciën kapot en blijft alleen de bodem van het vruchtlichaam in het stro zichtbaar. Op grond van deze morfologische ontwikkeling worden in het verdere onderzoek steeds volgende opeenvolgende stadia onderscheiden: jonge peritheciën; (peritheciën met) jonge ascosporen; (peritheciën met) rijpe ascosporen; oude peritheciën.



Figuur 3.3. Ontwikkelingsstadia van DTR-peritheciën; A: jong perithecium; B: perithecium met jonge ascosporen; C: perithecium met rijpe ascosporen; D: oud perithecium met weinig inhoud.

Conclusie

De peritheciën van *Pyrenophora tritici-repentis* zijn zwart, 0,5 mm lang en hebben vaak stekels. De vruchtlichamen verschijnen vaak pas na de oogst in groepjes op het stro en zijn met het blote oog moeilijk te onderscheiden van vruchtlichamen van andere schimmels die gelijktijdig in directe nabijheid van DTR-peritheciën kunnen voorkomen. Microscopisch onderzoek van de vruchtlichamen is noodzakelijk voor de vaststelling van de identiteit.

De peritheciën van DTR doorlopen van winter tot zomer de volgende stadia: jonge peritheciën; peritheciën met jonge ascosporen; peritheciën met rijpe ascosporen; oude peritheciën met weinig inhoud.

3.3 Tarwestrodekken met natuurlijke besmetting en hun betekenis als infectiebron

Werkwijze

Proefopzet

Zowel in het seizoen 1998/1999 als in het seizoen 1999/2000 is de ontwikkeling van DTR gevolgd op respectievelijk strodekken 1, 2 en 3 en strodekken 4 en 5. Na de oogst van door DTR aangetaste percelen, zijn strobelen naar Wageningen overgebracht en droog in een goed geventileerde schuur opgeslagen. In de herfst is stro als dek met een oppervlak van 2 m² en een dikte van 10 – 20 cm buiten op de

grond neergelegd. Naast onderzoek naar de ontwikkeling van de peritheciën, is met behulp van vangplanten rond de strodekken 1 en 4 de besmetting vanuit de strodekken bepaald.

Herkomst stro

Voor strodek 1 is gebruik gemaakt van stro afkomstig van perceel WT540 (cv Florida) te Nieuw-Beerta (Oost-Groningen) met 26% incidentie van DTR op de bladeren bij de derde bemonstering (DC 86) van de ziekteninventarisatie 1998. Strodek 2 komt van een perceel Vivant nabij Swifterbant (Oost-Flevoland) met een incidentie van DTR van 44% (WT456, ronde 3 van 1998). Strodek 3 betreft oud stro uit een in 1997 op proefboerderij Ebelsheerd geoogste baal tarwestro. De strodekken 1, 2 en 3 zijn eind oktober 1998 op kale zandgrond op het terrein van het IPO op een onderlinge afstand van 1 m uitgespreid. Om wegwaaien van het stro te voorkomen was gaas over de dekken gespannen.

Strodek 4 komt van perceel WT534 (Proefboerderij Ebelsheerd) met Ritmo. Tijdens de afrijping was 65% van de bladeren aangetast door DTR. Strodek 5 is afkomstig van dezelfde partij stro die gebruikt is voor strodek 1 (Florida, survey 1998 WT540). Dit oude stro is na de oogst in 1998 tot oktober 1999 in een schuur opgeslagen geweest. De strodekken 4 en 5 zijn oktober 1999 neergelegd op een stukje ondergefreest grasland op proefveld de Eng te Wageningen.

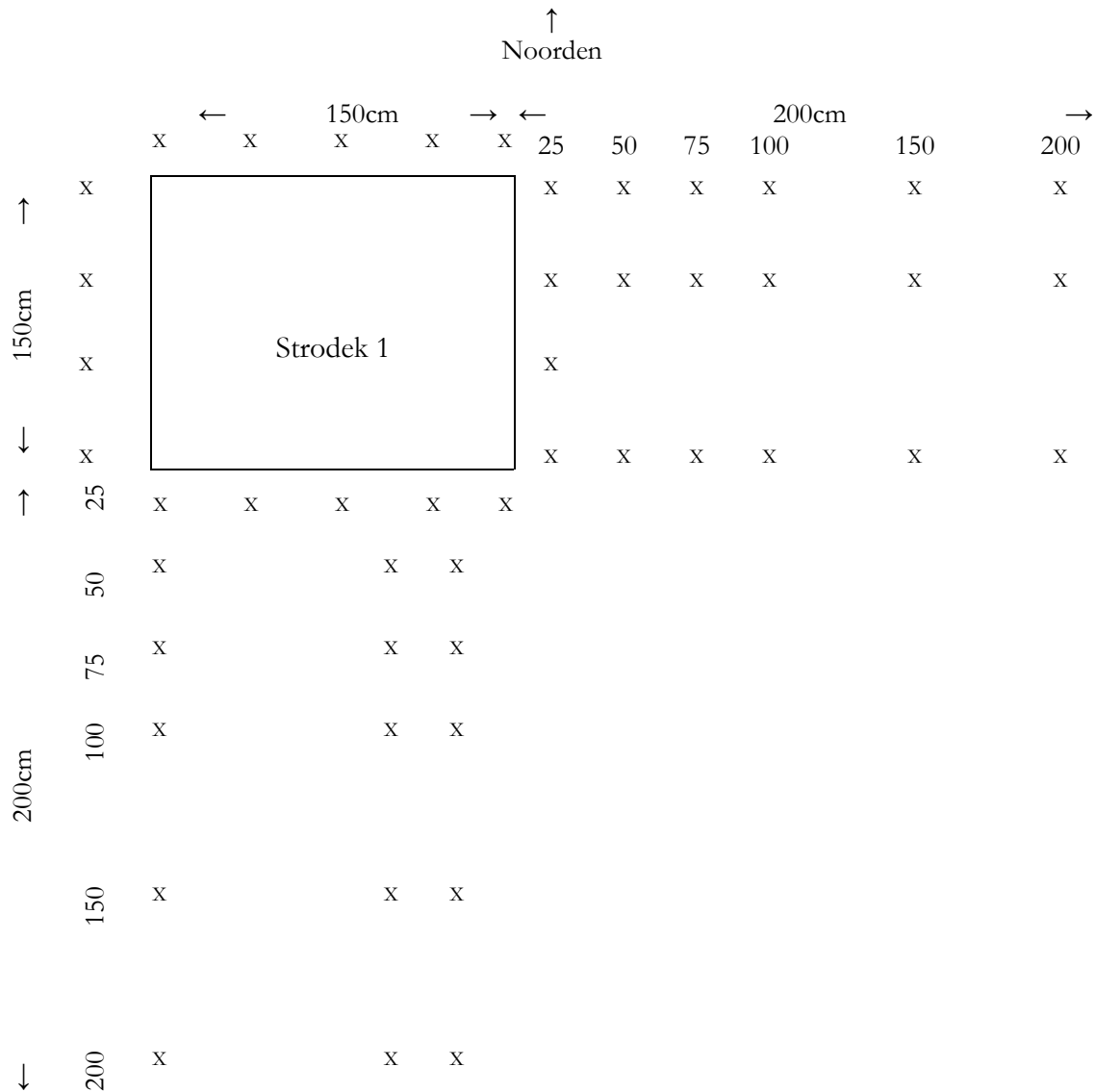
Waarnemingen

De strodekken 1, 2 en 4 zijn na het neerleggen tot in de zomer vrijwel maandelijks bemonsterd. De dekken 3 en 5 met oud stro zijn minder frequent bemonsterd. Per monstertijdstip zijn 3 monsters van 10 halmen verzameld. De monsters zijn direct microscopisch onderzocht of ingevroren voor beoordeling op een later tijdstip.

Met behulp van een stereomicroscoop zijn de DTR-peritheciën op het stro geteld. Vervolgens is, indien aanwezig, een tiental peritheciën per halm van het stro losgemaakt voor bepaling van het ontwikkelingsstadium (zie 3.2) en, bij aanwezigheid van ascosporen, ter extra bevestiging van de identiteit. Wanneer een deel van de vruchtlichamen, op grond van de aanwezige sporen, niet van DTR bleek te zijn, werd de verhouding DTR/niet-DTR gebruikt voor de correctie van het aantal getelde vruchtlichamen. Van de onderzochte stukjes stro is het oppervlak bepaald met interactieve beeldanalyse-apparatuur om het aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak te kunnen berekenen.

Vangplanten

Bij de strodekken 1 en 4 is in de maanden maart tot oktober met vangplanten nagegaan of zij als infectiebron kunnen dienen. Als vangplant zijn in kunststof potten (7x7x8 cm) opgekweekte, 4 – 6 weken oude kiemplanten van tarwe (cv Vivant) gebruikt. In 1999 zijn maandelijks 50 potten met 5 - 10 vangplanten op afstanden van 25 tot 200 cm rond strodek 1 ingegraven (Figuur 3.4). In 2000 zijn per maand 20 potten met vangplanten op een afstand van 50 cm rond strodek 4 uitgezet. De bladeren van de vangplanten zijn wekelijks gecontroleerd op symptomen van DTR. Potten met door DTR aangetaste planten zijn tijdens deze controles verwijderd. De resterende vangplanten zijn na vier weken aan het strodek te zijn blootgesteld, vervangen door nieuwe.



Figuur 3.4. Positie vangplanten rond strodek 1. Van maart tot oktober 1999 zijn de twee maanden oude tarweplanten wekelijks geïnspecteerd op symptomen van DTR en om de vier weken vervangen.

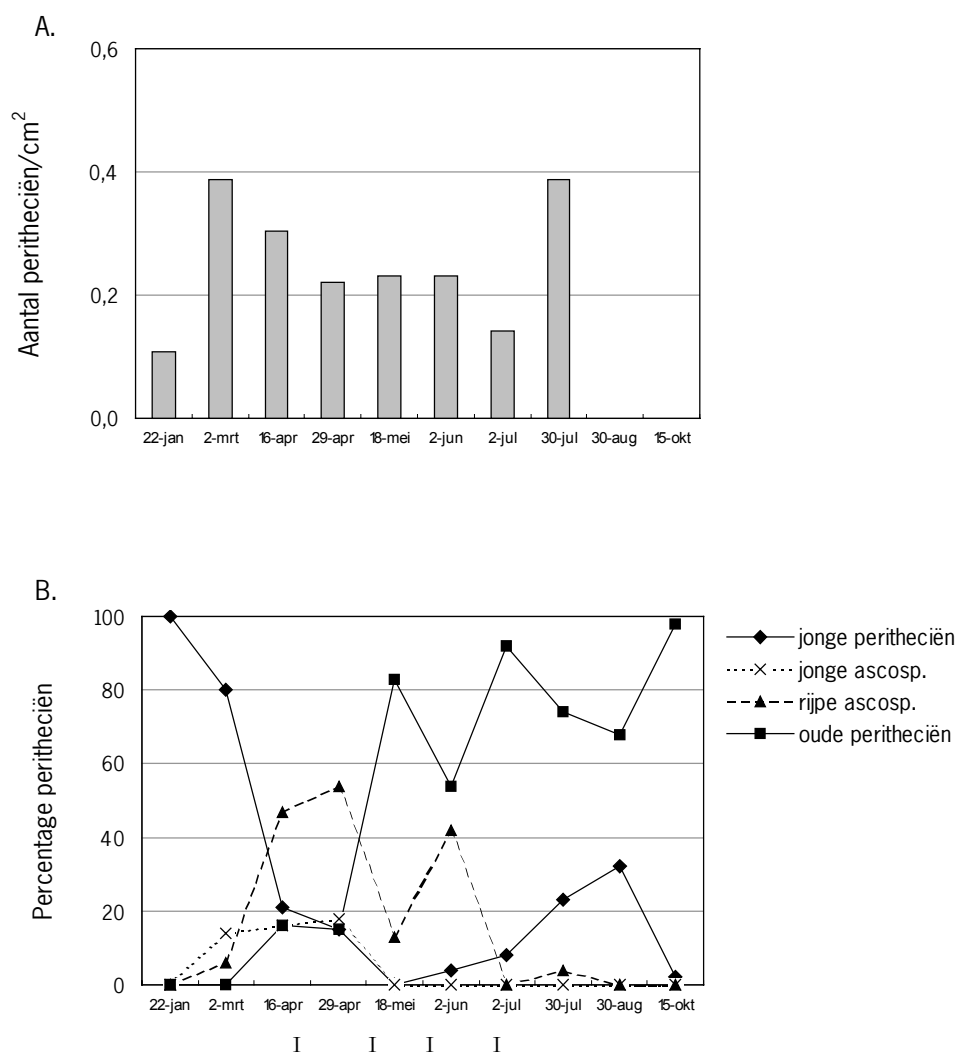
Resultaten

Ontwikkeling van de peritheciën

Aantallen peritheciën. De observaties aan het uitgelegde verse stro (strodekken 1, 2 en 4) afkomstig van percelen met een natuurlijke DTR-infectie geven een tamelijk eenduidig beeld van de ontwikkeling van DTR-peritheciën (Fig. 3.5, 3.6, 3.7). Voor het verschijnen van de peritheciën aan het oppervlak zijn vaak al zwarte structuren onder de epidermis te onderscheiden. Op jonge peritheciën ontbreken vaak nog de kenmerkende setae. Bij de strodekken 1 en 2 zijn eind januari de eerste oppervlakkige peritheciën verschenen. Bij strodek 4 is dit al in november het geval. Dit aantal neemt vervolgens toe en rond maart/april zijn de hoogste dichtheden bereikt; in 1999 globaal variërend van 0,4 tot 0,7 peritheciën per cm². In 2000 zijn tienmaal zoveel peritheciën gevonden als in 1999. Vervolgens fluctueren de aantallen bij de verschillende strodekken aanzienlijk.

Eind juli liggen de aantallen peritheciën bij de drie strodekken weer op het niveau van maart/april. Vanwege de voortgaande vertering en daardoor broze toestand van het stro is na juli/augustus afgezien van het tellen van de peritheciën op stro. Vanaf dat moment zijn de peritheciën bij strodek 1 nog wel microscopisch onderzocht. Tot eind juli zijn in 4% van de peritheciën ascosporen aangetroffen.

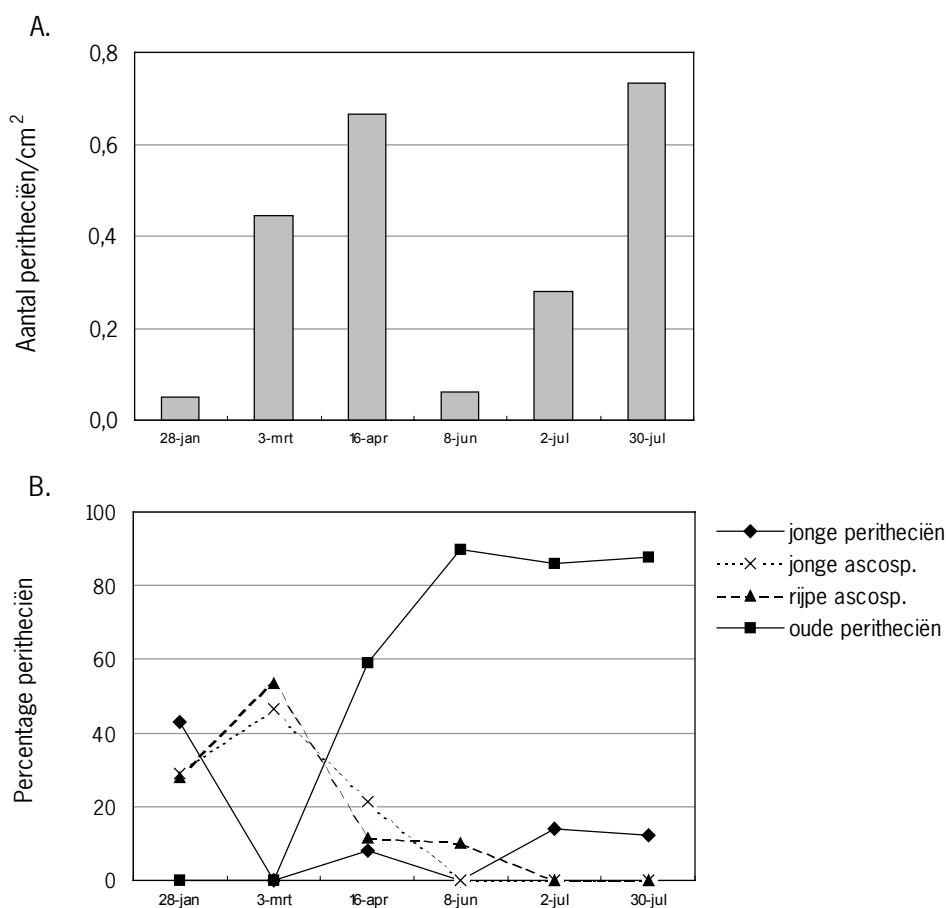
Ook op het oude stro dat minder intensief is bemonsterd zijn peritheciën gevormd. Op strodek 3 werden in april 1999 0,04 peritheciën per cm² stro geteld. Meer dan de helft van de vruchtlichamen was gevuld met jonge (15% van de peritheciën) of rijpe (54% van de peritheciën) ascosporen. Het overjarige stro van strodek 5 (Fig. 3.8) is viermaal bemonsterd. Op dit overjarige stro is de toename van de aantallen peritheciën vergelijkbaar met die op het verse stro van dezelfde partij een jaar eerder (strodek 1).



Figuur 3.5. Ontwikkeling van peritheciën van DTR in strodek 1. Het stro was afkomstig van perceel WT540 (cv Florida; Nieuw Beerta) van de ziekteninventarisatie 1998. A. Verloop van de aantallen peritheciën aan het stro-oppervlak. B. Ontwikkelingsstadia van de peritheciën in de loop van het seizoen; de letters I onder de tijdsas geven de infectieusiteit aan van het strodek voor vangplanten.

Rijping van de peritheciën. De overeenkomst tussen de rijping van de peritheciën in strodek 1 in seizoen 1998/1999 en strodek 4 in seizoen 1999/2000 is frappant (Fig. 3.5, 3.7). Bij het verschijnen van de eerste peritheciën zijn deze nog ongedifferentieerd. Tussen februari en april is er een sterke toename van de stadia met jonge en rijpe ascosporen. Vanaf mei stijgt het percentage oude peritheciën abrupt en fluctueert rond de 80%. Toch worden er op alle volgende monsterdata tussen de lege en soms beschadigde peritheciën aanzienlijke aantallen jonge peritheciën, vaak zonder de typische DTR-setae, aangetroffen met ongedifferentieerd mycelium. Vanaf juli vindt er kennelijk geen rijping van deze peritheciën plaats omdat de stadia met ascosporen niet meer worden aangetroffen. Incidenteel zijn er op enkele peritheciën conidiën van DTR aangetroffen na de fase met veel rijpe ascosporen.

Aannemend dat strodek 1 en 4 het standaard patroon van de ontwikkeling van de peritheciën te zien geven, dan is het patroon in strodek 2 (Fig. 3.6) daarmee, met uitzondering van de beginfase, vergelijkbaar. Het geringe aantal peritheciën dat in januari wordt waargenomen is namelijk al voor ongeveer 60% gedifferentieerd in jonge en rijpe ascosporen. De plotselinge daling van het aantal peritheciën per cm^2 in het monster van 8 juni lijkt niet reëel, want de daaropvolgende sterke stijging van het aantal gaat niet gepaard met een toename van het percentage jonge peritheciën. Waarschijnlijker is dat het stro niet homogeen met DTR is besmet. De rijping van de peritheciën in het overjarige stro van strodek 5 (Fig. 3.8) is waarschijnlijk volgens het standaardpatroon verlopen. Het laag blijven van de stadia met jonge en rijpe ascosporen kan verklaard worden doordat er in maart en april geen monsters zijn genomen.



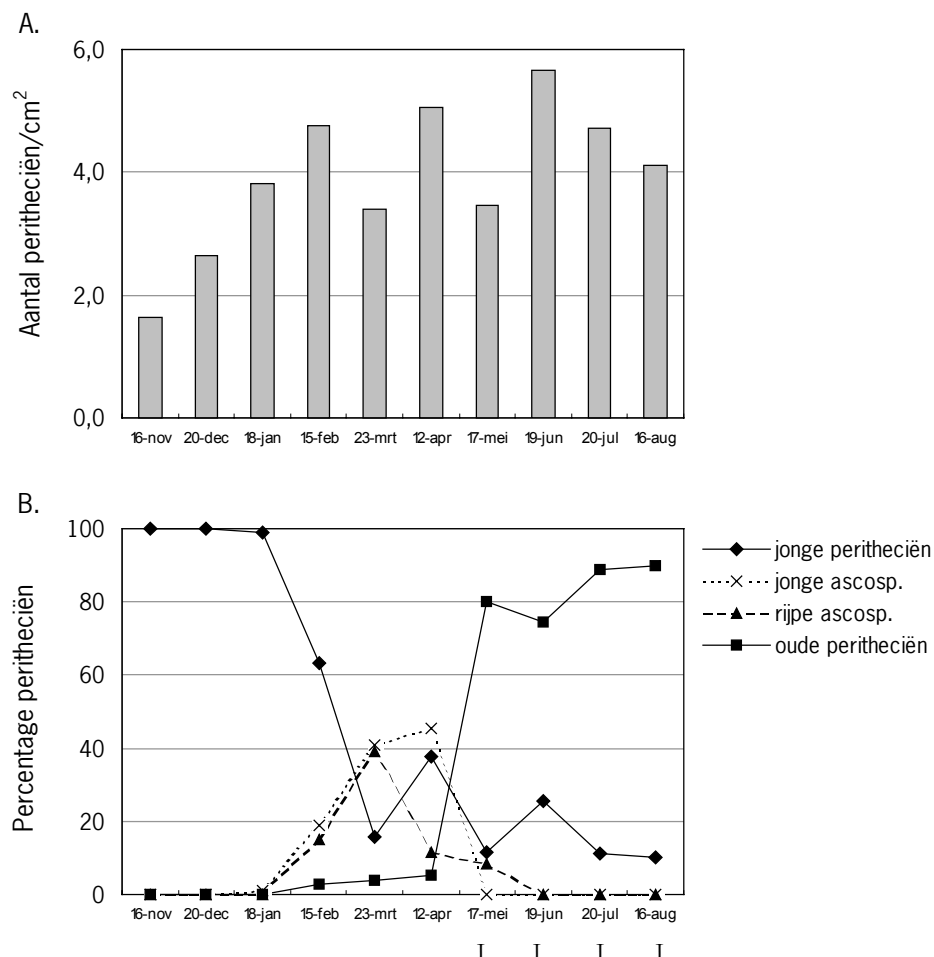
Figuur 3.6. Ontwikkeling van peritheciën van DTR in strodek 2. Het stro was afkomstig van perceel WT456 (cv Vivant; Flevoland) van de ziekteninventarisatie 1998. A. Verloop van de aantallen peritheciën aan het stro-oppervlak. B. Ontwikkelingsstadia van de peritheciën in de loop van het seizoen.

Infectie van de vangplanten

Medio april 1999, vier weken na het uitzetten van de eerste vangplanten in maart, werden de eerste teerspatjes en kleine lesies van DTR rond strodek 1 waargenomen (Fig. 3.5). Bij vrijwel alle bladeren van de planten aan de rand van het strodek stonden, was 1 - 5% van het bladoppervlak aangetast. Op de planten die op een afstand van 50 – 75 cm stonden van het strodek werd slechts een enkele lesie waargenomen. Indien bij deze planten een blad was geïnfecteerd, was minder dan 1% van het bladoppervlak aangetast. Planten op grotere afstand waren vrij van symptomen van DTR.

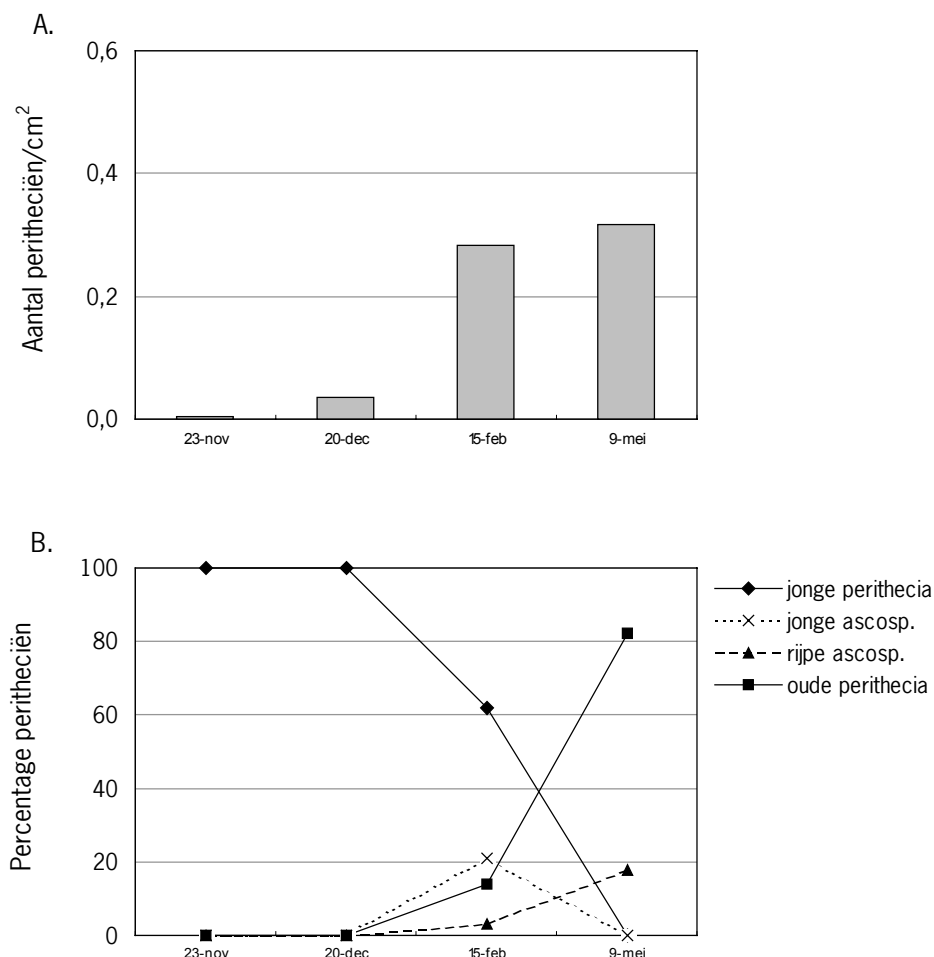
Tot begin juni zijn regelmatig lesies van DTR waargenomen op nieuwe vangplanten op afstanden van 25 en 50 cm van het strodek. Het aantal lesies was steeds geringer dan in april. Na juli bleek het strodek niet meer infectieus te zijn.

Eind april 2000 werden de eerste teerspatjes waargenomen op rond strodek 4 uitgezette vangplanten (Fig. 3.7). In mei en juni werden al de op 50 cm uitgezette vangplanten geïnfecteerd door DTR. Tot medio juli werden nog enkele nieuwe infecties (bij vier van de 20 potten met vangplanten) gevonden. Tussen juli en september bleven de vangplanten vrij van DTR. In september zijn in totaal drie lesies van DTR gevonden.



Figuur 3.7. Ontwikkeling van peritheciën van DTR in strodek 4. Het stro was afkomstig van perceel 1 van proefboerderij Ebelsheerd (Nieuw Beerta) met een in 1999 zware aantasting door DTR. A. Verloop van de aantallen peritheciën aan het stro-oppervlak. B. Ontwikkelingsstadia van de peritheciën in de loop van het seizoen; de letters I onder de tijds geven de infectieusiteit aan van het strodek voor vangplanten.

Hoewel er bij strodek 1 in april, mei en juni en bij strodek 4 in juli op een aantal peritheciën conidiën van DTR werden aangetroffen mag worden aangenomen dat de vangplanten door ascosporen zijn geïnfecteerd die ten opzichte van de conidiën in overmaat werden gevormd. Bovendien werden bij strodek 4 de vangplanten in april en mei geïnfecteerd voor dat er conidiën werden gesignaleerd.



Figuur 3.8. Ontwikkeling van peritheciën van DTR in strodek 5 Het stro was afkomstig van perceel WT540 (cv Florida; Nieuw Beerta) van de ziekteninventarisatie 1998 en is voor uitspreiden een jaar als baal in een schuur opgeslagen geweest. A. Verloop van de aantallen peritheciën aan het stro-oppervlak. B. Ontwikkelingsstadia van de peritheciën in de loop van het seizoen.

Discussie en conclusie

De gevonden ontwikkeling van de peritheciën in natuurlijk besmet stro komt overeen met de resultaten van recent Duits onderzoek (Wolf, 1991). De tijdspanne waarin de peritheciën te voorschijn komen is echter veel ruimer gebleken en stopt niet na de herfst en vindt soms pas in de loop van de winter plaats. De in de herfst van 1998 en 1999 onder de epidermis waargenomen zwarte structuren zijn waarschijnlijk vroege stadia van peritheciën van DTR en andere schimmels. Dit vermoeden berust vooral op de waarneming van veel van dergelijke subepidermale vruchtlichamen rond de eerste peritheciën van DTR bij strodek 4.

In ons onderzoek begon de vorming en ontwikkeling van ascosporen in de peritheciën, evenals in het Duitse onderzoek, eind januari. Vanaf begin maart tot eind mei kwamen de ascosporen vrij. Na begin juli werden in beide jaren geen peritheciën met ascosporen gevonden. In beide jaren waren peritheciën met conidiën weinig talrijk. Naast oude peritheciën die leeg waren, werden er gedurende de zomermaanden steeds ook tussen de 10 en 20% jonge peritheciën met een inhoud van ongedifferentieerd mycelium op het stro waargenomen.

Van groot belang zijn de waarnemingen aan overjarig stro die aantonen dat overjarig stro nog een even sterke inoculumbron kan zijn als vers stro.

De ervaringen met de vangplanten rond strodekken 1 en 4 komen overeen met eerder gepubliceerd onderzoek (Schilder & Bergstrom, 1992; Wolf, 1991) over de verspreiding van ascosporen, waarin wordt beschreven dat de meerderheid van de ascosporen een afstand afleggen van minder dan 35 cm. De periode eind maart tot begin juli, waarin de meeste lesies van DTR op de vangplanten werden gevonden, komt overeen met de periode waarin op het stro veel peritheciën met ascosporen aanwezig waren. Het geringe aantal in september 2000 gevonden lesies op vangplanten rond strodek 4 zijn mogelijk veroorzaakt door op peritheciën gevormde conidiën of conidiën gevormd in lesies van in het strodek aanwezige tarweopslag.

De waarnemingen aan stro afkomstig van zwaar door DTR aangetaste gewassen tonen aan dat dit stro een belangrijke bron van ascosporen van DTR is. De ascosporen worden alleen gedurende het voorjaar gevormd en uitgestoten. Op stro worden weinig conidiën gevormd. Dit betekent dat voor stro de ascospore de voornaamste vorm van DTR is waarmee de ziekte zich kan verspreiden. In deze proef konden ascosporen slechts tarweplanten infecteren op minder dan een meter afstand van het besmette stro. Bij gebruik van stro als afdeklaag bij de teelt van vorstgevoelige gewassen in gebieden met veel tarweteelt [zie het verslag over Deel 1 van het huidige project (Kema *et al.*, 1999) voor voorbeelden], is het risico op verspreiding van DTR te beperken door inwaaien van stro in tarwepercelen te voorkomen door bufferzones van enkele meters (onbeteelde wendakkers, sloten, kavelpaden, e.d.) tussen strodekken en tarwepercelen.

3.4 DTR in tarwe-praktijkpercelen naast stoppels, opslag en strodekken

Werkwijze

Naar aanleiding van de in 1998 waargenomen DTR-epidemieën in tarwepercelen naast percelen met strodekken (Kema *et al.*, 1999) en de DTR-aantasting bij vangplanten rond de in Wageningen uitgelegde strodekken is er gedurende de ziekteninventarisaties in 1999 en 2000 gericht gezocht naar praktijksituaties die het besmettingsgevaar vanuit strodek, opslag of stoppels zouden kunnen bevestigen.

Waarnemingen

Observaties in 1999

In 1999 zijn in totaal vijf percelen, die grensden aan een perceel met tarwestoppels of strodek, onderzocht op het optreden van DTR. Echter, de stoppels of strodekken die mogelijk een DTR-bron zouden kunnen zijn, waren niet, of te licht met DTR besmet voor een conclusie ten aanzien van de rol van besmette strodekken in de epidemiologie van DTR.

Stoppels en opslag naast tarweperceel WT234 van de ziekteninventarisatie 2000

Het perceel WT234 met Residence, in de subregio Hoekse Waard, maakte deel uit van de ziekteninventarisatie 2000. Het perceel was aan de noordzijde begrensd door een 15 m brede strook met stoppels van een tarwegewas van het seizoen 1998/1999. Deze strook hoorde bij een perceel waar zonder onderwerken van de stoppels roodzwenkgras was ingezaaid.

Bij de eerste bemonstering van perceel WT234 werd DTR geconstateerd op tarweopslag in het stoppelveldje. Dit is aanleiding geweest om de ontwikkeling van DTR in en rond het stoppelveldje te vervolgen. Vanaf de eerste waarneming medio april kwamen er op circa 20% van de stoppels peritheciën van DTR voor, met in april zowel jonge als rijpe ascosporen, begin mei volop rijpe ascosporen en medio mei alleen nog maar oude peritheciën. Tegelijkertijd werden er al vanaf april in de opslag tussen de stoppels DTR-lesies aangetroffen. In aangrenzende planten van perceel WT234 werden er medio mei de eerste DTR-lesies gezien. In de drie standaard observatierondes was de DTR-incidentie achtereenvolgens 0, 0 en 6% op respectievelijk 11 april, 31 mei en 3 juli. Op geen van de monsterdata zijn lesies van DTR op roodzwenkgras geconstateerd. Op 31 mei was de tarweopslag overgroeid door het roodzwenkgras. De onderste bladeren van de tarweopslag waren nog steeds DTR-positief.

Bij deze waarneming is sprake van een stoppelstrook met een zware DTR-besmetting. Toch heeft deze strook weinig of geen betekenis gehad voor een vroege besmetting van het aangrenzende tarweperceel. Mogelijk is de, qua windrichting, ongunstige positie van deze strook ten noorden van het tarweperceel daar debet aan.

Discussie en conclusie

Mede doordat in 1999 en 2000 de aantasting door DTR in Nederland gering was en bovendien in 2000 laat op gang kwam, is uit de gerichte observaties niet duidelijk geworden in welke mate een naburig stoppelveld of dekstro een risico vormt voor DTR-aantasting in een aangrenzend tarwegewas. De positionering ten opzichte van de overheersend westelijke windrichting was niet optimaal. Bovendien was bij de observaties in 1999 de besmetting van stoppels en stro met DTR gering. Wel is duidelijk dat, indien stro of stoppels besmet zijn met DTR-peritheciën, DTR zich via de vrijkomende ascosporen in de tarweopslag kan vestigen. Voor de vaststelling van dit risico moeten vruchtlichamen op verdacht stro microscopisch worden onderzocht. De voorgeschiedenis van de percelen en/of het optreden van bladplekjes in opslagplanten geeft onvoldoende informatie.

Het risico van stoppels is nader onderzocht in daartoe aangelegde veldproeven (zie 4.4). Verder worden in paragraaf 3.6 de condities voor het vrijkomen van ascosporen bestudeerd.

3.5 Stro van andere gewassen dan tarwe als bron voor DTR

Werkwijze

Aanvankelijk kwam DTR voornamelijk voor in Oost-Groningen. De ziekte is de laatste jaren ook in andere regio's waargenomen. Waardoor deze uitbreiding plaatsvindt is onduidelijk.

Tijdens de zomermaanden kan via windverspreiding van conidiën de ziekte zich in principe over lange afstanden uitbreiden naar andere tarwepercelen. Het is onbekend of conidiën die terechtkomen op andere (graan)gewassen in naburige percelen deze gewassen na afsterven kunnen koloniseren. Wanneer DTR in staat blijkt naast tarwe andere gewassen te koloniseren en op de gewasresten daarvan peritheciën met ascosporen te vormen dan zou dat een snelle verspreiding van de ziekte in Nederland sterk bevorderen.

Om dit te onderzoeken is in 1999 stro van haver, gerst, raaigras en koolzaad, die benedenwinds van het door DTR aangetaste praktijkperceel Ritmo op Ebelsheerd geteeld werden (survey 1999, WT534), voor onderzoek naar Wageningen gebracht. Ter vergelijking diende DTR-vrij tarwestro (Vivant) van het proefveld Grebbendijk te Wageningen. Ter controle is ook besmet stro van het praktijkperceel Ritmo (WT534) op dezelfde wijze in Wageningen op de productie van peritheciën onderzocht.

Steeds is ook een deel van elke partij stro kunstmatig met DTR besmet om vast te stellen of het desbetreffende stro de potentie heeft om onder extreem hoge ziektedruk als inoculumbron te fungeren. Om de invloed van micro-organismen op dit niet-steriele stro op de kolonisatie door DTR na te gaan is ook een klein deel van elk type stro eerst gesteriliseerd voordat het kunstmatig met DTR werd besmet.

Ontwikkeling op onbehandeld niet-steriel stro

Half oktober is, ter bevordering van de schimmelgroei, een baal stro van elk gewas gedurende 3 dagen 2x per dag natgespoten met water. De helft van dit van nature, als gewas, aan DTR-conidiën blootgestelde stro is daarna in drievoud als deklaag in oppervlakken van 1 x 1 m op zandgrond van de Eng te Wageningen neergelegd. Het DTR-vrije tarwestro van de Grebbendijk is hier eveneens uitgespreid.

De andere helft van het aan DTR-vluchten blootgestelde stro is in een onverwarmde ruimte over de bodem van aardappelbewaarkisten met een inhoud 1 m³ verspreid en gemengd met twee ($\pm$ 1,5 kg) twee-weken oude, goed doorgroeide, DTR-kweken op haverkorrels. De haverkorrels waren, na sterilisatie, beënt met stukjes agar met mycelium van de in Tabel 3.2 vermelde monospore-isolaten van DTR. Na inoculatie is het stro twee weken afgedekt met vochtige jutezakken. Eind oktober is het geïnoculeerde stro net zo als het niet geïnoculeerde stro als deklaag uitgelegd.

Begin mei 2000 zijn de strodekken bemonsterd. Van 25 halmen van elk strodek is 10 cm microscopisch onderzocht op de ontwikkeling van peritheciën van DTR.

Ontwikkeling op gesteriliseerd stro

Om na te gaan of DTR zich überhaupt op stro van andere gewassen en DTR-vrij tarwestro kan ontwikkelen is stro voor inoculatie met DTR gesteriliseerd. Begin december 1999 is DTR-vrij tarwestro (Vivant; proefveld Grebbendijk, Wageningen) en stro van de percelen haver, gerst, raaigras en koolzaad van proefboerderij Ebelsheerd geautoclaveerd en beënt met eenzelfde mengsel van DTR-isolaten als boven (zie 3.6 voor details). Na 14 dagen incubatie in polypropyleen kweekzakken (drie per herkomst stro) bij 18°C werden de stroculturen buiten in gazen nylon zakjes op zandgrond van de Eng te Wageningen neergelegd.

Vóór het overbrengen naar het veld zijn de stroculturen onderzocht op de aanwezigheid van mycelium of peritheciën van DTR. Begin mei 2000 is van 10 halmen uit elke stroculture 10 cm microscopisch onderzocht op de ontwikkeling van peritheciën van DTR.

Resultaat

Ontwikkeling op onbehandeld niet-steriel stro

In mei 2000 waren alleen op het stro van het in 1999 door DTR aangetaste perceel uit Groningen peritheciën met ascosporen van het pathogeen gevormd. Dit stro met natuurlijk inoculum had gemiddeld 3,7 peritheciën per cm². Extra inoculatie van dit stro met DTR-kweken op haverkorrels had geen

invloed op het aantal peritheciën dat 2,4 per cm² bedroeg. Deze statistisch niet verschillende aantallen wijzen erop dat de extra inoculatie niet tot een extra besmetting heeft geleid.

Op het in mei 2000 bemonsterde stro van haver, gerst, raaigras en koolzaad, dat in 1999 als gewas van nature was blootgesteld aan vluchten van DTR-conidiën, konden geen DTR-peritheciën worden gevonden. Op stro dat extra met DTR was geïnoculeerd werden eveneens geen DTR-peritheciën gevonden. Slechts op één van de in totaal 75 onderzochte halmen van het met DTR geïnoculeerde tarwestro uit Wageningen werden DTR-peritheciën met rijpe ascosporen aangetroffen. Op het niet geïnoculeerde tarwestro uit Wageningen werden, zoals te verwachten was, geen DTR-peritheciën aangetroffen.

Ontwikkeling op gesteriliseerd stro

Gedurende de kolonisatieperiode van 14 dagen in de broedstoof raakte het geautoclaveerde en met het mengsel van DTR-isolaten geïnoculeerde stro van de verschillende gewassen dicht bezet met wit tot grijs gekleurd mycelium. Vooral op raaigras en tarwe waren al jonge peritheciën gevormd in de myceliummatten. Het niet-geïnoculeerde stro was vrij van mycelium.

In de monsters van mei 2001 waren op het niet-geïnoculeerde stro van tarwe, gerst, haver, raaigras en koolzaad geen peritheciën van DTR aanwezig. Op het geïnoculeerde stro van deze gewassen waren wel peritheciën van DTR gevormd (Tabel 3.1). De perithecium-dichtheden op stro van tarwe, gerst en raaigras verschilden weinig. Op stro van haver en koolzaad waren duidelijk minder peritheciën gevormd.

Op stro van gerst en haver was de morfologie van de peritheciën gelijk aan die op tarwestro. De meeste peritheciën op het stro van de granen waren langwerpig met meerdere stevige setae (stekels). Bij de peritheciën die op de gewasresten van raaigras en koolzaad waren gevormd was de vorm en grootte variabel. Naast de typische langwerpige peritheciën met setae kwamen ook veel kleine bolvormige en kale peritheciën voor. Verder verschilde het ontwikkelingsstadium van de peritheciën op raaigras en koolzaad van die op stro van graan. Op raaigras bevatten de peritheciën naar verhouding meer jonge ascosporen dan bij tarwe en de andere granen. Op koolzaad waren de peritheciën juist verder ontwikkeld.

Na sterilisatie van het stro is er een barrière weggenomen waardoor stro van alle types in meer of mindere mate door DTR kan worden gekoloniseerd. Onder natuurlijke omstandigheden komt deze situatie niet voor.

Tabel 3.1. Ontwikkeling van DTR op geautoclaveerd stro van verschillende gewassen: aantallen en ontwikkelingsstadium van de begin mei 2000 aanwezige peritheciën.

Gewas	Peritheciën (aantal/cm ²) ¹		Ontwikkelingsstadium ²			
			Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
Tarwe	10.4	abc	30	33	36	1
Gerst	10.5	ab	56	26	18	0
Haver	5.6	bc	49	0	47	4
Raaigras	14.6	a	24	71	5	0
Koolzaad	1.9	c	21	13	31	35

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak, de verschillen tussen de getallen gevolgd door eenzelfde letter zijn statistisch niet betrouwbaar (P 0,05).

² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.

Discussie en conclusie

De waarnemingen aan stro van haver, gerst, raaigras en koolzaad uit Oost-Groningen waar DTR endemisch is, geven aan dat resten van deze gewassen die van nature bloot hebben gestaan aan besmetting met DTR geen belangrijke rol spelen in de epidemiologie van *Pyrenophora tritici-repentis*. De resultaten van de inoculaties van geautoclaveerd stro van de diverse gewassen en DTR-vrij tarwestro geven aan dat DTR deze substraten in principe wel kan koloniseren en hierop kan overwinteren.

Het niet aanslaan van kunstmatig inoculum van DTR op niet-steriel stro van deze andere gewassen en DTR-vrij tarwestro is te verklaren uit het feit dat de schimmel als saprofyt ten opzichte van van nature aanwezige andere schimmels en bacteriën weinig concurrentiekracht vertoont (Summerell & Burgess, 1988).

Volgens de literatuur kan DTR gerst wel infecteren (Summerell & Burgess, 1988) en na overwintering op stoppels peritheciën vormen (Bockus, 1997). De rol van gerst als mogelijke waardplant wordt nader beschreven in 3.10.

DTR kan zich dus alleen goed op stro vestigen en daar overwinteren wanneer dit stro van een gewas betreft dat in een vroeg stadium (groen blad) door DTR is geïnfecteerd. Als DTR in een later stadium met stro in contact komt dan heeft het pathogeen, waarschijnlijk vanwege concurrerende schimmels en bacteriën, geen kans meer. Mits deze concurrerende microflora niet door bepaalde bestrijdingsmiddelen is verstoord.

De weinig succesvolle kolonisatie van niet steriel stro na beënting met DTR is ook in de experimenten die in 3.6 worden beschreven waargenomen.

3.6 Condities voor ascosporenproductie

Werkwijze

Voor de ontwikkeling van maatregelen gericht op de beperking van de rol van stro als infectiebron (gewasrestmanagement) is het van belang te weten onder welke condities ascosporen worden gevormd. Voor de bestudering van de invloed van omgevingsfactoren op de vorming en rijping van vruchtlichamen van DTR op stro heeft stro met een natuurlijke besmetting nadelen. De mate van besmetting wisselt van perceel tot perceel en van jaar tot jaar. Verder zijn de peritheciën van DTR niet homogeen verdeeld over de strohalmen en kunnen vruchtlichamen van andere schimmels aanleiding zijn voor complicaties bij de interpretatie van de resultaten van experimenten. Voor dit type ecologisch onderzoek is het dan ook nodig om over gestandaardiseerd kunstmatig besmet stro te kunnen beschikken dat zich uiteraard als natuurlijk besmet stro dient te gedragen.

Dit onderzoek omvatte allereerst de methodiekontwikkeling, waaronder de keuze van DTR-isolaten en inoculatieprocedure. Vervolgens is de ontwikkeling van DTR op kunstmatig en natuurlijk besmet stro gedurende lange tijd onder verschillende omstandigheden gevolgd (veldcondities en laboratoriumcondities bij 18 en 4 °C).

DTR-isolaten

Voor de eerste oriënterende inoculatieproef van november 1998 zijn reinkultures van DTR gebruikt, afkomstig van percelen in Oost-Flevoland, de Wieringermeer, West- en Oost-Groningen. In latere inoculatieproeven is monospore-isolaat 98122 of een mengsel van al de in Tabel 3.2 vermelde monospore-isolaten van DTR gebruikt afkomstig uit het populatiegenetisch onderzoek (Hoofdstuk 5). De monospore-isolaten werden op stukjes gedroogd agar (doorsnede 3 mm) in afsluitbare plastic buisjes bij een temperatuur van -80 °C bewaard.

Tabel 3.2. *Monospore-isolaten van DTR gebruikt voor het inoculeren van stro.*

Isolaat nummer	Jaar van isolatie	Herkomst		
		Ras	Subregio	Plaats
98001	1998	Vivant	West-Groningen	Wehe-den Hoorn
98030	1998	Bercy	Wieringermeer	Middenmeer
98035	1998	Florida	Oost-Groningen	Nieuw Beerta
98048	1998	Vivant	Oost-Flevoland	Swifterbant
98050	1998	Vivant	Oost-Flevoland	Swifterbant
98122	1998	Tambor	West-Groningen	Hornhuizen
99010	1999	Ritmo	Oost-Groningen	Nieuw Beerta
99120	1999	Vivant	Limburg	Voerendaal
99175	1999	Vivant	De Betuwe	Andelst
99185	1999	Ritmo	Zuid Beveland	Lewedorp
99280	1999	Vivant	Wieringermeer	Slootdorp
99315	1999	Vivant	Noordoost Polder	Emmeloord

Herkomst stro

Geautoclaveerd stro. Voor de inoculatieproeven is stro gebruikt van een in het groeiseizoen 1997/1998 DTR-vrij gebleven gewas (cv Vivant) op proefveld Grebbendijk te Wageningen. Vier dagen voor inoculatie werden stukken stro van 20 – 30 cm een nacht in water geweekt en vervolgens na afgieten in porties van 200 – 250 stengels op twee opeenvolgende dagen in polypropyleen kweekzakken (200 x 560 mm) gedurende 45 minuten bij 121 °C in een hogedrukpan verhit.

Niet-geautoclaveerd stro. In een aantal experimenten zijn ook porties stro gebruikt waarbij, na het weken, de erop aanwezige schimmels en andere micro-organismen niet zijn gedood door stomen onder hoge druk.

Natuurlijk besmet stro. Tussen november 1999 en oktober 2000 is ook stro gebruikt van een, in 1999 geïnventariseerd, door DTR aangetast praktijkperceel Ritmo van proefboerderij Ebelsheerd (WT534). Vanaf de oogst van het perceel zijn balen in een vorstvrije schuur opgeslagen. Dit stro werd niet geweekt of geautoclaveerd.

Kunstmatige inoculatie

De gangbare inoculatie van het stro met een geconcentreerde sporensuspensie kon niet worden uitgevoerd omdat DTR op agar te weinig conidiën vormt. In twee oriënterende proeven is geëxperimenteerd met een myceliumsuspensie en een suspensie van ascosporen afkomstig van stro uit de eerste oriënterende proef.

Bij de overige inoculatieproeven zijn stukjes V8-agar (oppervlakte $\pm 1 \text{ cm}^2$) begroeid met mycelium van DTR gebruikt als inoculum. Twee weken voor inoculatie van het stro is V8-agar (125 ml V8-groentesap van Cambell Foods Belgium, 2,5 g CaCO_3 , 16,5 g agar, 708 ml water) beënt met DTR-isolaten. Na incubatie van DTR op de agarplaten bij 18 °C in het donker, zijn de kweekzakken met geautoclaveerd of niet-geautoclaveerd stro met 30 – 35 stukjes agar (oppervlakte $\pm 1 \text{ cm}^2$) beënt. Wanneer met het mengsel van DTR-isolaten is geïnoculeerd, zijn van elk isolaat drie stukjes agar per kweekzak gebruikt.

De suspensies of agarstukjes met DTR-inoculum zijn over het stro verdeeld door de porties enkele malen goed te schudden. De eerste twee weken zijn de porties stro bij 18 °C in het donker geïncubeerd. Drie keer per week zijn de kweekzakken geschud om een homogene kolonisatie van het stro te bewerkstelligen. Ter controle kregen porties stro die niet beënt waren eenzelfde behandeling.

Verdere opzet en uitvoering van de inoculatieproeven

In totaal zijn er vier experimenten uitgevoerd waarbij op verschillende tijdstippen stro naar buiten is gebracht:

- November 1998. Stro geïnoculeerd met mengsel van myceliumsuspensies van 20 verschillende veldisolaten. Maandelijks waarnemingen tot september 1999.
- April 1999. Stro geïnoculeerd met ascosporensuspensie. Waarnemingen in augustus en november 1999.
- Januari t/m juni 1999, maandelijks. Stro geïnoculeerd met stukjes agar met monospore-isolaat 98122. Waarnemingen tot november 1999.
- November 1999 t/m oktober 2000, maandelijks. Stro geïnoculeerd met stukjes agar met mengsel van monospore-isolaten (Tabel 3.2). In november en december ook met isolaat 98122. Door de slechte groei van MS 98122 is dit isolaat uit het mengsel gelaten. Gedurende de gehele periode is ook natuurlijk besmet stro uitgelegd. Monsternamen (10 halmen) in maart, mei en augustus 2000 en in april 2001.

Het stro van de serie buitenkweken is in zakken van kunststofgaas buiten op zand neergelegd; in het seizoen 1998/1999 op het IPO-terrein en in 1999-2001 op de Eng te Wageningen. Ter controle kregen porties met onbesmet stro eenzelfde behandeling. Op verschillende tijdstippen zijn van de deelcultures vijf halmen verzameld en microscopisch onderzocht op aanwezigheid en ontwikkelingsstadium van peritheciën van DTR.

Microscopisch onderzoek

De verschillende monsters zijn eerst met een stereomicroscoop bij een vergroting van 15 - 25x onderzocht op aanwezigheid van peritheciën van DTR. Indien aanwezig, is bij een deel van de peritheciën het ontwikkelingsstadium vastgesteld. Afhankelijk van de variatie in ontwikkeling, zijn per monster 25 of 50 peritheciën van het stro losgemaakt en bij een sterkere vergroting (100 – 400x) onderzocht.

Resultaten

Kolonisatie van het stro

In bijna alle proeven was beënt geautoclaveerd stro na twee weken incubatie dicht begroeid met wit tot donkergrijze schimmelhyfen met soms al jonge peritheciën. Na inoculatie met ascosporen verliep de kolonisatie van het stro echter veel trager dan na beënting met mycelium of gekoloniseerde agarschijfjes. De kweken van april en juni 1999 met MS98122 waren niet aangeslagen. Niet beënt geautoclaveerd stro bleef altijd vrij van schimmelgroei. Beënting van niet-geautoclaveerd stro in augustus, september en oktober 2000 met een mengsel van monosporenisolaten resulteerde in een veel slechtere kolonisatie door DTR dan beënting van steriel geautoclaveerd stro. Bij het natuurlijk besmet stro waren er op het moment van uitleggen onder de epidermis wel platte donkere schimmelstructuren te zien maar nog geen peritheciën.

Ontwikkeling van peritheciën

Bij de eerste in november 1998 ingezette proef is na twee weken incubatie vervolgens één deel van het met DTR beënte stro in de buitenlucht en één deel bij 18 °C verder geïncubeerd. In de partij stro die onder laboratoriumomstandigheden bij 18 °C bleef waren eind januari enkele peritheciën te zien. Tot de laatste bemonstering medio september 1999 werden in deze kweek geen veranderingen in dichtheid en ontwikkeling van de peritheciën waargenomen. De peritheciën misten de typische steeksels en bevatten slechts ongedifferentieerd mycelium.

Op het naar buiten gebrachte stro waren eind januari 1999 veel jonge peritheciën te zien. Vanaf medio februari tot begin mei werden ascosporen waargenomen en in het monster van mei was een deel van de ascosporen verschrompeld. In het monster van begin juli bleken de peritheciën geen ascosporen meer te bevatten. Ruim 40% van de peritheciën was leeg. Bij 30% van de peritheciën bevonden zich tussen de setae één of meer conidiën. Bij controle eind juli werden geen conidiën meer waargenomen. Ook medio september bleken de peritheciën van de buitenkweek geen sporen meer te bevatten. Slechts 30% van de peritheciën had een inhoud van mycelium. De overige peritheciën waren leeg en zelfs voor een deel beschadigd.

Op het in april 1999 met ascosporen geïnoculeerde stro werden in de monsters van de drie deeltweken (incubatie in respectievelijk de buitenlucht en het laboratorium bij 18 en 4 °C) in augustus en november 1999 alleen jonge peritheciën aangetroffen zonder ascosporen.

De in januari tot met maart 1999, alsmede de in mei, met monospore-isolaat 98122 geïnoculeerde porties stro zijn na de eerste incubatieperiode opgesplitst in drie deeltweken met voortgezette incubatie in laboratorium (18 en 4 °C) of buitenlucht. Alleen in de naar buiten overgebrachte deeltweek van januari veranderde tot medio oktober de toestand van de peritheciën, in augustus resulterend in enkele rijpe ascosporen. In de twee deeltweken van januari in het laboratorium en in alle deeltweken van februari zijn alleen jonge, met mycelium gevulde, peritheciën waargenomen. Het in maart en mei geïnoculeerde stro bleef onder alle condities geheel vrij van peritheciën.

Uit de voorgaande proeven blijkt dat bij 18 en 4 °C vaak weinig peritheciën worden gevormd. Bovendien blijft hun ontwikkeling in een jong stadium steken. De laatste proef concentreert zich daarom geheel op de peritheciën-ontwikkeling op geïnoculeerd en natuurlijk besmet stro dat van november 1999 tot en met oktober 2000 maandelijks naar buiten is gebracht. Tabel 3.3 geeft de peritheciën-ontwikkeling te zien op stro dat in november 1999 naar buiten is gebracht. De gedetailleerde resultaten betreffende de ontwikkelingsstadia van de peritheciën op stro dat in de overige maanden naar buiten is gebracht staan in Bijlage V. De samenvatting van deze resultaten in Tabel 3.4 geeft een beeld van de te signaleren trend in de ontwikkeling van DTR-peritheciën.

In al de onderzochte kweken werden peritheciën aangetroffen. Bij bemonstering in maart 2000 bevatten alleen de peritheciën van de eind november ingezette kweken jonge ascosporen (Tabel 3.3). Bij bemonstering in mei hebben de strocultures die eind december 1999 en januari 2000 zijn uitgelegd dit stadium ook bereikt (Tabel 3.4). Verdere rijping van de peritheciën ($\pm 40\%$ oude peritheciën) is in mei alleen gesignaleerd bij de novemberkweek met het DTR-mengsel en natuurlijk besmet stro van die datum. In augustus is rijping van peritheciën waargenomen op natuurlijk besmet stro dat uiterlijk eind februari is uitgelegd en op het stro dat eind januari met een mengsel is geïnoculeerd. De peritheciën op al de strocultures van eind maart 2000 en later blijven in dat jaar in een jong ongedifferentieerd stadium. Observatie in april 2001 van de kweek van eind april 2000 maakt duidelijk dat deze jonge peritheciën een jaar na het uitleggen volop ascosporen kunnen vormen.

De kweken van november en december 1999 die in 2000 al rijpe peritheciën produceerden doen dat in 2001 opnieuw.

Tabel 3.3. Ontwikkeling van peritheciën van DTR op drie verschillende strocultures die van november 1999 tot april 2001 in de buitenlucht hebben gelegen.

Datum	Peritheciën (aantal/cm ²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Inoculum: isolaat 98122</i>					
23 maart 2000	21,4	86	14	0	0
18 mei 2000	13,5	8	92	0	0
12 april 2001	—	12	0	36	52
<i>Inoculum: mengsel</i>					
23 maart 2000	13,6	72	28	0	0
18 mei 2000	11,3	2	51	3	44
15 aug. 2000	5,0	80	0	0	20
12 april 2001	—	16	0	46	38
<i>Inoculum: natuurlijk</i>					
23 maart 2000	6,8	78	22	0	0
18 mei 2000	5,1	9	40	11	40
15 aug. 2000	4,1	10	0	0	90
12 april 2001	—	4	0	36	60

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak; bij het monster van april 2001 zijn geen perithecium-dichtheden bepaald.

² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.

Het verschil tussen de peritheciën-ontwikkeling in kunstmatig en natuurlijk besmet stro is gering. Wel worden er op kunstmatig besmet stro gedurende een langere periode jonge peritheciën gevormd dan bij natuurlijk besmet stro, dat al veel eerder besmet is geraakt.

Het totaal aan waarnemingen wijst er op dat blootstelling aan een winterperiode voor de rijping van de peritheciën noodzakelijk is. Jonge peritheciën blijven minstens één jaar vitaal en kunnen dus ook op overjarig stro een infectiebron vormen.

Discussie en conclusie

DTR blijkt zich goed te kunnen ontwikkelen op geautoclaveerd stro. Bij deze strocultures is de mate van besmetting zeer hoog en homogeen verdeeld over de halm. Door met een mengsel van DTR-isolaten te inoculeren kan worden voorkomen dat bij het niet aanslaan van één of meer van de isolaten de gehele kweek mislukt.

Op geautoclaveerd stro ontwikkelt DTR zich net als op stro met een natuurlijke besmetting. De ontwikkeling van DTR op de maandelijks op het veld neergelegde strocultures en porties stro met natuurlijk inoculum maakt in dit omvangrijke experiment duidelijk dat de peritheciën voor de vorming van ascosporen enige tijd aan lage (winterse) temperaturen moeten zijn blootgesteld.

Doordat er een koude periode nodig is voor de peritheciën om rijpe ascosporen te ontwikkelen kunnen er in het groeiseizoen geen secundaire generaties van ascosporen worden gevormd om bij te dragen aan de verspreiding van de DTR-aantasting in het gewas. Wel blijft DTR minstens één jaar in staat om peritheciën met ascosporen te vormen, waardoor ook overjarig stro een infectiebron kan zijn.

Tabel 3.4. Ontwikkeling van DTR op de in de loop van november 1999 tot en met oktober 2000 maandelijks naar buiten overgebrachte porties gesteriliseerd stro geïnoculeerd met het mengsel van DTR-isolaten alsmede op stro met natuurlijk inoculum.

Kweken	Ontwikkelingsstadia ¹ peritheciën op			
	23 maart 2000	18 mei 2000	15 augustus 2000	12 april 2001
<i>Kweken van 30 november 1999</i>				
MS98122 ²	I/II	II	— ⁵	III/IV
Mengsel ³	I/II	II/IV	I/IV	III/IV
Natuurlijk ⁴	I/II	II/IV	IV	III/IV
<i>Kweken van 31 december 1999</i>				
MS98122	I	I/II	—	III/IV
Mengsel	I	I/II	I	III/IV
Natuurlijk	I	I/II	IV	III/IV
<i>Kweken van 28 januari 2000</i>				
Mengsel	—	I/II	I/IV	—
Natuurlijk	—	I/II	I/III	—
<i>Kweken van 29 februari 2000</i>				
Mengsel	—	I	I	III/IV
Natuurlijk	—	I/II	I/IV	III/IV
<i>Kweken van 28 maart 2000</i>				
Mengsel		I	I	—
Natuurlijk		I	I	—
<i>Kweken van 27 april 2000</i>				
Mengsel	—	I	I	III/IV
Natuurlijk	—	I	I	III/IV
<i>Kweken van 25 mei 2000</i>				
Mengsel	—	—	I	—
Natuurlijk	—	—	I	—
<i>Kweken van 20 juni 2000</i>				
Mengsel	—	—	I	III/IV
Natuurlijk	—	—	I	III/IV
<i>Kweken van 31 augustus 2000</i>				
Mengsel	—	—	—	III/IV
Natuurlijk	—	—	—	III/IV
<i>Kweken van 31 oktober 2000</i>				
Mengsel	—	—	—	III/IV
Natuurlijk	—	—	—	III/IV

¹ Meest overheersende ontwikkelingsstadium of -stadia van de aanwezige peritheciën; stadium I: peritheciën jong, inhoud van schimmeldraden; stadium II: peritheciën met asci en jonge ascosporen; stadium III: peritheciën met rijpe ascosporen; stadium IV: peritheciën oud, aanwezige ascosporen verschrompeld of de inhoud van de peritheciën verdwenen.

² Geautoclaveerd stro geïnoculeerd met monospore-isolaat 98122.

³ Geautoclaveerd stro geïnoculeerd met het mengsel van in Tabel 3.2 genoemde DTR-isolaten.

⁴ Stro met natuurlijk inoculum afkomstig van het in 1999 door 'Gele bladplekkenziekte' aangetaste praktijkperceel WT534 te Nieuw-Beerta, Oost-Groningen.

⁵ —: niet bemonsterd.

3.7 Effect van strobilurine op de overleving van DTR op stro en stoppels

Inleiding

Strobilurine-bevattende fungiciden zoals Allegro en Amistar worden veel ingezet ter bestrijding van DTR. In veldproeven van het praktijkonderzoek geven deze middelen op dit moment de beste bestrijdingsresultaten. Hoewel strobilurinen een aanzienlijk ziekteonderdrukkend effect hebben, blijkt DTR toch in staat het gewas te infecteren. Na behandeling van tarwe met strobilurinen blijft het gewas langer groen en men heeft de indruk dat de stengels steviger zijn dan na bespuiting met andere fungiciden.

Er is weinig bekend over het effect van strobilurinen op de afbraak van gewasresten na onderploegen. Ook is weinig bekend over de kolonisatie van deze gewasresten door DTR en de invloed van residuen van de strobilurinen op de overleving van het pathogeen en de ontwikkeling van peritheciën. In deze paragraaf worden deze effecten nader onderzocht.

Werkwijze

Om het effect van strobilurinen op de overleving van DTR te bestuderen zijn stro en stoppels gebruikt van de in het groeiseizoen 1998/1999 door PAV op proefboerderij Ebelsheerd uitgevoerde veldproef EH901 'Bestrijding DTR in Ritmo'. Stro en stoppels waren afkomstig van de vier onbehandelde veldjes en de vier veldjes met de hoogste dosis en meest frequente toediening van Amistar met respectievelijk een aantasting van de bovenste drie bladlagen door DTR van 23 en 1% van het bladoppervlak (H.T.A.M. Schepers, PPO Lelystad; persoonlijke mededeling).

Het stro van elk veldje is in oktober 1999 apart en gerandomiseerd als deklaag in oppervlakken van 1 x 1 m op zandgrond van de Eng te Wageningen neergelegd. De stoppels van deze veldjes zijn, eveneens in oktober, apart na verwijdering van aanhangende grond, deels bovengronds in rijen (rij-afstand 20 cm) uitgepoot en deels in gazen nylon zakjes, met ± 20 g luchtdroge stoppels, begraven op een diepte van ± 20 cm in zowel klei (proefveld aan de Grebbendijk, Wageningen) als zand (proefveld op de Eng, Wageningen).

De strodekken en de bovengronds uitgezette stoppels zijn eind maart 2000 bemonsterd. Van elk dek of stoppelveldje zijn 25 halmen verzameld en microscopisch onderzocht.

De ingegraven stoppels zijn in februari, maart, mei en oktober 2000 bemonsterd. Bij de bemonstering in februari, maart en mei is van elk veldje één zakje opgegraven. In oktober zijn van elk veldje drie zakjes opgegraven. Om de mate van afbraak van de ingegraven stoppels te bepalen, zijn deze na opgraven, schoonspoelen in water en een week drogen aan de lucht opnieuw gewogen. Vervolgens zijn de monsters nader microscopisch onderzocht op peritheciën.

Resultaten

Strodek en bovengrondse stoppels

De meeste in maart 2000 op stro en bovengrondse stoppels gevonden peritheciën van DTR bevatten rijpe ascosporen (Tabel 3.5). Bij de stoppels waarop peritheciën van DTR waren gevormd, werden deze meestal boven de tweede knoop aangetroffen.

Strobilurine had geen effect op vorm, afmetingen en ontwikkeling van de peritheciën op met strobilurine behandelde stro en stoppels. Stro en stoppels afkomstig van met strobilurine behandelde veldjes

Tabel 3.5. *Peritheciën van DTR in het voorjaar op bovengrondse stoppels en stro afkomstig van een met strobilurine behandeld tarwegewas.*

Soort stro	Peritheciën (aantal/cm²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Strodek</i>					
Onbehandeld	3,0	19	1	60	20
Strobilurine	1,0	38	0	47	15
<i>Stoppels</i>					
Onbehandeld	0,7	0	0	85	15
Strobilurine	0,2	0	0	71	29

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak.

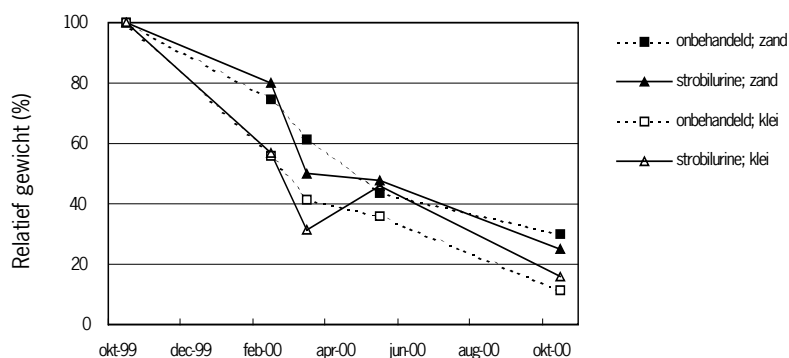
² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.

hadden wel significant (P 0,05) minder peritheciën dan gewasresten afkomstig van onbehandelde veldjes. Dit is waarschijnlijk een direct resultaat van de bestrijding van DTR met Amistar. Verder valt op dat, ongeacht de behandeling, de peritheciëndichtheid op stro ongeveer driemaal zo hoog is als op stoppels.

Ingegraven stoppels

Na het ingraven van de stoppels nam hun gewicht in de loop van de tijd voortdurend af (Fig. 3.9). In klei ging de afbraak van de stoppels sneller dan in zand. In oktober 2000 was het gewicht van de stoppels 70% of lager dan het gewicht bij het ingraven een jaar eerder. De verschillen in stoppelgewichten als gevolg van grondsoort waren statistisch betrouwbaar (P 0,01). Het effect van strobilurine was niet betrouwbaar.

Op de in maart uit zand opgegraven stoppels werden peritheciën van DTR gevonden met jonge ascosporen (Tabel 3.6). De stoppels van met strobilurine behandelde veldjes hadden, zij het niet significant, minder peritheciën dan de stoppels van onbehandelde veldjes. De in klei begraven stoppels gaven in maart eenzelfde beeld te zien als de in zand ingegraven stoppels. In mei en oktober werden alleen nog op de in zand ingegraven stoppels peritheciën gevonden. Het is interessant te zien dat de rijping van de peritheciën op ingegraven stoppels in mei en oktober ongeveer verloopt als bij peritheciën op



Figuur 3.9. *Gewichtsafname van in klei en zand ingegraven stoppels van al dan niet met strobilurine behandelde tarwe van oktober 1999 tot oktober 2000.*

Tabel 3.6. *Peritheciën van DTR op, in oktober 1999 in zand ingegraven, stoppels afkomstig van een met strobilurine behandeld tarwegras.*

Datum	Peritheciën (aantal/cm²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Onbehandeld</i>					
29 maart 2000	0,11	50	50	0	0
9 mei 2000	0,03	17	75	8	0
10 okt. 2000	0,01	15	0	0	85
<i>Strobilurine</i>					
29 maart 2000	0,01	50	50	0	0
9 mei 2000	0,08	0	95	0	5
10 okt. 2000	0,01	19	0	0	81

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak.

² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.

bovengronds stro (zie Tabel 3.5). In oktober bevatte 15 – 19% van de peritheciën nog ongedifferentieerd mycelium (jonge peritheciën; Tabel 3.6). In principe kunnen deze jonge peritheciën wanneer het stro door ploegen weer boven komt in het volgend seizoen via ascosporen jonge tarweplanten infecteren.

Discussie en conclusie

De waarnemingen aan stro en stoppels van met strobilurine behandelde tarwe tonen aan dat, hoewel de mate van besmetting met DTR na toepassing van strobilurine uiteraard lager is, deze groep fungiciden vrijwel geen effect heeft op de ontwikkeling van de schimmel op gewasresten en de afbraak hiervan. Na onderploegen bepaalt het bodemtype in zekere mate de snelheid van de afbraak van gewasresten en de mogelijkheid voor DTR om hierop te overleven. De snelheid van rijping van de peritheciën verschilt op ondergrondse gewasresten niet essentieel van de rijping bovengronds. De na een jaar nog aangetroffen jonge peritheciën op in zand begraven stro geven aan dat ingegraven gewasresten gedurende meer dan een jaar zodra ze boven de grond komen een infectiebron kunnen zijn.

3.8 Grassen als reservoir voor DTR

Werkwijze

Gedurende de ziekteninventarisaties 1999 en 2000 is nabij de betrokken percelen langs de wegberm of akkerrand gelopen en gezocht naar grassen met necrotische vlekken op groene bladeren. Vooral in 2000 is bij percelen in gebieden met een DTR-historie (Hoekse Waard, Oldamt) intensief geïnventariseerd langs sloot- en akkerranden. Grassen met DTR-achtige bladvlekken zijn geïdentificeerd met behulp van de determinatietabellen in Kruijne & De Vries (1960).

Bladeren met DTR-achtige bladvlekken zijn in het laboratorium met behulp van een stereomicroscopie onderzocht op aanwezigheid van conidiën van DTR. Bij afwezigheid van conidiën zijn stukjes bladmateriaal uitgelegd op 15% wateragar met 2,5 g/L tetracycline en gedurende 3-5 dagen geïncubeerd bij 15 °C. De eerste 2-3 dagen is geïncubeerd onder 'black light' TL-buizen (18 Watt, kleurnummer 08) gevolgd door een donkerperiode van tenminste 24 uur. Na de incubatie onder de voor sporulatie van DTR gunstige condities zijn de bladstukjes nogmaals onderzocht op aanwezigheid van conidiën van DTR.

Voor de opbouw van een isolatencollectie en ter verificatie van de identiteit zijn uit bladvlekken DTR-achtige conidiën overgebracht naar V8-agar (150 ml V8 groentesap van Campbell Foods Belgium; 3 g CaCO₃; 20 g agar; 850 ml kraanwater) met 2,5 g/L tetracycline. Na 3 – 5 dagen incubatie in het donker bij 18 °C is van reïncultures het aanwezige oppervlakkige mycelium afgeschraapt, waarna de plaat nog eens gedurende 2 – 3 dagen bij 18 °C onder 'black light' TL-buizen is geïncubeerd om de vorming van conidiën te induceren. Na een volgende donkerperiode van tenminste 24 uur zijn de kweken microscopisch gecontroleerd op de aanwezigheid van conidiën van DTR. Isolaten van DTR zijn bewaard bij –80 °C.

Resultaten

In 1999 zijn vooral tijdens de derde inventarisatieronde veel door schimmelziekten aangetaste grassen gezien in en rond tarwepercelen met DTR. De meeste grassen bleken aangetast door roesten en in mindere mate door meeldauw.

In de berm van het landweggetje langs perceel WT 111 (Zuid-Limburg) vertoonden veel bladeren van Engels raaigras (*Lolium perenne*) donkerbruine rechthoekige vlekken. Hieruit is een schimmel geïsoleerd met conidiën die veel lijken op de conidiën van DTR.

Op enkele bladeren van zachte dravik (*Bromus mollis*) en duist (*Alopecurus myosuroides*) in tarwepercelen van proefboerderij Ebelsheerd in (Oost-Groningen) zijn kleine ellipsvormige bruine, door chlorotisch weefsel omringde vlekken gezien. Na incubatie van aangetaste bladeren van de twee laatstgenoemde grassen zijn geen aanwijzingen gevonden voor de aanwezigheid van DTR in deze bladvlekken.

Medio mei 2000 zijn langs slootkanten van de proefboerderij Ebelsheerd planten van het gras kweek (*Elymus [Agropyron] repens*) aangetroffen met bladvlekken, die sterk lijken op DTR-lesies in tarwe. Uit deze bladvlekken is de schimmel DTR geïsoleerd.

Tijdens de tweede en derde waarnemingsronde is gebleken dat zich in de directe omgeving van in totaal 24 van de 40 geïnventariseerde percelen standplaatsen van kweek bevinden (Tabel 3.7). Op acht locaties is door DTR geïnfecteerde kweek aangetroffen. Drie locaties bevinden zich in Oost-Groningen. Naast Ebelsheerd (WT 532) is rond de percelen WT 531 en WT 534 kweek aangetroffen met DTR-infecties. Verder is in de directe omgeving van percelen in West-Groningen (WT 522), Zuid-Holland (subregio Hoekse Waard; WT 231 en WT 233) en Zuid-Limburg (WT 111 en WT 112) kweek gevonden met DTR-infecties. Slechts bij een deel van de percelen is zowel in tarwe als in kweek DTR waargenomen (Tabel 3.7). In de tarwe op de percelen WT 522 en WT 534 zijn geen symptomen van DTR gevonden. Bij vier percelen (Oost-Groningen, WT533; Hoekse Waard, WT 232, WT 234; Zuid-Limburg, WT 113) met door DTR aangetaste tarwe is wel kweek aangetroffen, maar op het gras zijn geen aanwijzingen gevonden voor de aanwezigheid van DTR.

Verder werden in 2000 donker gekleurde bladvlekken waargenomen op Engels raaigras (*Lolium perenne*), kropaar (*Dactylis glomerata*), veldbeemdgras (*Poa pratensis*) en geknikte vossesstaart (*Alopecurus geniculatus*). Na incubatie van aangetaste bladeren van genoemde grassen zijn geen aanwijzingen gevonden voor de aanwezigheid van DTR in de bladvlekken.

Op proefboerderij Ebelsheerd is gebleken dat wintergerst cv. Regina vatbaar is voor DTR. In het voorjaar waren zwarte ellipsvormige vlekken aanwezig op bladeren van gerstplanten, die grensden aan de zwaar door DTR aangetaste observatieproef EH0010. Na incubatie van aangetaste bladeren waren talrijke conidiën van DTR aanwezig. Op bladeren van de talrijk in en rond EH0010 aanwezige planten van duist (*Alopecurus myosuroides*) zijn geen op DTR-vlekken lijkende symptomen gezien.

Tabel 3.7. Regionale spreiding van DTR in kweek en tarwe tijdens de 2^e en 3^e inventarisatieronde van 2000.

Regio	Sub-regio	Aantal percelen				
		Geïnven- tariseerd	Met kweek	Met DTR in kweek	Met DTR in tarwe	Met DTR in kweek en tarwe
Centrale Zeeklei	Noordoost-polder	3	1	0	0	0
	Oost-Flevoland	3	0	0	0	0
	Zuid-Flevoland	4	0	0	0	0
Noordelijke Zeeklei	Oost-Groningen	4	4	3	3	2
	West-Groningen	3	1	1	0	0
	Wieringermeer	3	1	0	0	0
Zuidwestelijke Zeeklei	Hoekse Waard	4	4	2	4	2
	Zeeuwse eilanden	3	3	0	0	0
	Zeeuws Vlaanderen	2	2	0	0	0
Noordoost Nederland	Drenthe	3	1	0	0	0
Zuidoost Nederland	Achterhoek	3	3	0	0	0
	Betuwe	2	1	0	0	0
	Zuid-Limburg	3	3	2	3	2

Discussie en conclusie

Van de zeven verschillende wilde grassen, met verdachte bladvlekken in de nabijheid van de geïnventariseerde tarwepercelen, was alleen kweek door DTR aangetast. Engels raaigras is ook verdacht, maar de conidiën zijn afwijkend. Verder bleek wintergerst een waard voor DTR te kunnen zijn.

In de directe omgeving van 60% van de door DTR aangetaste tarwepercelen is kweek gevonden met DTR-infecties. Er zijn echter ook aangetaste percelen met in de nabijheid kweek zonder DTR en niet aangetaste tarwepercelen met in de nabijheid kweek met DTR. Deze resultaten van de inventarisaties van grasvegetaties rond tarwepercelen maken het aannemelijk dat kweek een reservoir is voor DTR in tarwe.

3.9 DTR-sporenluchten

Werkwijze

Van maart 1999 tot maart 2001 is er een sporenval opgesteld op proefboerderij Ebelsheerd in het Oldamt met het doel om langeafstandsvluchten van conidiën van DTR te monitoren. De sporenval is in een groenstrook buiten de akkers op een plek geplaatst waarvan verwacht werd dat vooral over grote afstand inwaaiende conidiën van DTR gevangen zouden worden. Bij de overheersende westenwinden wordt lucht aangevoerd uit de richting van het dorp Nieuw Beerta. Tussen het dorp en de sporenval liggen geen akkers.

Door de Burkard sporenval (Seven-day Recording Volumetric Spore Trap) wordt een vast volume lucht aangezogen via een opening die door een windvaan op de windrichting wordt gehouden. De aanzuigopening bevindt zich op 45 cm van de grond. De aangezogen lucht stroomt tegen een met vaseline gecoate transparante strook plastic aan, die op een rondraaiende trommel is bevestigd die in een week

éénmaal ronddraait. De in de luchtstroom aanwezige stofdeeltjes, pollen en schimmelsporen blijven in de vaseline plakken. De sporenval, waarvan de trommel wekelijks werd vervangen, heeft met uitzondering van december 1999 en begin januari 2000 continu gedraaid.

De sporenfilms zijn voor het microscopisch onderzoek in stukken van 48 mm geknipt, die overeenkomen met een periode van 24 uur. Deze stukken zijn op een objectglas gekleurd met 0,1% katoenblauw, opgelost in een mengsel van melkzuur en glycerol en afgedekt met een dekglas. Al de, op de sporenfilms aangetroffen, conidiën en ascosporen van DTR zijn geteld. Uit de positie van de sporen op de film kan ook het tijdstip van de vangsten worden vastgesteld.

Resultaten en discussie

De oorspronkelijke opzet om inzicht te krijgen in langeafstandsvluchten van DTR-sporen is mislukt omdat gaandeweg het experiment duidelijk werd dat de sporenval was opgesteld in een groenstrook met door DTR aangetaste kweek. De in de sporenval gevangen DTR-sporen zijn hoogst waarschijnlijk afkomstig van aangetaste kweek. Hoewel niet beoogd, geven deze vangsten interessante informatie over de periode gedurende welke aangetaste kweek als inoculumbron van DTR kan fungeren.

DTR-conidiën

De in de periode maart 1999 t/m februari 2001 wekelijks met de sporenval gevangen aantallen DTR-conidiën zijn grafisch weergegeven in Figuur 3.10a. Tussen medio maart 1999 en eind mei van dat jaar zijn geen conidiën gevonden op de sporenfilms. Vanaf eind mei tot eind juni zijn er wel regelmatig conidiën gevangen, echter steeds in geringe aantallen. Tussen eind juni en eind september zijn grote aantallen conidiën van DTR geteld. In augustus en in september zijn de hoogste aantallen conidiën gevangen. Op de meeste dagen zijn de vluchten van DTR-conidiën in de ochtend begonnen en voor het begin van de avond geëindigd. In week 35 (begin september) is, met een totale vangst van 775 conidiën, de piek van de sporenluchten geweest. In de loop van oktober en november zijn de vangsten van conidiën in frequentie en aantallen geleidelijk afgenomen. Tot begin december zijn nog regelmatig lage aantallen conidiën van DTR gevangen.

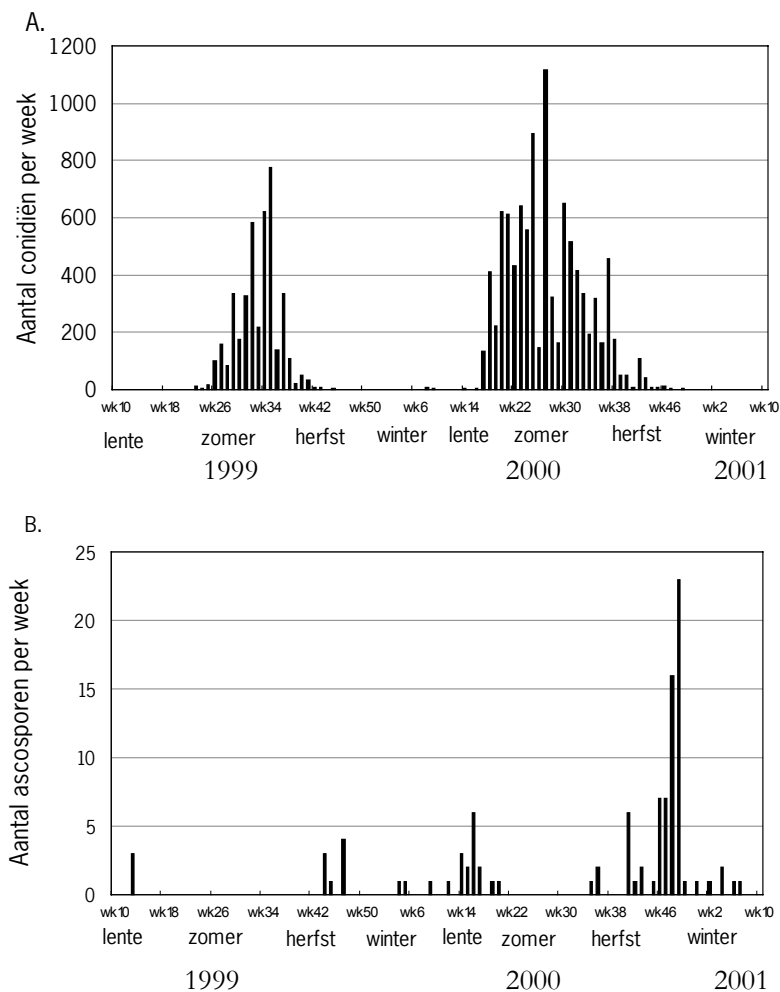
Tussen half januari 2000 en eind februari van dat jaar zijn op de sporenfilms geen conidiën gevonden. Tussen eind februari en eind april zijn regelmatig geringe aantallen conidiën gevangen. In de weken vanaf eind april tot eind oktober zijn grote aantallen conidiën gevangen. In 2000 zijn meer conidiën gevangen dan in 1999. De grootste sporenluchten, met vangsten van respectievelijk 893 en 1114 conidiën, zijn in week 25 (eind juni) en 27 (begin juli) geweest. Tot eind september zijn er per week nog tussen de 200 en 400 conidiën gevangen. Vanaf november zijn de vangsten van conidiën in frequentie en aantallen afgenomen. Na half december zijn, met uitzondering van twee in januari 2001 gevangen conidiën, tot het stopzetten van de waarnemingen in februari geen conidiën van DTR gevangen.

DTR-ascosporen

De aantallen per week gevangen ascosporen (Fig. 3.10b), met een maximum van 24, liggen vele malen lager dan de aantallen conidiën van DTR, met 1114 als hoogste vangst.

Op de sporenfilms van 1999 zijn in het vroege voorjaar en in de late herfst enkele ascosporen van DTR gevonden.

In 2000 zien we in april een periode waarin regelmatig enkele ascosporen werden gevangen en een piek tussen half oktober (week 41) en half december (week 50). Aangezien eerder beschreven onderzoek (dit verslag: 3.6) aannemelijk maakt dat er voor de productie van ascosporen een winterperiode nodig is, is deze laatste ascosporenlucht verrassend.



Figuur 3.10. Wekelijkse aantallen in de periode maart 1999 t/m februari 2001 met een in een groenstrook met kweek te Ebelsheerd opgestelde sporenval gevangen sporen van DTR. A: conidiën. B: ascosporen.

Overwintering op kweek

In verband met de betekenis van kweek als inoculumbron zijn in september 2000 op proefboerderij Ebelsheerd afstervende halmen van door DTR aangetaste kweek verzameld in een zak van kunststofgaas en buiten neergelegd op ondergefreest grasland van proefveld de Eng te Wageningen. In november 2000 zijn er op dit materiaal veel peritheciën waargenomen. De vorm en grootte was zeer variabel. Vooral op de kleinere vruchtlichamen ontbraken de voor DTR typische setae (stekels). In de 25 microscopisch onderzochte peritheciën met setae was alleen ongedifferentieerd mycelium aanwezig. In april 2001 waren de bladeren grotendeels verteerd. Op de stengels waren veel (gemiddeld 0,29 peritheciën/cm²) peritheciën van DTR aanwezig. Hiervan was 85% gevuld met rijpe ascosporen. De overige peritheciën waren leeg of bevatten enkele verschrompelde ascosporen. De ontwikkeling van de DTR-peritheciën op kweek is dus vergelijkbaar met die op tarwestro (dit verslag: 3.6).

Conclusie

In 1999 en in 2000 zijn er op de te Ebelsheerd gedurende de zomer en herfst, en in 2000 ook al in de lente, DTR-conidiënvuchten waargenomen die waarschijnlijk afkomstig zijn van door DTR aangetaste kweek in de directe nabijheid van de sporenval. Dit geeft aan dat door DTR-aangetaste kweek gedurende deze periodes in principe een infectiebron voor naburige tarwe is. Ascosporen worden in veel

geringere aantallen aangetroffen. De ontwikkeling van de ascosporen in de peritheciën in kweek lijkt niet af te wijken van die in tarwe. Het risico van kweek als inoculumbron kan gezien worden als het risico van een overblijvende tarwe. Aanwezigheid van kweek en met name door DTR aangetaste kweek in nabijheid van tarwepercelen is dus een reëel risico.

3.10 Vatbaarheid grassen en granen voor DTR-isolaten

Werkwijze

Vatbaarheidsproeven

In kasexperimenten is de vatbaarheid onderzocht van een reeks graangewassen, gecultiveerde en wilde grassen (Tabel 3.8) voor DTR van tarwe (mengsel van MS98035, MS99175 en MS99185), en voor een DTR-isolaat (WT112a) afkomstig van kweek.

Daarnaast zijn inoculaties uitgevoerd met (vermoedelijke) DTR-isolaten afkomstig van tarwe, Engels raai-gras en kweek om de pathogeniteit voor de oorspronkelijke waardplant (Postulaten van Koch) aan te tonen en te inventariseren in hoeverre de isolaten van Engels raai-gras en kweek ook pathogeen zijn voor tarwe en omgekeerd (kruisinoculaties).

Voor een DTR-isolaat van tarwe (MS99112) is onderzocht in hoeverre de pathogeniteit voor de oorspronkelijke waardplant wordt beïnvloed door passage over Engels raai-gras of kweek. Hetzelfde is nagegaan voor de isolaten van Engels raai-gras (MS99167) en kweek (WT112a) na een passage over tarwe.

Plantmateriaal

De meeste in Tabel 3.8 genoemde planten zijn opgekweekt uit zaad dat ter beschikking is gesteld door Unifarm van Wageningen Universiteit en Researchcentrum. Alleen kweek is opgekweekt uit in het veld verzamelde wortels en uitlopers van symptoomvrije planten.

De in Experiment 1 gebruikte planten zijn midden november 1999 gezaaid in 5-L-potten (hoogte 22 cm, Ø 23 cm) en in een onverwarmde kas opgekweekt. Met uitzondering van maïs, die in de onverwarmde maar vorstvrije kas is blijven staan, hebben de planten van midden december tot midden februari buiten gestaan om bloeiwijzen te induceren. Bij inoculatie, eind april 2000, bloeiden de meeste planten.

In de andere experimenten is jonger plantmateriaal gebruikt. De planten zijn gezaaid in 3-L-potten (hoogte 15 cm, Ø 19 cm) en opgekweekt in een geconditioneerde kas (temperatuur ± 16 °C; daglicht eventueel aangevuld tot 16 uur met 80 W/m² Son-T lampen (Philips); vochtigheid 65% RH). Zonodig is meeldauw bestreden met het fungicide Corbel (10 ml/L spuitvloeistof) en bladluis met het insecticide Pirimor (1 g/L spuitvloeistof).

Inoculatie

De planten zijn in navolging van Mielke & Reichelt (1999) geïnoculeerd met myceliumfragmenten bereid uit cultures van DTR in vloeibaar medium (V8-medium beënt met een DTR-isolaat en tien dagen bij 20 °C geïncubeerd in een schudbroedstoof). De myceliummassa's zijn met een blender in kleine fragmenten geslagen. De verkregen suspensies (zie Bijlage VI voor details) met gemiddeld 700 vitale kolonievormende eenheden per ml zijn, al dan niet na mengen, gebruikt voor het inoculeren van de te toetsen planten.

Bij Experiment 1 en 2 zijn per soort zes potten en bij de overige experimenten drie potten per inoculatie gebruikt. Het inoculum is met een chromatografiespuit over de planten verneveld tot er druppels suspensie van de bladeren afvallen. Als controle is in de proeven niet-geïnoculeerd V8-medium verneveld over twee potten met de in de betreffende experimenten betrokken soorten. Incubatie vond plaats in de opwekruimtes, met gedurende de eerste 48 uur een plastic zak om de potten voor optimaal vochtige condities.

Waarnemingen en herisolatie

De planten zijn 5, 10 en 21 dagen na inoculatie beoordeeld op hun reactie op DTR. Van planten die een reactie (chlorotische of necrotische vlekken) vertoonden zijn stukjes blad uitgelegd op 15% wateragar met 2,5 g/L tetracycline, geïncubeerd en onderzocht op de vorming van conidiën als boven beschreven (3.8). Uit bladvlekken van geïnoculeerde planten van tarwe, Engels raaigras en kweek zijn conidiën overgebracht naar V8-agar om herisolaten te verkrijgen voor de uitvoering van Experiment 5 (effect passage over een andere waardplant).

Resultaten en discussie

Vatbaarheidsproeven

De resultaten van de vatbaarheidsproeven met het mengsel van drie DTR-isolaten afkomstig van tarwe zijn samengevat in Tabel 3.8. De symptomen die na de inoculaties verschijnen zijn beschreven in Tabel 3.9.

Bij tarwe, haver, gerst, rogge, de raaigrassen, wilde haver en kweek werden na inoculatie op de jongere bladeren duidelijk bladvlekken gevormd. Bij de overige grassen ontstonden geen bladvlekken. Soms stierfen de bladpunten af. Epidemiologisch is van belang of er zich in de bladvlekken conidiën van DTR kunnen ontwikkelen.

De tarwevariëteiten Ritmo en Vivant zijn in deze proeven vatbaarder gebleken dan de andere getoetste granen en grassen. In de drie uitgevoerde experimenten vertoonden de geïnoculeerde tarweplanten binnen een week grote aantallen kleine, scherp begrensde, ovale of langwerpige, lichtbruin gekleurde vlekken. In elk van de drie experimenten werden na uitleggen van aangetaste tarwebladeren conidiën van DTR gevormd in de bladvlekken.

Ook haver, gerst en rogge reageerden in alle proeven op de inoculatie door de vorming van bladvlekken. Deze bladvlekken verschenen later dan de lesies in tarwe en verschilden in grootte en vorm (haver) of kleur (gerst en rogge) van die van tarwe. Alleen in Experiment 2 werden conidiën gevormd in het aangetaste weefsel van haver. Bij gerst en rogge werden in de meeste gevallen wel conidiën van DTR gevormd in de bladvlekken. Maïs reageerde slechts in Experiment 2 op inoculatie met de vorming van lichtgroene vlekken die na twee weken weer verdwenen. Op uitgelegde stukjes maïsblad werden geen conidiën van DTR aangetroffen. Engels raaigras reageerde alleen in Experiment 2 op inoculatie met DTR met de vorming van sporadische, langwerpige en roodbruine vlekken. In deze bladvlekken werden na uitleggen conidiën van DTR gevormd. Italiaans raaigras reageerde in alle drie experimenten met de vorming van enkele langwerpige roodbruine vlekken. Met uitzondering van Experiment 4, werden in de vlekken op Italiaans raaigras conidiën gevormd. Timotheegras vertoonde in geen van de experimenten een reactie.

Tabel 3.8. *Vatbaarheid van enkele granen, geteelde en wilde grassen voor DTR.*

Nederlandse naam	Latijnse naam	Cultivar of collectienr. ¹	Experiment 1		Experiment 2				Experiment 4			
			Tarwe ² 150 dagen ³ reactie ⁴ DTR ⁵		Tarwe 90 dagen reactie DTR		Tarwe 35 dagen reactie DTR		Tarwe 50 dagen reactie DTR		Kweek 50 dagen reactie DTR	
<i>Gewassen</i>												
Tarwe	<i>Triticum aestivum</i>	Ritmo	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+
Tarwe	<i>Triticum aestivum</i>	Vivant	nd		++ ⁶	+	++ ⁶	+	++	+	++	+
Haver	<i>Avena sativa</i>	onbekend	+	—	+	+	+	—	+	—	+	+
Gerst	<i>Hordeum vulgare</i>	Magda	+	—	+ ⁶	+	+ ⁶	+	+	+	+	—
Rogge	<i>Secale cereale</i>	Nikita	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Maïs	<i>Zea mays</i>	Allstar	—		—		±	—	—		nd	
Engels raaigras	<i>Lolium perenne</i>	TPK 0382	nd		+	+	—		—		+	+
Italiaans raaigras	<i>Lolium multiflorum</i>	TPK 0381	+	+	+ ⁶	+	+	+	+	—	+	+
Timotheegras	<i>Phleum pratense</i>	TPK 0425	—		—		—		—		+	+
Roodzwenkgras	<i>Festuca rubra</i>	TPK 0379	+	+	nd		+ ⁶	+	+	+	+	+
<i>Onkruiden</i>												
Veldbeemdgras	<i>Poa pratensis</i>	TPK0388	—		nd		+ ⁶	+	—		—	
Straatgras	<i>Poa annua</i>	TPK0103	—		+	+	—		—		—	
Windhalm	<i>Apera spica-venti</i>	TPK 0145	—		—		—		—		—	
Duist	<i>Alopecurus myosuroides</i>	TPK0032	—		+	+	—		—		—	
Wilde haver	<i>Avena fatua</i>	TPK 0124	—		+	—	—		+	—	+	—
Zachte dravik	<i>Bromus mollis</i>	TPK 0400	—		—		—		—		—	
Groene naaldaar	<i>Setaria viridis</i>	TPK0098	nd		—		+	+	+	+	+	+
Kweek	<i>Elymus repens</i>	— ⁷	nd		nd		nd		++	+	++	+

¹ Collectienr.: nummer in de zaadcollectie van onkruiden en grassen van Unifarm, Wageningen Universiteit en Researchcentrum.

² Herkomst inoculum; Tarwe: 1:1:1-mengsel van de isolaten MS98035, MS99175 en MS99185 afkomstig van tarwe; Kweek: isolaat WT112a afkomstig van kweek.

³ Dagen na inzaai toetsplanten.

⁴ Fenotypische reactie na inoculatie van groene bladeren; —: geen reactie; ±: lichtgroene of gele vlekken; +: necrotische vlekken; ++: typische symptomen van DTR; nd: geen planten geïnoculeerd.

⁵ Aanwezigheid van conidiën van DTR in bladvlekken na incubatie van stukken aangetast blad; —: geen conidiën waargenomen; +: conidiën van DTR aanwezig.

⁶ Ook de bladeren van niet geïnoculeerde planten vertonen enkele chlorotische of necrotische vlekken.

⁷ Kweek is opgekweekt uit in het veld verzameld wortelmateriaal.

Tabel 3.9. *Symptomen op bladeren van enkele granen, geteelde en wilde grassen na inoculatie met DTR.*

Nederlandse naam	Cultivar of collectienr. ¹	Symptoom
<i>Gewassen</i>		
Tarwe	Ritmo	ovale, scherp begrensde vlekken; lichtbruin, soms met gele rand
Tarwe	Vivant	ovale, scherp begrensde vlekken; lichtbruin, soms met gele rand
Haver	onbekend	grote onregelmatig gevormde vlekken; bruin met oranje rand
Gerst	Magda	ovale, scherp begrensde vlekken, donkerbruin
Rogge	Nikita	ovale, scherp begrensde vlekken, bruin
Maïs	Allstar	verdwijnende lichtgroene vlekjes
Engels raaigras	TPK 0382	langwerpige roodbruine vlekken
Italiaans raaigras	TPK 0381	langwerpige roodbruine vlekken
Timotheegras	TPK 0425	afsterven bladranden ²
Roodzwenkgras	TPK 0379	afsterven bladeren
<i>Onkruiden</i>		
Veldbeemdgras	TPK 0388	afsterven bladpunten
Straatgras	TPK 0103	afsterven bladpunten
Windhalm	TPK 0145	geen symptomen
Duist	TPK 0032	afsterven bladpunten
Wilde haver	TPK 0124	langwerpige vlekken; bruin
Zachte dravik	TPK 0400	geen symptomen
Groene naalbaar	TPK 0098	afsterven bladpunten
Kweek	— ³	ovale, scherp begrensde vlekken; lichtbruin, soms met gele rand

¹ *Collectienr.: nummer in de zaadcollectie van onkruiden en grassen van Unifarm, Wageningen Universiteit en Researchcentrum.*

² *Alleen na inoculatie van DTR-isolaat WT112a afkomstig van kweek.*

³ *Kweek is opgekweekt uit in het veld verzameld wortelmateriaal.*

Bij roodzwenkgras daarentegen, stierven de bladtopen af na inoculatie. Na uitleggen van de afgestorven bladtopen sporuleerde DTR.

Van de geteste wilde grassen reageerde wilde haver in twee experimenten (Experiment 2 en 4) vergelijkbaar als gekweekte haver op inoculatie. Echter, er werden minder vlekken gevormd en na uitleggen sporuleerde DTR niet. In het enige experiment (Experiment 4) waarbij kweek werd getoetst, reageerde deze plant na ongeveer een week door de vorming van geringe aantallen typische DTR-vlekken. De overige wilde grassen reageerden soms op inoculatie met afsterving van bladpunten. Na uitleggen van aangetaste bladeren van kweek en afgestorven bladpunten van veldbeemdgras, straatgras, duist en groene naalbaar sporuleerde DTR in het aangetaste weefsel.

Dezelfde vatbaarheidsproeven zijn uitgevoerd met het van aangetaste kweek afkomstige DTR-isolaat WT112a. De getoetste variëteiten van de granen tarwe, haver en gerst vertoonden na inoculatie met het van kweek afkomstige isolaat WT112a dezelfde symptomen als na inoculatie met het mengsel van drie DTR-isolaten afkomstig van tarwe (Experiment 4, Tabel 3.8). Dit was ook het geval bij de grassen Engels en Italiaans raaigras, roodzwenkgras, veldbeemdgras, wilde haver, groene naalbaar en kweek. Bij timotheegras, een soort die niet reageerde op de DTR-isolaten van tarwe, vertoonden de bladranden van de met DTR van kweek geïnoculeerde planten bruine plekken. Na uitleggen van aangetaste bladeren van tarwe, haver, Engels raaigras, Italiaans raaigras en kweek en afgestorven bladpunten van timotheegras, roodzwenkgras, wilde haver en groene naalbaar sporuleerde DTR in het aangetaste weefsel. In bladvlekken van gerst en rogge werden geen conidiën van DTR gevormd. Straatgras, windhalm, duist en zachte dravik reageerden niet op de inoculatie met isolaat WT112a.

Toetsing pathogeniteit en kruisinoculaties

Isolaten afkomstig van aangetaste tarwe, Engels raaigras en kweek zijn getoetst op hun pathogeniteit voor de oorspronkelijke waardplant (Postulaten van Koch) en de twee andere soorten (Tabel 3.10). In alle proeven resulteerden de inoculaties op de waardplant van herkomst in bladvlekken met dezelfde kenmerken als waaruit de schimmel oorspronkelijk geïsoleerd werd. De met één van de van tarwe afkomstige isolaten MS99112 en MS99185 geïnoculeerde tarweplanten vertoonden binnen een week grote aantallen scherp begrensde, ovaalvormige of langwerpige, lichtbruin gekleurde bladvlekken. Soms waren de lesies omringd door geel verkleurd weefsel. Het van Engels raaigras afkomstige isolaat MS99167 induceerde op raaigras kleine, grillig gevormde, roodbruine vlekken. Op bladeren van kweek verschenen 10-14 dagen na inoculatie met de drie kweekisolaten enkele dunne, donkerbruin gekleurde streepjes omringd door ovaalvormige, gele vlekken.

Na inoculatie van tarwe met isolaat MS99167 van Engels raaigras verschenen in drie van de vier experimenten donkerbruine bladvlekken op de bladeren. Isolaat MS99167 vormde na uitleggen van aangetaste bladeren van tarwe, evenals op de oorspronkelijke waardplant Engels raaigras, rechtopstaande, donkergekleurde conidiën op korte, donkergekleurde dragers. Tarwe reageerde in Experiment 3 en 4 binnen een week op inoculatie met het van kweek afkomstige isolaat WT112a met de vorming typische symptomen van DTR. Na uitleggen werden in de bladvlekken de voor DTR kenmerkende glasachtige, schuin of haaks op de sporendrager staande conidiën gevormd.

Engels raaigras vertoonde niet in alle experimenten een reactie op inoculatie met DTR-isolaten van tarwe. In die gevallen dat inoculatie met MS99112 leidde tot de vorming van roodbruin-verkleuring van de bladeren, werden na uitleggen kleine aantallen glasachtige, schuin op de sporendrager staande conidiën gevormd.

Tabel 3.10. Pathogeniteit van DTR van tarwe en enige isolaten van grassen voor tarwe, Engels raaigras en kweek.

Isolaat	Herkomst	Tarwe cv Vivant		Tarwe cv Ritmo		Engels raaigras		Kweek	
		reactie ¹	DTR ²	reactie	DTR	reactie	DTR	reactie	DTR
150 dagen na inzaai (Experiment 1)									
MS99112	Tarwe cv Vivant	++	+	nd		–		nd	
MS99167	Engels raaigras	+	+	nd		+	+	nd	
90 dagen na inzaai (Experiment 2)									
MS99112	Tarwe cv Vivant	++	+	nd		+	+	nd	
MS99167	Engels raaigras	+	+	nd		+	+	nd	
35 dagen na inzaai (Experiment 2)									
MS99112	Tarwe cv Vivant	++	+	nd		+	+	nd	
MS99167	Engels raaigras	+	+	nd		+	+	nd	
125 dagen na inzaai (Experiment 3)									
MS99112	Tarwe cv Vivant	++	+	nd		–		nd	
MS99167	Engels raaigras	–		nd		+	+	nd	
WT112a	Kweek	++	+	nd		–		nd	
60 dagen na inzaai (Experiment 3)									
MS99112	Tarwe cv Vivant	++	+	nd		–		++	+
MS99167	Engels raaigras	–		nd		+	+	+	+
WT112a	Kweek	++	+	nd		–		++	+
50 dagen na inzaai (Experiment 4)									
MS99112	Tarwe cv Vivant	nd		++	+	+	+	++	–
MS99185	Tarwe cv Ritmo	nd		++	+	–		++	+
MS99167	Engels raaigras	nd		+	–	+	+	+	+
X5	Kweek	++	+	++	+	+	+	++	+
28-b2a	Kweek	++	+	++	+	+	+	++	+
WT112a	Kweek	++	+	++	+	+	+	++	+

¹ Fenotypische reactie na inoculatie van groene bladeren; —: geen reactie; +: necrotische vlekken; ++: typische symptomen van DTR; nd: geen planten geïnoculeerd.

² Aanwezigheid van conidiën van DTR in bladvlekken na incubatie van stukken aangetast blad; —: geen conidiën waargenomen; +: conidiën van DTR aanwezig.

Op de bladeren van met DTR-isolaten van tarwe geïnoculeerde kweekplanten verschenen na anderhalve week geringe aantallen donkerbruin gekleurde streepjes omringd door gele vlekken, waarin glasachtige, schuin op de sporendrager staande conidiën werden gevormd.

De morfologie van de conidiën gevormd op bladvlekken veroorzaakt door het isolaat van Engels raaigras bleken duidelijk af te wijken van die op lesies veroorzaakt door de isolaten van tarwe of door het kweekisolaat. Op grond hiervan en de iets afwijkende symptomen kan het isolaat MS99167 van Engels raaigras geen DTR zijn.

Passages. Vanuit epidemiologisch oogpunt is het van belang te weten of infectie en kolonisatie van andere plantensoorten dan de oorspronkelijke waardplant de pathogeniteit van het ziekteverwekkende isolaat verandert. De resultaten van onderzoek met isolaten afkomstig van tarwe, Engels raaigras en kweek naar

dit zogenaamde passage-effect zijn samengevat in Tabel 3.11. Al de uit geïnoculeerde planten van tarwe, Engels raaigras en kweek verkregen herisolaten bleken onveranderd pathogeen voor de oorspronkelijke waardplant. Er zijn geen aanwijzingen gevonden voor een effect van de passage over een andere soort op de pathogeniteit of virulentie van de schimmels.

Conclusie

Van de in de vatbaarheidsproeven getoetste granen en grassen is alleen tarwe sterk vatbaar gebleken voor DTR. Na elke inoculatie werden na enkele dagen grote aantallen bladvlekken gevormd. Met uitzondering van haver, waren de andere granen minder vatbaar (gerst en rogge) of ongevoelig (maïs). Daar DTR niet sporuleerde op haver, is er in dit geval mogelijk sprake van overgevoeligheid. Van de grassen is kweek het meest vatbaar gebleken voor DTR. Steeds werden na inoculatie bladvlekken gevormd. Van de andere grassen is niet duidelijk in hoeverre zij vatbaar zijn. In sommige experimenten werden bladvlekken gevormd of stierven de bladpunten af, terwijl de betreffende soort in andere experimenten geen reactie vertoonde. Mogelijk duiden de waargenomen reacties op resistentie of overgevoeligheid.

Van kweek afkomstige DTR-isolaten zijn even pathogeen voor tarwe als van tarwe afkomstige isolaten. Verder is aangetoond dat DTR van tarwe na infectie en kolonisatie van kweek bij herisolatie even pathogeen voor tarwe is gebleven.

Tabel 3.11. Effect van passage over een andere soort op de pathogeniteit van bladvlekken veroorzakende schimmels.

Isolaat	Oorspronkelijke Herkomst	Hergeïsoleerd uit	Pathogeniteit op oorspronkelijke waardplant	
			reactie ¹	DTR ²
MS99112	Tarwe cv Vivant	Tarwe	++	+
		Engels raaigras	++	+
		Kweek	++	+
MS99167	Engels raaigras	Tarwe	+	+
		Engels raaigras	+	+
		Kweek	+	+
WT112a	Kweek	Tarwe	++	+
		Engels raaigras	++	+
		Kweek	++	+

¹ Fenotypische reactie na inoculatie van groene bladeren; +: necrotische vlekken; ++: typische symptomen van DTR; nd: geen planten geïnoculeerd.

² Aanwezigheid van conidiën van DTR in bladvlekken na incubatie van stukken aangetast blad; +: conidiën aanwezig.

4. Veldproeven op Proefboerderij Ebelsheerd

4.1 Inleiding

Gedurende de teeltseizoenen 1998/1999 en 1999/2000 zijn op proefboerderij Ebelsheerd in Groningen respectievelijk vier en drie veldproeven uitgevoerd om effecten van omgevings- en teeltomstandigheden op het verloop van DTR-epidemieën na te gaan. Het uiteindelijke doel van deze proeven is de ontwikkeling van beheersingsstrategieën.

Op grond van aanwijzingen in voorgaande inventarisaties, ontwikkelde inzichten in de ecologie van DTR en gangbare teeltvariëaties zijn de effecten van grondbewerking, rij-afstand, hoogte van vroege N-gift en onderzaai gewassen op de aantasting van wintertarwe door DTR onderzocht. Tevens zijn er proeven gedaan naar het risico van een met DTR besmet stoppelveld voor tarwe in aangrenzende percelen.

Onderzaai gewassen kunnen misschien door beïnvloeding van het microklimaat de afbraak van (besmet) stro bevorderen en tevens sporenluchten afschermen. Beide proeven (EH927, EH0012) leverden geen resultaat op, omdat de onderzaai gewassen, klaver of gras, zich vanwege droogte slecht ontwikkelden en DTR nauwelijks optrad.

4.2 Effect van grondbewerking op DTR

Werkwijze

De proef is uitgevoerd in een lopende meerjarige observatieproef (EH812) naar de gevolgen van een verminderde grondbewerking voor o.a. bodemgesteldheid, onkruiden en ziekten bij een monocultuur van wintertarwe. De proef is eind 1996 in drie blokken aangelegd met als behandelingen ploegen (A), cultivateren (B) en frezen (C); verdere proefveldgegevens staan in Bijlage VII. In het teeltseizoen 1998/1999 is de besmetting van op de grond liggend tarwestro met DTR en de ziekte-ontwikkeling van DTR en *Septoria tritici* in het gewas gevolgd. Medio april is het aantal stukjes stro per m² grond geteeld en zijn per veldje zo mogelijk 40 stukjes stro verzameld om de mate van besmetting met DTR microscopisch te bepalen. Er is gekeken naar de aanwezigheid van conidiën of peritheciën (vruchtlichamen) van DTR en de vorming van ascosporen (zie voor de ontwikkelingsstadia Fig. 3.3). Van alle onderzochte stukjes stro is met interactieve beeldanalyseapparatuur het oppervlak bepaald.

Begin mei (DC 30), eind juni (DC 67) en eind juli (DC 85) zijn de incidenties (percentage halmen, groene bladeren of kafjes waarop de ziekte of plaag is geconstateerd) van de aanwezige ziekten en plagen bepaald. Voor DTR en *Septoria tritici* is de incidentie per bladlaag vastgelegd en tevens de severity (percentage aangetast bladoppervlak). Begin juli (DC 71) is een bemonstering uitgevoerd waarbij alleen op DTR en *Septoria tritici* is beoordeeld. Bij de bemonstering is via de twee diagonalen door de veldjes van 24x24 m gelopen en zijn in totaal 20 planten per veldje verzameld.

Resultaten en discussie

Ten tijde van de bemonstering van de gewasresten, medio april 1999, werden bij de twee objecten met verminderde grondbewerking (cultivateren, frezen) al symptomen van DTR gezien op het uitstolende gewas. Op de veldjes met ondergeploegde gewasresten werden op dat moment geen symptomen van DTR waargenomen. In Tabel 4.1 zijn de begin mei (DC 30), eind juni (DC 67), begin juli (DC 71) en eind juli (DC 85) gevonden incidenties en severities van DTR weergegeven. Op de geploegde veldjes werd steeds de laagste aantasting door DTR gevonden; na frezen was de aantasting steeds het hoogst. Het effect van cultivateren lag daar tussen in. De verminderde ziektedruk na ploegen ten opzichte van

freezen en cultivateren was zowel voor de incidentie als voor de severity tot en met melkrijping statistisch significant. Ten tijde van deegrijping was de severity op de geploegde en gecultiveerde veldjes met respectievelijk een severity van 1,6 en 3,1% significant lager dan die van de gefreesde veldjes (7,5%).

Bij de veldjes met frezen als hoofdgrondbewerking lagen de hoogste dichtheden gewasresten op het grondoppervlak (Tabel 4.2). Na cultivateren is de hoeveelheid oppervlakkig stro ten opzichte van frezen met ongeveer de helft verminderd. Op de geploegde veldjes lagen vrijwel geen strootjes en deze zijn verder niet bemonsterd. De mate van besmetting van de stroresten in de vorm van aantallen peritheciën was aanzienlijk. Microscopisch onderzoek wees uit dat circa de helft van deze vruchtlichamen al ascosporen had uitgestoten (oude peritheciën) en dat de overige peritheciën voor het merendeel rijpe ascosporen bevatten. Aangezien de kwaliteit van de peritheciën bij cultivateren en frezen nauwelijks verschilt, kan de omvang van de besmetting het best worden gekarakteriseerd als het aantal peritheciën per m² grond. De vrijwel afwezigheid van oppervlakkig stro en dus van peritheciën na ploegen verklaart de laagste DTR-aantasting na deze grondbewerking. Ook na ploegen is de DTR-aantasting echter niet te verwaarlozen. Dit is mogelijk het gevolg van inwaaien van ascosporen van de omringende gecultiveerde en gefreesde veldjes. De aantallen peritheciën per m² grond na frezen en cultivateren zijn respectievelijk 140 en 50. Dit verschil in besmetting komt aan het eind van het groeiseizoen slechts zwak tot uiting in een verschil in aantasting. Kennelijk worden boven een bepaalde besmettingsdruk andere factoren, o.a. inwaaien van conidiën uit naburige veldjes, dan de gewasresten belangrijker voor het aantastingsniveau.

In dit seizoen, met landelijk weinig Septoria, was DTR in dit perceel met drie jaar monocultuur van tarwe de belangrijkste graanziekte (Tabel 4.3). Opvallend is dat op de geploegde veldjes de laagste incidentie van 'Kafjesrood' werd gevonden. Na frezen was de incidentie van deze aarziekte het hoogst. Hoewel de opbrengstverschillen tussen de grondbewerkingen (Tabel 4.1) statistisch niet significant zijn, lijkt het niet onwaarschijnlijk dat de relatieve beheersing van DTR in de geploegde veldjes heeft bijgedragen aan de hier behaalde hoogste opbrengst.

Conclusie

De in Nederland gebruikelijke praktijk om tarwepercelen kort na de oogst onder te ploegen draagt bij aan de beheersing van DTR. Het is duidelijk aangetoond dat een meer oppervlakkige grondbewerking de ziekte, wanneer deze eenmaal aanwezig is, in stand houdt.

De gevonden effecten van de grondbewerking op de ontwikkeling van DTR komen overeen met resultaten van buitenlands onderzoek (Bockus & Claassen, 1992; Frahm, persoonlijke mededeling; Von Kröcher, persoonlijke mededeling).

Tabel 4.1. Effect van grondbewerking op de ontwikkeling van DTR in EH812 tijdens het teeltseizoen 1998/1999 bij monocultuur van wintertarwe.

Grond- bewerking	Gewasresten (bovengronds) strootjes/m²	Optreden van DTR tijdens:								Opbrengst (t/ha)
		Stengelstrekking (DC 30)		Bloei (DC 67)		Melkrijping (DC 71)		Deegrijping (DC 85)		
		Incidentie¹	Severity²	Incidentie	Severity	Incidentie	Severity	Incidentie	Severity	
Ploegen	5 a³	7,1 a	0,1 a	13,3 a	0,2 a	20,9 a	0,9 a	61,5 a	1,6 a	9,9 ns
Cultivateren	85 b	25,1 b	1,0 b	29,6 b	1,5 b	37,7 b	4,9 b	80,6 a	3,1 a	9,4
Frezen	171 c	42,5 c	1,9 b	35,0 b	2,5 c	42,5 b	5,4 b	82,6 a	7,5 b	9,0

¹ Gemiddelde van het percentage groene bladeren van de 20 planten per veldje met symptomen van DTR.

² Gemiddelde van de mediaan van de percentages door DTR aangetast bladoppervlak bij de bladeren van een veldje.

³ In de kolommen zijn de verschillen tussen de getallen gevolgd door eenzelfde letter statistisch niet betrouwbaar bij P 0,05; ns: behandelingseffect niet significant.

Tabel 4.2. *Aanwezigheid van bovengrondse gewasresten en ontwikkeling van DTR-vruchtlichamen daarop in grondbewerkingsexperiment EH812 op 14 april 1999.*

Grond- bewerking	Hoeveelheid gewasresten ¹		Aantal ² peritheciën (per m ²)	Ontwikkelingsstadium peritheciën ³			
	Strootjes/m ²	Oppervlakte (cm ² /m ²)		Jonge peritheciën	Jonge ascosporen	Rijpe ascosporen	Oude peritheciën
Ploegen	5	9	–	–	–	–	–
Cultivateren	85	151	50	0	4	40	56
Frezen	171	282	140	0	10	42	48

¹ Aantal strootjes/m² grond en het totale oppervlakte van deze strootjes.

² Gebaseerd op het gemiddelde aantal peritheciën per cm² stro in de monsters en de oppervlakte van de gewasresten.

³ Percentage peritheciën per ontwikkelingsstadium.

Tabel 4.3. *Incidenties van ziekten en plagen waargenomen in grondbewerkingsexperiment EH812.*

	Ploegen			Cultivateren			Frezen		
	DC 30	DC 67	DC 85	DC 30	DC 67	DC 85	DC 30	DC 67	DC 85
<i>Voetziekten:</i>									
Fusarium voetziekte	0,0	1,7	3,3	0,0	10,0	1,7	0,0	0,0	5,0
Oogvlekkenziekte	0,0	1,7	6,7	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0
<i>Bladziekten</i>									
Meeldauw	6,7	16,5	0,0	0,9	11,7	0,0	0,0	2,3	0,0
<i>Septoria tritici</i>	1,7	0,4	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	1,3
<i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (DTR)	7,1	13,3	61,5	25,1	29,6	80,6	42,5	35,0	82,6
<i>Aarziekten</i>									
Kafjesrood	–	–	6,0	–	–	8,9	–	–	12,3
<i>Plagen</i>									
Graanhaantje	1,3	17,6	36,4	1,3	24,2	37,0	1,4	13,5	31,3
Bladmineerder	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0
Bladluis	0,0	0,0	1,7	0,0	0,0	1,7	0,0	0,0	6,7
Slak	2,1	0,7	0,0	3,4	3,4	0,0	0,9	0,4	0,0

4.3 Effect van rij-afstand en vroege stikstofgift op DTR

Werkwijze

In het kader van het eerste deel van het huidige project zijn uit statistische analyse (logistische regressie) van de inventarisaties in 1997 en 1998 aanwijzingen verkregen dat een hoge vroege anorganische stikstofgift en een grote rij-afstand de ziektedruk door DTR bevordert (Kema *et al.*, 1999). Daar de gebruikte statistische methode slechts indicaties geeft voor het effect van een bepaalde teeltmaatregel zijn de veldproeven EH911 (seizoen 1998/1999) en EH0009 (seizoen 1999/2000) uitgevoerd om verbanden tussen de hoogte van de vroege N-gift, de rij-afstand en het optreden van DTR te onderzoeken.

Beide experimenten zijn als ‘split-plot’ proef in vier blokken uitgevoerd met twee rij-afstanden (12,5 cm en 25 cm) als hoofdbehandeling en drie vroege stikstofgiftten (N0 = 50 kg/ha, N1 = 100 kg/ha en N2 = 150 kg/ha) als tweede factor; verdere proefveldgegevens staan in Bijlage VII. Op verschillende tijdstippen gedurende het groeiseizoen is per bladlaag bij 10 planten per veldje de incidentie (percentage groene bladeren waarop de ziekte is geconstateerd) en de severity (percentage aangetast bladoppervlak) van DTR en *Septoria tritici* vastgelegd.

Resultaten en discussie

Veldproef EH911 (seizoen 1998/1999)

Begin mei (DC 31), eind mei (DC 34), begin juli (DC 73), eind juli (DC 83) en begin augustus (DC 91) 1999 is de incidentie en de severity van DTR en *Septoria tritici* vastgelegd. Tot begin juli zijn in veldproef EH911 geen symptomen van DTR gezien. Vanaf dat moment werden de eerste schaarse lesies van DTR waargenomen op vlagbladeren. *Septoria tritici* werd vanaf de eerste waarneming tot begin augustus in lage incidenties en severities waargenomen. De eind juli en begin augustus waargenomen incidenties en daarbij horende severities van DTR op het vlagblad (blad F) en het blad eronder (blad F-1) zijn weergegeven in Tabel 4.4. Alleen in de eindfase van de laat op gang gekomen DTR-epidemie resulteerden hogere vroege stikstofgiftten bij 12,5 cm rij-afstand in een statistisch betrouwbare verhoging van aantasting (severity). Bij 25 cm rij-afstand was eenzelfde effect zowel ten aanzien van incidentie als severity op het vlagblad te zien. Aangezien een grotere rij-afstand soms meer en soms minder ziekte te zien gaf kan er niets over het effect van rij-afstand worden geconcludeerd. Het is voor te stellen dat een effect van rij-afstand met name bij vroege DTR-epidemieën wel tot uiting komt.

De hoogte van de vroege stikstofgift had een significant effect op de opbrengsten. Bij de hoge stikstofgift was de opbrengst het hoogst (Tabel 4.4); bij de laagste stikstofgift het laagst. De invloed van de rij-afstand op de opbrengst was statistisch niet aantoonbaar.

Veldproef EH0009 (seizoen 1999/2000)

In het eerste monster van midden juni, DC 64, waren de onderste bladlagen al zwaar aangetast door *Septoria tritici*. Ook op het vlagblad (blad F) en het blad eronder (blad F-1) werd *Septoria tritici* waargenomen, maar de severity was minder dan 1% (details niet weergegeven). Bij deze monsternamen werden nog geen lesies van DTR gevonden. Na de bloei breidde de epidemie van *Septoria tritici* zich sterk uit. In het monster van midden juli (DC 83) was de bladlaag F-1 grotendeels aangetast door deze ziekte. Van de vlagbladeren was 10 – 40% van het bladoppervlak aangetast door *Septoria tritici*. Er werd een zeer lichte aantasting van DTR op het vlagblad waargenomen (Tabel 4.5). Waarschijnlijk mede als gevolg van de geringe aantasting, had geen van de behandelingen een significant effect op DTR. De opbrengst was significant hoger bij toenemende vroege stikstofgiftten.

Conclusie

Door het geringe optreden van DTR in 2000, bevestigt alleen het veldexperiment in 1999 (EH911) de in 1998 door Kema *et al.* (1999) gevonden effecten, met dien verstande dat met name het stimulerend effect van een verhoogde vroege stikstofgift op DTR kon worden aangetoond. Dit nadelig effect van een hoge vroege stikstofgift op DTR heeft geen consequenties gehad voor de opbrengst.

Tabel 4.4. Effect van rij-afstand en vroege stikstofgift op incidentie en severity van DTR en opbrengst van winter-tarwe in veldproef EH911 van 1998/1999.

Rij-afstand (cm)	Vroege N (kg/ha)	Incidentie		Severity		Opbrengst (ton/ha)
		Blad F-1	Vlagblad (F)	Blad F-1	Vlagblad (F)	
DC 73						
12,5	50	12,0 n.s.	12,5 n.s.	0,2 n.s.	0,1 n.s.	8,5 a
25	50	15,0	25,0	0,4	0,5	8,4 a
12,5	100	22,5	12,5	0,6	0,1	9,4 b
25	100	27,5	17,5	0,8	0,2	9,2 b
12,5	150	17,5	20,0	0,5	0,3	10,2 c
25	150	25,0	17,5	0,5	0,3	10,0 c
DC 91						
12,5	50	89,6 n.s.	82,9 b	3,1 a	2,4 a	
25	50	88,8	56,3 a	10,7 b	3,4 a	
12,5	100	100,0	81,3 b	15,1 b	3,3 a	
25	100	100,0	89,6 ab	19,1 bc	3,4 a	
12,5	150	100,0	92,3 ab	31,8 c	6,3 b	
25	150	100,0	96,4 c	16,6 b	5,6 b	

In de kolommen zijn de verschillen tussen de getallen gevolgd door een zelfde letter statistisch niet betrouwbaar bij P 0,05; n.s.: behandelingseffecten niet significant.

Tabel 4.5. Effect van rij-afstand en vroege stikstofgift op incidentie en severity van DTR en opbrengst van winter-tarwe in veldproef EH0009 van 1999/2000.

Rij-afstand (cm)	Vroege N (kg/ha)	Incidentie vlagblad (F)	Severity vlagblad (F)	Opbrengst (ton/ha)
DC 83				
12,5	50	0,2 n.s.	0,3 n.s.	7,1 a
25	50	0,1	0,2	7,0 a
12,5	100	0,2	0,4	7,7 b
25	100	0,2	0,6	7,6 b
12,5	150	0,3	0,8	8,0 c
25	150	0,2	0,7	7,7 bc

In de kolommen zijn de verschillen tussen de getallen gevolgd door een zelfde letter statistisch niet betrouwbaar bij P 0,05; n.s.: behandelingseffecten niet significant.

4.4 Besmet tarwestro als infectiebron voor aangrenzende percelen

Werkwijze

Om meer inzicht te verkrijgen in de rol van aan het grondoppervlak overwinterende stroresten als inoculumbron voor een tarwegewas op een aangrenzend perceel zijn de observatieproeven EH912 (1998/1999) en EH0010 (1999/2000) opgezet. Voor beide proeven is na de oogst van wintertarwe een strook met stoppels van 9 x 50 m niet ondergeploegd. Aansluitend op deze strook is, ten oosten hiervan, op een oppervlak van 50x50 m wintertarwe ingezaaid, zodat de kans op inwaaien van, op de stoppels gevormde, ascosporen van DTR het grootst zou zijn. In dit tarwegewas zijn 16 observatieveldjes van 5x5 m uitgezet. Vier observatieveldjes (herhalingen) grensden aan de strook met besmette stoppels, vier observatieveldjes lagen in een strook op een afstand van 10 – 15 m (centrum op 12.5 m afstand) van de besmette stoppels. Het midden van een derde en vierde strook, met elk vier observatieveldjes, lag op een afstand van respectievelijk 25 en 37.5 m van het stoppelveeldje. Op verschillende tijdstippen is in de observatieveldjes het verloop van de DTR-epidemie gevolgd. Bij zes planten per observatieveldje is per laag groene bladeren de incidentie (percentage groene bladeren waarop de ziekte is geconstateerd) en de severity (percentage aangetast bladoppervlak) van DTR vastgelegd. Ook van *Septoria tritici* zijn incidenties en severities bepaald.

Vanaf de winter tot medio juli is de ontwikkeling van DTR op stroresten in de strook met stoppels gevolgd, zoals hierboven beschreven voor EH812. Als maat voor de potentie van de inoculumbron is het aantal peritheciën per m² grond bepaald.

Observatieproef EH912 is aangelegd op een perceel waarop in het teeltseizoen 1997/1998 wintertarwe stond. Het tarwe-observatieveld is in december 1998 ingezaaid. Medio maart bleek het nodig in de strook met stoppels een extra besmetting aan te brengen. Hiertoe is stro van strodek 1 (dit verslag: 3.3) in stukjes van 10 – 15 cm gehakt en uitgestrooid in een dichtheid van 150 strofragmenten per m² grond. Vervolgens zijn begin april 1999 op het perceel rond het observatieveld, inclusief de strook met stoppels, suikerbieten gezaaid.

Observatieproef EH0010 is aangelegd op twee aangrenzende percelen. Het stoppelveeldje bevond zich aan de oostzijde van een perceel waarop in 1999 zwaar door DTR aangetaste wintertarwe stond. Aansluitend is het tarwe-observatieveld in oktober/november 1999 met wintertarwe ingezaaid. Dit perceel had wintergerst als voorvrucht. Op de rest van het perceel is koolzaad ingezaaid. In tegenstelling tot EH912, heeft in EH0010 de strook met stoppels tot aan de oogst van de tarwe braak gelegen. Overige proefveldgegevens zijn voor beide proeven samengevat in Bijlage VII. De temperatuur- en neerslaggegevens voor beide jaren staan in Bijlage VIII.

Resultaten en discussie

EH912

Ontwikkeling DTR op stroresten

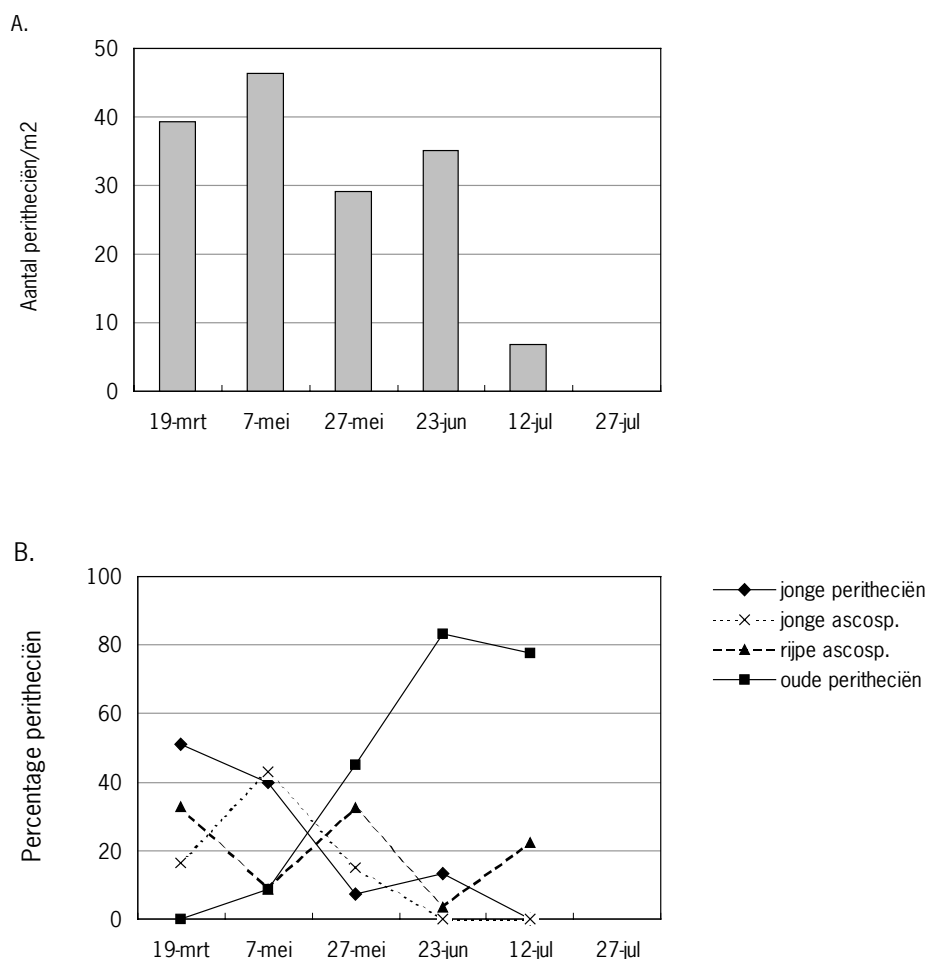
Tot begin maart 1999 werden op 2 – 4% van de stoppels slechts geringe aantallen peritheciën van DTR gevonden. Het stro was wel bezet door grote aantallen vruchtlichamen van *Gaeumannomyces graminis* en *Stagonospora nodorum*. Na het aanbrengen van de extra besmetting in maart varieerde de dichtheid van de peritheciën van DTR op het stro tot eind juni tussen 30 tot 50 peritheciën per m² grond, vervolgens daalde de dichtheid in juli tot minder dan 10 peritheciën per m² (Fig. 4.1a). In maart had ongeveer de helft van de peritheciën nog een ongedifferentieerde inhoud (jonge peritheciën; Figuur 4.1b); in de rest van de peritheciën waren al jonge en rijpe ascosporen gevormd. In de maand mei kwam vervolgens het merendeel van de peritheciën tot rijpheid. Gedurende mei en juni werden de ascosporen afgestoten met als gevolg een toename van oude peritheciën.

Ten tijde van de laatste bemonstering op 12 juli van de inmiddels door bietenloof overdekte stroresten bleken nog niet alle peritheciën hun ascosporen te hebben afgegeven.

Verspreiding van DTR in het observatiegewas

Eind juni (DC 67), medio juli (DC 75) en eind juli (DC 86) zijn in de observatieveldjes de incidenties en severities van DTR vastgelegd (Fig. 4.2). De DTR-epidemie kwam in deze proef laat op gang. *Septoria tritici* was gedurende de gehele observatieperiode met name in de onderste bladlagen aanwezig; de mate van aantasting bleef overigens licht (details niet weergegeven).

De incidentie van DTR op de bovenste drie bladlagen nam in alle waarnemingsveldjes pas na de bloei (DC 67) sterk toe (Fig. 4.2). Er is geen duidelijk verband te zien tussen de incidentie en severity van DTR in de waarnemingsveldjes en hun afstand tot de strook met stroresten. Het DTR-inoculum op het stro in deze strook heeft zelfs niet zichtbaar bijgedragen aan de DTR-infectie in aanpalende observatieveldjes. Mogelijk heeft het suikerbietgewas, dat overigens pas medio juli sloot, een afschermend effect gehad. In de herhaling van de proef (EH0010) blijft de stoppelstrook dan ook braak liggen.

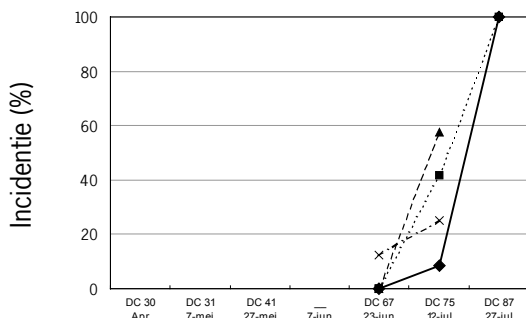


Figuur 4.1. Ontwikkeling van peritheciën van DTR op strootjes in het stoppelveldje van observatieproef EH912.

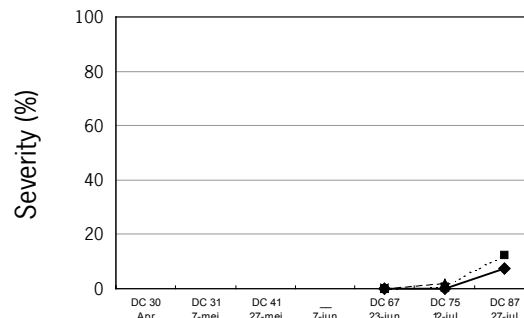
A. Verloop van de aantallen peritheciën per m² grond.

B. Ontwikkelingsstadia van de peritheciën in de loop van het seizoen.

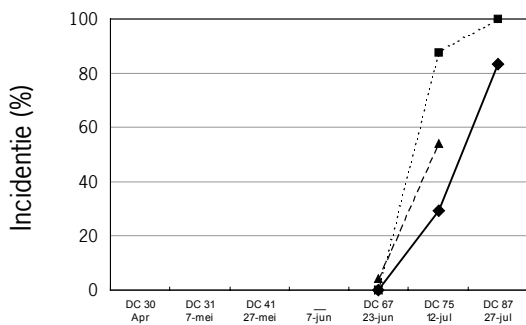
A. 0 m



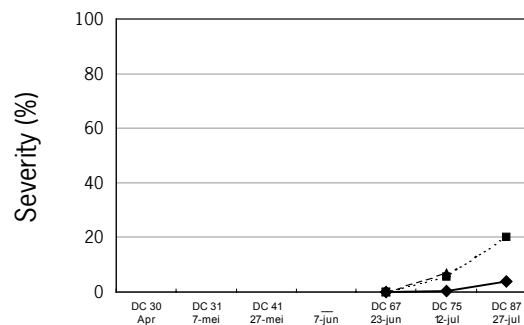
E. 0 m



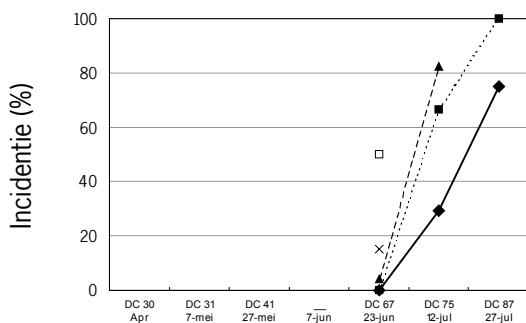
B



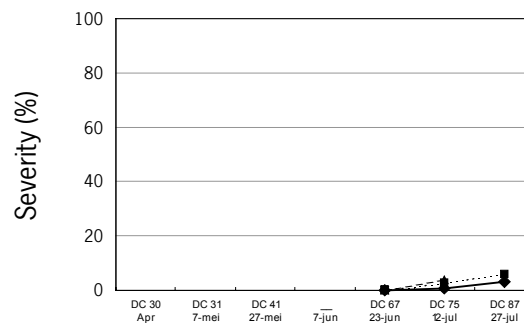
F. 12,5 m



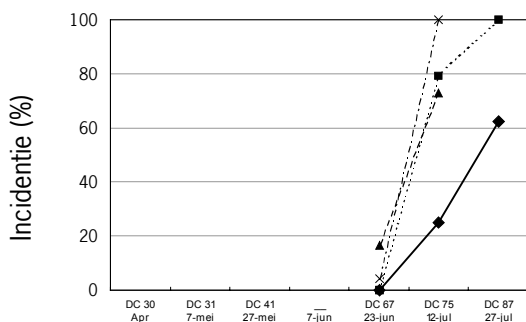
C. 25 m



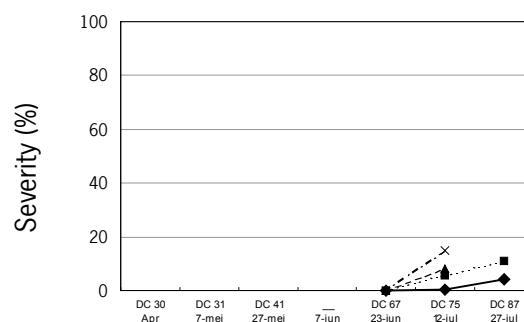
G. 25 m



D. 37,5 m



H. 37,5 m



—◆— F - - - ■ - - F-1 - - ▲ - - F-2 - - × - - F-3 - - □ - - F-4 —○— F-5

Figuur 4.2. Opbouw en verspreiding van DTR in observatieproef EH912 per bladlaag op 0, 12,5, 25 en 37,5 m afstand van het stoppelveld. F: vlagblad; F-1: eerste blad onder de vlag; F-2: tweede blad onder de vlag; enz. A - D. Incidentie (percentage bladeren met symptomen). E - H. Severity (percentage bladoppervlak aangetast).

EH0010

Ontwikkeling van DTR op stroresten

Van december tot en met juli is maandelijks de ontwikkeling van DTR op de stoppels gevolgd.

Begin december 1999 werden er al op 18% van de stoppels peritheciën van DTR aangetroffen.

Van december tot eind mei varieerde de dichtheid aan DTR-peritheciën op de stoppels tussen 1500 en 3500 peritheciën per m² grond (Fig. 4.3a). Tussen mei en juni daalde de peritheciëndichtheid sterk.

De ontwikkeling van de peritheciën van DTR in 2000 (Fig. 4.3b) verliep t.o.v. 1999 vroeg en in drie duidelijk te onderscheiden, deels overlappende fases van ascosporenvorming, ascosporenrijping naar ascosporenvlucht (oude peritheciën). Vanaf medio juni waren alle peritheciën leeg en bovendien vaak beschadigd.

Verspreiding van DTR in het observatiegewas

In de strook van het observatiegewas die grensde aan de met DTR besmette tarwestoppels werden midden april de eerste teerspatjes van DTR gezien. In de weken erna groeiden deze teerspatjes uit tot volwaardige bladplekken. Tot eind mei verspreidde de ziekte zich nauwelijks en bleef beperkt tot de onderste bladlagen van planten in een strook van ± 15 m grenzend aan de met DTR besmette tarwestoppels. Tussen eind mei en begin juni geraakten de bovenste bladlagen geïnfecteerd. De tussen eind mei en begin juni in het observatiegewas ingezette verspreiding van DTR is in de weken daarna in oostelijke richting doorgegaan naar de op grotere afstand gelegen observatieveldjes. *Septoria tritici* was de gehele waarnemingsperiode algemeen aanwezig. Eerst op de onderste bladlagen, maar vanaf medio juni werden ook de twee bovenste bladlagen in toenemende mate aangetast door deze bladplekkenziekte (details niet weergegeven).

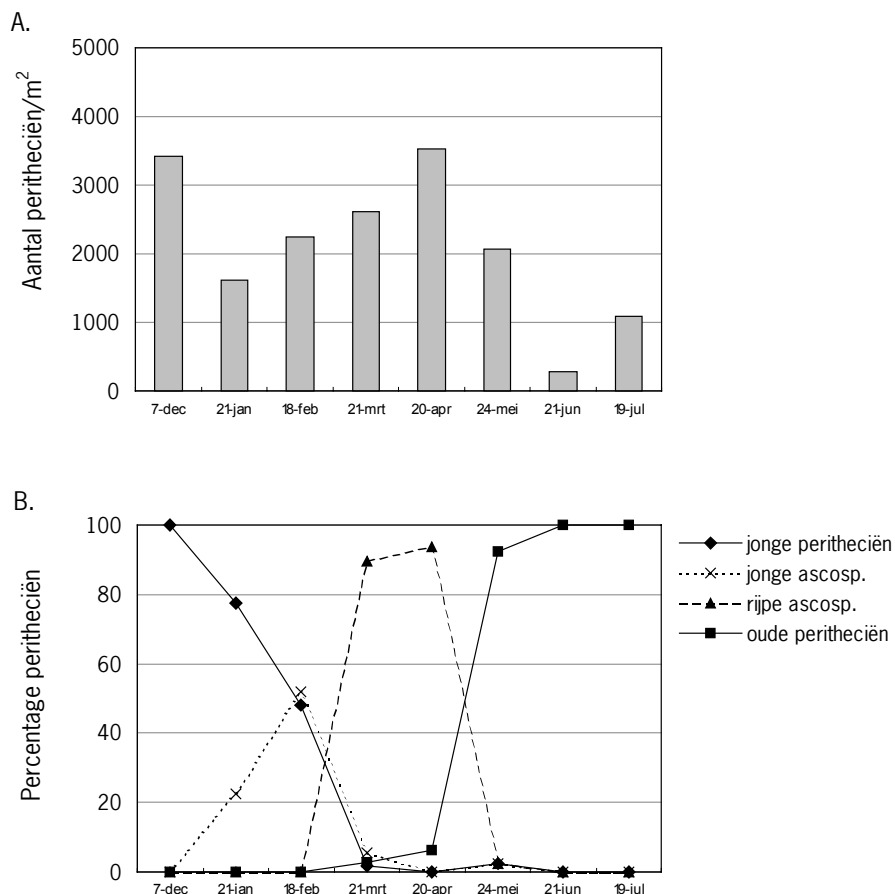
Eind april (DC 30), medio mei (DC 32), eind mei (DC 45), begin juni (DC 58), eind juni (DC 68), begin juli (DC 83) en medio juli (DC 85) zijn in de observatieveldjes de incidenties en severities van DTR en *Septoria tritici* vastgelegd. In Figuur 4.4 is vanaf het uitstoelen in april (DC 30) grafisch het afsterven van de bladeren weergegeven en in Figuur 4.5 het verloop van de DTR-epidemie in het gewas.

De planten in de 5 m brede strook grenzend aan het stoppelveldje en die in de strook op 12,5 m afstand stierven sneller af dan de planten in de stroken op een afstand van 25 en 37,5 m van het stoppelveldje (Fig. 4.4). De versnelde afsterving in de twee stroken die het dichtst bij het stoppelveldje lagen ging gepaard met hogere incidenties en severities van DTR in de bovenste twee bladlagen (Fig. 4.5). De planten in de stroken op een afstand van 25 en 37,5 m van het stoppelveldje waren daarentegen zwaarder aangetast door *Septoria tritici*. Bij de laatste bemonstering op 19 juli (DC 85) waren de severities van DTR en *Septoria tritici* op het vlagblad van de planten in de strook grenzend aan het stoppelveldje respectievelijk 73,8% en 5,4%. Op 12,5 m afstand van het stoppelveldje was respectievelijk 45,2% en 21,4% van het oppervlak van de vlagbladeren aangetast door DTR en *Septoria tritici*. Op een afstand van 25 en 37,5 m van het stoppelveldje waren de severities van DTR op het vlagblad respectievelijk 16,5% en 10,3% en de severities van *Septoria tritici* respectievelijk 38,9 en 37,1%.

Het verschijnen van de eerste symptomen van DTR in de strook grenzend aan het stoppelveldje van veldproef EH0010, in een periode waarop ascosporen vrijkwamen uit de peritheciën van DTR op de stoppels, wijzen erop dat deze stoppels de bron waren van de infecties in het tarwegewas. Ook op 12,5 m en in lichte mate op 25 m van de stoppelstrook is het effect daarvan op de DTR-aantasting te zien. Hoewel het aan de bladplekken niet te zien is of deze worden veroorzaakt door ascosporen of door ongeslachtelijke conidiën is het zeer aannemelijk dat de eerste, primaire, infecties langs de rand van het stoppelveld door ascosporen zijn veroorzaakt. Infecties op meer dan enkele meters afstand van het stoppelveld zijn steeds meer secundair en worden veroorzaakt door conidiën afkomstig van sporulerende bladplekken. Het is duidelijk dat met DTR besmette stoppels onder praktijkomstandigheden een infectiebron kunnen vormen voor tarwe in een naburig perceel. Dat dit in de voorgaande proef niet kon worden aangetoond kan verschillende redenen hebben. Allereerst was het aantal DTR-peritheciën per m² stoppelgrond in EH0010 60 – 70 maal zo hoog als in EH912 en waren de peritheciën in 2000

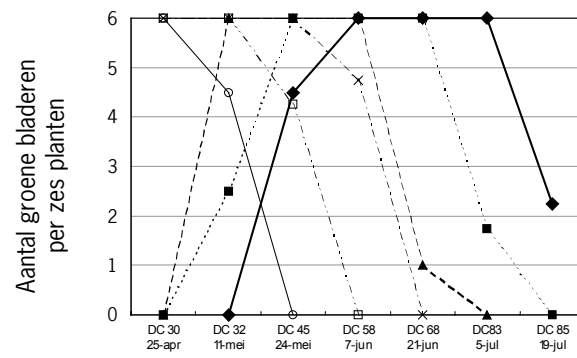
ongeveer een maand eerder rijp dan in 1999. Bovendien zijn de weersomstandigheden in mei in 2000 (warm en vochtig) gunstiger voor infectie geweest dan in 1999 met droog en koel weer.

Het feit dat deze eerste infecties van DTR in 2000 beperkt bleven tot een zone van 15 m grenzend aan deze infectiebron geven aan dat de schade als gevolg van de vroege verspreiding van DTR is te voorkomen door een, bij voorkeur stoppelvrije, bufferzone met andere gewassen van 20 – 25 m breedte tussen infectiebron en tarwegewas aan te brengen. De vroege DTR-aantasting in EH0010 lijkt overigens wel aantasting door *Septoria tritici* te verminderen.

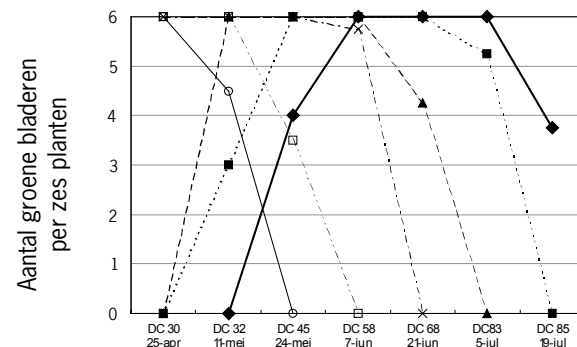


Figuur 4.3. Ontwikkeling van peritheciën van DTR op strootjes in het stoppelveldje van observatieproef EH0010.
 A. Verloop van de aantallen peritheciën per m² grond.
 B. Ontwikkelingsstadia van de peritheciën in de loop van het seizoen.

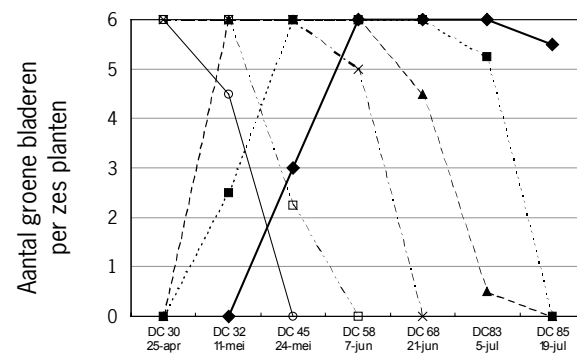
A. 0 m



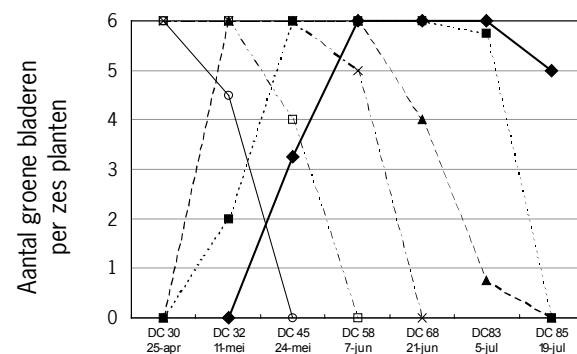
B. 12,5 m



C. 25 m



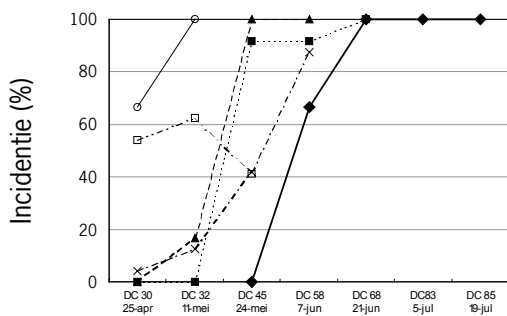
D. 37,5 m



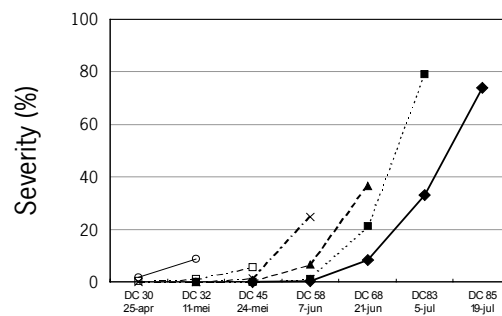
—◆— F - - -■- F-1 - - -▲- F-2 - - -x- F-3 - - -□- F-4 —○— F-5

Figuur 4.4. Ontwikkeling van het gewas in observatieproef EH0010 op 0, 12,5, 25 en 37,5 m afstand van het stoppeveld. Aantal groene bladeren van een bladlaag bij zes planten.
F: vlagblad; F-1: eerste blad onder de vlag; F-2: tweede blad onder de vlag; enz.

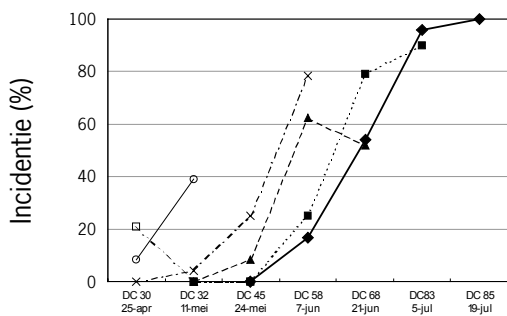
A. 0 m



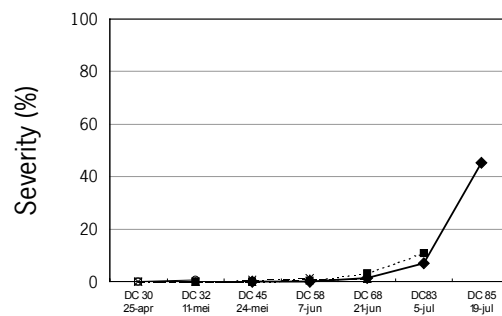
E. 0 m



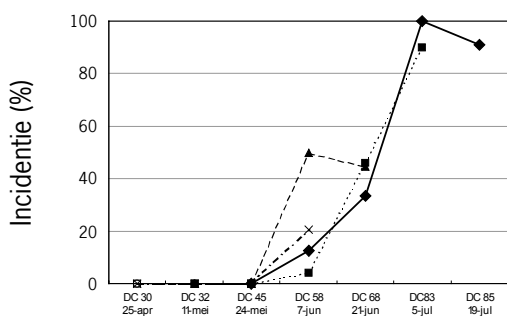
B. 12,5 m



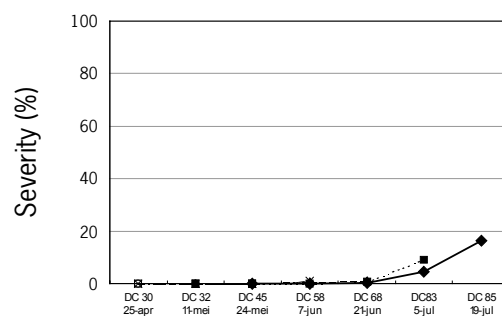
F. 12,5 m



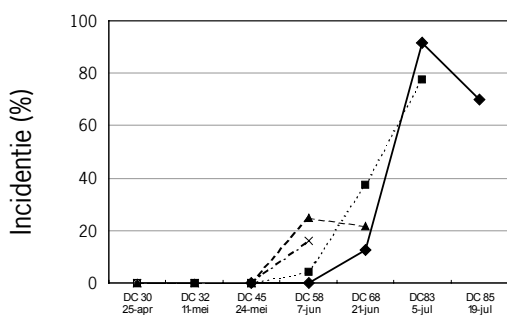
C. 25 m



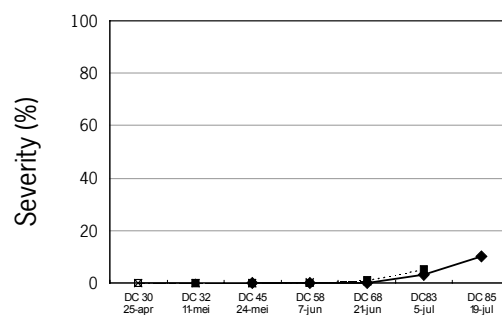
G. 25 m



D. 37,5 m



H. 37,5 m



—◆— F - - -■- F-1 - - -▲- F-2 - - -×- F-3 - - -□- F-4 - - -○- F-5

Figuur 4.5. Opbouw en verspreiding van DTR in observatieproef EH0010 per bladlaag op 0, 12,5, 25 en 37,5 m afstand van het stoppelveld. F: vlagblad; F-1: eerste blad onder de vlag; F-2: tweede blad onder de vlag; enz. A - D. Incidentie (percentage bladeren met symptomen). E - H. Severity (percentage bladoppervlak aangetast).

Conclusie

Stoppelveldjes van door DTR aangetaste tarwe vormen een besmettingsbron voor tarwe in aangrenzende percelen. Het verschijnen van de eerste symptomen van DTR in de strook grenzend aan het stoppelveldje van veldproef EH0010, in een periode waarin ascosporen vrijkwamen uit de peritheciën van DTR op de stoppels, wijzen erop dat deze stoppels de bron waren van de infecties in het tarwegewas. Vanaf de rand van het stoppelveld tot op 25 m van het stoppelveld was een afname van de aan de rand sterk verhoogde DTR-aantasting waar te nemen.

Voorkoming van deze eerste besmetting, door zorg te dragen voor een stoppelvrije bufferzone van 15 m breed, is een belangrijke maatregel voor de beheersing van DTR.

DTR en *Septoria tritici* lijken elkaar te beconcurreren, waardoor de kans op extra schade door het gelijktijdig optreden van beide pathogenen onwaarschijnlijk is.

5. Karakterisering van DTR populaties

5.1 Inleiding

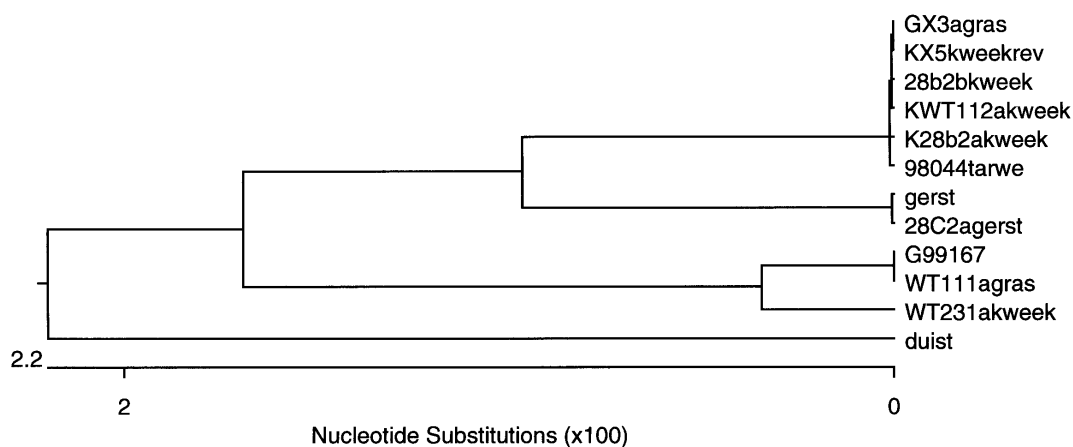
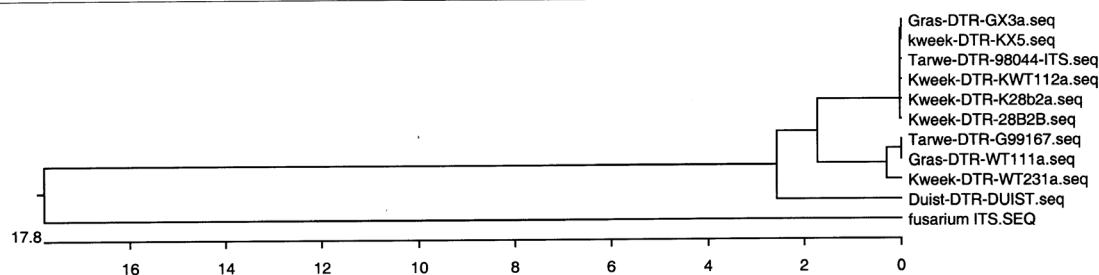
De belangrijkste vragen met betrekking tot de populatie van *Pyrenophora tritici-repentis* (DTR) betreffen de diversiteit binnen Nederland en de verdeling ervan tussen en binnen regio's, locaties en tarwepercellen. In dit kader zijn ook isolaten verzameld van andere waardplanten om na te gaan of de pathogenen die daarop werden aangetroffen ook behoren tot *P. tritici-repentis*.

Er is een collectie van 223 *P. tritici-repentis* isolaten aangelegd (Bijlage IX). Hierbij is er zorg voor gedragen dat van ieder perceel meerdere isolaten beschikbaar zijn zodat de variatie in pathogeniteit op het laagste niveau bestudeerd kan worden. De procedure om monosporen isolaten te verkrijgen is in tegenstelling tot *Mycosphaerella graminicola*, veroorzaker van septoria bladvlekkenziekte, ingewikkeld. In de eerste plaats omdat het niet eenvoudig is om de schimmel op bladmonsters te laten sporuleren. Door uitwisseling van ervaringen met andere groepen, waar onder die van Dr Lakhdar Lamari – University of Manitoba, Canada, is dit uiteindelijk gelukt en is deze collectie bij -80C opgeslagen en beschikbaar voor toekomstig gebruik. Het bezit van deze collectie is waardevol, vooral omdat *P. tritici-repentis* recentelijk weer in belang toeneemt. Dit is in het bijzonder het geval in Denemarken (L. Nilstrup-Jørgensen, persoonlijke mededeling), waar epidemieën zich zeer snel ontwikkelen en voor grote opbrengstdervingen kunnen zorgen, vooral tijdens warme zomers. Het bezit van een (gedeeltelijk) gekarakteriseerde collectie die via hiërarchische bemonstering tot stand is gekomen is van groot belang om eventuele toekomstige problemen rond deze ziekte aan te kunnen pakken.

Bij de karakterisering van de verkregen collectie is het onderzoek als volgt gestructureerd: (i) in de eerste plaats is onderzocht of de isolaten die op grassen werden gevonden ook tot *P. tritici-repentis* behoren en of zij een rol kunnen spelen in de epidemiologie van *P. tritici-repentis*; (ii) in de tweede plaats is de *P. tritici-repentis* collectie gekarakteriseerd met behulp van AFLP zodat een indruk wordt verkregen van de diversiteit binnen de populatie en (iii) in de derde plaats is diversiteit binnen de populatie onderzocht door middel van pathogeniteitsbepalingen om na te gaan of er binnen de Nederlandse populatie fyso's zijn te onderscheiden.

5.2 Karakterisering van isolaten die op grassen werden aangetroffen

De isolaten die op grassen of andere waardplanten werden aangetroffen (Tabel 5.1) zijn op twee manieren onderzocht. In de eerste plaats is met behulp van ITS-PCR, een techniek die veelvuldig gebruikt wordt in onderzoek naar de fylogenie van schimmels, een DNA fragment geamplificeerd en daarna gesequenced. De DNA sequentie van dit PCR fragment is voor alle isolaten van een schimmelsoort gelijk. Worden verschillende schimmels met elkaar vergeleken dan blijken er grotere of kleinere verschillen in deze DNA sequentie aanwezig te zijn. Is de fylogenetische afstand tussen schimmels groot dan zal de DNA sequentie ook grotere verschillen te zien geven. Bij een kleine fylogenetische afstand zijn die verschillen gering en zoals hierboven vermeld, bij meerdere isolaten van dezelfde schimmel zullen geen verschillen worden aangetroffen. ITS-PCR DNA sequentie onderzoek is daarmee een waardevolle aanvulling op morfologisch en pathogeniteit onderzoek zoals beschreven in paragrafen 3.8 en 3.10. In Figuur 5.1 zijn afbeeldingen van twee analyses opgenomen. In 5.1A is de ITS sequentie van *Fusarium* opgenomen om de DNA verschillen binnen de isolaten die op grassen of andere waardplanten werden aangetroffen te iken ten opzichte van een schimmel die fylogenetisch ver van *Fusarium* is verwijderd. In Figuur 5.1B worden de verschillen binnen deze groep isolaten nauwkeuriger weergegeven en zijn tevens twee isolaten van gerst toegevoegd.



Figuur 5.1. ITS-PCR DNA sequentie analyse van isolaten die op andere waardplanten werden aangetroffen. A: Analyse met *Fusarium* als ijkpunt. B: Analyse zonder *Fusarium* en met toevoeging van gerstisolaten..

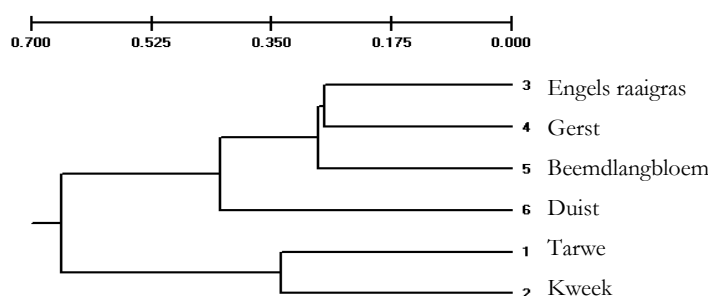
De afkomst van de isolaten die in Figuur 5 worden vermeld is weergegeven in Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Herkomst van isolaten die op andere waardplanten werden aangetroffen.

Isolaat nummer	WT nummer	Regio	Plaats	Waardplant
28b2a	534	NZ	Holwierde	Kweek
28b2b	534	NZ	Holwierde	Kweek
Duist	EH 936	NZ	Ebelsheerd	Duist
G28C2a ¹	EH 936	NZ	Ebelsheerd	Gerst
X3a		NZ	Ebelsheerd	Beemdlangbloem
X5		NZ	Ebelsheerd	Kweek
98044	518	NZ	Middenmeer	Tarwe (cv. Bercy)
99167 ²		ZON	Voerendaal	Gerst
WT111a	111	ZON	Voerendaal	Engels raaigras
WT112a ²	112	ZON	Voerendaal	Kweek
WT231a	231	ZWK	Hank	Kweek

¹ Alleen in analyse zonder *Fusarium* meegenomen.² Isolaten gebruikt voor inoculaties beschreven in paragraaf 3.10.

De resultaten in Figuur 5.1A laten zien dat de DNA sequentie verschillen van alle isolaten die op andere waardplanten werden aangetroffen minimaal zijn ten opzichte van het *Fusarium* ijkpunt. Dit laatste isolaat is ver verwijderd van deze isolaten en dit is een waarschuwing de eventueel aanwezige verschillen tussen de isolaten van andere waardplanten niet te overschatten. Dit wordt bevestigd in Figuur 5.1B waar blijkt dat het verschil in sequentie maximaal uit twee nucleotiden bestaat (de totale DNA sequentie van het ITS-PCR DNA fragment was 542 nucleotiden). Dit is een aanwijzing dat alle isolaten tot *P. tritici-repentis* kunnen behoren, met als consequentie dat de waardplantreeks van deze schimmel zich niet beperkt tot tarwe. Omdat dit epidemiologische consequenties heeft is in AFLP analyse ook specifiek naar deze isolaten gekeken (Figuur 5.2). Met behulp van AFLP vindt een scan van het hele genoom plaats en kunnen eventuele detail verschillen in een breder perspectief geïnterpreteerd worden.



Figuur 5.2. AFLP analyse (94 merkers) van isolaten die van andere waardplanten werden verkregen.

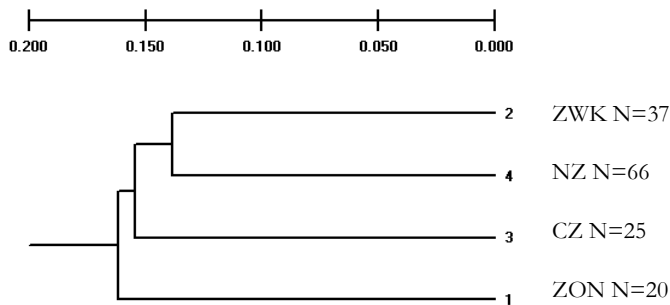
Uit Figuur 5.2 komt naar voren dat de isolaten van tarwe en kweek het meest verwant zijn. Daarnaast is het isolaat van duist afwijkend ten opzichte van de herkomsten van engels raaigras, gerst en beemdlangbloemgras. Dit ondersteunt de resultaten van de ITS-PCR analyse waarin naar voren kwam dat de verschillen tussen enerzijds tarwe en kweek en anderzijds het duist en de gerst isolaten het grootst zijn.

Op grond van de ITS-PCR van AFLP analyse kan worden geconcludeerd dat isolaten van kweek zeer waarschijnlijk een bron van infectie kunnen zijn voor tarwe (zie ook paragrafen 3.8 en 3.10). Daarmee is een belangrijke epidemiologische component vastgesteld die ook in de bestrijding van *P. tritici-repentis* moet worden opgenomen. Op andere grassen treden symptomen op die veel gelijkenis vertonen met *P. tritici-repentis*, maar die kunnen ook worden veroorzaakt door andere *Pyrenophora* soorten zoals *P. bromi*.

5.3 AFLP analyse van Nederlandse *Pyrenophora tritici-repentis* isolaten

De analyse van de *P. tritici-repentis* isolaten die van tarwe werden geïsoleerd (Bijlage IX: 56 in 1998 en 166 in 1999) is uitgevoerd met drie primer combinaties E19M15, E20M15 en E20M12. Dit heeft in totaal 94 AFLP merkers opgeleverd die gebruikt zijn voor het analyseren van de populatie. In eerste instantie is geprobeerd alle isolaten in de analyse op te nemen, maar omdat in 1998 Zuidoost Nederland en het Zuidwestelijke Zeekleigebied niet werden bemonsterd heeft de analyse zich tot de isolaten uit 1999 beperkt. In dat jaar werden het Noordelijke Zeekleigebied (NZ; N=74), het Centrale Zeekleigebied (CZ; N=27), Zuidoost Nederland (ZON; N=25) en het Zuidwestelijke Zeekleigebied (ZWK; N=40) bemonsterd. Er is hier gebruik gemaakt van een hiërarchische bemonstering waarbij de verdeling van monsters oploopt van isolaten van hetzelfde blad, dezelfde plant, verschillende planten in één perceel,

meerdere percelen in een plaats, meerdere plaatsen binnen regio's en verschillende regio's binnen Nederland. Op deze wijze kunnen verschillen tussen isolaten nauwkeurig geplaatst worden op een ruimtelijke schaal. Voor de populatiegenetische analyse is het aantal niveaus echter te groot. Daarom is eerst de diversiteit tussen de vier regio's geanalyseerd op basis van de AFLP gegevens van de 148 *P. tritici-repentis* isolaten die afkomstig zijn van tarwe (Figuur 5.3).



Figuur 5.3 UPGMA Cluster analyse van *Pyrenophora tritici-repentis* AFLP data op basis van Roger's afstand voor genetische diversiteit tussen vier Nederlandse regio's in 1999.

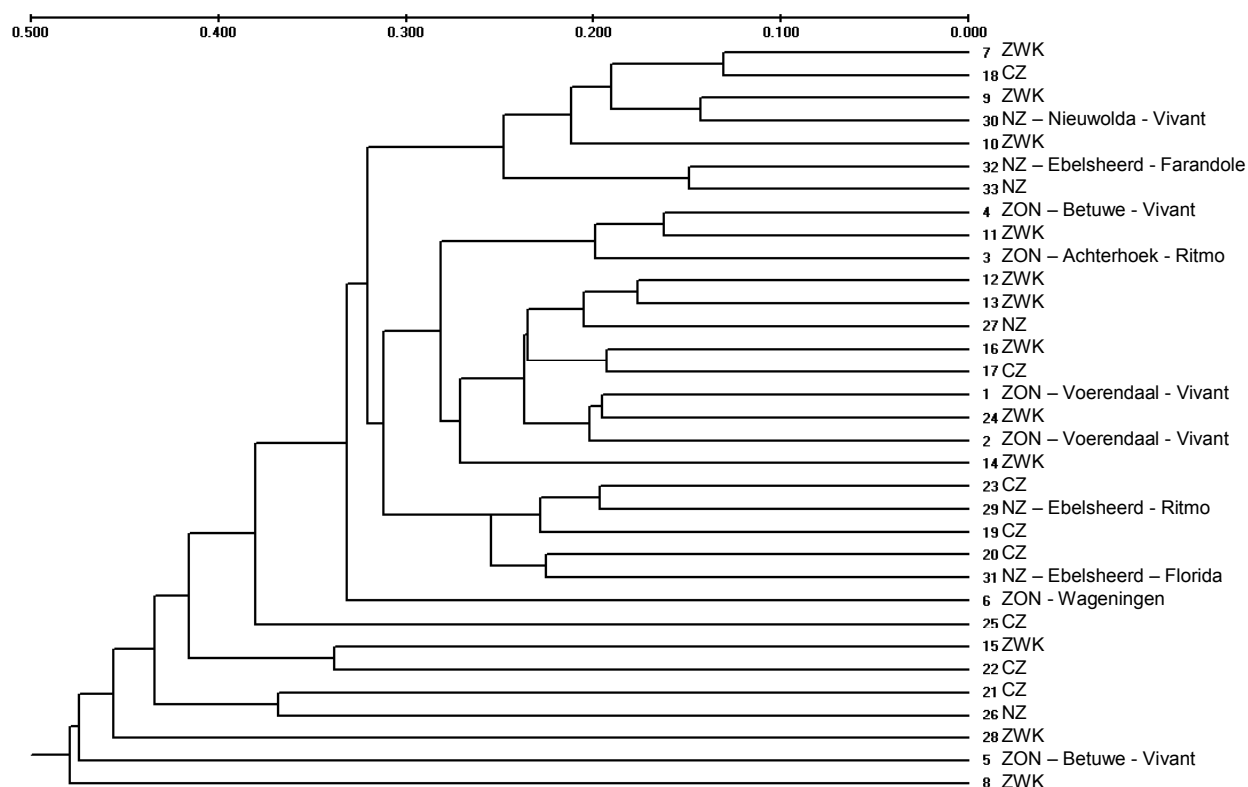
In de onderstaande waarschijnlijkheidsmatrix voor paarsgewijze vergelijking kan worden afgelezen dat ZON niet significant verschilt van ZWK en CZ. Alle andere verschillen zijn significant. Dit geeft aan dat er een aanzienlijke populatiediversiteit tussen de regio's bestaat. Dit betekent bijvoorbeeld dat niet alle *P. tritici-repentis* isolaten in Nederland geassocieerd zijn met het Noordelijk Zeekleigebied, waar de ziekte zich het hevigst heeft voorgedaan. Dit wijst erop dat de populaties in de verschillende regio's een afzonderlijke oorsprong hebben. De *P. tritici-repentis* populatie in ZON komt sterk overeen met die in ZWK en CZ. De oorsprong hiervan is moeilijk te achterhalen, maar zou ook bepaald kunnen zijn door de kleinere monstergrootte van dat gebied.

	ZON	ZWK	CZ	NZ
ZON	*****			
ZWK	0.1766	*****		
CZ	0.2873	0.0065	*****	
NZ	0.0000	0.0000	0.0000	*****

Deze eerste analyse is aanleiding om de verschillen tussen de plaatsen binnen de vier regio's nader te bestuderen. Hierbij heeft ZON drie subregio's, ZWK vier subregio's, CZ twee subregio's en NZ drie subregio's. Uit de onderstaande waarschijnlijkheidsmatrix voor paarsgewijze vergelijking van subregio's kan worden afgeleid dat significante verschillen alleen optreden in vergelijking met NZ3, de subpopulatie in het Noordelijk Zeekleigebied. Deze populatie bestaat geheel uit isolaten afkomstig uit Ebelsheerd. Zo verschilt ZON1 (Betuwe) alleen significant van NZ3 (Ebelsheerd). Hetzelfde geldt voor ZWK3 (Hoekse Waard), CZ1 (Flevopolder) en NZ1 (Oost Weerdh.). Dit resultaat onderstreept het gewicht van de *P. tritici-repentis* populatie in het Noordelijk Zeekleigebied, voornamelijk gelegen in Ebelsheerd, die voor een groot deel verantwoordelijk is voor de significante verschillen tussen regio's en plaatsen binnen die regio's.

	ZON1	ZON2	ZON3	ZWK1	ZWK2	ZWK3	ZWK4	CZ1	CZ2	NZ1	NZ2	NZ3
ZON1	*****											
ZON2	1.0000	*****										
ZON3	1.0000	1.0000	*****									
ZWK1	0.9276	1.0000	0.9901	*****								
ZWK2	0.4340	1.0000	0.9997	1.0000	*****							
ZWK3	0.8501	1.0000	1.0000	0.1765	0.1908	*****						
ZWK4	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.9985	1.0000	*****					
CZ1	0.9924	1.0000	1.0000	1.0000	0.9905	0.1403	1.0000	*****				
CZ2	0.9988	1.0000	1.0000	0.9462	0.6456	0.3369	1.0000	1.0000	*****			
NZ1	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.9699	0.9996	1.0000	1.0000	1.0000	*****		
NZ2	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.9996	0.9921	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	*****	
NZ3	0.0000	1.0000	0.9651	0.6910	0.9949	0.0000	0.8463	0.0000	0.3065	0.0307	0.9962	*****

Vervolgens is een analyse uitgevoerd op perceelsniveau (Figuur 5.4) om meer zicht te verkrijgen op de verdeling van genetische diversiteit binnen plaatsen. Hierin komt naar voren dat de genetische variatie over deze percelen zeer breed verdeeld is. Dus isolaten die van verschillende percelen binnen een bepaalde regio komen kunnen grote genetische verschillen vertonen. Zo zijn in Figuur 5.4 ter illustratie de plaatsen voor de regio's ZON en NZ weergegeven. De genetische diversiteit binnen die regio's is groot. Zelfs *P. tritici-repentis* populaties van eenzelfde ras binnen een regio, zie ZON- Betuwe cv. Vivant in Figuur 5.4, kunnen genetisch zeer verschillend zijn. Het ligt dan ook voor de hand om te veronderstellen dat de Nederlandse *P. tritici-repentis* populatie evenals andere populaties in de wereld fysiologische rassen van de schimmel bevat. Om dit te onderzoeken zijn er pathogeniteitsbepalingen uitgevoerd waarin ook aandacht werd besteed aan meerdere isolaten afkomstig uit één en het zelfde perceel en is afgezien van een populatiegenetische analyse van anonieme AFLP merkers binnen het perceelsniveau.



Figuur 5.4. UPGMA Cluster analyse van *Pyrenophora tritici-repentis* AFLP data op basis van Roger's afstand voor genetische diversiteit tussen 33 percelen in vier Nederlandse regio's in 1999.

5.4 Pathogeniteitsbepalingen van Nederlandse *P. tritici-repentis* isolaten

Vierenveertig *P. tritici-repentis* isolaten zijn getoetst op een differentiërende rassenset die werd verkregen via Dr Lakhdar Lamari (University of Manitoba – Canada) en die bestaat uit de rassen Erik, Coulter, 6B365, Katepwa en Glenlea (zie ook Bijlage X).

Tabel 5.2. *Pyrenophora tritici-repentis* fysio's binnen de Nederlandse populatie in 1999 zoals vastgesteld met behulp van een differentiërende set tarwerassen onder geconditioneerde kasomstandigheden.

<i>P. tritici-repentis</i> isolaat	Plaats	Ras	Fysio	Regio
99297	Lelystad	Vivant	1	CZ
99310	Swifterbant	Residence	1	CZ
99286	Zeewolde	Vivant	1	CZ
99311	Nagele	Vivant	1 of nieuw	CZ
99284	Almere	Tambor	1?	CZ
99313	Emmeloord	Vivant	1?	CZ
99301	Swifterbant	Vivant	1?	CZ
99312	Nagele	Vivant	2	CZ
99293	Lelystad	Bercy	nieuw ?	CZ
99006	Ebelsheerd	Ritmo	1	NZ
99040	Ebelsheerd	Florida	1	NZ
99109	Ebelsheerd	-	1	NZ
99454	Ebelsheerd	-	1	NZ
28b2a	Holwierde	Kweek	1	NZ
99318	Kloosterburen	Bercy	1	NZ
99325	Nieuwolda	Vivant	1	NZ
99277	O-Weerdh.	Vivant	1	NZ
99320	Wehe den Horn	Ritmo	1	NZ
99061	Ebelsheerd	Florida	3	NZ
	Ebelsheerd	Duist	4	NZ
X3a	Ebelsheerd	Beemdlangbloemgras	4	NZ
X5	Ebelsheerd	Kweek	4	NZ
99172	Betuwe	Vivant	1	ZON
99175	Betuwe	Vivant	1	ZON
99118	Voerendaal	Vivant	1	ZON
WT112a	Voerendaal	Kweek	1	ZON
99106	Wageningen	-	1	ZON
99169	Achterhoek	Ritmo	1?	ZON
99112	Voerendaal	Vivant	2 of nieuw	ZON
G99167	Voerendaal	Gerst	4	ZON
WT111a	Voerendaal	Engels raaigras	4	ZON
99015	Dinteloord	Vivant	1	ZWK
99193	Hank	Bercy	1	ZWK
99322	Holwierde	Ritmo	1	ZWK
99198	Mookhoek	Residence	1	ZWK
99183	Z-Beveland	Ritmo	1	ZWK
99176	Z-Vlaanderen	Residence	1	ZWK
99177	Z-Vlaanderen	Ritmo	1	ZWK
99189	Z-Beveland	Residence	1 of nieuw	ZWK
99203	Mookhoek	Vivant	1?	ZWK
99208	Mookhoek	Vivant	1?	ZWK
WT231a	Hank	Kweek	4	ZWK
99013	Stampersgat	Residence	Nieuw	ZWK

Alle rassen werden met een gekalibreerde inoculum concentratie geïnoculeerd. Na 48 uur incubatie onder plastic (22C; 100% RH) bleven de planten in dezelfde geconditioneerde kas (22C; 85% RH) en konden symptomen binnen 10 dagen waargenomen worden. De waarnemingen werden uitgevoerd met behulp van een door Lamari ontwikkelde schaal. De door Lamari geverifieerde resultaten zijn weergegeven in Tabel 5.2. uit deze gegevens blijkt dat in alle regio's meerdere fysio's voorkomen. Fysio 4 komt uitsluitend op andere waardplanten voor. Anderzijds werd op kweek ook fysio 1 aangetroffen. Hiermee worden de AFLP analyses voor waardplanten (Figuren 5.1 en 5.2) bevestigd. De fysio's 1, 2 en 3 zijn typische tarwe isolaten en komen in Nederland voor, hoewel fysio 1 het grootste verspreidingsgebied heeft. Daarnaast is het mogelijk dat de Nederlandse populatie nieuwe nog niet beschreven fysio's bevat. Dit vereist echter nadere verificatie.

5.5 Conclusies

Samenvattend kan het volgende worden geconcludeerd:

1. De genetische diversiteit van de *P. tritici-repentis* populatie in Nederland is fijn verdeeld en is niet afkomstig van één bepaalde bron.
2. De *P. tritici-repentis* populatie in Ebelsheerd is sterk bepalend voor de populatie genetische analyses van de Nederlandse populatie.
3. De Nederlandse *P. tritici-repentis* populatie bestaat uit meerdere fysio's. Fysio 1 heeft het grootste verspreidingsgebied en komt algemeen voor.
4. *P. tritici-repentis* isolaten van kweek kunnen een bron van infectie vormen voor tarwe onder Nederlandse condities.
5. De huidige *P. tritici-repentis* collectie is een uitstekend uitgangspunt voor later onderzoek waarin nurseries van tarwerassen gescreend kunnen worden met een aantal fysio's ten behoeve van de resistentieveredeling.

6. Resistentie onderzoek

6.1 Inleiding

Het resistentieonderzoek naar *P. tritici-repentis* is uitgevoerd onder veldomstandigheden. In de proeven is gedurende twee jaar een groot aantal tarverassen gescreend met een aantal *P. tritici-repentis* isolaten. De resultaten waren echter teleurstellend. Enerzijds omdat het niet mogelijk was grote hoeveelheden inoculum van voldoende kwaliteit te produceren en anderzijds omdat de weersomstandigheden tijdens deze proeven ongeschikt waren voor de ontwikkeling van gele bladvlekkenziekte. Dit heeft geleid tot massale contaminaties met gele roest en *Septoria tritici* bladvlekkenziekte. Uiteindelijk hebben deze proeven niet geleid tot bruikbare resultaten. Er is daarom besloten om het onderzoek meer om te buigen naar *Mycosphaerella graminicola*, de veroorzaker van septoria bladvlekkenziekte en een verdergaande analyse van 'oude' en 'nieuwe' isolaten uit te voeren. Daarnaast is de frequentie van de mating type allelen en een kandidaat avirulentiegen in de Nederlandse en Franse septoria populatie onderzocht.

In eerder onderzoek naar de genetica van avirulentie in *M. graminicola* werden de Nederlandse veldisolaten IPO323 en IPO94269 met elkaar gekruist (Kema *et al.*, 1996). Beide isolaten hebben een differentieerbare avirulentie op tarverassen en de mapping populatie is dan ook geschikt om avirulentiegenen te karteren en te kloneren. Avirulentie in IPO323 ligt op koppelingsgroep 22 en vererft monogeen. Door middel van AFLP analyse is een volledig co-segregerende merker gevonden (Kema *et al.*, 2000; Kema *et al.*, 2002). Deze merker is gebruikt om het DNA fragment te identificeren dat het avirulentiegen draagt. Eén van de kandidaatgenen die uit dit onderzoek naar voren is gekomen is ORF43, een gen dat in IPO94269 een deletie van 800 bp bevat. Vooruitlopend op klonering en disruptie van dit gen is de frequentie van dit gen in natuurlijke *M. graminicola* populatie onderzocht. Isolaten die ORF43 blijken te bezitten zijn vervolgens getoetst op de differentiërende rassen om na te gaan of deze isolaten avirulent zijn voor cv. Shafir.

Een zelfde onderzoek is uitgevoerd t.a.v. de mating type allelen van *M. graminicola*. Omdat deze schimmel een bipolaire heterothallische ascomycete is, wordt de geslachtelijkheid bepaald door een mating type gene met twee allelen *mat1-1* en *mat1-2*, die idiomorfen worden genoemd omdat de flankerende DNA sequenties identiek zijn, maar het coderende gebied sterk verschilt. Beide allelen zijn geïdentificeerd en gekloneerd zodat specifieke primers ontwikkeld konden worden (Waalwijk *et al.*, 2002). Op deze wijze kan eenvoudig worden vastgesteld of een isolaat *mat1-1* of *mat1-2* is. Alleen als beide isolaten op een plant voorkomen kan een geslachtelijke cyclus plaatsvinden waardoor de door de wind verspreide ascosporen ontstaan die verantwoordelijk zijn voor de grootscheepse infectie van jonge tarwe velden. De verspreiding van beide allelen op wereldschaal is al in kaart gebracht (Zhan *et al.*, 2002). In dit project is de associatie met ORF43 nader bekeken.

6.2 Vergelijking oude en nieuwe *Mycosphaerella graminicola* isolaten

In eerste instantie is gekeken of oude *M. graminicola* isolaten, verzameld in de periode 1975-1985, verschillen van de nieuwere populatie. Te meer omdat sinds de jaren negentig septoria bladvlekkenziekte in toenemende mate van belang is geworden. Momenteel wordt de ziekte in Europa als de belangrijkste tarweziekte beschouwd met een gemiddelde fungiciden input van 400.10⁶ \$ per jaar. De populatiegenetica van *M. graminicola* is uitvoerig beschreven door Zhan *et al.* (2003) waardoor *M. graminicola* in populatiegenetisch opzicht een modelorganisme is geworden. Het heeft dus niet veel zin om voor de Nederlandse populatie een AFLP analyse op te zetten. Er is wel een vergelijking gemaakt met *P. tritici-repentis*. Deze laatste schimmel is homothallisch waardoor er minder genetische variatie wordt verwacht.

De ecologie van *P. tritici-repentis* is in andere hoofdstukken beschreven en wordt gekenmerkt door conidiën die over grote afstanden getransporteerd kunnen worden en ascosporen die een geringe actieradius hebben. Voor *M. graminicola* is dit precies tegenovergesteld. De conidiën worden door middel van spatverspreiding getransporteerd over relatief korte afstanden terwijl de ascosporen door de wind over grote afstanden verspreid worden. Door het heterothallische paringssysteem zijn *M. graminicola* populaties per definitie zeer divers. Vergelijkende AFLP gels bevestigen het beeld dat de *P. tritici-repentis* populatie eenvoudiger gestructureerd is dan de *M. graminicola* populatie. Bovendien is het aantal merkers per gel voor *P. tritici-repentis* beduidend minder. Desalniettemin werden met een beperkt aantal primer combinaties 94 AFLP merkers geïdentificeerd die gebruikt werden om een indruk te krijgen van de populatiediversiteit in Nederland (Hoofdstuk 5).

De frequentie van ORF43 en *mat1-1* en *mat1-2* verschilde niet in de oude en nieuwe *M. graminicola* populatie (niet getoond). Dit suggereert dat de resistentie van rassen geen sterk sturende selectiedruk op de populatie uitoefent. Deze hypothese wordt momenteel nader onderzocht. Eén van de resultaten die deze hypothese ondersteunt is dat avirulente isolaten in staat zijn een resistente plant tot op zekere hoogte te koloniseren en een geslachtelijke cyclus aan te gaan. Avirulentiegeen blijven op deze wijze (langer) in de populatie aanwezig. Dit heeft gevolgen voor de duurzaamheid van resistentie en onderstreept het belang van het beschrijven van *M. graminicola* populaties in termen van virulentie/avirulentie. Inmiddels werken buitenlandse veredelingsbedrijven met aangepaste screeningsmethoden om de genetische diversiteit voor septoria resistentie in hun materiaal beter in het oog te krijgen. Ook zijn op dit moment 12 resistentiegeen beschreven, waarvan de meeste ook gekarteerd zijn zodat deze genen met merkergestuurde veredeling gevolgd kunnen worden. Dit voortschrijdend inzicht in pathogeniteit en resistentie zal de veredeling tegen septoria bladvlekkenziekte verbeteren.

6.3 Frequentieverdeling een kandidaat avirulentiegeen en de mating type alleen in Nederlandse en Franse *M. graminicola* populaties

Het kandidaat avirulentiegeen ORF43 is bestudeerd in Nederlandse en Franse *M. graminicola* isolaten. In eerste instantie is bepaald welke isolaten ORF43 bezitten en vervolgens is het fenotype van deze isolaten bepaald met inoculatieproeven op de tarwerassen Shafir (differentieel) en Taichung 29 (vatbaar). In totaal werden 46 Nederlandse isolaten geïdentificeerd die ORF43 bevatten (Tabel 6.1). Al deze isolaten zijn virulent voor cv. Taichung 29, maar sommige isolaten zijn ondanks de aanwezigheid van ORF43 ook virulent op cv. Shafir. Dit is een aanwijzing dat ORF43 mogelijk niet (alleen) verantwoordelijk is voor avirulentie in IPO323. Binnen een groep van 30 Franse isolaten bleken er vier ORF43 te bevatten. Deze isolaten waren zoals verwacht avirulent voor cv. Shafir. Onder de resterende 26 isolaten zonder ORF43 waren er tenminste vijf avirulent. Dit betekent dat er naast het kandidaatgeen ORF43 ook andere avirulentiefactoren in de populatie aanwezig zijn.

Tabel 6.1. Resultaten van inoculatieproeven op de tarverassen Shafir en Taichung 29 met 46 Nederlandse *M. graminicola* isolaten die ORF43 bevatten.

Isolaat	Taichung 29	Shafir	Isolaat	Taichung 29	Shafir	Isolaat	Taichung 29	Shafir
242	+	-	94033	+	-	94164	+	-
255	+	-	94034	+	-	94049	+	+
263	+	-	94035	+	-	94065	+	-
265	+	+	94036	+	-	94077	+	+
266	+	+	94037	+	-	94078	+	+
272	+	+	94042	+	-	94111	+	+
283	+	-	94043	+	-	94112	+	-
287	+	-	94044	+	-	94114	+	+
288	+	+	94045	+	+	94162	+	-
295	+/-	-	94079	+	+	94163	+	-
323	+	-	94081	+	-			
394	+	-	94097	+	-			
439	+	-	94098	+	-			
443	+	*	94141	+	-			
444	+	-	94142	+	-			
94018	+	-	94144	+	-			
94020	+	-	94145	+	-			
94032	+	-	94159	+	+			

* Geen waarneming.

Een vergelijkbare analyse is uitgevoerd op de Franse *M. graminicola* populatie. Hier werden 154 isolaten bestudeerd op de aanwezigheid van ORF43 en *mat1-1* en *mat1-2* (Tabel 6.2). Tevens is er een kloonscorrectie uitgevoerd met behulp van AFLP omdat deze monsters via een hiërarchische bemonstering (vijf percelen) werden verkregen en er dus ook isolaten van dezelfde plek in het perceel, dezelfde plant en hetzelfde blad in de collectie zijn opgenomen. Deze kloonscorrectie is nodig om oververtegenwoordiging van bepaalde *M. graminicola* genotypen te corrigeren zodat de juiste frequenties van genen worden bepaald. Uiteindelijk heeft dit geresulteerd in 141 verschillende *M. graminicola* genotypen. Dit bevestigt de grote genetische variatie op veldniveau.

Tabel 6.2. Frequentieverdeling van het kandidaat avirulentiegeen ORF43 en de mating type allelen *mat1-1* en *mat1-2* in vijf locale *M. graminicola* populaties (percelen) in Frankrijk.

Plaats	Aantal isolaten	Kloon correctie aantal isolaten	Frequentie			χ^2 test voor <i>mat</i>	
			ORF43	<i>mat1-1</i>	<i>mat1-2</i>	Binnen populatie	Tussen populaties
Villaines la Gonais	49	38	0.18	0.45	0.55	0.42	
St. Pol de Léon	27	27	0.15	0.70	0.30	4.48**	
Cappelle-en-Pévèle	6	5	0	0.60	0.40	0.20	
Aires d'Havrincourt	28	27	0.33	0.48	0.52	0.04	
Beauce	44	44	0.14	0.50	0.50	0	
Allen	154	141	0.20	0.52	0.48	0.35	5.49 (5)**

Deze analyse laat zien dat de frequentie van ORF43 weliswaar verschilt per veld, maar dit kan ook samenhangen met de monstergrootte. Gemiddeld komt ORF43 in Frankrijk in 20% van de isolaten voor. Deze frequentie is afgezet ten opzichte van de frequentie van ORF43 in andere populaties (Tabel 6.3). De verdeling van de matingtype allelen is 1:1 zoals in een random mating populatie wordt verwacht. Alleen de populatie in St. Pol de Léon verschilt significant van deze verhouding zodat ook de chi-waarde voor de verdeling van de mating type allelen tussen de populaties significant is. De reden voor deze afwijking van deze subpopulatie is niet bekend. Daarom is ook de associatie tussen ORF43 en de mating type allelen berekend voor de Nederlandse en de Franse populaties (Tabel 6.4).

Tabel 6.3. Frequentie van ORF43 in 18 *M. graminicola* populaties.

Oude wereld			Nieuwe wereld		
Land	Aantal isolaten	Frequentie ORF43	Land	Aantal isolaten	Frequentie ORF43
Israël	21	0	USA-Californië	11	0
Denemarken	61	0.07	USA-Oregon	149	0.04
Engeland	60	0.22	USA-Missouri	23	0.09
Oekraïne	1	0	Mexico	27	0
Tunesië	1	0	Chili	14	0.5
Syrië	1	0	Argentinië	4	0
Zwitserland	21	0			
Marokko	1	0			
Algerije	21	0			
Nederland	239	0.19			
Portugal	2	0			
Frankrijk	138	0.20			

De frequentie van ORF43 is in de populaties van Nederland, Frankrijk en Engeland ca. 20%, maar in de Deense populatie, die een vergelijkbare grootte heeft, slechts 7%. Opvallend is ook de aanwezigheid in isolaten uit de nieuwe wereld, in een zeer lage frequentie in Oregon maar relatief hoog in Chili. De afwezigheid van ORF43 in Israël, Marokko, Algerije en Tunesië hangt samen met *M. graminicola* typen die zijn aangepast aan durum tarwe. Er is nog te weinig zicht op de rol die ORF43 speelt in selectie door tarwerassen. Wel kan worden geconcludeerd dat er significante verschillen optreden in lokale populaties. Zodra het avirulentiegen in *M. graminicola* functioneel is aangetoond en er DNA primers beschikbaar zijn zal er een wereldwijde screening worden uitgevoerd. Dergelijke gegevens zijn uniek en zullen het inzicht in de populatiestructuur voor merkers die onder selectie staan vergroten.

Tabel 6.4. Associatie tussen de aanwezigheid van ORF43 en *mat1-1* en *mat1-2* in de Nederlandse en Franse *M. graminicola* populatie.

Frankrijk			Nederland		
ORF43	<i>mat1-1</i>	<i>mat1-2</i>	ORF43	<i>mat1-1</i>	<i>mat1-2</i>
Aanwezig	0.12	0.08	Aanwezig	0.10	0.08
Afwezig	0.40	0.41	Afwezig	0.44	0.39

De verdeling van *mat1-1* en *mat1-2* is in beide populaties 1:1. Er is dus sprake van random mating *M. graminicola* populaties, waarbinnen de verdeling van ORF43 onafhankelijk plaats vindt. Beide kenmerken zijn inderdaad op verschillende koppelingsgroepen geplaatst.

6.4 Conclusies

Samenvattend kan het volgende worden geconcludeerd:

1. De oude en nieuwe *M. graminicola* populatie verschillen niet van elkaar voor wat betreft de verdeling van de mating type allelen en de aanwezigheid van ORF43.
2. Lokale *M. graminicola* populaties verkeren in een random mating evenwicht.
3. De frequentie van ORF43 verschilt significant in *M. graminicola* populaties van vergelijkbare grootte.
4. De selectiedruk van resistentie in tarwerassen op de frequentie van ORF43 is onduidelijk en zal worden geanalyseerd zodra het avirulentiegen functioneel is gekarakteriseerd.
5. Fundamentele informatie over de frequentie van avirulentiefactoren in lokale *M. graminicola* populaties, in relatie tot de resistentie van tarwerassen en de grote genetische diversiteit van dergelijke populaties is van fundamenteel belang voor het begrijpen van duurzaamheid van resistentie en het ontwikkelen van een effectief resistentiemanagement.

Referenties

- Kema, G.H.J., E.C.P. Verstappen & C. Waalwijk, 2000.
 Avirulence in the wheat *Septoria tritici* leaf blotch fungus *Mycosphaerella graminicola* is controlled by a single locus. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 13:1375-1379.
- Kema, G.H.J., E.C.P. Verstappen, M. Todorova & C. Waalwijk, 1996.
 Successful crosses and molecular tetrad and progeny analyses demonstrate heterothallism in *Mycosphaerella graminicola*. *Current Genetics* 30:251-258.
- Kema, G.H.J., S.B. Goodwin, S. Hamza, E.C.P. Verstappen, J.R. Cavaletto, T.A.J. van der Lee, M. de Weerd, P.J.M. Bonants & C. Waalwijk, 2002.
 A combined amplified fragment length polymorphism and randomly amplified polymorphism DNA genetic linkage map of *Mycosphaerella graminicola*, the *Septoria tritici* leaf blotch pathogen of wheat. *Genetics* 161:1497-1505.
- Waalwijk, C., O. Mendes, E.C.P. Verstappen, M.A. De Waard & G.H.J. Kema, 2002.
 Isolation and characterization of the mating-type idiomorphs from the wheat septoria leaf blotch fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Fungal Genet. and Biol.* 35:277-286.
- Zhan, J., R.E. Pettway & B.A. McDonald, 2003.
 The global genetic structure of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* is characterized by high nuclear diversity, low mitochondrial diversity, regular recombination, and gene flow. *Fungal Genetics and Biology* 38:286-297.
- Zhan, J., G.H.J. Kema, C. Waalwijk & B.A. McDonald, 2002.
 Distribution of mating type alleles in the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* over spatial scales from lesions to continents. *Fungal Genet. and Biol.* 36:128-136.

7. Literatuur

- Adee, E.A. & W.F. Pfender, 1989.
The effect of primary inoculum level of *Pyrenophora tritici-repentis* on tan spot epidemic development in wheat. *Phytopathology* 79: 873-877.
- Anonymus, 1998.
Maandoverzicht van het weer in Nederland. MOW Bulletin 95/9-12.
- Anonymus, 1999.
Maandoverzicht van het weer in Nederland. MOW Bulletin 96/1-12.
- Anonymus, 2000.
Maandoverzicht van het weer in Nederland. MOW Bulletin 97/1-9.
- Bastiaans, L., 1995.
Verslag graanziekten 1994; Inventarisatie van graanziekten in veranderende bedrijfssystemen. IPO-DLO Rapport nr. 95-02.
- Bastiaans, L. & W.J. van den Brink, 1995.
Verslag graanziekten 1995; Inventarisatie van graanziekten in veranderende bedrijfssystemen IPO-DLO Rapport nr. 95-03.
- Bockus, W., 1997.
Tan spot (yellow leaf spot). In: D.E. Mathre, (ed.), compendium of barley diseases. 2nd edition, APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 36.
- Bockus, W.W. & M.C. Claassen, 1992.
Effects of crop rotation and residue management practices on severity of tan spot of winter wheat. *Plant Disease* 76: 633-636.
- Boerema, G.H., H.A. van Kesteren & W.M. Loerakker, 1984.
Vermeldenswaardige schimmelaantastingen in de periode 1980-1984. *Gewasbescherming* 15: 163-177.
- Brink, W.J. van den, 1996.
Verslag Graanziekten 1996; Inventarisatie van graanziekten in veranderende bedrijfssystemen. IPO-DLO, Rapport nr. 96-102.
- Brink, W.J. van den, 1997.
Verslag Graanziekten 1997; Inventarisatie van graanziekten in veranderende bedrijfssystemen. IPO-DLO, Rapport nr. 97-06.
- Cook, R.J. & D.J. Yarham, 1989.
Occurrence of tan spot of wheat caused by *Pyrenophora tritici-repentis* on wheat in England and Wales (UK) in 1987. *Plant Pathology* 38: 101-102.
- De Wolf, E.D. & L.J. Francl, 1997.
Neural networks that distinguish infection periods of wheat tan spot in an outdoor environment. *Phytopathology* 87: 83-87.
- De Wolf, E.D., R.J. Effertz, S. Ali & L.J. Francl, 1998.
Vistas of tan spot research. *Canadian Journal of Plant Pathology* 20: 349-370.
- Eschenbrenner, P., 1983.
Helminthosporium of wheat. *Phytoma, défense des cultures*: 13-14.
- Kema, G.H.J., J. Köhl, P. Kastelein, W.L.M. Tamis & W.J. van den Brink, 1999.
Inventarisatie en preventie van de belangrijkste bladvlekkenziekten in tarwe, veroorzaakt door *Pyrenophora tritici-repentis* (DTR) en *Septoria tritici*; Verslag over deel 1. IPO-DLO Rapport nr. 99-01.
- Kruijne, A.A. & D.M. de Vries, 1960.
Vegetatieve herkenning van onze graslandplanten. Veenman & Zn, Wageningen, 4^e druk.

- Krupinsky, J.M., 1992a.
Aggressiveness of isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* obtained from wheat in the Northern Great Plains. Plant Disease 76: 87-91.
- Krupinsky, J.M., 1992b.
Grass hosts of *Pyrenophora tritici-repentis*. Plant Disease 76: 92-95.
- Krupinsky, J.M., 1992c.
Aggressiveness of *Pyrenophora tritici-repentis* isolated from grass and barley hosts. Plant Disease 76: 783-789.
- Maraite, A. & J. Weyns, 1982).
Observation d'une épidémie de *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. sur froment en Belgique. Premières données sur le cycle de développement, le pouvoir pathogène et la sensibilité aux fongicides. Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent 47: 913-914.
- Mielke, H. & A. Reichelt, 1999.
Studien zur Biologie des Erregers *Drechslera tritici-repentis*, zur Anfälligkeit des Weizens und verschiedener Artverwandten sowie zur Bekämpfung der DTR-Weizenblattdürre. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem, Heft 366.
- Obst, A., 1983.
Die *Helminthosporium*-Blattdürre des Weizens. Pflanzenschutz-Praxis 1: 34.
- Schilder, A.M.C. & Bergstrom, G.C. (1992).
The dispersal of conidia and ascospores of *Pyrenophora tritici-repentis*. In: L.J. Francel, J.M. Krupinsky & M.P. McMullen, (eds.), Advances in tan spot research. Proceedings of the Second International Tan Spot Workshop, Fargo, pp. 96-99.
- Schuh, W., 1990.
The influence of tillage systems on incidence and spatial pattern of tan spot of wheat. Phytopathology 80: 804-807.
- Shoemaker, R.A., 1962.
Drechslera Ito. Canadian Journal of Botany 40: 809-936.
- Summerell, B.A. & L.W. Burgess, 1988.
Saprophytic colonization of wheat and barley by *Pyrenophora tritici-repentis* in the field. Transactions of the British Mycological Society 90: 551-556.
- Tamis, W.L.M. & W.J. van den Brink, 1998.
Inventarisatie van ziekten en plagen in wintertarwe in gangbare, geïntegreerde en ecologische teeltsystemen in Nederland in de periode 1993 – 1997. IPO-DLO Rapport nr. 98-01.
- Tamis, W.L.M. & W.J. van den Brink, 1999.
Conventional, integrated and organic winter wheat production in The Netherlands in the period 1993 – 1997. Agriculture, Ecosystems and Environment 76: 47-59.
- Wolf, P., 1991.
Biologie, Epidemiologie, Schadrelevanz, Konzeption für eine integrierte Bekämpfung von *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoem. (Perfekstadium *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs.), dem Erreger einer Blatfleckenkrankheit an Weizen. Proefschrift Technische Universität München, Weihenstephan.

Bijlage I.

Projectvoorstel inventarisatie en preventie van de belangrijkste bladvlekkenziekten in tarwe, veroorzaakt door *Pyrenophora tritici-repentis* (DTR) en *Septoria tritici*

Aanvrager

DLO-Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (IPO-DLO), Postbus 9060, 6700 GW Wageningen, Projectleiders: J. Köhl en G.H.J. Kema; Contactpersoon: N.J. Fokkema, tel. 0317-476243, fax 0317-410113

Doelstelling

- Bevorderen van een milieuvriendelijke en economische tarweteelt in Nederland.

Probleemstelling

- Bladvlekkenziekten vormen een steeds grotere bedreiging voor de Nederlandse tarweteelt. Voor DTR ontbreekt grotendeels de basiskennis voor het ontwikkelen van economische beheersingsstrategieën voor de Nederlandse situatie. Voor *Septoria tritici* ontbreekt de praktische toepassing van reeds aanwezige fundamentele kennis.

Plan van aanpak

- Beperkte inventarisatie gericht op specifieke problemen c.q. relaties die zijn geconstateerd in het project 'Inventarisatie van graanziekten in veranderende bedrijfssystemen'.
- Ontwikkelen van beheersstrategieën t.a.v. DTR en *Septoria tritici* gebaseerd op preventie, pathogeenmanagement en resistentie.

1. Achtergrond van het project

Het project 'Inventarisatie van graanziekten in veranderende bedrijfssystemen' dat gedurende de jaren 1993 - 1998 wordt uitgevoerd heeft al een schat aan informatie opgeleverd met betrekking tot het voorkomen van de in tarwe aanwezige ziekten en plagen (Bastiaans en Van den Brink, 1995, Verslag graanziekten 1995, IPO-DLO rap. nr. 95-03; Van den Brink, Verslag graanziekten 1996, IPO-DLO rap. nr. 96-102; Van den Brink, 1997 mond. med.). De basis van voorgenoemd project was het monitoren van de pathogeenpopulaties in verschillende bedrijfssystemen om tijdig problemen in de teelt te onderkennen. Het meest opvallend is wel het optreden van de schimmel *Pyrenophora tritici-repentis* (DTR), een agressief pathogeen dat al wel in Oost-Europa en Midden-Europa, de VS en Canada een belangrijk probleem vormt maar vooralsnog niet of nauwelijks in Nederland werd geconstateerd. Deze kennismaking is ook hevig gebleken daar m.n. in Oost-Groningen veel schade werd aangericht. De ziekte met jaarlijks de hoogste incidentie was *Septoria tritici*. Beide pathogenen treden vooral op bij

intensieve tarweteelt waarbij minder grondbewerking plaatsvindt. In 1997 en 1998 werd ook zeer veel kafjesrood, veroorzaakt door *Fusarium* spp., aangetroffen. Waarschijnlijk gaat het hier om een incident veroorzaakt door de regenperiode tijdens de bloei en vervolgens voortdurende ziektebevorderende weersomstandigheden.

In 1998 wordt het project 'Inventarisatie van graanziekten in veranderende bedrijfssystemen' afgesloten met een eindverslag. Begin 1998 zal al duidelijk zijn welke factoren (teeltmaatregelen, ras, regio etc.) mogelijk een rol zouden kunnen spelen bij het verontrustende optreden van DTR in Nederland. Voor de continuïteit van het graanonderzoek in Nederland en vanwege de ernst van de problematiek is het van groot belang dat in 1998 met het hier voorgestelde onderzoek wordt begonnen.

Het onderzoek beoogt:

- een verklaring te geven voor het plotselinge optreden van DTR in Nederland,
- een verklaring te geven voor de snelle verspreiding van DTR door het gewas en door Nederland,
- factoren te identificeren die het optreden van DTR en *Septoria tritici* bevorderen,
- ontwikkeling van beheersingstrategieën,
- inzicht te geven in de populatiesamenstelling van DTR en *Septoria tritici*,
- op grond daarvan aanbevelingen te doen ten aanzien van rassenkeuze,
- een bijdrage te leveren aan resistentieveredelingsprogramma's.

2. Wijze van uitvoeren

Wij stellen de volgende activiteiten voor:

- 2.1. Literatuuronderzoek/kennisinventarisatie
- 2.2. Gerichte inventarisatie,
- 2.3. Ecologie van DTR (de ecologie van *Septoria tritici* is voldoende bekend),
- 2.4. Verklarende veldproeven,
- 2.5. Karakterisering DTR en *Septoria tritici* populaties,
- 2.6. Rassenproeven (i.s.m. veredelingsbedrijven en PAV),
- 2.7. Kennisintegratie IPO-DLO en PAV.

N.B. Deze activiteiten worden verdeeld over twee project onderdelen. Deel 1 loopt tot en met augustus 1998 en omvat activiteiten 2.1 en 2.2. Deel 2 (activiteiten 2.3 - 2.6) wordt uitgevoerd volgens de tijdsplanning op pag. 9 na een Go/NoGo beslissing in september 1998.

2.1 Literatuuronderzoek/kennisinventarisatie

Aan het begin van het project wordt door literatuuronderzoek en door kennisuitwisseling met binnenlandse (o.a. PAV) en buitenlandse collega's een overzicht verschaft over afgerond en lopend onderzoek aan DTR. Vooral in de Verenigde Staten en in Canada is DTR een van de belangrijkste tarweziekten. Het onderzoek in deze landen is vooral gericht op preventieve beheersmaatregelen van DTR. In de buurlanden van Nederland, vooral in Duitsland, is DTR een opkomend probleem. Door deze kennisuitwisseling (instituten, chemische industrie, veredelingsbedrijven) zal het project goed afgestemd worden op al aanwezige kennis en lopend onderzoek.

Onderzoeksvragen	Relevantie
1. Wat is er bekend over de ecologische en genetische aspecten van DTR? 2. In hoeverre zijn deze gegevens toepasbaar op de Nederlandse situatie?	1. Voorkómen van doublures en concentreren op de relevante aspecten voor de Nederlandse situatie.

2.2 Inventarisatie

In de inventarisatie van 1997 is voor de eerste keer een set gegevens verkregen over het optreden van DTR in verschillende regio's, bedrijfssystemen en velden met verschillende teeltmaatregelen. Na analyse van deze data zal begin 1998 al duidelijk worden in welke mate het optreden van DTR correleert met factoren als wijze van grondbewerking, gewasrotatie, zaaidatum, fungicidespectrum, tarweas of klimaat. Op grond van deze indicaties zullen in 1998 gericht ca. 80 bedrijfs-percelen (gedeeltelijk niet met fungiciden bespoten) worden geselecteerd om de invloed van dergelijke factoren op DTR te bevestigen. Het optreden van DTR wordt op ziekte severity gescoord evenals het optreden van *Septoria tritici* omdat deze ziekte mogelijk synergistisch of concurrerend met DTR optreden kan. Na een indruk van de belangrijkste factoren die op DTR van invloed zijn, zal in 1999 en 2000 de inventarisatie van DTR en *Septoria tritici* zich beperken tot ca. 40 percelen.

Op het verzamelde materiaal worden verder de incidentie van alle optredende ziektes- en plaagsymptomen gescoord. Deze beperkte inventarisatie heeft een signaleringsfunctie voor het optreden van nieuwe ziekten(-fysio's) en plagen.

Onderzoeksvragen	Relevantie
1. Welke agronomische activiteiten hebben invloed op het optreden van DTR? 2. Is er interactie/concurrentie met <i>Septoria tritici</i>, en zo ja, wanneer? 3. Hoe belangrijk is het optreden van DTR en <i>Septoria tritici</i> t.o.v. andere pathogenen?	1. Het voorkomen of reduceren van de kans op DTR epidemieën. 2. Bestudeer de pathogenen niet per definitie als aparte entiteiten maar wees ervan bewust dat ze een complex vormen. 3. Het optreden van pathogenen is niet altijd volledig gecorreleerd met de schade die deze pathogenen veroorzaken.

2.3 Ecologie van DTR

Het onderzoek zal gericht zijn op de bronnen van DTR-epidemieën. Hierbij zal ook aandacht worden besteed aan de mogelijkheid van verspreiding via wilde grassen. De rol van ongeslachtelijke en geslachtelijke sporen bij de verspreiding zal worden onderzocht. Bronnen van het initiële inoculum zijn vooral gewasresten, bronnen voor de secundaire verspreiding van DTR in het gewas zijn sporulerende bladlesies. De relatieve betekenis van beide bronnen voor het ziekteverloop is onbekend. Zodra een duidelijk inzicht in de inoculumbronnen is verkregen kunnen effectieve beheersmaatregelen worden ontwikkeld, die gebaseerd zijn op preventie bij de bron.

Gewasresten en alternatieve waardplanten. Het overleven van DTR in de tijd in gewasresten en het vermogen hierop sporen te vormen wordt onderzocht in afhankelijkheid van de grond-bewerking en afbraak bevorderende maatregelen zoals stoppelbewerkingen en verhoging van de microbiële activiteit. In veldexperimenten wordt de kolonisatie van de gewasresten door DTR, door *Septoria* spp. en door

van nature optredende saprofytische schimmels gevolgd in de tijd. Verder wordt gekeken naar het effect van fungicidebehandelingen op de kolonisatie van gewasresten door DTR, *Septoria tritici* en saprofytische schimmels. Tevens zal getracht worden een indruk te krijgen van de rol van wilde grassen als mogelijke inoculumbron. Hiertoe zullen isolaten worden verkregen van dr. Krupinsky (USA) die dit aspect en de verschillen in agressiviteit tussen isolaten van verschillende waardplanten heeft bestudeerd.

Lesies. De hoeveelheid van in lesies geproduceerde sporen van DTR kan van grote invloed zijn op het verdere verloop van de epidemie in het gewas. Het optreden van concurrerende schimmels in het door DTR afgedode lesieweefsel zal de sporen-productie verlagen. De rol van nature optredende saprofytische schimmels en van *Septoria* spp. op lesiegroei en sporenproductie van DTR wordt gevolgd onder veldomstandigheden en onder geconditioneerde omstandigheden. Een effect van in de tarweteelt gangbare fungiciden en variaties in spuittechnieken op de kolonisatie van lesies door zowel pathogenen alsmede saprofyten wordt onderzocht.

Zaadoverdracht vs. case studies. In het eerste voorstel werd voorgesteld om na te gaan wat het belang is van zaadoverdracht in de epidemiologie van DTR. Vanuit de kennisinventarisatie [literatuur en gesprekken] is naar voren gekomen dat besmet zaad nauwelijks of geen rol lijkt te spelen bij het tot stand komen van een DTR epidemie. Weliswaar kan DTR met het zaad meegaan, maar dit resulteert slechts sporadisch in ziek planten. Derhalve lijken andere factoren veel belangrijker te zijn bij het tot stand komen van DTR epidemieën. Wij stellen voor om het ‘zaadoverdracht’ gedeelte te vervangen door ‘case-studies’: Het volgen van ‘DTR-velden’ in de tijd. De basis hiervoor is de inventarisatie van 1998. Tijdens deze inventarisatie zijn spontaan extra velden meegenomen waarin DTR op een exceptioneel hoog niveau voorkomt. De historie van deze velden is in samenspraak met de betreffende ondernemer doorgenomen om op deze wijze meer inzicht te krijgen in het tot stand komen van DTR epidemieën. Reeds nu heeft dit een schat aan informatie opgeleverd die ons in staat stelt veldproeven op een efficiënte manier in te richten [zie verklarende veldproeven].

Onderzoeksvragen	Relevantie
1. Welke rol spelen gewasresten in de epidemiologie van DTR? 2. Kunnen grassen fungeren als alternatieve waardplanten voor DTR? 3. Hoe snel groeien DTR lesies en hoe efficiënt produceren zij inoculum onder natuurlijke omstandigheden onder de geldende agronomische praktijk?	1. Het verkrijgen van een nauwkeurig en betrouwbaar inzicht in de bronnen en opbouw van DTR populaties.

2.4 Verklarende veldproeven

Het effect van de belangrijke factoren die op DTR van invloed zijn wordt in veldproeven in 1999 en 2000 gekwantificeerd in veldproeven die worden uitgevoerd in Wageningen en Ebelsheerd. Voor deze laatste locatie is gekozen omdat DTR daar op een zeer hoog niveau voorkomt. In overleg met de bedrijfsleider van de proefboerderij, de heer C. Blok, is een principe afspraak gemaakt dat daar een gedetailleerd veldexperiment kan worden neergelegd. Het experiment wordt zó uitgevoerd dat een aantal zeer relevante vragen in de DTR epidemiologie beantwoord kan worden. Zo zal de locatie van het experiment tegenover een nu door DTR geïnfecteerd perceel worden gekozen. Vanuit dit reeds besmette perceel kan de overleving op stroresten, en het effect van grondbewerking worden vastgesteld [de heer Blok heeft al voorlopige gegevens verzameld t.a.v. grondbewerking en DTR]. Daarnaast zullen sporenvangers worden gebruikt om na te gaan wanneer en welke sporen zich in het jonge gewas

vestigen, en door regelmatige monsternamen zal de populatieopbouw in het veld met behulp van moleculaire merkers nauwkeurig in de tijd worden gevolgd. De uitvoering van een dergelijk experiment zal iets meer moleculaire assistentie en apparatuur vereisen. De verwachting is dat deze benadering veel inzicht zal geven in mogelijke preventieve maatregelen.

Uit de inventarisatie zijn factoren naar voren gekomen die een mogelijk effect hebben op de epidemiologie van DTR. Deze factoren zullen in meerfactoriële experimenten met meerdere behandelingen per factor worden getoetst in veldproeven. In deze proeven zullen de populatieopbouw van het pathogeen (kwantificeren van ascosporen- en conidiënproductie, sporenvluichten binnen het gewas), het optreden van lesies van DTR (severity score) in loop van de tijd, de interactie met *Septoria* spp. en de relatie met de opbrengst worden vastgesteld.

Onderzoeksvragen	Relevantie
1. Welke preventieve maatregelen hebben het grootste vertragende effect voor de opbouw van DTR populaties? 2. Hoe komt een DTR populatie tot stand?	1. Komen tot een advies om het risico van DTR ontwikkeling in een tarwegewas te voorkómen. 2. Verkrijgen van inzicht in de genetische structuur van een DTR populatie in één veld in relatie tot andere velden en de nationale DTR populatie o.a. ten behoeve van de veredeling.

2.5 Karakteriseren van DTR en *Septoria tritici* populaties

Jaarlijks zullen, gedurende de inventarisatie, percelen in verschillende delen van het land intensief worden bemonsterd op het voorkomen van DTR en *Septoria*. Een belangrijk aspect van de bemonstering is het verkrijgen van een verzameling van representatieve isolaten (ca. 100) van beide pathogenen van percelen in verschillende regio's. De totale collectie zal maximaal 500 isolaten per pathogeen omvatten. Deze isolaten zullen worden gekarakteriseerd met behulp van (reeds aanwezige) moleculaire merkers (RFLPs en AFLPs). Dergelijke proeven zijn niet alleen uitermate geschikt om een inzicht te krijgen in de structuur van populaties, maar vooral ook in hun dynamiek. Zo nodig zullen ook buitenlandse isolaten in de analyse worden meegenomen om te onderzoeken waar DTR vandaan komt en hoe de verspreiding binnen Nederland plaatsvindt.

Met betrekking tot *Septoria tritici* zal de huidige populatie worden vergeleken met een oude populatie die stamt uit de jaren 1972-1980. Deze vergelijking zal unieke gegevens opleveren omtrent de veranderingen in Nederlandse *Septoria tritici* populatie in de tijd. Hierbij zal naast de rol van cultuurmaatregelen ook aandacht worden besteed aan pathogeniteitskenmerken. Immers, het rassen-aanbod dat die periode bestrijkt heeft een selectiedruk uitgeoefend op de populatie. Van sommige rassen (zoals cv. Lely) is tevens bekend dat met name de aantasting door *S. tritici* geleid heeft tot de vervanging door andere rassen.

De verzamelde isolaten zullen worden gebruikt voor beperkte klimaatcel-proeven waarbij de pathogeniteit zal worden bepaald in verband met uit te voeren rassenproeven. Hierbij zal gebruik worden gemaakt van een door dr. Lamari (University of Manitoba, Canada) ontwikkelde differentiërende rassenset die het mogelijk maakt DTR fysio's te karakteriseren.

Onderzoeksvragen	Relevantie
1. Welke structuur heeft een DTR populatie in één veld? 2. Welke relatie heeft deze structuur met andere percelen in dezelfde en andere regio's? 3. Is er sprake van fysiovorming in de Nederlandse DTR populatie en hoe breed is deze genetische variatie? 4. Wat is de verhouding tussen de huidige <i>Septoria tritici</i> populatie en een populatie uit de 70-er jaren? 5. Welke fysiologische groepen kunnen worden waargenomen in de huidige <i>S. tritici</i> populatie?	1. Deze vragen hebben allemaal betrekking op het verkrijgen van inzicht in de genetische variatie binnen en tussen [oudere] pathogeen populaties. Dergelijke kennis is van groot belang voor de resistentieveredeling. Tevens wordt uit de vergelijking met oudere populaties duidelijk welke invloed het rassenspectrum heeft op de [fysiologische] aanpassing van deze populaties. Met andere woorden hoe efficiënt kan de veredeling inspelen op de flexibiliteit van pathogeen-populaties?

2.6 Rassenproeven

Eén van de meest voor de hand liggende en milieuvriendelijkste beheers-strategieën van DTR en *Septoria tritici* is het verbouwen van resistente rassen. Echter, ondanks de importantie van beide pathogenen is er zeer weinig bekend over de resistentie in het huidige tarwerassen-assortiment. Op hun pathogeniteit gekarakteriseerde isolaten van beide pathogenen zullen worden gebruikt in veldproeven waarbij ca. 100 tarwerassen zullen worden beoordeeld op hun resistentie tegen meerdere isolaten. Gegevens uit dergelijke proeven zijn onmisbaar bij het ontwikkelen van resistentieveredelingsprogramma's. De proeven zullen gedurende twee jaar op meerdere locaties [veredelingsbedrijven en een door het PAV gebruikte locatie] worden uitgevoerd. Er zal een koppeling tot stand worden gebracht met het door het PAV uitgevoerde chemische bestrijdingsonderzoek naar DTR.

Onderzoeksvragen	Relevantie
1. Zijn er resistentieverschillen in een groot tarweassortiment? 2. Is er binnen dit sortiment voldoende genetische variatie voorhanden t.b.v. de resistentie-veredeling? 3. Reageren de rassen min of meer gelijk op verschillende isolaten of treden er ras*isolaat interacties op? Hoe belangrijk zijn die?	1. Leveren van basiskennis t.b.v. resistentieveredeling tegen DTR en <i>S. tritici</i>.

2.7 Kennisintegratie IPO-DLO en PAV

Het IPO-DLO en het PAV participeren beiden in DWK-programma i.o. 337 'Management van plantenpathogene schimmels en bacteria' (programmaleider: N.J. Fokkema; deelprogrammaleider o.a. H. Baltjes, PAV). Dit garandeert een optimale afstemming tussen het door het PAV uit te voeren chemische bestrijdingsonderzoek (H.T.A.M. Schepers) en het hier gepresenteerde IPO-onderzoek. De in dit project verworven kennis wordt beschikbaar gesteld aan het PAV. Dit zal leiden tot een integratie van deze kennis en de door het PAV gegenereerde kennis t.a.v. chemische bestrijding. Ook hierdoor zullen resultaten van dit project leiden tot verbeterde ziektebeheersing.

3. Tijdsplanning, inzet, financieringsoverzicht en Go/NoGo afweging

Tijdsplanning

	Deel 1				Deel 2								
Tijdsplanning	1998				1999				2000				2001
Literatuur-onderzoek		xxx	xxx	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Inventariseren		xxx	x—	—	—	xxx	x—	—	—	xxx	x—	—	—
Uitwerken inventariseren		—	—x	xx—	—	—	—x	xx—	—	—	—x	xx—	—
Inoculumbronnen op gewasresten en grassen		—	—	xxx	xxx	xxx	—xx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xx—
Sporenproductie in lesies		—	—	—	—	xxx	x—	—	—	xxx	x—	—	—
Opbouw DTR en <i>Septoria</i> -collectie		xxx	x—	—	—	xxx	x—	—	—	xxx	x—	—	—
Karakteriseren DTR isolaten		—	—	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx
Karakteriseren van <i>Septoria</i> isolaten		—	—	xxx	x—	—x	xxx	x—	—	—x	xxx	x—	—
Veldproeven		—	—	xxx	xxx	xxx	x—	xxx	xxx	xxx	x—	—	—
Rassenproeven		—	—	xxx	xxx	xxx	—	xxx	xxx	xxx	—	—	—
Rapporteren		—	—x	—	—	—	—	—xx	—	—	—	—	xxx

Personele inzet (gemiddeld per jaar)

Benodigde expertise	Onderzoeker	Onderzoeksmedewerker (HBO)	Facilitaire ondersteuning
Ecologie	0,3 f.t.e.	1,0 f.t.e.	0,2 f.t.e.
Systeemanalyse	0,2 f.t.e.		
Moleculaire karakterisatie	0,15 f.t.e.	0,35 f.t.e.	
Totaal	0,65 f.t.e.	1,35 f.t.e.	0,2 f.t.e.

Financieringsoverzicht

N.B. 1. Bedragen exclusief BTW.

2. IPO-DLO garandeert op dit moment 50% medefinanciering voor deel 1. Ten aanzien van deel 2 kunnen op dit moment geen harde garanties worden gegeven.
3. Project kan slechts worden uitgevoerd op basis van 50/50 financiering door PGZP en IPO.

Deel 1	1998			
Personele inzet (IPO-DLO):				
Literatuuronderzoek/kennisinventarisatie	63,75			
Inventarisatie ziekten en plagen	132,5			
Collectie-opbouw	27,5			
Materiële inzet (IPO-DLO):	17,0			
Totaal	240,8			

Deel 2	1998	1999	2000	2001
Personele inzet (IPO-DLO):	133	482	481	72
Materiële inzet (IPO-DLO):	35	63	45	10
Kosten rassenproeven	25	50	25	–
Totaal	193	595	551	82

Go/NoGo afweging

Het project wordt gedeeld in twee afzonderlijke onderdelen. Deel 1 loopt tot en met augustus 1998 en zal de volgende onderdelen omvatten [inclusief rapportage]:

- literatuurstudie
- werkbezoeken
- inventarisatie

De rapportage van de inventarisatie statistieken over 1998 wordt gegarandeerd. De analyse van de effecten van teeltmaatregelen op het optreden van DTR, die noodzakelijk is voor het uitzaaien van de geplande veldproeven in deel 2, kan om logistieke redenen niet voor 1 september gereed zijn. De stellige verwachting is dat de analyse wel gereed is voor de aanleg van de veldproeven in deel 2 van het voorstel.

Bijlage II.

Akkerbouwbedrijven betrokken bij de landelijke inventarisaties 1999 en 2000

CENTRALE ZEEKLEI (CZK)		ZUIDWESTELIJKE ZEEKLEI (ZWK)	
Mts. T. Saat & T. v.d. Berg	Almere	R.L.M. Cammaert	Schoondijke
P.L. van Andel	Zeewolde	Mts. J.J. & J.C. Poissonnier-d'Hont	Schoondijke
T. Boerma	Zeewolde	J.C.P. Quist	IJzendijke
D. Monsma	Zeewolde	L. Aarnoutse-Maas	Arnemuiden
(BV Exploitatiebedrijf Nz 27)			
G.L. de Geus	Zeewolde	W.P. Reijnierse - Kloet	Lewedorp
J. Douma	Zeewolde	J. Blok	Nieuwdorp
N.A. van Stee	Biddinghuizen	Mts. van Maldegem-de Vos	Kortgene
H.J. Custers	Biddinghuizen	L.J. de Jager	Wissenkerke
D. Moelker	Biddinghuizen	H.R. Leemhuis	Geersdijk
W.H. Schouten	Lelystad	L.J. van Gastel	Zierikzee
P. Bierma	Lelystad	C.L. Steendijk	Nieuwerkerk
H.J. Kloosterboer	Lelystad	H.J. v.d. Riet	Dinteloord
A.D. v.d. Weele	Lelystad	J. Burgers	Hank
H. Vermeer	Swifterbant	T. de Zeeuw	s Gravendeel
J.M.M. Rademakers	Swifterbant	B. Niemansverdriet	Mookhoek
A.H. Vermeulen	Swifterbant	L.D. de Geus	Mookhoek
P.J. Vlaming	Nagele		
H. Oosterhuis (Proefbedrijf O.B.S.)	Nagele		
Mts. Groenewold	Emmeloord		
NOORDELIJKE ZEEKLEI (NZK)		NOORDOOST NEDERLAND (NON)	
V.O.F. Buijsse - Meereboer	Middenmeer	G.R. Gruppen	Emmen
R.H. Iwema	Middenmeer	H. van der Horst	t Haantje
A.W.M. Bink	Middenmeer	D. Nigten (Proefboerderij 't Kompas)	Valthermond
G. Dekker	Middenmeer	M.J. Bakker	Valthermond
J. Zuidhof	Middenmeer	D.J. Beuling	1e Exloërmond
Mts. S.A. Janssen	Middenmeer	J. Speelman	1e Exloërmond
Mts. P. en M. Stroo	Slootdorp		
A.S.M. Remijn	Munnekezijl		
(Proefboerderij Kollumerwaard)			
C.W. Kristelijn	Munnekezijl		
(Proefboerderij Kollumerwaard)			
K.S. Sijpkens	Hornhuizen		
J.K. Sijpkens	Hornhuizen		
R.P. Meijer	Kloosterburen		
T.D. Vegter	Kloosterburen		
J.P. Lindenberg	Wehe-den Hoorn		
R. Claassen	Wehe-den Hoorn		
K.B. Bos	Holwierde	ZUIDOOST NEDERLAND (ZON)	
R.J. Lesterhuis	Holwierde	J.J. Gemmink	Brummen
W.F. Biemond	Holwierde	H.J.L. van Lulofs Umbgrove	Almen
Mts. K.R. & J.P. Kolhorn	Woldendorp	M.A.J. van Weringh	Laren
O.J. Bosker	Nieuwolda	J.P.N. van Olst	Andelst
A.E.F. ten Kate	Nieuwolda	J.H. van Lonkhuyzen	Andelst
Mts. H. & H.E. Waalkens	Nieuwolda	Mts. H. Huijts - Görtz	Voerendaal
J.P. Blok (Proefboerderij Ebelsheerd)	Nieuw Beerta	J. Petit	Voerendaal
J.I. Huisman	Nieuw Beerta	J. Keybets	Voerendaal
J.B. Smaal	Bellingwolde	J.B.M. Drummen	Berg en Terblijt
M.M. Oostdijk	Bellingwolde	W. Vogels	Schinnen

Bijlage III.

Gegevens van de in 1999 op ziekten en plagen geïnventariseerde tarwepercelen

Code	Sub-regio	Bedrijfssysteem	Tarweras	Vorige teelt wintertarwe
CENTRALE ZEEKLEI (CZK)				
WT411	Zuid-Flevoland	ecologisch	Tambor	voor 1998
WT412	Zuid-Flevoland	ecologisch	Tambor	onbekend
WT413	Zuid-Flevoland	geïntegreerd	Vivant	voor 1998
WT414	Zuid-Flevoland	gangbaar	Vivant	voor 1998
WT421	Oost-Flevoland	geïntegreerd	Residence	voor 1998
WT422	Oost-Flevoland	gangbaar	Bercy	voor 1998
WT423	Oost-Flevoland	gangbaar	Ritmo	voor 1998
WT424	Oost-Flevoland	gangbaar	Vivant	voor 1998
WT425	Oost-Flevoland	geïntegreerd	Residence	voor 1998
WT431	Noordoostpolder	geïntegreerd	Vivant	voor 1998
WT432	Noordoostpolder	geïntegreerd	Vivant	voor 1998
WT433	Noordoostpolder	geïntegreerd	Vivant	voor 1998
NOORDELIJKE ZEEKLEI (NZK)				
WT511	Wieringermeer	gangbaar	Residence	voor 1998
WT512	Wieringermeer	geïntegreerd	Vivant	voor 1998
WT513	Wieringermeer	gangbaar	Bercy	voor 1998
WT514	Wieringermeer	geïntegreerd	Residence	1998
WT521	West-Groningen	gangbaar	Vivant	voor 1998
WT522	West-Groningen	geïntegreerd	Bercy	voor 1998
WT523	West-Groningen	gangbaar	Ritmo	voor 1998
WT531	Oost-Groningen	geïntegreerd	Vivant	1998
WT532	Oost-Groningen	gangbaar	Residence	voor 1998
WT533	Oost-Groningen	gangbaar	Vivant	1998
WT534	Oost-Groningen	geïntegreerd	Ritmo	1998
WT535	Oost-Groningen	gangbaar	Residence	voor 1998
ZUIDWESTELIJKE ZEEKLEI (ZWK)				
WT211	Zeeuws Vlaanderen	geïntegreerd	Vivant	voor 1998
WT212	Zeeuws Vlaanderen	gangbaar	Ritmo	voor 1998
WT213	Zeeuws Vlaanderen	gangbaar	Residence	voor 1998
WT221	Zeeuwse Eilanden	gangbaar	Ritmo	voor 1998
WT222	Zeeuwse Eilanden	gangbaar	Residence	voor 1998
WT231	Hoekse Waard	gangbaar	Bercy	voor 1998
WT232	Hoekse Waard	gangbaar	Residence	voor 1998
WT233	Hoekse Waard	geïntegreerd	Vivant	1998
WT234	Hoekse Waard	geïntegreerd	Vivant	voor 1998
NOORDOOST NEDERLAND (NON)				
WT303	Drenthe	gangbaar	Tower	onbekend
WT304	Drenthe	geïntegreerd	Tower	voor 1998
ZUIDOOST NEDERLAND (ZON)				
WT111	Zuid-Limburg	geïntegreerd	Vivant	voor 1998
WT112	Zuid-Limburg	geïntegreerd	Vivant	voor 1998
WT121	Achterhoek	gangbaar	Ritmo	voor 1998
WT131	Betuwe	gangbaar	Vivant	voor 1998
WT132	Betuwe	gangbaar	Vivant	1998
EXTRA PERCEEL				
WT223	Zeeuwse Eilanden	ecologisch	mengsel	voor 1998

Bijlage IV.

Gegevens van de in 2000 op ziekten en plagen geïnventariseerde tarwepercelen

Code	Sub-regio	Bedrijfsstelsysteem	Tarweras	Vorige teelt wintertarwe
CENTRALE ZEEKLEI (CZK)				
WT411	Zuid-Flevoland	ecologisch	Renan	voor 1999
WT412	Zuid-Flevoland	ecologisch	Renan	voor 1999
WT413	Zuid-Flevoland	geïntegreerd	Vivant	voor 1999
WT414	Zuid-Flevoland	gangbaar	Residence	voor 1999
WT421	Oost-Flevoland	geïntegreerd	Vivant	voor 1999
WT422	Oost-Flevoland	geïntegreerd	Residence	voor 1999
WT423	Oost-Flevoland	gangbaar	Drifter	voor 1999
WT431	Noordoostpolder	geïntegreerd	Vivant	voor 1999
WT432	Noordoostpolder	geïntegreerd	Vivant	voor 1999
WT433	Noordoostpolder	geïntegreerd	Residence	voor 1999
NOORDELIJKE ZEEKLEI (NZK)				
WT511	Wieringermeer	geïntegreerd	Drifter	voor 1999
WT512	Wieringermeer	gangbaar	Residence	voor 1999
WT513	Wieringermeer	geïntegreerd	Vivant	voor 1999
WT521	West-Groningen	gangbaar	Ritmo	voor 1999
WT522	West-Groningen	gangbaar	Vivant	voor 1999
WT523	West-Groningen	geïntegreerd	Residence	voor 1999
WT531	Oost-Groningen	geïntegreerd	Residence	1999
WT532	Oost-Groningen	geïntegreerd	Drifter	voor 1999
WT533	Oost-Groningen	gangbaar	Vivant	voor 1999
WT534	Oost-Groningen	geïntegreerd	Vivant	voor 1999
ZUIDWESTELIJKE ZEEKLEI (ZWK)				
WT211	Zeeuws Vlaanderen	geïntegreerd	Vivant	voor 1999
WT212	Zeeuws Vlaanderen	gangbaar	Residence	voor 1999
WT221	Zeeuwse Eilanden	ecologisch	mengsel	voor 1999
WT 223	Zeeuwse Eilanden	geïntegreerd	Residence	voor 1999
WT 224	Zeeuwse Eilanden	gangbaar	Ritmo	voor 1999
WT231	Hoekse Waard	gangbaar	Drifter	voor 1999
WT232	Hoekse Waard	gangbaar	Residence	voor 1999
WT233	Hoekse Waard	geïntegreerd	Residence	voor 1999
WT234	Hoekse Waard	gangbaar	Residence	voor 1999
NOORDOOST NEDERLAND (NON)				
WT 301	Drenthe	geïntegreerd	Vivant	voor 1999
WT 302	Drenthe	geïntegreerd	Drifter	voor 1999
WT 303	Drenthe	gangbaar	Tower	voor 1999
ZUIDOOST NEDERLAND (ZON)				
WT111	Zuid-Limburg	geïntegreerd	Vivant	voor 1999
WT112	Zuid-Limburg	geïntegreerd	Vivant	voor 1999
WT 113	Zuid-Limburg	geïntegreerd	Vivant	voor 1999
WT 121	Achterhoek	gangbaar	Vivant	voor 1999
WT 122	Achterhoek	gangbaar	Ritmo	voor 1999
WT 123	Achterhoek	geïntegreerd	Tower	voor 1999
WT131	Betuwe	gangbaar	Ritmo	voor 1999
WT132	Betuwe	gangbaar	Vivant	voor 1999

Bijlage V.

Ontwikkeling van DTR bij de inoculatieproeven van november 1999 tot en met oktober 2000

In onderstaande tabellen staan de details van de in Tabel 3.5 samengevatte waarnemingen naar de op ontwikkeling van peritheciën van DTR op de in de loop van november 1999 tot en met oktober 2000 maandelijks naar buiten overgebrachte porties stro. De porties stro waren geïnoculeerd met monospore-isolaat 98122 (Inoculum: isolaat 98122), het mengsel van de in Tabel 3.3 vermelde DTR-isolaten (Inoculum: mengsel) of waren afkomstig van door DTR aangetaste praktijkpercelen van proefboerderij Ebelsheerd (Inoculum natuurlijk).

a. Ontwikkeling van de peritheciën van DTR op de strocultures van 30 november 1999.

Datum	Peritheciën (aantal/cm ²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Inoculum: isolaat 98122</i>					
23 maart 2000	21,4	86	14	0	0
18 mei 2000	13,5	8	92	0	0
12 april 2001	-	12	0	36	52
<i>Inoculum: mengsel</i>					
23 maart 2000	13,6	72	28	0	0
18 mei 2000	11,3	2	51	3	44
15 aug. 2000	5,0	80	0	0	20
12 april 2001	-	16	0	46	38
<i>Inoculum: natuurlijk</i>					
23 maart 2000	6,8	78	22	0	0
18 mei 2000	5,1	9	40	11	40
15 aug. 2000	4,1	10	0	0	90
12 april 2001	-	4	0	36	60

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak; bij het monster van april 2001 zijn geen perithecium-dichtheden bepaald.

² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.

b. Ontwikkeling van peritheciën van DTR op de strocultures van 31 december 1999.

Datum	Peritheciën (aantal/cm ²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Inoculum: isolaat 98122</i>					
23 maart 2000	26,4	94	6	0	0
18 mei 2000	35,6	52	48	0	0
12 april 2001	-	8	4	62	26
<i>Inoculum: mengsel</i>					
23 maart 2000	28,6	95	5	0	0
18 mei 2000	14,5	65	35	0	0
15 aug. 2000	6,2	96	0	0	4
12 april 2001	-	6	6	58	30
<i>Inoculum: natuurlijk</i>					
23 maart 2000	5,2	83	17	0	0
18 mei 2000	5,8	46	33	17	4
15 aug. 2000	4,2	11	0	0	89
12 april 2001	-	6	0	54	40

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak; bij het monster van april 2001 zijn geen perithecium-dichtheden bepaald.

² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.

c. Ontwikkeling van peritheciën van DTR op de strocultures van 28 januari 2000.

Datum	Peritheciën (aantal/cm ²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Inoculum: mengsel</i>					
18 mei 2000	24,2	74	26	0	0
15 aug. 2000	16,9	72	4	4	20
<i>Inoculum: natuurlijk</i>					
18 mei 2000	2,4	57	43	0	0
15 aug. 2000	3,1	84	0	12	4

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak.

² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.

d. Ontwikkeling van peritheciën van DTR op de strocultures van 29 februari 2000.

Datum	Peritheciën (aantal/cm ²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Inoculum: mengsel</i>					
18 mei 2000	24,3	100	0	0	0
15 aug. 2000	27,6	100	0	0	0
12 april 2001	-	4	0	54	42
<i>Inoculum: natuurlijk</i>					
18 mei 2000	2,8	84	16	0	0
15 aug. 2000	3,5	93	0	0	7
12 april 2001	-	10	0	56	34

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak; bij het monster van april 2001 zijn geen perithecium-dichtheden bepaald.

² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.

e. Ontwikkeling van peritheciën van DTR op de strocultures van 28 maart 2000.

Datum	Peritheciën (aantal/cm ²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Inoculum: mengsel</i>					
18 mei 2000	31,0	100	0	0	0
15 aug. 2000	27,4	100	0	0	0
<i>Inoculum: natuurlijk</i>					
18 mei 2000	3,5	100	0	0	0
15 aug. 2000	4,5	100	0	0	0

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak.

² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.

f. Ontwikkeling van peritheciën van DTR op de strocultures van 27 april 2000.

Datum	Peritheciën (aantal/cm ²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Inoculum: mengsel</i>					
18 mei 2000	7,0	100	0	0	0
15 aug. 2000	31,5	100	0	0	0
12 april 2001	-	0	2	80	18
<i>Inoculum: natuurlijk</i>					
18 mei 2000	0,8	100	0	0	0
15 aug. 2000	2,8	100	0	0	0
12 april 2001	-	6	2	64	28

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak; bij het monster van april 2001 zijn geen perithecium-dichtheden bepaald.

² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.

g. Ontwikkeling van peritheciën van DTR op de strocultures van 25 mei 2000.

Datum	Peritheciën (aantal/cm ²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Inoculum: mengsel</i>					
15 aug. 2000	40,5	100	0	0	0
<i>Inoculum: natuurlijk</i>					
15 aug. 2000	12,0	100	0	0	0

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak.² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.**h. Ontwikkeling van peritheciën van DTR op de strocultures van 20 juni 2000.**

Datum	Peritheciën (aantal/cm ²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Inoculum: mengsel</i>					
15 aug. 2000	29,9	100	0	0	0
12 april 2001	-	4	0	56	40
<i>Inoculum: natuurlijk</i>					
15 aug. 2000	7,0	100	0	0	0
12 april 2001	-	6	0	56	38

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak; bij het monster van april 2001 zijn geen perithecium-dichtheden bepaald.² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.**i. Ontwikkeling van peritheciën van DTR op de strocultures van 28 juli 2000.**

Datum	Peritheciën (aantal/cm ²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Inoculum: mengsel</i>					
15 aug. 2000	23,9	100	0	0	0
<i>Inoculum: natuurlijk</i>					
15 aug. 2000	0,9	100	0	0	0

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak.² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.

j. Ontwikkeling van peritheciën van DTR op de strocultures van 31 augustus 2000.

Datum	Peritheciën (aantal/cm ²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Inoculum: mengsel (op niet-geautoclaveerd stro)</i>					
12 april 2001	0,1	0	0	100	0
<i>Inoculum: mengsel (op geautoclaveerd stro)</i>					
12 april 2001	11,0	0	4	58	38
<i>Inoculum: natuurlijk</i>					
12 april 2001	-	0	4	74	22

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak; bij het monster van stro met een natuurlijk inoculum zijn geen perithecium-dichtheden bepaald

² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.

k. Ontwikkeling van peritheciën van DTR op de strocultures van 31 oktober 2000.

Datum	Peritheciën (aantal/cm ²) ¹	Ontwikkelingsstadium ²			
		Jong	Ascosporen jong	Ascosporen rijp	Oud
<i>Inoculum: mengsel (op niet-geautoclaveerd stro)</i>					
12 april 2001	0,1	17	0	83	0
<i>Inoculum: mengsel (op geautoclaveerd stro)</i>					
12 april 2001	15,0	0	0	64	36
<i>Inoculum: natuurlijk (oogst 1999)</i>					
12 april 2001	-	6	0	82	12
<i>Inoculum: natuurlijk (oogst 2000)</i>					
12 april 2001	-	0	0	67	33

¹ Aantal peritheciën per cm² stro-oppervlak; bij de monsters van stro met een natuurlijk inoculum zijn geen perithecium-dichtheden bepaald.

² Percentage peritheciën in het betreffende ontwikkelingsstadium.

Bijlage VI.

Kenmerken van de in vatbaarheids- en pathogeniteitsproeven gebruikte inocula

a. Kenmerken van de in de Experimenten 1 t/m 4 toegediende inocula.

Experiment	Datum ¹	Isolaat	Waardplant	Inoculumdichtheden ²		
				Cfu/ml	Fragmenten/cm ²	Deeltjesgrootte (mm ²)
<i>Vatbaarheidsproeven</i>						
Experiment 1	21-04-2000	Mengsel ³	Tarwe	4,7 x 10 ²	104	0,5
Experiment 2	10-05-2000	Mengsel	Tarwe	3,0 x 10 ²	92	0,8
Experiment 4	04-10-2000	Mengsel	Tarwe	3,4 x 10 ²	96	0,4
		WT112a	Kweek	8,2 x 10 ²	56	0,5
<i>Toetsing pathogeniteit en kruisinoculaties</i>						
Experiment 1	21-04-2000	MS99112	Tarwe cv Vivant	7,0 x 10 ²	64	0,7
		MS99167	Engels raaigras	1,2 x 10 ³	88	0,4
Experiment 2	10-05-2000	MS99112	Tarwe cv Vivant	3,1 x 10 ²	52	0,9
		MS99167	Engels raaigras	6,5 x 10 ²	68	0,7
Experiment 3	25-08-2000	MS99112	Tarwe cv Vivant	6,5 x 10 ²	92	0,6
		MS99167	Engels raaigras	7,2 x 10 ²	84	1,0
		WT112a	Kweek	8,0 x 10 ²	92	1,4
Experiment 4	04-10-2000	MS99112	Tarwe cv Vivant	8,0 x 10 ²	32	0,8
		MS99185	Tarwe cv Ritmo	7,2 x 10 ²	52	0,6
		MS99167	Engels raaigras	1,1 x 10 ³	64	0,6
		X5	Kweek	7,4 x 10 ²	68	0,4
		28-b2a	Kweek	7,4 x 10 ²	48	0,9
		WT112a	Kweek	8,2 x 10 ²	56	0,5

¹ Datum waarop planten geïnoculeerd zijn.

² Inoculumdichtheden; Cfu/ml: aantal kolonievormende eenheden per milliliter suspensie; Fragmenten/cm²: aantal myceliumdeeltjes per cm² bladoppervlak; Deeltjesgrootte: gemiddelde oppervlak in mm² van myceliumdeeltjes.

³ 1:1:1-mengsel van de isolaten MS98035, MS99175 en MS99185.

b. Kenmerken van de op 10-11-2000 in Experiment 5 toegediende inocula.

Isolaat	Oorspronkelijke Herkomst	Hergeïsoleerd uit	Inoculumdichtheden ¹		
			Cfu/ml ²	Fragmenten/cm ²	Deeltjesgrootte (mm ²)
MS99112	Tarwe cv Vivant	Tarwe	6,8 x 10 ²	80	0,2
		Engels raaigras	6,3 x 10 ²	88	0,4
		Kweek	6,8 x 10 ²	56	0,6
MS99167	Engels raaigras	Tarwe	—	64	0,3
		Engels raaigras	—	72	0,5
		Kweek	—	120	0,6
WT112a	Kweek	Tarwe	6,3 x 10 ²	60	0,6
		Engels raaigras	4,5 x 10 ³	76	0,3
		Kweek	7,2 x 10 ²	60	1,0

¹ Inoculumdichtheden; Cfu/ml: aantal kolonievormende eenheden per milliliter suspensie; Fragmenten/cm²: aantal myceliumdeeltjes per cm² bladoppervlak; Deeltjesgrootte: gemiddelde oppervlak in mm² van myceliumdeeltjes; —: niet bepaald.

Bijlage VII.

Proefveldgegevens veldproeven Ebelsheerd

EH812. *Algemene proefveldgegevens van veldproef EH812: Effect van grondbewerking op aantasting door DTR bij monocultuur van wintertarwe (seizoen 1998/1999).*

Voorvrucht	Wintertarwe
Hoofdgrondbewerking	object A geploegd: 4 september 1998 object B gecultiveerd: 23 september 1998 object C bevroren grond bewerkt met triltandcultivator: 11 januari 1999
Zaaibedbereiding	koeggen op: 11 januari 1999
Zaadatum/- hoeveelheid	11 januari 1999: 200 kg/ha
Ras	Florida
N-min 0 – 100 cm	object A: 28 kg/ha object B: 34 kg/ha object C: 42 kg/ha
Bemesting	8 maart 1999: 110 kg N/ha 24 maart 1999: aanvullen tot 150 kg N/ha 17 mei 1999: 60 kg N/ha
Onkruidbestrijding	26 maart 1999: 2,5 l/ha Isoproturon + 1,0 l/ha Puma 24 april 1999: 2,0 l/ha Verigal D + 0,5 l/ha Starane + 20 g /ha Ally
Groeiregulatie	29 april 1999: 1,0 l/ha CeCeCe 12 mei 1999: 0,8 l/ha CeCeCe
Ziektenbestrijding	6 mei 1999: 1,0 l/ha Opus Team 6 juni 1999: 1,0 l/ha Allegro
Plaagbestijding	6 juni 1999: 0,5 l/ha Dimethoat
Oogstdatum	4 augustus 1999

EH911. *Algemene proefveldgegevens van veldproef EH911: Effect van rij-afstand en vroege stikstofgift op aantasting door DTR (seizoen 1998/1999).*

Voorvrucht	Suikerbieten	
Hoofdgrondbewerking	2 en 3 december 1998: diep cultivateren over de vorst	
Zaaibedbereiding	3 december 1998:	kopeggen
Zaaidatum/- hoeveelheid	11 januari 1999:	200 kg/ha, over de vorst
Ras	Ritmo	
N-min 0 – 100 cm	12 kg N/ha	
Bemesting	24 maart 1999:	object N0: 50 kg N/ha object N1: 100 kg N/ha object N2: 150 kg N/ha
	17 mei 1999:	alle objecten 60 kg N/ha
	15 juni 1999:	alle objecten 30 kg N/ha
Rij-afstand	12,5 en 25 cm	
Onkruidbestrijding	26 maart 1999:	2,5 l/ha Isoproturon + 1 l/ha Puma
	23 april 1999:	2 l/ha Verigal D + 20 g /ha Ally
Groeiregulatie	7 mei 1999:	1,0 l/ha CeCeCe
	12 mei 1999:	0,8 l/ha CeCeCe
Ziektenbestrijding	31 mei 1999:	0,5 l/ha Alto (gele-roestbestrijding)
Oogstdatum	16 augustus 1999	

EH0009. *Algemene proefveldgegevens van veldproef EH0009: Effect van rij-afstand en vroege stikstofgift op aantasting door DTR (seizoen 1999/2000).*

Voorvrucht	Consumptieaardappelen	
Hoofdgrondbewerking	7 oktober 1999:	ploegen
	12 oktober 1999:	kopeggen
Zaaibedbereiding	18 oktober 1999:	kopeggen
Zaaidatum/- hoeveelheid	18 oktober 1999:	200 kg/ha
Ras	Ritmo	
N-min 0 – 100 cm	58 kg N/ha	
Bemesting	16 november 1999:	alle objecten 105 kg K ₂ O/ha
	21 februari 2000:	object N0: 0 kg N/ha object N1: 50 kg N/ha object N2: 100 kg N/ha
	4 mei 2000:	alle objecten 60 kg N/ha
	26 mei 2000:	alle objecten 30 kg N/ha
Rij-afstand	12,5 en 25 cm	
Onkruidbestrijding	8 april 2000:	0,25 l/ha Vega + 1,5 l /ha MCPP
Groeiregulatie	18 april 2000:	1,0 l/ha CeCeCe
Ziektenbestrijding	7 juni 2000:	0,6 l/ha Alto (gele-roestbestrijding)
Oogstdatum	21 augustus 2000	

EH912. *Algemene proefveldgegevens van veldproef EH912: Opbouw van inoculum op tarwestoppels en verspreiding van DTR (seizoen 1998/1999).*

Voorvrucht	Wintertarwe	
Hoofdgrondbewerking	augustus 1998:	ploegen, strook met stoppels onbewerkt
Zaaibedbereiding	oktober 1998:	rotterra
	november 1998:	kopeggen; strook met stoppels bewerkt met chissel plough
Zaaidatum/- hoeveelheid	december 1998:	200 kg/ha, over de vorst
Ras	Ritmo	
Zaaidatum suikerbiet	3 april 1999	
N-min 0 – 100 cm		13 kg N/ha
Bemesting	8 maart 1999:	140 kg N/ha
Onkruidbestrijding	16 maart 1999:	2,5 l/ha Isoproturon + 1 l/ha Puma; opslag op strook met stroresten doodgespoten met 3 l/ha Gramoxone
Groei regulatie	2 mei 1999:	0,8 l/ha CeCeCe
Ziektenbestrijding	31 mei 1999:	0,5 l/ha Alto
Oogstdatum	7 augustus 1999	

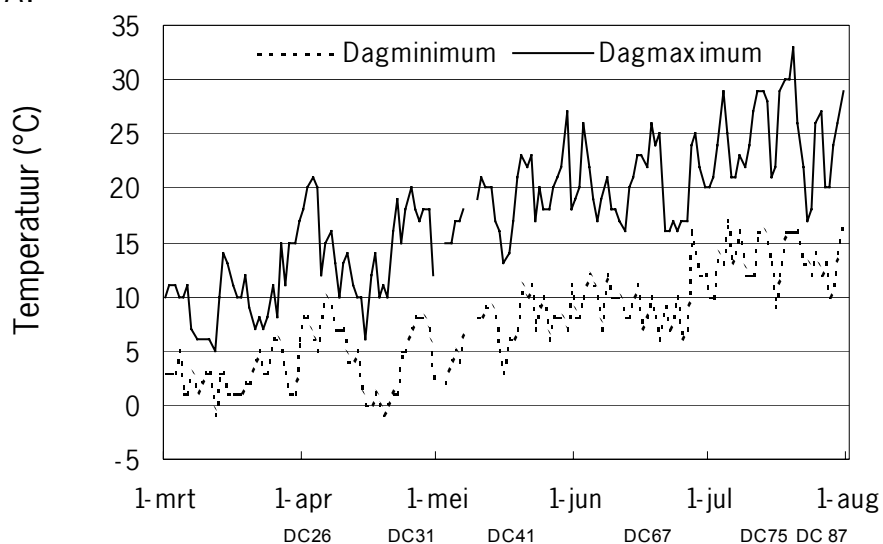
EH0010. *Algemene proefveldgegevens van veldproef EH0010: Opbouw van inoculum op tarwestoppels en verspreiding van DTR (seizoen 1999/2000).*

Voorvrucht	Wintergerst	
Hoofdgrondbewerking	30 augustus 1999:	3x cultivateren
Zaaibedbereiding	30 augustus 1999:	1x kopeggen
Zaaidatum/- hoeveelheid	19 oktober 1999:	200 kg/ha
	12 november 1999:	plekken met slechte opkomst door wateroverlast bijgezaaid met 200 kg/ha
Ras	Ritmo	
N-min 0 – 100 cm		50 kg N/ha
Bemesting	8 november 1999:	132 kg K ₂ O/ha
	25 januari 2000:	100 kg N/ha
	2 mei 2000:	60 kg N/ha
	26 mei 2000:	27 kg N/ha
Onkruidbestrijding	Strook met stoppels:	
	13 oktober 1999:	tarweopslag dood gespoten met 4,0 l/ha Reglone
	22 oktober 1999:	1,5 l/ha Focus Plus
	10 mei 2000:	5,0 l/ha Round Up
	Observatiegewas:	
	29 november 1999:	4,5 l/ha Isoproturon
	27 maart 2000:	0,2 l/ha Topik + 1 l/ha Liconol
	10 april 2000:	0,5 l/ha Starane
Groei regulatie	10 april 2000:	0,75 l/ha CeCeCe
	26 april 2000:	0,75 l/ha CeCeCe
Ziektenbestrijding	11 mei 2000:	1 l/ha Corbel (meeldauw)
	7 juni 2000:	0,6 l/ha Alto (gele roest)
Oogstdatum	17 augustus 2000	

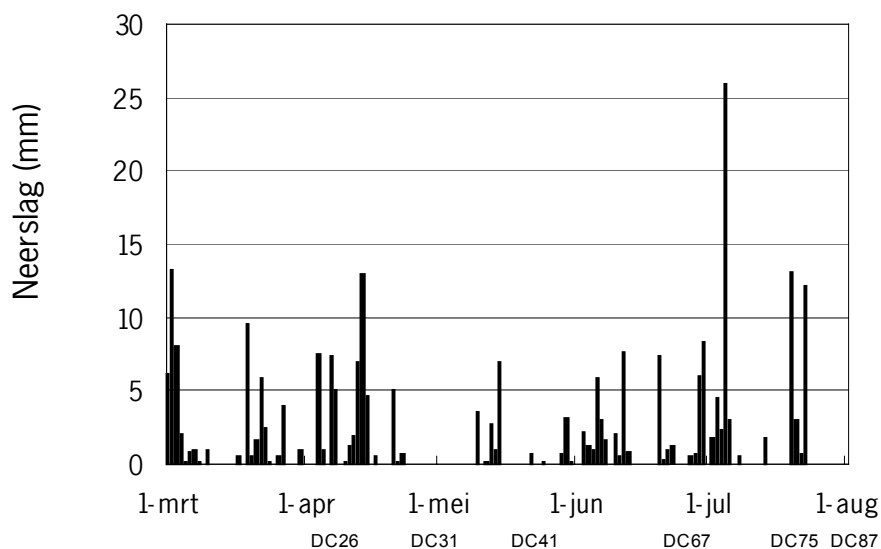
Bijlage VIII.

Temperatuur- en neerslaggegevens veldproeven Ebelsheerd

A.



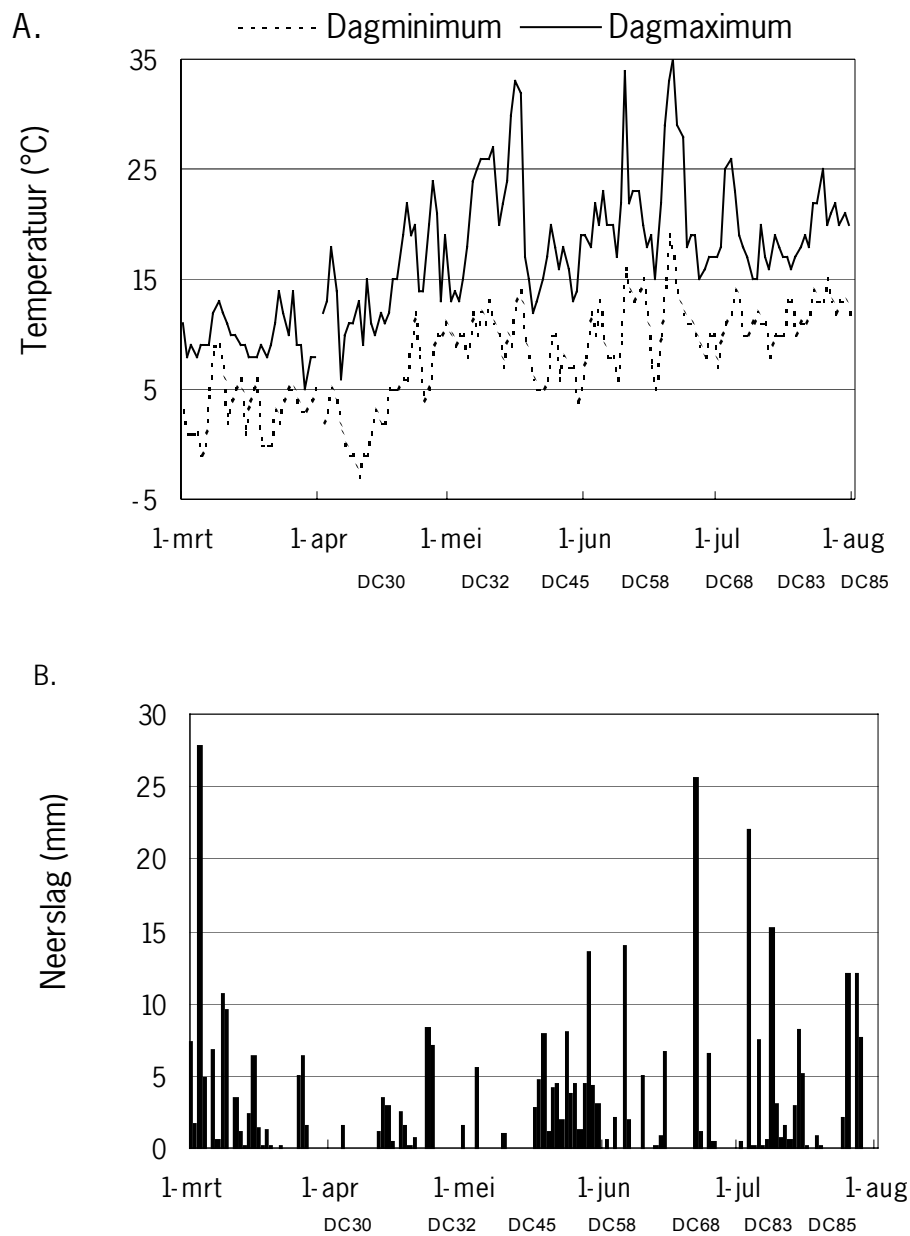
B.



Figuur VIII.1. De weersgesteldheid tijdens veldproef EH912: Opbouw van inoculum op tarwestoppels en verspreiding van DTR (seizoen 1998/1999).

A. De temperatuur tijdens de groei van het gewas in 1999.

B. De hoeveelheid neerslag tijdens de groei van het gewas in 1999.



Figuur VIII.2. De weersgesteldheid tijdens veldproef EH0010: Opbouw van inoculum op tarwestoppels en verspreiding van DTR (seizoen 1999/2000).

A. De temperatuur tijdens de groei van het gewas in 2000.

B. De hoeveelheid neerslag tijdens de groei van het gewas in 2000.

Bijlage IX.

Isolaten collectie Nederlandse *Pyrenophora tritici-repentis* isolaten

Pyrenophora tritici-repentis isolaat	Perceel nummer	Regio	Plaats	Ras
98001	526	NZ	Wehe den Horn	Vivant
98002	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98004	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98006	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98007	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98008	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98028	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98029	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98030	518	NZ	Middenmeer	Bercy
98034	540	NZ	Nieuw Beerta	Florida
98035	540	NZ	Nieuw Beerta	Florida
98035	540	NZ	Nieuw Beerta	Florida
98044	518	NZ	Middenmeer	Bercy
98045	518	NZ	Middenmeer	Bercy
98047	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98048	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98049	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98050	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98051	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98052	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98053	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98060		NZ	Hornhuizen	Tambor
98061	518	NZ	Middenmeer	Bercy
98062	518	NZ	Middenmeer	Bercy
98063		NZ	Hornhuizen	Tambor
98064		NZ	Hornhuizen	Tambor
98065	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98066	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98067		NZ	Huisman	Florida
98068	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98069	518	NZ	Middenmeer	Bercy
98070	518	NZ	Middenmeer	Bercy

Pyrenophora tritici-repentis isolaat	Perceel nummer	Regio	Plaats	Ras
98071	518	NZ	Middenmeer	Bercy
98072	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98073		NZ	Hornhuizen	Tambor
98074	518	NZ	Middenmeer	Bercy
98075	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98076	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98077	518	NZ	Middenmeer	Bercy
98078		NZ	Hornhuizen	Tambor
98079		NZ	Hornhuizen	Tambor
98080	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98081	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98082		NZ	Hornhuizen	Tambor
98084	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98085	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98087	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98088	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98089	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98090	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98091	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98095	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98096	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98097	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98104	456	CZ	Swifterbant	Vivant
98122		NZ	Hornhuizen	Tambor
99006	534	NZ	Ebelsheerd	Ritmo
99007	534	NZ	Ebelsheerd	Ritmo
99008	534	NZ	Ebelsheerd	Ritmo
99009	534	NZ	Ebelsheerd	Ritmo
99010	534	NZ	Ebelsheerd	Ritmo
99011	534	NZ	Ebelsheerd	Ritmo
99012	534	NZ	Ebelsheerd	Ritmo
99013		ZWK	Stampersgat	Residence

Pyrenophora tritici-repentis isolaat	Perceel nummer	Regio	Plaats	Ras
Pyrenophora tritici-repentis isolaat	Perceel nummer	Regio	Plaats	Ras
99014	ZWK	NZ	Stampersgat	Residence
99015	ZWK	NZ	Dinteloord	Vivant
99017	ZWK	NZ	Dinteloord	Vivant
99040	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99041	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99042	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99043	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99044	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99045	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99046	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99047	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99048	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99049	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99050	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99051	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99052	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99053	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99054	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99055	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99057	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99058	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99059	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99061	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99062	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99063	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99064	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99065	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99066	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99067	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99068	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99069	NZ	NZ	Ebelsheerd	Florida
99094	NZ	NZ	Ebelsheerd	Farandole
99095	NZ	NZ	Ebelsheerd	Farandole
99097	NZ	NZ	Ebelsheerd	Farandole
99098	NZ	NZ	Ebelsheerd	Farandole
99099	NZ	NZ	Ebelsheerd	Farandole
99100	NZ	NZ	Ebelsheerd	Farandole
99101	NZ	NZ	Ebelsheerd	Farandole
99102	NZ	NZ	Ebelsheerd	Farandole
99103	NZ	NZ	Ebelsheerd	Farandole
99104	NZ	NZ	Ebelsheerd	Farandole
99105	NZ	NZ	Ebelsheerd	Farandole
99106	ZON	ZON	Wageningen	Farandole
99109	NZ	NZ	Ebelsheerd	
99110	NZ	NZ	Ebelsheerd	Ritmo
99111	ZON	ZON	Wageningen	
99112	ZON	ZON	Voerendaal	Vivant
99113	ZON	ZON	Voerendaal	Vivant
99114	ZON	ZON	Voerendaal	Vivant
99115	ZON	ZON	Voerendaal	Vivant
99116	ZON	ZON	Voerendaal	Vivant
99118	ZON	ZON	Voerendaal	Vivant
99120	ZON	ZON	Voerendaal	Vivant
99121	ZON	ZON	Voerendaal	Vivant
99122	ZON	ZON	Voerendaal	Vivant
99123	ZON	ZON	Voerendaal	Vivant
99124	ZON	ZON	Voerendaal	Vivant
99125	ZON	ZON	Voerendaal	Vivant
G99167	ZON	ZON	Voerendaal	gras
99169	ZON	ZON	Achterhoek	Ritmo
99170	ZON	ZON	Achterhoek	Ritmo
99172	ZON	ZON	Betuwe	Vivant
99173	ZON	ZON	Betuwe	Vivant
99174	ZON	ZON	Betuwe	Vivant

Pyrenophora tritici-repentis isolaat	Perceel nummer	Regio	Plaats	Ras	Pyrenophora tritici-repentis isolaat	Perceel nummer	Regio	Plaats	Ras
99175	132	ZON	Betuwe	Vivant	99207	233	ZWK	Mookhoek	Vivant
99176	213	ZWK	Z-Vlaanderen	Residence	99208	234	ZWK	Mookhoek	Vivant
99177	212	ZWK	Z-Vlaanderen	Ritmo	99209	234	ZWK	Mookhoek	Vivant
99178	212	ZWK	Z-Vlaanderen	Ritmo	99277		NZ	O-Weerdh.	Vivant
99179	212	ZWK	Z-Vlaanderen	Ritmo	99278		NZ	O-Weerdh.	Vivant
99180	212	ZWK	Z-Vlaanderen	Ritmo	99279		NZ	O-Weerdh.	Vivant
99181	212	ZWK	Z-Vlaanderen	Ritmo	99280		NZ	O-Weerdh.	Vivant
99182	212	ZWK	Z-Vlaanderen	Ritmo	99281		NZ	O-Weerdh.	Vivant
99183	221	ZWK	Z-Beveland	Ritmo	99283		NZ	O-Weerdh.	Vivant
99184	221	ZWK	Z-Beveland	Ritmo	99284	411	CZ	Almere	Tambor
99185	221	ZWK	Z-Beveland	Ritmo	99286	413	CZ	Zeewolde	Vivant
99186	221	ZWK	Z-Beveland	Ritmo	99287	413	CZ	Zeewolde	Vivant
99187	221	ZWK	Z-Beveland	Ritmo	99288	413	CZ	Zeewolde	Vivant
99188	221	ZWK	Z-Beveland	Ritmo	99289	413	CZ	Zeewolde	Vivant
99189	222	ZWK	Z-Beveland	Residence	99290	413	CZ	Zeewolde	Vivant
99190	222	ZWK	Z-Beveland	Residence	99291	413	CZ	Zeewolde	Vivant
99191	222	ZWK	Z-Beveland	Residence	99293	422	CZ	Lelystad	Bercy
99192	222	ZWK	Z-Beveland	Residence	99297	423	CZ	Lelystad	Vivant
99193	231	ZWK	Hank	Bercy	99298	423	CZ	Lelystad	Vivant
99194	231	ZWK	Hank	Bercy	99298	423	CZ	Lelystad	Vivant
99195	231	ZWK	Hank	Bercy	99300	423	CZ	Lelystad	Vivant
99196	231	ZWK	Hank	Bercy	99301	424	CZ	Swifterbant	Vivant
99197	231	ZWK	Hank	Bercy	99302	424	CZ	Swifterbant	Vivant
99198	232	ZWK	Mookhoek	Residence	99303	424	CZ	Swifterbant	Vivant
99199	232	ZWK	Mookhoek	Residence	99304	424	CZ	Swifterbant	Vivant
99200	232	ZWK	Mookhoek	Residence	99305	424	CZ	Swifterbant	Vivant
99201	232	ZWK	Mookhoek	Residence	99307	424	CZ	Swifterbant	Vivant
99202	232	ZWK	Mookhoek	Residence	99308	424	CZ	Swifterbant	Vivant
99203	233	ZWK	Mookhoek	Vivant	99309	424	CZ	Swifterbant	Vivant
99204	233	ZWK	Mookhoek	Vivant	99310	425	CZ	Swifterbant	Residence
99205	233	ZWK	Mookhoek	Vivant	99311	431	CZ	Nagde	Vivant
99206	233	ZWK	Mookhoek	Vivant	99312	432	CZ	Nagde	Vivant

Pyrenophora tritici-repentis isolaat	Perceel nummer	Regio	Plaats	Ras
99313	433	CZ	Emmeloord	Vivant
99314	433	CZ	Emmeloord	Vivant
99316	433	CZ	Emmeloord	Vivant
99317	433	CZ	Emmeloord	Vivant
99318	522	NZ	Kloosterburen	Bercy
99320	523	NZ	Wehe den Horn	Rimo
99321	523	NZ	Wehe den Horn	Rimo
99322	531	NZ	Holwierde	Rimo
99323	531	NZ	Holwierde	Rimo
99325	533	NZ	Nieuwolda	Vivant
99327	533	NZ	Nieuwolda	Vivant
99328	533	NZ	Nieuwolda	Vivant
99329	533	NZ	Nieuwolda	Vivant
99454	EH 912	NZ	Ebelsheerd	Vivant
99455	EH 912	NZ	Ebelsheerd	Vivant
99456	EH 912	NZ	Ebelsheerd	Vivant
28b2a	534	NZ	Holwierde	Vivant
28b2b	534	NZ	Holwierde	Vivant
28C2a	EH 936	NZ	Ebelsheerd	Vivant
duist	EH 936	NZ	Ebelsheerd	Vivant
G28C2a	EH 936	NZ	Ebelsheerd	Vivant
T99185				
WT111a	111	ZON	Voerendaal	
WT111b	111	ZON	Voerendaal	
WT112a	112	ZON	Voerendaal	
WT112b	112	ZON	Voerendaal	
WT231a	231	ZWK	Hank	
X3a			Ebelsheerd	
X3b			Ebelsheerd	
X5			Ebelsheerd	

Bijlage X.

Pathogeniteitstoetsen Nederlandse *Pyrenophora tritici-repentis* isolaten

		Differentiërende rassen					
Nummer	P. tritici-repentis isolaat	Fysio	Erik	Coulter	6B365	Katepwa	Glenlea
1	lamari	1	NS	NS AND TS	C	NL	NL
2	WT231a	4	R	R	R	R	R
3	99277	1	NS and TS	NS	C	NS	NS
4	28b2a	1	TS	NS	C	NS	NS
5	WT111a	4	R	R	R	R	R
6	X5	4	R	R	R	R	R
7	99284	1?	TS	NS	C	NS	NS
8	G99167	4	R	R	R	R	R
9	99203	1?	TS	R	C	NS	NS
10	WT112a	1	TS	NL	C	NL	NL
11	99208	1?	R	NS	C	NS	NS
12	DUIST	4	R	R	R	R	R
13	X3a	4	R	R	R	R	R
14	99286	1	TS	NS	C	NS	NS
15	99310	1	NS AND TS	NS AND NL	C	NL	NL
16	99311	1 or new	NL AND TS	NL	C	NS	NL
17	99198	1	TS	NS	C	NL	NL
18	99322	1	TS	NS	C	NS	NS
19	99320	1	R	NS	C	NS	NS
20	99325	1	TS	NS	C	NL	NL
21	99176	1	TS	NS	C	NS AND NL	NL
22	99297	1	TS	NS	C and N on tip	NL	NL
23	99312	2	TS	NS	NS	NL AND NS	NL
24	99177	1	TS	NS	C	NL	NS
25	99109	1	TS	NS	C	NL	NS
26	99118	1	TS	NS	C	NL	NL
27	99172	1	TS	NS	C	NL	NL
28	99106	1	TS	NS	C	NL	NS
29	99006	1	TS	NS	C	NS	NL
30	99015	1	TS	NS	C	NL	NS
31	99040	1	TS	NS	C	NL	NS
32	99193	1	TS	NS	C	NL	NS AND TS
33	99183	1	TS	NS	C	NS	NS
34	99061	3	TS	NS	C	R	R AND NS
35	99189	1 or new	TS	NS	C AND NL	NL	NL AND NS
36	99175	1	TS	NS	C	NS	NL AND NS
37	99013	new ?	TS AND R	R	C	NS	NS
38	99313	1?	R	NS	C	NS	NS AND C
39	99454	1	TS	NS	C	NL	NL
40	99169	1?	R	NS	C	NS	NS
41	99301	1?	TS	NS	C	NS	NS
42	99112	2 or new	R AND TS	NS	NS	NS	NS
43	99293	new ?	TS	NS	NL	NL	NL
44	99318	1	TS	NS	C	NL AND NS	NS

¹ Waarnemingsschaal van Lamari; NL +) C en NL = necrosis large = 5; (NS +) NL en NS = necrosis small = 4; (TS +) NS en TS = tan spot spots = 3; TS en R = resistant = 2; R + TS en C = Chlorosis = 1; R en atypische reacties = 0.

