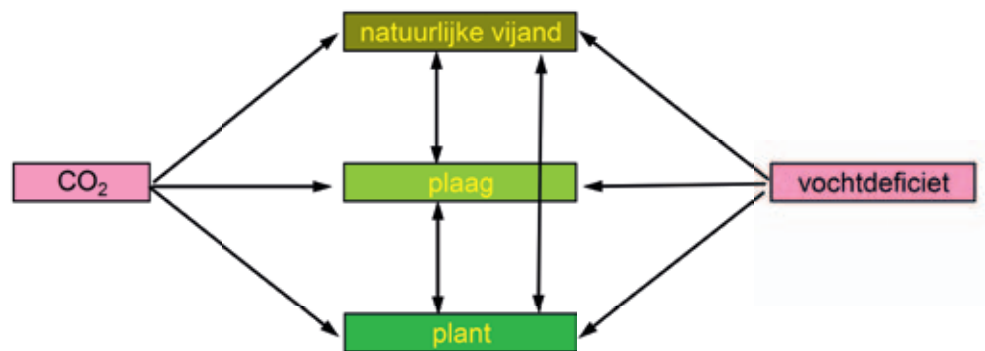




# Risicobeperking van ziekten en plagen bij energiezuinige maatregelen

Jantineke Hofland-Zijlstra, Gerben Messelink, Marc van Slooten, Eric de Groot en Luc Stevens<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Plant Research International, Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB Wageningen



## **Referaat**

Doel van het onderzoek was om in kaart te brengen wat de effecten zijn van veranderde klimaatfactoren (vochtdeficit en CO<sub>2</sub>) op de weerstand van de plant en het teeltsysteem. Hogere CO<sub>2</sub>-doseringen of vochniveaus hebben een sterke invloed op de plaagbestrijding. Deels door directe effecten op biologische bestrijders en deels door effecten op de plantkwaliteit. Per systeem van prooi-belager kan het echter verschillend zijn of dit een bevorderende of remmende invloed is. Het risico op infectie door ziekten die afhankelijk zijn van vocht voor hun ontwikkeling en verzwakte cellen neemt toe. Ook al kan het proces van infectie in eerste instantie geremd worden, eenmaal in de plant gaat de ontwikkeling sneller. Testen met jonge tomatenplanten in klimaatkasten geven aan dat groeiachtige planten die groeien bij hoge rv's (90%) de ontwikkeling van kaswittevlug bevorderen. De expressie van weerstandseiwitten lijken niet alleen beïnvloed te worden door luchtvochtigheid, maar vooral door lichtkwaliteit in het gebied van rood licht. Dit biedt interessante aanknopingspunten voor verder onderzoek naar de sturing van de plantweerstand met behulp van rood en verrood licht.

## **Abstract**

This study gives an overview on the impact of climatic conditions, *e.g.* moisture deficit and CO<sub>2</sub>, on the plant defense system in the greenhouse. Higher CO<sub>2</sub> dosages or increased moisture levels have a strong influence on the pest control. Partly, by direct effects on biological control agents and partly through effects on the plant quality. The outcome depends on the prey-predator system. The risk of diseases that are dependent on moisture for their development and weak plants increases. Even though the process of infection may initially be inhibited, in the plant the development goes faster. Tests with young tomato plants in climate chambers indicate that the development of white fly is enhanced on plants that grow at high RV's (90%). The expression of pathogen related enzymes seemed not only to be influenced by humidity, but especially through light quality.

© 2012 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)

Voor nadere informatie gelieve contact op te nemen met: DLO in het bijzonder onderzoeksinstituut Wageningen UR Glastuinbouw

DLO is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

## **Wageningen UR Glastuinbouw**

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk  
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk  
Tel. : 0317 - 48 56 06  
Fax : 010 - 522 51 93  
E-mail : [glastuinbouw@wur.nl](mailto:glastuinbouw@wur.nl)  
Internet : [www.glastuinbouw.wur.nl](http://www.glastuinbouw.wur.nl)

# Inhoudsopgave

	Samenvatting	5
1	Inleiding	7
	1.1 Probleemstelling	7
	1.2 Doelstellingen	8
	1.3 Plan van Aanpak	8
2	Literatuurstudie naar de directe en indirecte effecten van verhoogde CO <sub>2</sub> -niveaus en laag vochtdeficit op ziekten en plagen	11
	2.1 Inleiding	11
	2.2 Effecten van CO <sub>2</sub> en vocht op plagen	12
	2.2.1 Directe effecten van CO <sub>2</sub> op plagen	12
	2.2.2 Indirecte effecten van CO <sub>2</sub> op de plantkwaliteit	12
	2.2.3 Indirecte effecten van CO <sub>2</sub> op natuurlijke vijanden	12
	2.2.4 Directe effecten van vocht op plagen	12
	2.2.5 Indirecte effecten van vocht op natuurlijke vijanden of middelen	13
	2.2.6 Indirecte effecten van vocht op plantkwaliteit	13
	2.2.7 Conclusies plagen	13
	2.3 Effecten van CO <sub>2</sub> en vocht op ziekten	13
	2.3.1 Directe effecten van CO <sub>2</sub> op ziekten	13
	2.3.2 Indirecte effecten van CO <sub>2</sub> op ziekten via plantkwaliteit en kasklimaat	14
	2.3.3 Directe effecten van vocht op ziekten	17
	2.3.4 Indirecte effecten van vocht op ziekten door invloed op plantkwaliteit	18
	2.3.5 Conclusies ziekten	18
	2.4 Conclusies ziekten en plagen	19
3	Effect van vocht op de plantweerstand tegen ziekten en plagen (klimaatkastproef)	21
	3.1 Doel van de proef	21
	3.2 Materiaal en methoden	21
	3.3 Resultaten	24
	3.3.1 Algemene gewasmetingen (vers gewichten, bladopp., C:N ratio, huidmondjes, SPAD)	24
	3.3.2 3.3.2 Metingen aan de enzymactiviteit van de weerstandseiwitten chitinase en glucanase	26
	3.3.3 Keuzeproef met kaswittevlies	28
	3.4 Conclusies	29
	Literatuur	31



# Samenvatting

Doel van het onderzoek was om in kaart te brengen wat de effecten zijn van veranderde klimaatfactoren (vochtdeficit en CO<sub>2</sub>) op de weerstand van de plant en het teeltsysteem. En om een bijdrage te leveren aan een betrouwbare risicoschatting voor de ontwikkeling van ziekten en plagen in tomaat in diverse nieuwe teeltstrategieën. Uit de kennisinventarisatie komt naar voren dat hogere CO<sub>2</sub>-doseringen of hogere vochniveaus sterk van invloed kunnen zijn op de plaagbestrijding. Deels door directe effecten op biologische bestrijders en deels door effecten op de plantkwaliteit. Per systeem van prooi-belager kan het echter verschillend zijn of dit een bevorderende of remmende invloed is. Bij telen onder hogere CO<sub>2</sub>-doseringen neemt het risico op infectie door ziekten die afhankelijk zijn van vocht voor hun ontwikkeling en verzwakte cellen toe. Ook al kan het proces van infectie in eerste instantie geremd worden, eenmaal in de plant gaat de ontwikkeling sneller. Kritische factoren hierin zijn: toename C:N ratio, lagere verdamping, lagere concentraties voedingsstoffen (Si, Ca) en aanwezige huidmondjes. Meer vocht in het klimaat stimuleert direct de groei en ontwikkeling van ziekten. Daarnaast zal bij hogere vochniveaus de verdamping geremd worden en meer risico geven voor infectie. In de praktijk zal in een teeltsysteem vaak sprake zijn van gecombineerde effecten van verhoogde CO<sub>2</sub> doseringen en vochniveaus, maar in de literatuur is weinig bekend wat hiervan de invloed is op het afweersysteem. Daarnaast is het de vraag wat het adaptieve vermogen is van het afweersysteem van verschillende cultivars op teeltcondities met hogere CO<sub>2</sub> doseringen en vocht. In oriënterende testen met jonge tomatenplanten in klimaatkasten is gekeken naar de invloed van verschillende vochtregimes op de weerstand tegen ziekten en plagen. Planten geteeld bij een lagere luchtvochtigheid (70%) waren over het algemeen meer gedrongen dan planten geteeld bij een hogere luchtvochtigheid (90%). Dit resulteerde in een kleiner bladoppervlakte en een hogere bladbeharingdichtheid. Volwassen kaswittevliegen lijken een voorkeur te hebben voor tomatenplanten met minder bladbeharing ten opzichte van planten met een veel bladbeharing (inclusief klierharen). De ontwikkelingssnelheid van kaswittevlieg (percentage witte vlieg poppen 3 weken na eileg) was positief gecorreleerd met het bladoppervlakte van tomatenplanten. Het lijkt er op dat groeiachtige planten goed zijn voor de ontwikkeling van kaswittevlieg. De expressie van weerstandseiwitten lijken niet alleen door luchtvochtigheid maar vooral door lichtkwaliteit beïnvloed te worden in met name het gebied van rood licht. Dit biedt interessante aanknopingspunten voor verder onderzoek naar de sturing van de plantweerstand met behulp van rood en verrood licht.



# 1 Inleiding

## 1.1 Probleemstelling

Uit de praktijk blijkt dat acceptatie van nieuwe concepten rondom energiezuinig telen door telers mede afhankelijk is van een betrouwbare risicoschatting van ziekteproblemen. Op voorhand inschatten hoe groot het risico van een nieuwe teeltwijze is op de aanwezigheid van ziekten en plagen is niet altijd eenvoudig, omdat dit vaak van meerdere factoren afhangt. De belangrijkste factoren zijn:

- omgevingsfactoren in de kas en in het wortelmilieu (licht, temperatuur, relatieve vochtigheid, CO<sub>2</sub>)
- gewas (genetische achtergrond en conditie/weerstand van het gewas)
- aanwezigheid van ziekte of plaag en overschrijding van schadelijke hoeveelheden
- aanwezigheid van voldoende natuurlijke plaagbestrijders
- tijdstip en tijdsduur van bevorderlijk condities voor ziekte of plaag.

Het meten van omgevingsfactoren (vocht, temp en CO<sub>2</sub>) wordt al vrij nauwkeurig gedaan zelfs op verschillende gewashoogtes. Ook de aanwezigheid van een ziekte (sporendruk) of plaag is redelijk goed te bepalen. Echter over de interactie tussen veranderende omgevingsfactoren op de algemene weerstand van het gewas tegen stresscondities is veel minder bekend. Toch zijn veranderingen aan het immuunsysteem van de plant wel goed te bepalen door ondermeer metingen aan salicylzuur, jasmonzuur, ethyleen en proanthocyaan-gehalten (mate van roodverkleuring). Van een aantal ziekteverwekkers zijn zelfs specifieke eiwitten (pathogen-related proteins) te bepalen die bij een geslaagde infectie toenemen. Hoe de weerstand in verschillende tuinbouwgewassen, zoals tomaat, komkommer en paprika reageert of te beïnvloeden is, is niet altijd bekend vanuit de literatuur. Veel onderzoek heeft plaatsgevonden aan de snelgroeiende zandraket (*Arabidopsis thaliana*), maar de biochemische reacties kunnen per gewas sterk verschillend zijn.

Een aantal energiebesparende maatregelen kunnen het risico op ziekten en plagen verhogen. Een voorbeeld is telen bij een vochtiger klimaat (bijv. in een semi-gesloten kas). Daarnaast zijn er met de WKK's ontwikkelingen om onder zeer hoge CO<sub>2</sub>-concentraties te telen. Hier tegenover staat de behoefte vanuit de overheid om het gebruik van fossiele brandstof te beperken en het CO<sub>2</sub>-niveau in een kas weer terug te dringen. Maar wat zijn de risico's van hoge vochniveaus en verschillende CO<sub>2</sub>-concentraties voor de weerstand van de plant? Wat zijn kritische waarden voor het goed functioneren van natuurlijke vijanden van witte vlieg? En wat zijn de minimumniveaus/kritische grenzen voor een optimale productie met behoud van productkwaliteit en een gezond gewas?

De praktijk is dat veel telers de kritische grenzen niet precies weten. Afgelopen seizoen hebben bijvoorbeeld opnieuw veel tomatentelers problemen gekregen met stengelaantasting door Botrytis, door op verkeerde tijdstippen te weinig energie te gebruiken waardoor te vochtige teeltomstandigheden ontstonden. Deze problemen slepen zich vervolgens een hele teelt voort om vervolgens onder gunstige omstandigheden in het najaar weer de kop op te steken. Naast productie- en kwaliteitsverlies is een bijkomend probleem dat er ter bestrijding van de problemen extra chemische middelen worden ingezet. Verder is de ervaring dat biologische bestrijding van witte vlieg in de periode winter-voorjaar zeer moeizaam gaat. Ook hier is er het vermoeden dat energiezuinige maatregelen (laag vochtdeficit en hoge CO<sub>2</sub>-waardes) een sterk effect hebben op de ontwikkeling en biologische bestrijding van witte vlieg. Een nieuw teeltconcept voor energiezuinig telen is alleen geslaagd als bij implementatie duidelijk is wat de risico's zijn op ziekten en plagen en hoe met teeltmaatregelen de risico's beperkt kunnen worden. Daarmee wordt voorkomen dat ziekten en plagen de invoering van energiezuinige maatregelen in de weg staan, of anderzijds, het gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen doet toenemen.

In dit voorstel willen we nauwkeuriger de risico's van nieuwe teeltstrategieën voor de weerstand van de plant en het teeltsysteem bepalen. Voor diverse combinaties van klimaatfactoren als relatieve vochtigheid en temperatuur (vochtdeficit) en CO<sub>2</sub> kan het effect op de plantweerstand worden bepaald en daarmee de effecten op de gevoeligheid van het gewas voor ziekten en plagen. Als modelgewas ligt de focus op tomaat met als belangrijkste ziekte Botrytis en als plaag witte vlieg. De verwachting is dat als deze kennis geïntegreerd wordt in nieuwe teeltstrategieën ziekten en plagen op een energiezuinigere én milieubesparende manier beter onder de knie zijn te houden.

## 1.2 Doelstellingen

### Technische doelstellingen

- Effecten bepalen van de veranderende klimaatsfactoren van het nieuwe (vochtige) telen op de weerstand van de plant en het teeltsysteem en daarmee een betrouwbare risicoschatting voor de ontwikkeling van ziekten en plagen in tomaat in diverse nieuwe teeltstrategieën.

### Energiedoelstellingen

- Betere implementatie van energiebesparende teeltmaatregelen door beperking van klimaatgerelateerde risico's op ziekten en plagen
- In kaart brengen van de effecten van veranderde klimaatsfactoren (vochtdeficit, CO<sub>2</sub>) op de weerstand van de plant en het teeltsysteem en daarmee het risico op de ontwikkeling van ziekten en plagen in tomaat.
- Minder energiekosten en beperking fossiele brandstof door betere bepaling van kritische grenzen en omslagpunten voor plagen en ziekten. Hierdoor kan scherp op de grens geteeld worden, zonder verlies van productie of planten.
- Bijdrage aan reductie van CO<sub>2</sub>-gebruik. Door te testen wat de effecten van verschillende lagere CO<sub>2</sub>-concentraties zijn op de ontwikkeling van witte vlieg en Botrytis kan binnen minimale kritische grenswaarden geteeld worden.
- Verhoging van productie door beperking van verliezen door ziekten en plagen.

### Nevendoelstellingen

- Bewustwording verhogen van de noodzaak om te telen met inzet van zo weinig mogelijk chemische bestrijdingsmiddelen.
- Inzicht in de interactie tussen geïnduceerde resistentie tegen witte vlieg en Botrytis.

## 1.3 Plan van Aanpak

Als modelgewas is gekozen voor tomaat, omdat uit de literatuur al enige informatie bekend is over de reacties van verschillende stoffen in het immuunsysteem. Daarnaast is gekozen om te werken met Botrytis en witte vlieg.

### Samenhang met andere projecten

Dit project staat niet op zichzelf, maar heeft gebruik gemaakt van kennis die is en wordt ontwikkeld in andere projecten (oa. Project KB4 – Duurzame gewasbescherming, BO project Fysische inductie van plantweerstand tegen meeldauwbestrijding). In de zomerperiode is een proef met jonge tomatenplanten uitgevoerd waarin onderzocht is in hoeverre tomatenplanten geprimed konden worden met een bekende synthetische signaalstof die weerstand verhogend werkt (2,6-dichloroisonicotinezuur, afgekort INA). Door planten in de opweefase te behandelen met INA werd de plantweerstand geïnduceerd, zodanig dat ze bij een infectie met echte meeldauw een hogere respons van PR eiwitten lieten zien dan niet behandelde planten. Bovendien waren de INA behandelde planten minder gevoelig voor meeldauwaantasting. Voorheen werd vooral gemeten aan het PR eiwit chitinase, maar in de zomer is ook de bepaling van een tweede PR-eiwit, glucanase geoptimaliseerd. In de wintermaanden zijn proeven rozenplanten uitgevoerd om te onderzoeken of inductie van plantweerstand ook mogelijk is door behandeling met rood licht. Voor het meten van PR-eiwitten wordt samengewerkt met Luc Stevens van PRI die projectleider is voor het BO project.

### **Fase 1. Invloed van vochtdeficit op de plantweerstand (goedgekeurd)**

#### Literatuurstudie

In deze fase zal voor het gewas tomaat een overzicht gemaakt worden over wat bekend is in de literatuur over kritische vochtdeficits en CO<sub>2</sub>-waardes en de combinatie van lage vochtdeficits en lage CO<sub>2</sub> waardes. Tevens zal er gezocht worden naar artikelen waarin relaties beschreven worden tussen effecten van CO<sub>2</sub> waardes op plantprocessen (bijv. op anthocyaan gehalten) en de invloed hiervan op de gevoeligheid voor ziekten, plagen en natuurlijke vijanden.



### Proeven in klimaatkasten

In Bleiswijk is in vier klimaatkasten getoetst wat het effect is van verschillende vochtregimes (RV 70 en 90%) is op de gehalten van weerstandsstoffen in bladeren van tomaat tegen botrytis en witte vlieg. Naar aanleiding van de uitkomsten van de literatuurstudie zijn metingen verricht aan: kwantificatie van PR-eiwitten (glucanase- en chitinase-activiteit), dichtheid van huidmondjes, CO<sub>2</sub>-meting, C:N ratio, chlorofylmeting, bladoppervlakte totale plant, bladbehang.

### Inoculatieproeven

Via inoculatieproeven zal de ontwikkeling van Botrytis en witte vlieg gevolgd worden op een aantal daarvoor geselecteerde planten. Het doel hiervan is na te gaan of een verhoogde aanwezigheid van immuunstoffen ook zorgt voor een remming van de infectiekans of populatiegroei. Inoculatie zal plaatsvinden op bladniveau, zodat in een kas zowel de ontwikkeling van Botrytis als witte vlieg is te volgen.

### **GO/NO GO**

Als er tussen de behandelingen geen duidelijke meetbare verschillen in de weerstand zijn te vinden dan is er weinig reden om door te gaan met fase 2.

### **Fase 2. Invloed van vochtdeficit en CO<sub>2</sub> op de plantweerstand (nog te honoreren)**

In Bleiswijk zijn kassen beschikbaar waar verschillende CO<sub>2</sub> en vochtregimes in te stellen zijn. Twee kritische niveaus van vochtdeficit zullen met twee verschillende CO<sub>2</sub>-niveaus getest worden in 4 kassen. Dit zal achtereenvolgens plaatsvinden in 3 korte teelten (8 wkn), om drie herhalingen in de tijd te krijgen. Hierbij zullen wekelijks metingen verricht worden op de gehalten van weerstandsstoffen in bladeren.

### Inoculatieproeven

Via inoculatieproeven zal de ontwikkeling van Botrytis en witte vlieg gevolgd worden op een aantal daarvoor geselecteerde planten. Het doel hiervan is na te gaan of een verhoogde aanwezigheid van immuunstoffen ook zorgt voor een remming van de infectiekans of populatiegroei. In afzonderlijke observatie arena's worden de grenswaarden van CO<sub>2</sub> niveaus voor het functioneren van *Encarsia formosa* en *Macrolophus caliginosus* (natuurlijke vijanden van witte vlieg) beoordeeld.



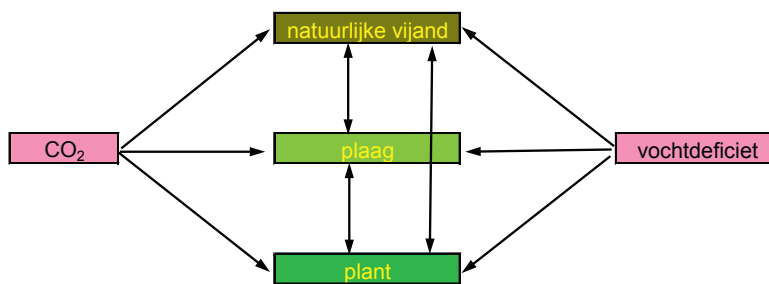
## 2 Literatuurstudie naar de directe en indirecte effecten van verhoogde CO<sub>2</sub>-niveaus en laag vochtdeficit op ziekten en plagen

### 2.1 Inleiding

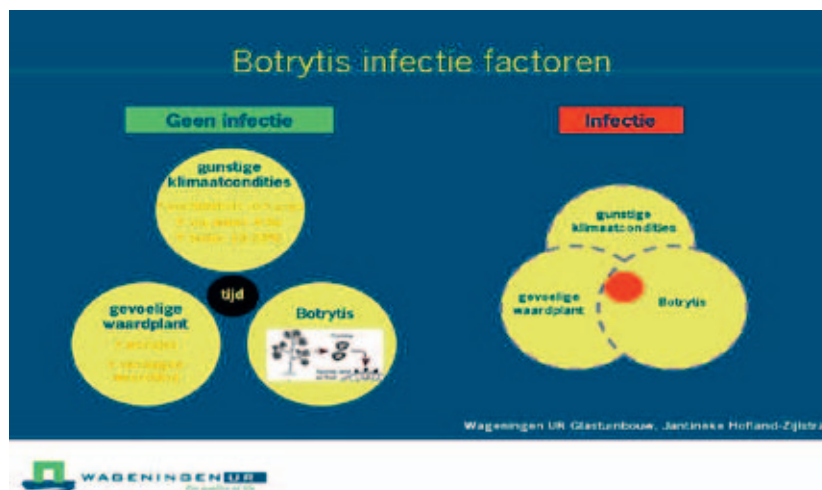
Op moderne glastuinbouwbedrijven ontstaan steeds meer technieken die het mogelijk maken het kasklimaat volledig naar wens in te richten (Bakker, 2008) Veel van deze technieken worden ingezet om besparingen in energiekosten te realiseren. In deze studie kijken we naar de directe en indirecte effecten van CO<sub>2</sub> en relatief hoge luchtvochtigheden op plagen en ziekten in kassen.

Klimaatfactoren kunnen direct effect hebben op het gedrag of ontwikkeling van plagen, maar ook indirect via de plant of via de natuurlijke vijanden van deze plagen (Figuur 2.1.). Voor de ontwikkeling van ziekten is dit ook van toepassing, maar zijn er ook andere factoren die van invloed zijn (Figuur 2.2.).

In deze literatuurstudie hebben we gekeken welke mechanismen ten grondslag liggen aan zowel deze indirecte als directe effecten van CO<sub>2</sub> en vocht op ziekten en plagen.



Figuur 2.1. Effecten van klimaatfactoren op de tritrofe interacties tussen plant, plaag en natuurlijke vijand.



Figuur 2.2. Factoren die van invloed zijn op de ziekteontwikkeling van Botrytis.

## 2.2 Effecten van CO<sub>2</sub> en vocht op plagen

### 2.2.1 Directe effecten van CO<sub>2</sub> op plagen

Zuivere CO<sub>2</sub> wordt vaak gebruikt voor het verdoven of doden van insecten en wordt bijvoorbeeld ingezet bij CA-behandelingen (Controlled Atmosphere) in bewaarruimten. Het is niet bekend of de CO<sub>2</sub>-doseringen die in kassen worden gebruikt ook directe effecten hebben op het gedrag van de plaagorganismen, maar de doseringen zijn in ieder geval veel lager dan doseringen waarbij verdoving optreedt. De effecten die bekend zijn, zijn indirect via de plant of via de natuurlijke vijanden van de plagen.

### 2.2.2 Indirecte effecten van CO<sub>2</sub> op de plantkwaliteit

Verhoogde CO<sub>2</sub>-concentraties in kassen kunnen indirect plagen beïnvloeden door een verandering van plantkwaliteit. Meer CO<sub>2</sub> betekent een hogere C:N-ratio in het plantmateriaal en daardoor een lagere voedingswaarde voor veel insecten, wat zich uit in een tragere ontwikkeling, meer sterfte onder juvenielen of een lagere eileg (Whittaker, 1999). Daarnaast kunnen verhoogde CO<sub>2</sub>-concentraties het profiel van secundaire metabolieten in de plant veranderen, bijvoorbeeld door extra aanmaak van de koolstof-afhankelijke terpenen, fenolen of flavonoiden. Opvallend genoeg blijkt dat bij veel plantensoorten vooral de flavonoiden bij verhoogde CO<sub>2</sub>-concentraties worden aangemaakt (Bidart-Bouzat & Imeh-Nathaniel, 2008). De aanmaak van deze secundaire metabolieten kunnen plantetende plaagorganismen remmen hun ontwikkeling remmen (Lambers, 1993; Awmack & Leather, 2002). Plaagorganismen reageren echter verschillend op deze plantveranderingen (Whittaker, 1999). Het negatieve effect op plaagorganismen wordt vooral gevonden bij de bladeters (bijv. spint, trips, rupsen) en bladmineerders (mineervlieg, *Tuta absoluta*), hoewel soms wordt gevonden dat deze plagen de lagere voedingswaarde van planten die zijn blootgesteld aan verhoogde CO<sub>2</sub>-concentraties compenseren door meer plantmateriaal te vreten (Bezemer & Jones, 1998). Alleen bij bladluizen (floëemzuigers) is duidelijk aangetoond dat de hogere CO<sub>2</sub>-niveaus kunnen leiden tot een sterkere ontwikkeling (Awmack *et al.* 1997, Whittaker, 1999). Bij wittevliegen, die zich ook met floëemsappen voeden, werd echter weer gevonden dat hoge doseringen van meer dan 1000 ppm CO<sub>2</sub> op tomaat een duidelijke remming geven in de populatiegroei van kaswittevlieg (Tripp *et al.* 1992).

### 2.2.3 Indirecte effecten van CO<sub>2</sub> op natuurlijke vijanden

Het effect van een lagere plantkwaliteit bij hogere CO<sub>2</sub>-niveaus heeft via de planteneters ook weer effect op de natuurlijke vijanden die zich voeden met deze planteneters. Voor sluipwespen kan gelden dat hun gastheren (de plaagorganismen) van lagere kwaliteit zijn op planten die bij verhoogde CO<sub>2</sub>-concentraties zijn gegroeid. Vaak zijn de plaagorganismen kleiner, waardoor er ook meer sterfte is onder de sluipwespen die deze plaagorganismen parasiteren (Whittaker, 1999). Bij predatoren van bladluis is aangetoond dat ze minder bladluis eten en er meer sterfte is, wanneer deze bladluizen zijn opgekweekt bij verhoogde CO<sub>2</sub>-concentraties (Chen *et al.* 2005; Feng *et al.* 2010). Metingen lieten zien dat verhoogde CO<sub>2</sub>-concentraties resulteerden in hogere C:N-ratios in de planten, met als gevolg een lager percentage oplosbare eiwitten en vetzuren in de bladluizen. Bij omnivoren (predatoren die zich met zowel plagen als planten voeden, zoals bijvoorbeeld *Macrolophus caliginosus*) is aangetoond dat ze de lagere voedingswaarde van plagen bij hoge CO<sub>2</sub>-concentraties kunnen compenseren met plantenvoeding (Coll & Hughes, 2007). Verder is gesuggereerd dat voor veel generalistische predatoren geldt dat hun effect op plagen sterker is wanneer deze afkomstig zijn van planten met verhoogde CO<sub>2</sub>-concentraties, door de verlenging van de vatbare levensstadia van deze plagen (Coll & Hughes, 2007). De CO<sub>2</sub>-effecten op natuurlijke vijanden werken dus vooral door via de voedselketen en, voor zover bekend, niet door directe effecten op de natuurlijke vijanden. Afhankelijk van het type natuurlijke vijand kan dit effect dus verschillend uitpakken.

### 2.2.4 Directe effecten van vocht op plagen

Veel studies die kijken naar effecten van klimaatfactoren op plaagorganismen beperken zich tot het meten van temperatuureffecten op de ontwikkelingsparameters van deze plagen. De beperkte studies die ook kijken naar de effecten van vochtdeficiet, laten zien dat pas bij zeer hoge waarden van vochtdeficiet (>1.5 kPa) plagen als trips geremd worden door sterfte onder jonge stadia (Shipp & Gillespie, 1992). Over het algemeen zal gelden dat hogere luchtvochtigheden

gunstiger zijn voor plagen dan extreem lage waarden. Alleen voor de plaag spint, *Tetranychys urticae*, is dit omgekeerd. Daar ontwikkelt de spint zich juist slechter bij hoge vochtigheid (Dusco *et al.* 2004). De ervaring van veel telers is dan ook dat spint vaak een harnekkige plaag is bij droge oostenwind. Waarschijnlijk is spint beter beschermd tegen lage luchtvochtigheden doordat ze zich omhullen met spinsel. Over het algemeen verwachten we géén grote directe effecten van vochtdeficiet op plagen, met uitzondering van spint.

## 2.2.5 Indirecte effecten van vocht op natuurlijke vijanden of middelen

Het is bekend dat veel entomopathogene schimmels beter in staat zijn om plagen zoals wittevlieg en bladluizen te infecteren bij hogere luchtvochtigheden (review Jaronski, 2010). Net als bij plagen, zijn er niet zoveel studies bekend die naar effecten van luchtvochtigheid op natuurlijke vijanden hebben gekeken. In een experiment met roofkevers tegen spint bleek RV géén significant effect te hebben (Rott & Ponsonby, 2000). Wanneer op het laboratorium het vochtdeficiet extreem hoog wordt, kunnen sommige predatoren daardoor beperkt worden in hun ontwikkeling. Bij bestrijders van bladluis werd een tragere ontwikkelingssnelheid gevonden wanneer het vochtdeficiet bij 26°C boven de 1.51 kPa uitkwam (Pappas *et al.* 2008). Bij roofmijten blijken vooral de jonge stadia (eieren, larven) zeer gevoelig te zijn voor hoge vochtdeficietwaarden (Shipp & van Houten, 1997; Walzer *et al.* 2007). Deze gevoeligheid is soortafhankelijk, en zelfs verschillend binnen stammen van dezelfde soort (Walzer *et al.* 2007). Bij de bladluisetende galmug *Aphidoletes aphidimyza* bleek dat lagere luchtvochtigheden resulteerden in een verminderde eileg (Messelink, niet-gepubliceerde data). Net als bij CO<sub>2</sub>, geldt dus ook bij vocht, dat de effecten op natuurlijke vijanden sterk afhangen van het biologisch bestrijdingssysteem en de typen natuurlijke vijanden, maar dat over het algemeen geldt dat een lager vochtdeficiet gunstig is voor natuurlijke vijanden.

## 2.2.6 Indirecte effecten van vocht op plantkwaliteit

Een hoger vochtdeficiet bij jonge planten zorgt ervoor dat deze beter afharderen. Bij komkommer is aangetoond dat een hoog vochtdeficiet kan leiden tot een dichtere bladbehaving, waardoor de planten minder aantrekkelijk waren voor witte vlieg (Shibuya *et al.* 2009). Deze verandering ging tevens gepaard met een hogere relatieve chlorofyldichtheid en een hoger drogestof gehalte. Voor zover ons bekend, zijn er geen andere studies die expliciet naar de indirecte van vocht op plantkwaliteit voor insecten hebben gekeken.

## 2.2.7 Conclusies plagen

De effecten van vocht en CO<sub>2</sub> zijn sterk afhankelijk van de type plagen en bijbehorende natuurlijke vijanden. De gevolgen voor de ontwikkeling van plagen kunnen daardoor per systeem zowel positief als negatief uitpakken. De beschikbare literatuur laat in ieder geval wel zien dat de effecten een grote rol kunnen spelen bij de plaagbestrijding en dat het zeer is aan te raden om de effecten van veranderde klimaatomstandigheden op de biologische plaagbestrijding in kasteelten te testen.

## 2.3 Effecten van CO<sub>2</sub> en vocht op ziekten

### 2.3.1 Directe effecten van CO<sub>2</sub> op ziekten

Directe groeiremming is gevonden op sporen van Botrytis bij zeer hoge CO<sub>2</sub>-niveaus van 4-5%, dit komt overeen met 40.000-50.000 ppm (Svircev *et al.* 1984, Elad 1993). Zie ook Tabel 2.1. CO<sub>2</sub>-niveaus van meer dan 5% reduceerden ook sterk de groei van de bodemschimmel, *Penicillium nigricans*, terwijl *Zygorrhynchus vuillemini* veel minder gevoelig was. Bij 1,3% (13.000 ppm) trad nog geen enkele groeiremming op (Burgess & Fenton 1952). In de praktijk zal hogere dosering van CO<sub>2</sub> daarom niet zo snel leiden tot directe remming van sporenkieming, omdat deze hoge waarden niet in de kassen gerealiseerd worden. Waarden hoger dan 30.000 ppm zijn bovendien toxisch voor mens en dier (Staff 2006). Elad (1993) waarschuwt dat hoge CO<sub>2</sub>-niveaus om Botrytissporen op bloeddelen te doden wel een risico van bloemverkleuring met zich mee kan brengen. Tabel 2.2. geeft een overzicht van de belangrijkste effecten van CO<sub>2</sub> op de ontwikkeling van ziekten

en veranderingen in plantfysiologie.

Tabel 2.1. Effect van verschillende CO<sub>2</sub>-concentraties en blootstellingsduren op kieming van sporen van *Botrytis cinerea* en *Aspergillus Niger* (Svircev et al. 1984).

Fungus	Exposure (hr)	Germination at indicated CO <sub>2</sub> concentration (%) <sup>†</sup>			
		1.3	5	7.5	15
<i>B. cinerea</i>	2.5	100 <sup>a</sup>	40.4	0	0
	5.5	100 <sup>a</sup>	83.8	40	0
	11.5	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	95	0
	17.5	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0
<i>A. niger</i>	17.5	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	97 <sup>a</sup>	92

<sup>†</sup> Percent germination of treated as compared to control (90 and 98% germination of *B. cinerea* and *A. niger*, respectively). Based on 1,000 conidia per observation in each of three trials.

<sup>†</sup> Numbers followed by letter "a" are not statistically different from the control according to a Z-test,  $P = 0.05$ .

## 2.3.2 Indirecte effecten van CO<sub>2</sub> op ziekten via plantkwaliteit en kasklimaat

Indirecte effecten van CO<sub>2</sub> op plantkwaliteit kunnen twee richtingen uit werken. Er zijn veranderingen in de plantkwaliteit die de groei bevorderen, maar ook die de groei juist weer afremmen.

Indirecte groeibevordering van ziekten is net als bij de plagen mogelijk door effecten van verhoogde CO<sub>2</sub>-niveaus op gewasfysiologie. Met betrekking tot de ontwikkeling van ziekten zijn er een aantal belangrijke eigenschappen die zorgen voor een snellere infectie en doorgroei in de plant.

In een ecologische veldstudie waar gekeken is naar 100 verschillende plantensoorten onder diverse CO<sub>2</sub>-niveaus is gevonden dat planten die groeiden onder hogere CO<sub>2</sub>-niveaus een lagere dichtheid van huidmondjes hadden en een lagere verdamping (Woodward & Kelly 1995). Een lagere verdamping kan leiden tot minder goed calciumtransport en verzwakte cellen die afsterven, zodat er een makkelijke invalspoort is voor bijvoorbeeld een schimmelziekte zoals *Botrytis*. Daarnaast kunnen lagere concentraties van micronutriënten (oa. calcium, silicium en borium) ook verzwakking van celwanden geven welke vooral van belang zijn voor hardheid van het blad tegen meeldauwschimmels (Loladze 2002).

Indirecte groeibevordering van echte meeldauw (*Erysiphe cichoracearum*) door verhoogde CO<sub>2</sub>-niveaus is aangetoond in zandraket (*Arabidopsis thaliana*). Dit werd verklaard door een hogere dichtheid van huidmondjes, aantal trichomen en 'guard cells' (Lake & Wade 2009).

Hogere CO<sub>2</sub>-niveaus kunnen eveneens gepaard gaan met een dichter bladpakket en hogere luchtvochtigheden in het kasklimaat (Elad 1993). Meer vocht is ondermeer een belangrijke randvoorwaarde voor bijvoorbeeld sporen van *Botrytis* om te kiemen. Echte meeldauw kiemt al bij lage relatieve luchtvochtigheden, maar hogere RV's versnellen de ziekteontwikkeling (Whipps & Budge 2000).

Indirecte groeiremming van ziekten is aan de andere kant ook mogelijk doordat bij hogere CO<sub>2</sub>-doseringen er meer koolhydraten worden opgeslagen in de bladeren. Dit betekent vaak een toename van het vezelgehalte (meer lignine), hogere C:N ratios, extra lagen epidermale cellen, hoger aantal mesofylcellen, meer epicuticulair was op de bladeren, productie van papillen en accumulatie van silicium op plaatsen waar schimmels apresoria willen vormen (Hibberd et al. 1996, Bowes 1993 – refs in Chakraborty et al. 2000). Directe binnendringing via het blad worden hierdoor bemoeilijkt (bijv. voor echte meeldauw). Door toename van de netto fotosynthese zijn ook meer bouwstoffen beschikbaar voor verhoging van de weerstand worden ingezet (Hibberd et al. 1996). Hogere C:N ratios betekenen ook lagere concentraties van

voedingsstoffen zoals stikstof (Cotrufo *et al.* 1998, Baxter *et al.* 1994). Stikstofbronnen bestaan ondermeer uit nitraat, ammonium, aminozuren, eiwitten. Veel schimmels maken gebruik van voedingsstoffen die uit de bladeren weglekken of beschikbaar zijn om een plant te infecteren. Van ondermeer Botrytis is bekend dat het kiemings- en infectieproces versneld wordt bij hogere gehalten aan beschikbare stikstof in de plant.

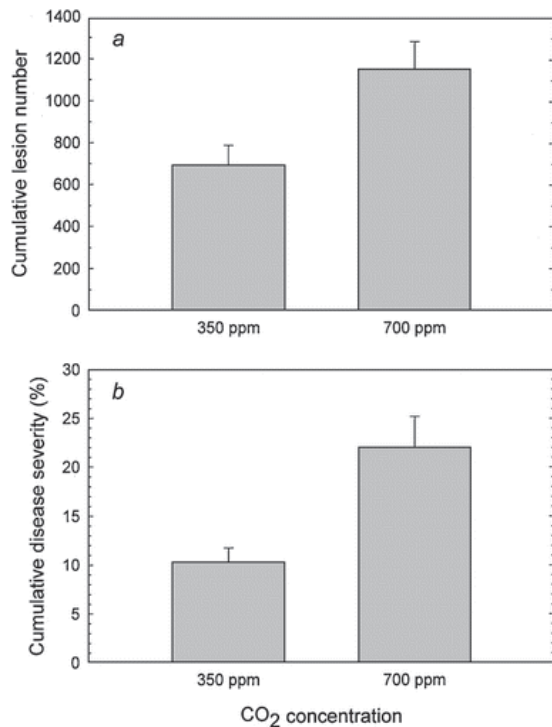


Figure 2.3 Cumulative number of lesions (a) and disease severity expressed as percent leaf area affected (b) caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on susceptible *Stylosanthes scabra* plants that had been raised under 1 × or 2 × CO<sub>2</sub> in controlled environment chambers before being exposed to naturally occurring inoculum in three field plots for 48 h on five separate occasions. Data are means and standard errors from five exposures with three plants from each field plot (Chakraborty *et al.* 2000).

Verschillende onderzoekers vonden een vertraging en afname in de penetratie van de waardplant, maar eenmaal binnen groeiden deze ziekteverwekkers wel sneller onder omstandigheden met een hoger CO<sub>2</sub>-gehalte (Bouma 2009). Aan de andere kant zijn ziekteverwekkers in staat het metabolisme van een plant zodanig te beïnvloeden dat deze meer stikstof (aminozuren) gaat produceren in de apoplasten (Solomon *et al.* 2003).

Over de invloed van een verhoogde CO<sub>2</sub>-gehalte op de productie van **weerstandseiwitten** als glucanase en chitinase is niet veel literatuur beschikbaar. Jwa en Walling (2001) vinden in tomatenplanten een verhoogde tolerantie tegen *Phytophthora parasitica* bij verhoogde CO<sub>2</sub>-gehalten van 700 ppm. Bij niveaus van 700 ppm CO<sub>2</sub> wordt een vertraagde inductie van PR-eiwit producten in tomatenwortels gemeten ten opzichte van 350 ppm CO<sub>2</sub> na blootstelling aan *P. parasitica*. Bij herhaling van hetzelfde experiment konden ze dit resultaat echter niet bevestigen. In tomatenbladeren werd tussen beide CO<sub>2</sub>-niveaus geen verschil gevonden in de mate waarin de PR-eiwitten door *P. parasitica* geïnduceerd werden. .

De **genetische achtergrond van een plant** is ook van invloed op de reactie van verhoogde CO<sub>2</sub>-niveaus. In de tropische groente, *Stylosanthes scabra* werd de reductie in plantengroei door infectie met de schimmel *Colletotrichum gloeosporioides* meer dan gecompenseerd onder condities van verhoogd CO<sub>2</sub> in de gevoelige cultivar, maar niet in de resistente cultivar Fitzroy, zie ook Figuur 2.3. (Chakraborty *et al.* 2000).

De **genetische achtergrond van schimmels** kan echter ook veranderen onder condities met verhoogde CO<sub>2</sub>-niveaus, zoals gevonden werd bij *S. scabra*. Onderzoekers teelden hiertoe dit tropische groentegewas in klimaatkamers bij 350 en

700 ppm. Vervolgens zijn 25 infectiecycli met 2 isolaten van *Colletotrichum* gevolgd in de tijd. Bij verhoogde CO<sub>2</sub>-niveaus nam de agressiviteit van de ziekteverwekker na een aantal infectiecycli toe doordat de isolaten zich aan de verhoogde mate van plantweerstand hadden aangepast (Chakraborty & Datta 2003). Een toename in pathogeniteit onder verhoogde CO<sub>2</sub>-niveaus werd ook waargenomen bij de meeldauwsoort, *Erysiphe cichoracearum* op zandraket, *Arabidopsis thaliana* (Lake & Wade 2009).

Hogere CO<sub>2</sub>-doseringen kunnen naast een effect op de plantkwaliteit een invloed hebben op het wortelmilieu. Hogere CO<sub>2</sub> lijkt eveneens een sterkere voedingsstoffenopname te stimuleren (Bouma 2009).

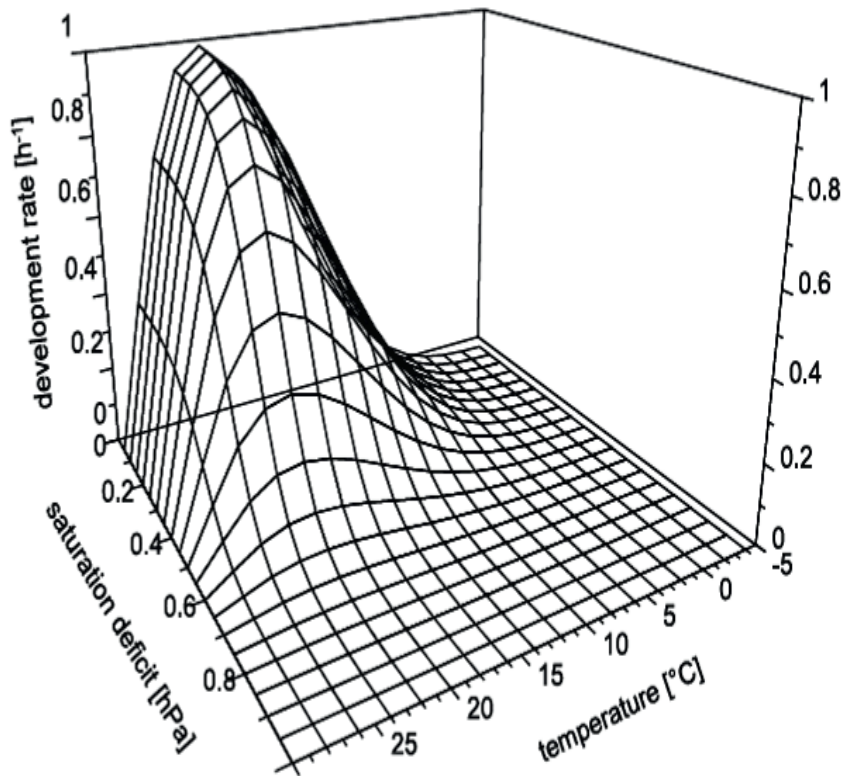
Tabel 2.2. Invloed van hogere CO<sub>2</sub>-niveaus op ziekteontwikkeling van *Botrytis* en echte meeldauw.

Factoren ziekteontwikkeling	Schimmel	Waardplant	Omgeving/klimaat	Tijd
Meer risico op infectie door:	In het algemeen: snellere groei in de plant na binnendringing.  <i>Botrytis</i> : - Geen directe groeiremming op sporen bij CO <sub>2</sub> -niveaus van 700-1200 ppm	<i>Gevoeligere waardplant door</i> : - bevordering infectiekans - hogere C/N ratios - lagere conc. micronutriënten, oa. Si, Ca en Bo versterken cel(wanden) tegen meeldauwinfectie - lagere dichtheid huidmondjes (veldstudie tussen verschillende plantensoorten) -> meer <i>Botrytis</i> - hogere dichtheid huidmondjes, trichomen en 'guard cells' (binnen een soort, zandraket) -> meer echte meeldauw - lagere verdamping, - minder Ca-transport en meer kans op verzwakte cellen	<i>Gunstiger voor sporenkieming door</i> : - hogere luchtvochtigheid - dichter bladerpakket	<i>Gunstig voor Botrytis</i> : - meer perioden waarin rv > 87% of VPD < 0.5 g/m <sup>3</sup> en 4-5 uur vrij vocht.
Minder risico op infectie door:	<i>Botrytis</i> : - Directe groeiremming sporen bij hoge niveaus van 4-5% CO <sub>2</sub> (niveaus hoger 1200 ppm)	<i>Minder gevoelige waardplant door</i> : - hogere C/N ratios - toename vezelgehalte (lignine) - lagere conc. nutriënten oa. N, P, Ca, Si, Bo (minder voedsel sporenkieming) - meer epicuticulair was - meer lagen epidermis cellen - hoger aantal mesofylcellen	- betere werking van schimmel-antagonisten ( <i>Trichoderma</i> , <i>Gliocladium</i> )	



### 2.3.3 Directe effecten van vocht op ziekten

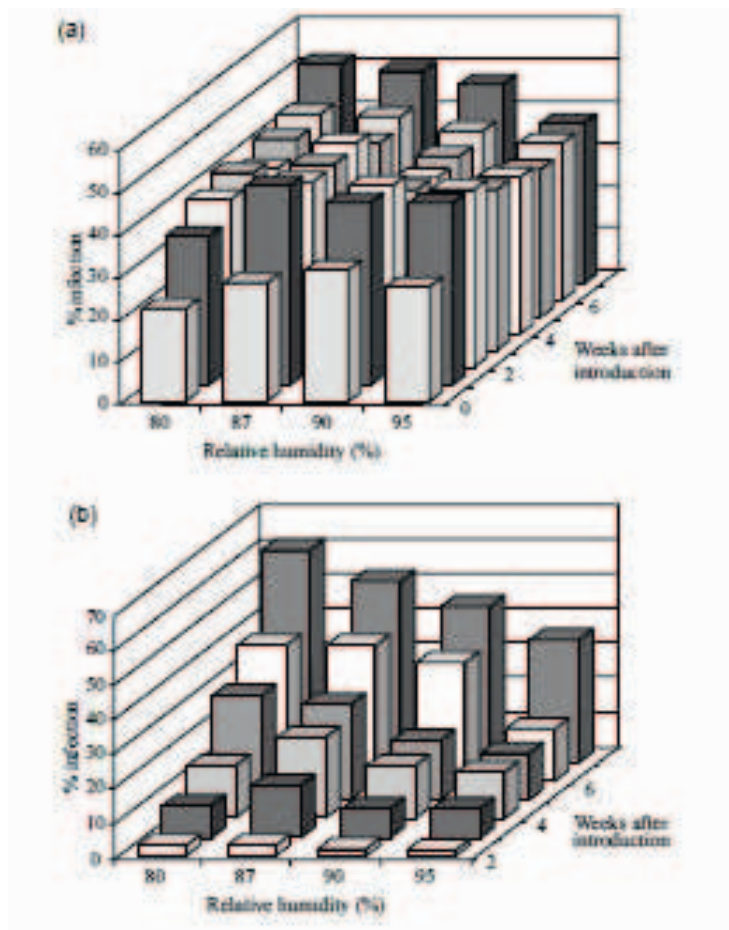
Hogere relatieve luchtvochtigheden ( $RV > 87\%$ ,  $VPD < 0.5 \text{ g/m}^3$ ) zijn voor de meeste kasklimaat-schimmels (Botrytis, valse meeldauw, Mycosphaerella) noodzakelijk voor een snelle kieming en ontwikkeling. Figuur 2.4. laat een voorbeeld zien van de ontwikkelingssnelheid van Botrytis bij bepaalde verzadigingsdeficit en temperatuur.



Figuur 2.4. Ontwikkelingssnelheid van botrytissporen per uur bij verschillende niveaus van vochtdeficit en temperaturen (Tantue & Lange 2003).

Een uitzondering hierop vormen de echte meeldauwschimmels. Doordat de sporen zelf vrij veel vocht bevatten zijn ze in staat om al bij lage RV's vanaf 60% te gaan kiemen. Hogere RV's zijn vervolgens wel gunstig voor een snelle ontwikkeling (Figuur 2.5.). Pas bij waarden hoger dan 90% zal de snelheid van infectie afnemen. De gevoeligheid voor vrij vocht verschilt sterk per meeldauwsoort (Sivapalan 1993). Bijvoorbeeld de meeldauwsoort in gerbera is weinig gevoelig voor waterbehandelingen. Terwijl van *Sphaerotheca fuliginea* in roos bekend is dat deze gevoelig is voor vrij vocht en dat de ontwikkeling door een waterbehandeling is te remmen. Een kanttekening hierbij is wel dat een teler zijn gewas liever niet nat maakt, omdat hierdoor de huidmondjes gaan sluiten en er minder assimilaten worden aangemaakt. Dit gaat vervolgens weer ten koste van productie.

Hogere relatieve luchtvochtigheden vormen tevens weer nieuwe kansen voor het inzetten van antagonistische schimmels, die effectiever ziekteverwekkende schimmels kunnen bestrijden onder vochtige omstandigheden. In de jaren negentig toen er nog relatief droog gestookt werd, was dit een belangrijk struikelblok voor succesvolle inzet van biologische schimmelbestrijders (Elad 1996).



Figuur 2.5. Ontwikkeling van echte meeldauw in tomaat in substraatteelt bij 4 verschillende vochtregimes op geïnoculeerde planten (a) en aangrenzende niet geïnoculeerde planten. Significante effecten van vochtregimes werden gevonden 5-7 weken na introductie (Whipps & Budge 2000).

### 2.3.4 Indirecte effecten van vocht op ziekten door invloed op plantkwaliteit

Hogere relatieve luchtvochtigheden zijn van invloed op de groei, ontwikkeling en productie van planten via de fotosynthese, verdamping, strekking en voedingsstoffenopname (Dieleman, 2008). Een belangrijk aspect hiervan is het risico van een lagere verdamping. Zoals eerder al besproken kan dit gunstig zijn voor de ontwikkeling van ziekten doordat o.a. de nutriëntentoevoer vermindert, hetgeen kan leiden tot verzwakte cellen waardoor binnendringen voor een ziekteverwekker makkelijker is.

### 2.3.5 Conclusies ziekten

Van hogere CO<sub>2</sub>-doseringen zijn niet snel direct negatieve effecten te verwachten op de ontwikkeling van ziekten. Wel brengen de indirecte veranderingen op de plant een verhoogd risico met zich mee. Kritische factoren hierin zijn: toename C:N ratio, lagere verdamping, lagere concentraties voedingsstoffen (Si, Ca) en aanwezige huidmondjes. Toename van het vezelgehalte kan in eerste instantie het proces van binnendringen en infectie vertragen, maar eenmaal binnen zullen ziekten zich toch sneller ontwikkelen in planten die meer CO<sub>2</sub> opnemen. Meer vocht in het klimaat stimuleert direct de groei en ontwikkeling van ziekten. Daarnaast zal ook bij hogere vochniveaus de verdamping geremd worden en meer risico geven voor infectie.

## 2.4 Conclusies ziekten en plagen

Hogere CO<sub>2</sub>-doseringen en vochniveaus hebben een sterke invloed op de plaagbestrijding. Deels door directe effecten op biologische bestrijders en deels door effecten op de plantkwaliteit. Per systeem van prooi-belager kan het echter verschillend zijn of dit een bevorderende of remmende invloed is.

Het risico op infectie door ziekten die afhankelijk zijn van vocht voor hun ontwikkeling en verzwakte cellen neemt toe. Ook al kan het proces van infectie in eerste instantie geremd worden, eenmaal in de plant gaat de ontwikkeling sneller. In de praktijk zal in een teeltsysteem vaak sprake zijn van gecombineerde effecten van verhoogde CO<sub>2</sub> doseringen en vochniveaus, maar in de literatuur is weinig bekend wat hiervan de invloed is op het afweersysteem. Daarnaast is het de vraag in hoeverre verschillende cultivars hun afweersysteem kunnen aanpassen onder teeltcondities met hogere CO<sub>2</sub> doseringen en vocht.



### 3 Effect van vocht op de plantweerstand tegen ziekten en plagen (klimaatkastproef)

#### 3.1 Doel van de proef

Het doel van dit experiment is om de effecten te bepalen van lage vochtdeficits op de weerstand van de plant om daarmee een betrouwbare risicoschatting te geven voor de ontwikkeling van ziekten en plagen in tomaat. De effecten op kaswittevlieg zijn op twee manieren bepaald: (1) een keuze-experiment met volwassen kaswittevliegen waarbij ze kunnen kiezen tussen planten opgekweekt bij een laag of hoog vochtdeficiet, en (2) een ontwikkelingsnelheidstest van de juveniele stadia van kaswittevlieg op tomatenplanten bij een laag en hoog vochtdeficiet.

#### 3.2 Materiaal en methoden

Klimaatkasten

Dit experiment werd uitgevoerd in vier verschillende klimaatkasten (Snijder Scientific Microclima 1000) van Wageningen UR Glastuinbouw te Bleiswijk. In twee klimaatkasten werd een klimaat ingesteld van een RV van 70%, 22 °C en een lichtregime van 16 uur licht en 8 uur donker. In de overige twee klimaatkasten werd een klimaat ingesteld van een RV van 90%, 22 °C, en een lichtregime van 16 uur licht en 8 uur donker. In elke klimaatkast is de lichtsterkte gemeten met behulp van een lichtsterkte meter (Li-Cor Li 250 A) met quantumsensor.

Tabel 3.1. Behandelschema en gemeten lichtintensiteiten.

Type klimaatkast	Snijder Scientific Microclima 1000 (1994)	Snijder Scientific Microclima 1000 (2000)
RV – 70%	Behandeling 1 (84 mmol/m <sup>2</sup> /s)	Behandeling 1 (90 mmol/m <sup>2</sup> /s)
RV – 90%	Behandeling 2 (76 mmol/m <sup>2</sup> /s)	Behandeling 2 (115 mmol/m <sup>2</sup> /s)

Plantmateriaal

De tomatenplanten waren op 28 oktober 2010 gezaaid, afgeleverd in steenwolpluggen en bij het plaatsen in de klimaatkasten ongeveer 3 weken oud. Per klimaatkast werden 20 tomatenplanten (cultivar Tom Brijlant) in een steenwolkblok geplaatst en gelijkmatig over de klimaatkast verdeeld. Na het verspenen van de plantjes waren er nog steenwolpluggen met tomatenplantjes over en deze werden in een klimaatkast bij 70% relatieve luchtvochtigheid weggezet.

Enzymactiviteitsbepalingen van chitinase en glucanase

Bladmateriaal voor de activiteitsbepalingen van de pathogeen gerelateerde enzymen chitinase en glucanase is verzameld 8 dagen (3 planten per meting) en 6 weken (2 planten per meting) nadat de planten waren ingezet. Tevens is hiervan het versgewicht bepaald en het totale bladoppervlak per plant. Het bladmateriaal werd ingevroren in vloeibare stikstof en tot het moment van eiwitextractie bewaard bij -80°C. De chitinase-assay bestond uit een incubatie van eiwit-extractverduunningen met het kunstmatige substraat CM-chitin-RBV, waarna het afgesplitste product spectrofotometrisch werd bepaald. De chitinase-activiteit wordt hier uitgedrukt in een relatieve maat, namelijk als verdunningsfactor van het eiwitextract dat onder de gegeven condities tot een absorptiewaarde van 0.1 leidde. De activiteit van glucanase werd bepaald door eiwit-extract te incuberen met laminarine en vervolgens de afgesplitste reducerende suikers na een kleuringsreactie spectrofotometrisch te kwantificeren. De glucanase-activiteit wordt hier uitgedrukt als mg glucose-

equivalent per g versgewicht.

#### Bladoppervlakmeting

Voor bepaling van de totale hoeveelheid bladoppervlakte werden alle samengestelde bladeren van de plantstengel gehaald en vervolgens één voor één op een oppervlaktemeter gelegd (Li-Cor LI 3100 area meter, Lincoln, Nebraska, USA).

#### C:N metingen

Voor het bepalen van C:N ratios is één plant per behandeling volledig geoogst.

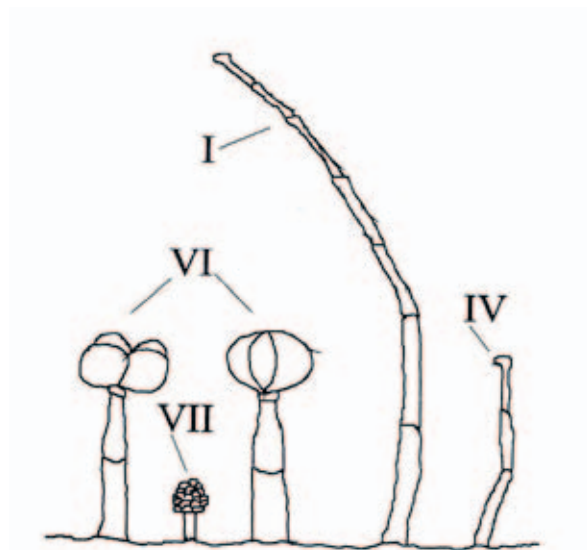
#### Chlorofylmeting

De meting is uitgevoerd aan één plant per klimaatkast. Ongeveer in het midden van elke plant werden aan 10 bladeren per plant een SPAD (Soil Plant Analysis Development) meting uitgevoerd. De meting werd uitgevoerd op 7 december 2010 met behulp van een SPAD-meter (Minolta). De meting is een indicatie voor de hoeveelheid chlorofyl in het blad.

#### Bladbeharng

Tomatenplanten bezitten klierharen (glandular trichomes) die effect kunnen hebben op de ontwikkeling van plagen op tomaat (Simmons & Gurr, 2005). Dit was de reden om in dit onderzoek ook de bladbeharng, inclusief deze klierharen, te beoordelen.

Op 1, 9 en 16 december werd van een willekeurig plant per kast een blad in meer detail bekeken voor de observatie van de verschillende typen bladbeharng. Hiervoor werd op 1 december het onderste samengestelde blad gebruikt, op 9 december het vierde samengestelde blad van onderaf en op 16 december het jongste volgroeide blad. Op een stukje op het achterste gedeelte van het blad (dicht bij de stengel) werd een papierenmal geplakt. Uit het stukje papieren is een vierkant van van 0.5 mm X 0.5 mm uitgesneden. Alle standaardharen werden in dit vierkant onder een binoculair geteld. Naast de standaardharen waren ook de klierharen van Type I en type VI (Figuur 3.1.) aanwezig. Deze werden geteld op een groter oppervlakte van 1 cm<sup>2</sup>.



Figuur 3.1. Verschillende typen klierharen op een tomatenblad (Luckwill, 1943).

#### Keuzeproef met witte vlieg

Op 1 december 2010 werd er een keuzeproef uitgevoerd met 2 planten afkomstig uit elke klimaatkast. Van iedere klimaatkast werd één plant in een aparte ruimte in een kooi gezet. In totaal stonden er vier planten per kooi en twee verschillende kooien. Per kooi werden 200 adulten van witte vlieg (*Trialeurodes vaporariorum*) losgelaten. Na 24 uur werd gekeken naar de aantallen witte vliegadulten per plant. Op de geselecteerde planten werd nog maals een bepaling van het versgewicht en het bladoppervlakte uitgevoerd. De planten gebruikt voor de keuzeproef, de bepaling van versgewicht en bladoppervlakte en één extra plant werden gebruikt om de C/N ratio te bepalen. Hiervoor werden vijf planten per

klimaatkast opgestuurd naar Blgg AgroXpertus.

#### Ontwikkelingssnelheid van wittevlieg

De ontwikkelingssnelheid van wittevlieg op tomaat werd bepaald door ca. 3 weken na eileg van volwassen witte vliegen te bepalen welk deel van de populatie in het popstadium zat en welk deel in het larvale stadium. Hoe groter het percentage popstadium, des te sneller de witte vlieg zich heeft ontwikkeld. Dit experiment werd ingezet op 2 december 2010. Drie tomatenplanten per kast werden in een kooi met polyester gaas geplaatst. Per kooi één plant. Per kooi werden 20 adulten van wittevlieg losgelaten. De adulten werden 6 december 2010 weggevangen. Circa drie weken na het inzetten van de ontwikkelingstest voor wittevliegadulten werden de planten beoordeeld. Deze beoordeling vond plaats op 20 en 21 december 2010. Alle bladeren van de plant werden onder een binoculair bekeken op de aanwezigheid van wittevlieglarven en poppen van wittevlieg. Per klimaatkast werden de drie, met wittevlieg besmette planten, beoordeeld. Van de beoordeelde bladeren werd het oppervlakte bepaald en het versgewicht inclusief de plantenstengel bepaald. Van de bladeren en de stengel is het drooggewicht bepaald door deze 2 dagen in een droogstoof (80 °C) te plaatsen.

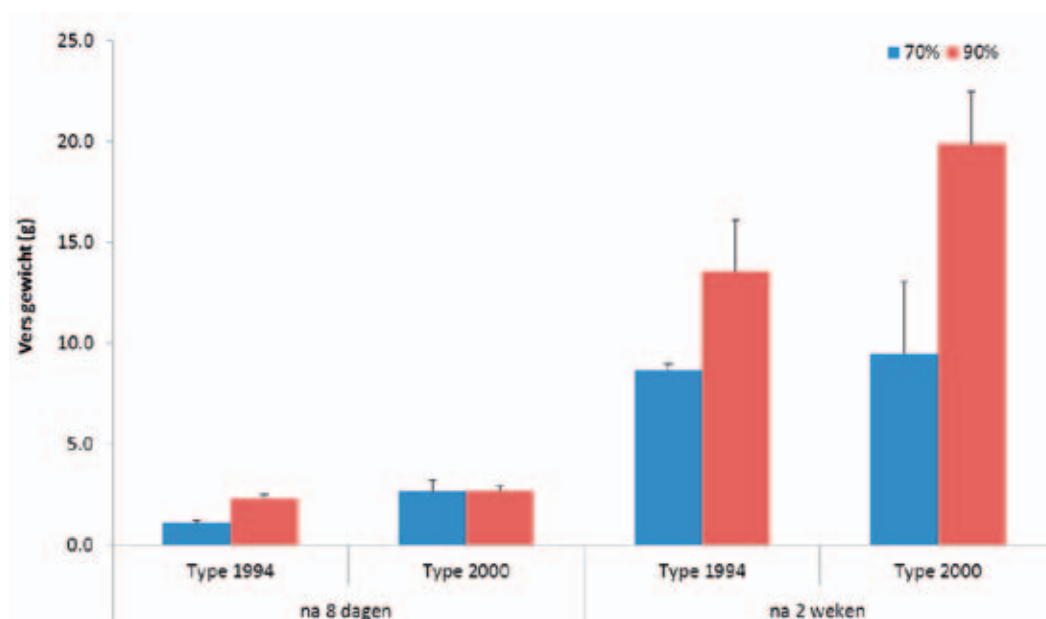
Tabel 3.1. Tijdschema van verschillende metingen gedurende de proefperiode. (17 november t/m 29 december 2010).

Metingen & waarnemingen	na:						
	wk 0	wk 1	wk 2	wk 3	wk 4	wk 5	wk 6
vers gewicht hele plant		x	x				
plantweerstandseiwitten		x					x
bladoppervlakte		x	x				
C:N ratio			x				
aantal huidmondjes			x				
bladbehaving			x				
chlorofylmeting (SPAD)				x			
keuzeproef witte vlieg			x				
ontwikkelingssnelheid witte vlieg			x	x	x		

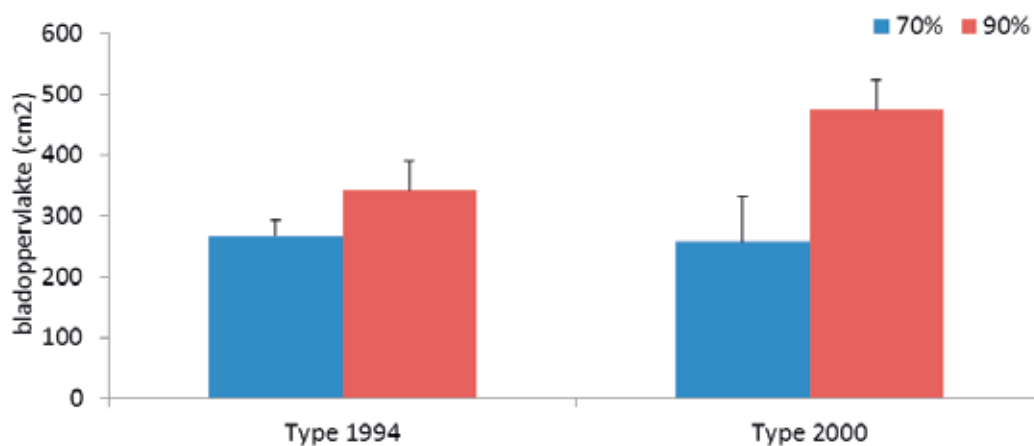
### 3.3 Resultaten

#### 3.3.1 Algemene gewasmetingen (vers gewichten, bladopp., C:N ratio, huidmondjes, SPAD)

Zoals verwacht neemt het gewicht en bladoppervlakte van de jonge tomatenplanten sneller toe onder vochtigere teeltcondities (Figuur 3.3. en 3.4.). Dit komt goed overeen met het geen in de literatuur beschreven is (Dieleman 2008).



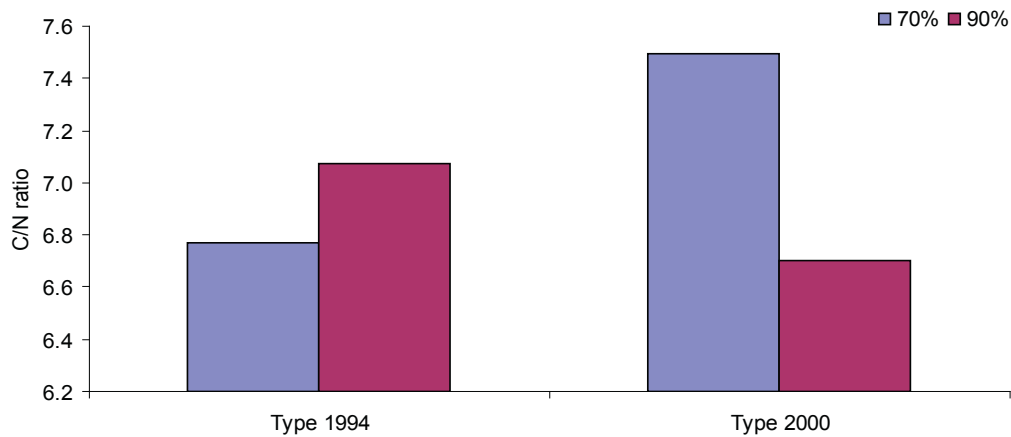
Figuur 3.3. Vers gewicht (gram) van tomatenzaailingen 8 dagen en 2 weken na inzet van de proef als functie van het type klimaatkast en de relatieve luchtvochtigheid.



Figuur 3.4. Bladoppervlakte (cm<sup>2</sup>) van tomatenzaailingen 8 dagen na inzet van de proef als functie van het type klimaatkast en de relatieve luchtvochtigheid.

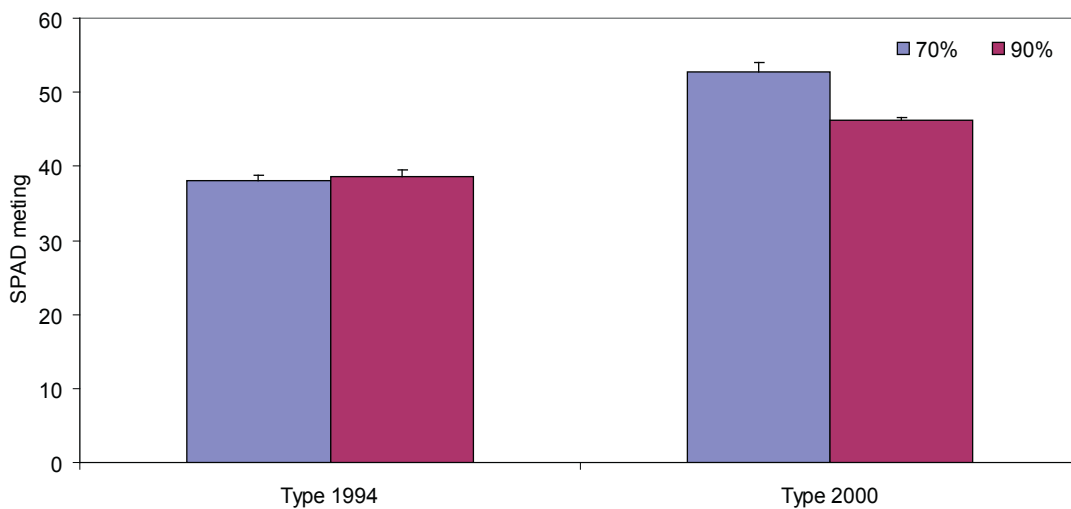
Figuur 3.5. laat zien dat bij de C:N ratio er opmerkelijke verschillen ontstaan tussen de behandelingen die in de oude klimaatkasten (Type 1994) hebben plaatsgevonden en het nieuwere type (Type 2000). In het Type van 1994 is de C:N ratio bij de planten die onder een hogere RV zijn opgekweekt hoger dan bij de planten die bij een lagere RV hebben gestaan. Echter bij het nieuwere type klimaatkasten zijn de effecten precies omgekeerd.





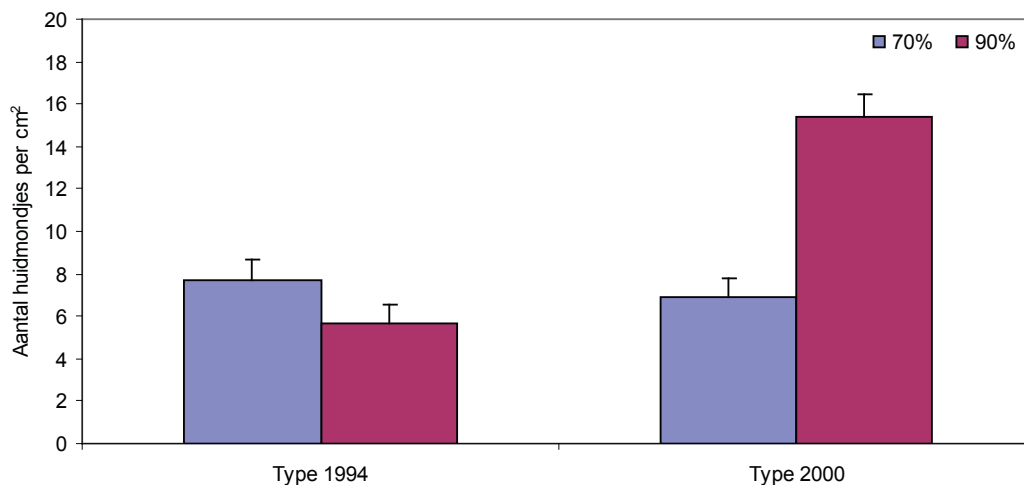
*Figuur 3.5. CN ratios van een jonge tomatenplant gemeten na 2 weken bij verschillende relatieve luchtvochtigheden in twee type klimaatkasten.*

Bij de SPAD metingen, die een waarde zijn voor de hoeveelheid bladgroen dat aanwezig is in een blad, zien we alleen verschillen tussen de behandelingen bij de nieuwe type klimaatkasten (Figuur 3.6.). Dieleman (2008) geeft aan dat een langdurige RV tot kleiner blad(oppervlakte) leidt, waardoor de fotosynthesecapaciteit van de plant lager wordt. Maar bij de nieuwe klimaatkasten neemt met verhoogde RV de bladoppervlakte juist toe. Ook het enorm toegenomen versgewicht suggereert dat hier met de RV een hogere fotosynthesecapaciteit is ontstaan (per plant). De SPAD-meting laat zien dat de bladgroendichtheid (dus bladgroen per bladoppervlakte) met hoger RV iets lager is geworden, maar door het enorme bladoppervlakte heeft de plant in absolute zin veel meer bladgroen, en dus een hoger fotosynthesecapaciteit.



*Figuur 3.6. SPAD meting bij jonge tomatenplanten bij verschillende relatieve luchtvochtigheden in twee type klimaatkasten.*

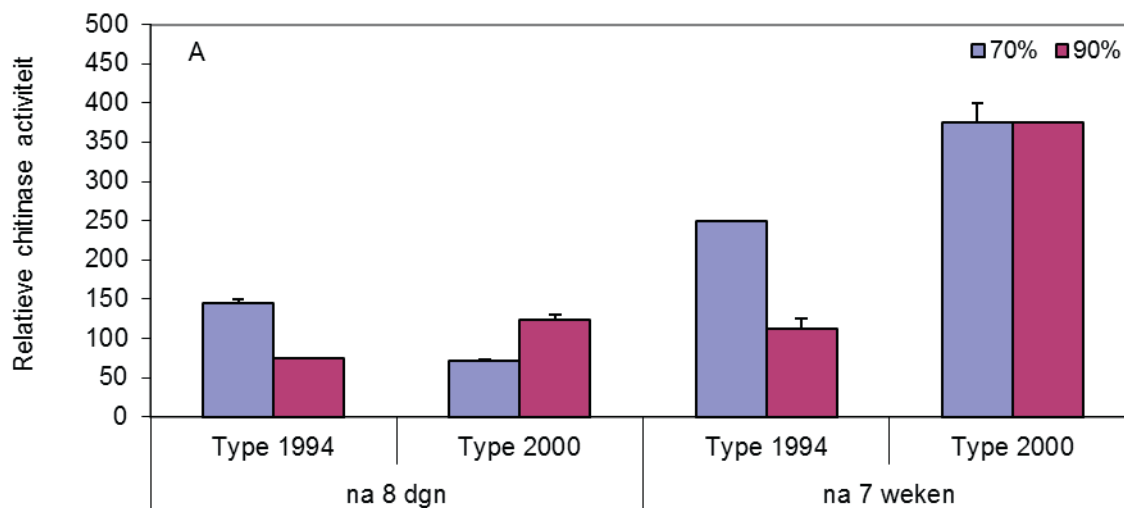
Ook de gevonden aantallen huidmondjes laten duidelijke verschillen zien tussen beide type klimaatkasten (Figuur 3.7.). Gelet op de informatie die in de literatuurstudie wordt vermeld lijkt het voor de hand te liggen dat de planten die een lagere verdamping (hogere RV) vertonen ook de minste aantal huidmondjes bezitten. Maar dit is alleen het geval bij het oude type klimaatkast. De nieuwe klimaatkast met hoge RV vertoont een verdubbeld aantal huidmondjes per bladoppervlakte ten opzichte van de overige kasten. Verwacht mag worden dat hiermee de transpiratie is toegenomen en dus ook het nutriënten-transport (N-accumulatie). Wellicht verklaart dit de relatief lage C/N-ratio.

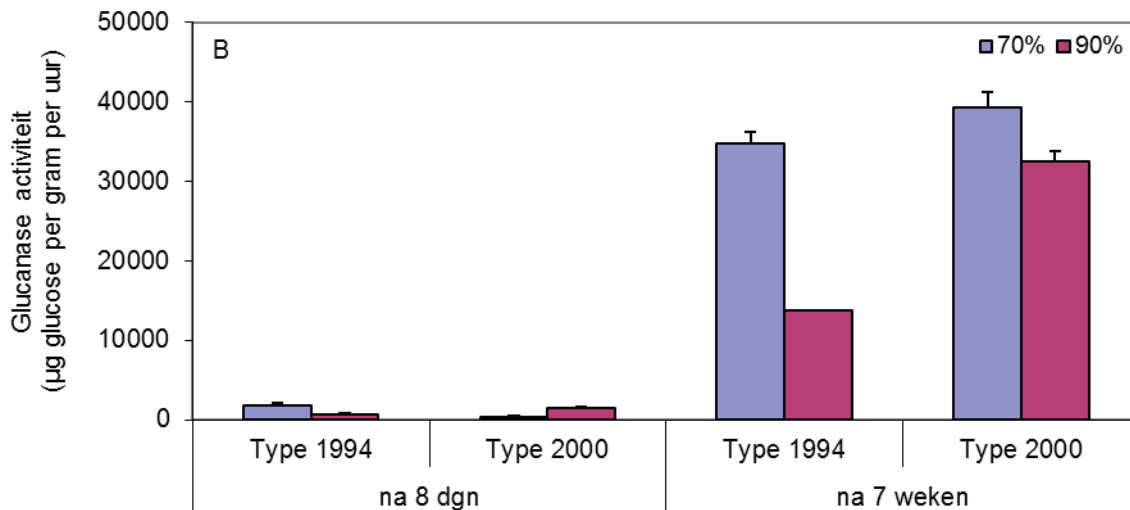


Figuur 3.7. Aantal huidmondjes na 6 weken op bladeren van jonge tomatenplanten bij verschillende relatieve luchtvochtigheden in twee type klimaatkasten.

### 3.3.2 Metingen aan de enzymactiviteit van de weerstandseiwitten chitinase en glucanase

In Figuur 3.8. zijn de resultaten weergegeven voor de gevonden enzymactiviteiten die in verband gebracht worden met de activiteit van het afweersysteem van een plant tegen binnendringende ziekteverwekkers. Opvallend zijn opnieuw de verschillende uitkomsten tussen de verschillende type klimaatkasten. Bij het Type uit 1994 zijn de activiteiten van zowel chitinase als glucanase bij de lage RV hoger dan bij de hoge RV. Bij de jongere type klimaatkast uit 2000 liggen de niveaus van de gemeten eiwitten echter weer hoger bij een hoge RV.



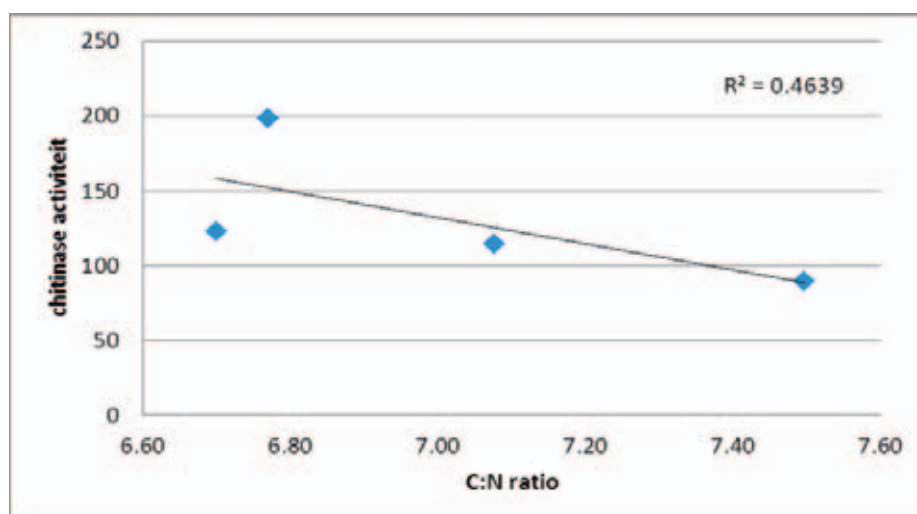


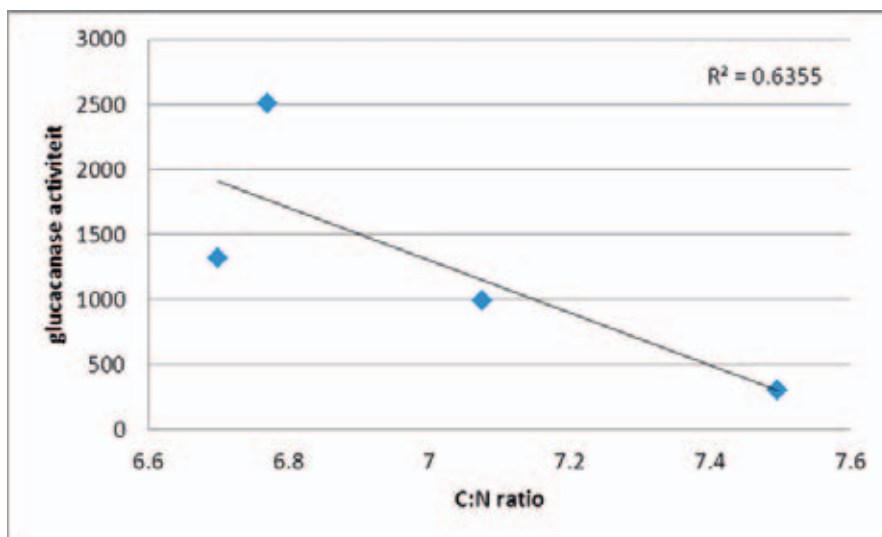
Figuur 3.8. Gemiddelde enzymactiviteit van chitinase (A) en glucanase (B) na 8 dagen en 7 weken na blootstelling aan een lage (70%) of hoge (90%) relatieve luchtvochtigheid. De staafjes op de kolommen geven de variatie aan binnen de behandeling (standaardfout).

Tussen de C:N ratio's en de gemeten waardes van de weerstandseiwitten chitinase en glucanase lijkt een negatief verband te bestaan, maar door het geringe aantal meetpunten levert dit geen betrouwbare waardes op (Figuur 3.9.).

Statistische analyse op de dataset geeft aan dat er een significant effect heeft meegespeeld van het lichtniveau dat in de klimaatkasten aanwezig is. Bij het oudere type uit 1994 is het verschil in het lichtniveau tussen de ingestelde RV's een stuk geringer dan bij het nieuwere type uit 2000. Hierdoor lijkt het aannemelijk dat het gevonden verschil tussen de weerstandseiwitten grotendeels is bepaald door de aangelegde verschillen in RV. Bij het jonge type klimaatkasten vormde het lichtniveau een belangrijke factor.

Behalve in lichtniveau verschilden beide typen klimaatkasten ook in lichtkwaliteit. De oudere typen bevatten licht van gloeilampen. Deze zijn in het algemeen vrij inefficiënt, slechts 5-10% wordt omgezet in zichtbaar licht. De rest gaat verloren als stralingswarmte, met name rood en infrarood licht. Opvallend is het verschijnsel dat activiteit van de weerstandseiwitten van de plant hierdoor kennelijk sterk zijn te beïnvloeden.

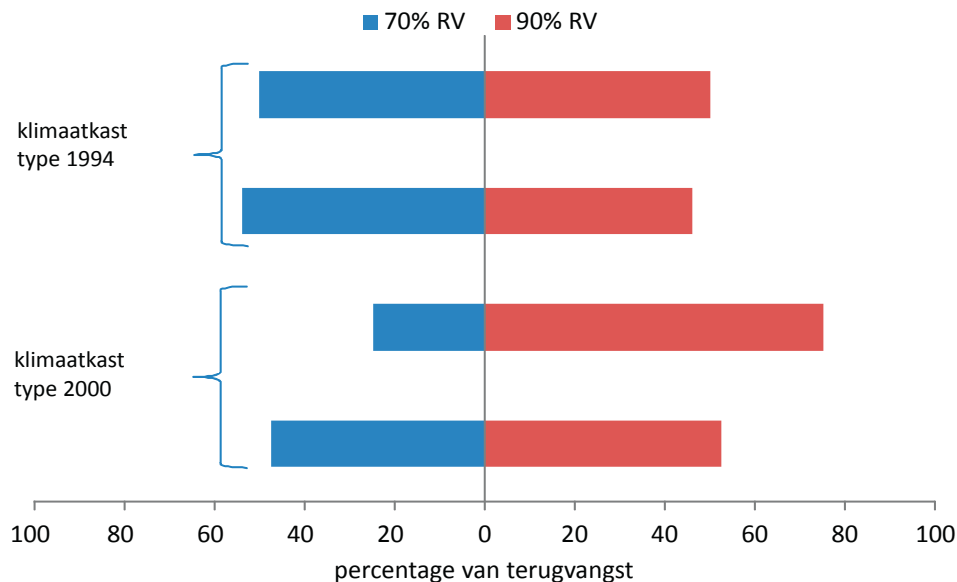




Figuur 3.9. Relatie tussen CN ratio en activiteit van plantweerstandseiwitten bij ongeveer twee weken oude planten.

### 3.3.3 Keuzeproef met kaswittevlieg

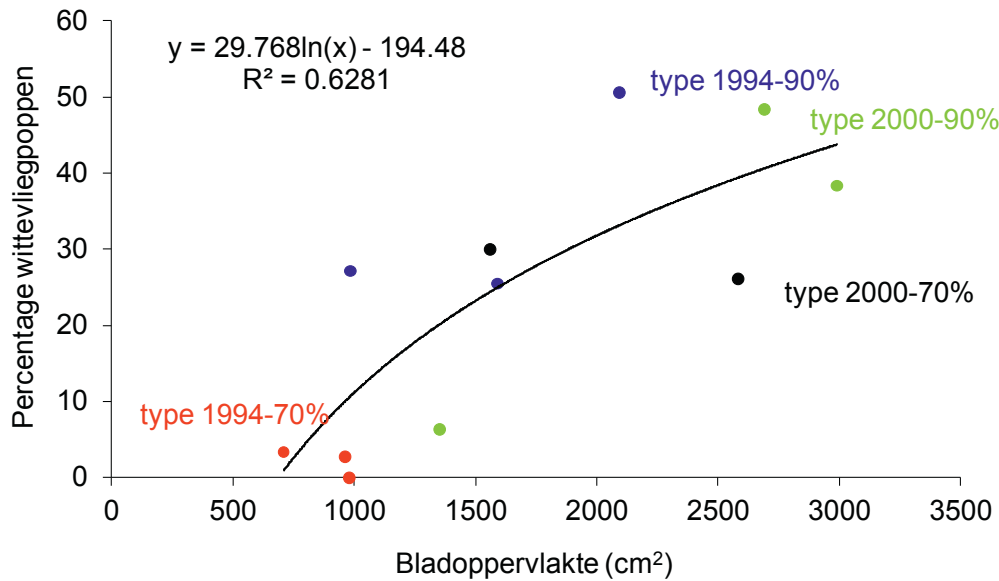
Bij 3 van de 4 keuzeproeven was er géén duidelijke voorkeur van kaswittevlieg voor planten met een bepaalde RV-behandeling (Figuur 3.10.). Bij één herhaling hebben volwassen kaswittevliegen een duidelijke voorkeur (75%) voor planten die zijn opgekweekt bij 90% RV. Mogelijk speelt een dichtere bladbehang of hoge C:N ratio bij de planten van 70% RV een rol bij deze voorkeur. Het is niet duidelijk waarom deze voorkeur maar bij één herhaling werd gevonden.



Figuur 3.10. Percentage kaswittevliegen dat kiest voor planten uit de klimaatkast met 70% of 90% RV.

#### Ontwikkelingssnelheid van kaswittevlieg

De ontwikkelingssnelheid van kaswittevlieg lijkt redelijk gecorreleerd te zijn met het gemiddelde bladoppervakte van de plant (Figuur 3.11.), maar bleek niet gecorreleerd te zijn met het drogestofgehalte of de relatieve chlorophyldichtheid. De Figuur laat zien dat bij een hogere luchtvochtigheid de planten over het algemeen groter zijn en dat witte vlieg zich sneller ontwikkelt op deze planten (groter aandeel witte vlieg in het popstadium). De bladbehang was alleen bij planten uit klimaatkast met 70% RV van het Type 2000 gemiddeld 1.5 keer dichter dan op de ander planten.



Figuur 3.11. Correlaties tussen bladoppervlakte en percentage wittevliegpoppen.

### 3.4 Conclusies

Algemeen:

- Planten geteeld bij een lagere luchtvochtigheid (70%) waren over het algemeen meer gedrongen dan planten geteeld bij een hogere luchtvochtigheid (90%). Dit resulteerde in een kleinere bladoppervlakte en een hogere bladbeharingdichtheid.

Witte vlieg:

- Volwassen kaswittevliegen lijken voorkeur te hebben voor tomatenplanten met minder bladbeharing ten opzichte van planten met een veel bladbeharing (inclusief klierharen).
- De ontwikkelingssnelheid van kaswittevlieg (percentage witte vlieg poppen 3 weken na eileg) was positief gecorreleerd met het bladoppervlakte van tomatenplanten. Het lijkt er dus op dat groeiachtige planten goed zijn voor de ontwikkeling van kaswittevlieg. Een logische verklaring is dat bij een hogere druk van floëemsappen er meer voedingsstoffen bij de witte vlieg larven terecht komen, waardoor ze sneller kunnen groeien.

Activiteit weerstandseiwitten (chitinase en glucanase):

- De experimenten met de klimaatkasten met relatief normale rood/verrood-verhoudingen (Type 1994) wijzen op een effect van een verhoogd vochtgehalte op de plantweerstand. Bij lager vochtdeficit was de enzymactiviteit lager.
- De expressie van de weerstandseiwitten lijken niet alleen door luchtvochtigheid maar vooral door lichtkwaliteit beïnvloed te worden (met name in het gebied van rood licht). Dit biedt interessante aanknopingspunten voor verder onderzoek naar de sturing van de plantweerstand middels toepassing van rood en verrood licht.



# Literatuur

- Awmack, C. S., R. Harrington, and S. R. Leather. 1997.  
Host plant effects on the performance of the aphid *Aulacorthum solani* (Kalt.) (Homoptera : Aphididae) at ambient and elevated CO<sub>2</sub>. *Global Change Biology* 3:545-549.
- Awmack, C. S., and S. R. Leather. 2002.  
Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* 47:817-844.
- Bakker, J. C. 2008.  
Developments in greenhouse horticultural production systems. *IOBC/wprs* 32:5-12.
- Baxter, R., T.W. Ashenden, T.H. Sparks and J.F. Farrar. 1994.  
Effects of elevated carbon dioxide on three montane grass species, I. Growth and dry matter partitioning. *Journal of Experimental Botany* 45: 305-315.
- Berger, S., M. Papadopoulos, U. Schreiber, W. Kaiser en T. Roitsch. 2004.  
Complex regulation of gene expression, photosynthesis and sugar levels by pathogen infection in tomato. *Physiologia Plantarum* 122: 419-428.
- Bezemer, T. M., and T. H. Jones. 1998.  
Plant-insect herbivore interactions in elevated atmospheric CO<sub>2</sub>: quantitative analyses and guild effects. *Oikos* 82:212-222.
- Bidart-Bouzat, M. G., and A. Imeh-Nathaniel. 2008.  
Global Change Effects on Plant Chemical Defenses against Insect Herbivores. *Journal of Integrative Plant Biology* 50:1339-1354.
- Bowes, G. 1993.  
Facing the inevitable: plants and increasing atmospheric CO<sub>2</sub>. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 44: 309-332.
- Burges, A. and E. Fenton. 1952 The effect of carbon dioxide on the growth of certain soil fungi. *Transactions British Mycological Society*. 104-108.
- Chakraborty, S., I.B. Pangga, J. Lupton, L. Hart, P.M. Room and D. Yates. 2000.  
Production and dispersal of *Colletotrichum gloeosporioides* spores on *Stylosanthes scabra* under elevated CO<sub>2</sub>. *Environmental Pollution* 108: 381-387.
- Chakraborty, S. and S. Datta. 2003.  
How will plant pathogens adapt to host plant resistance at elevated CO<sub>2</sub> under a changing climate? *New Phytologist* 159: 733-742.
- Chen, F. J., F. Ge, and M. N. Parajulee. 2005.  
Impact of elevated CO<sub>2</sub> on tri-trophic interaction of *Gossypium hirsutum*, *Aphis gossypii*, and *Leis axyridis*. *Environmental Entomology* 34:37- 46.
- Coll, M., and L. Hughes. 2008.  
Effects of elevated CO<sub>2</sub> on an insect omnivore: A test for nutritional effects mediated by host plants and prey. *Agriculture Ecosystems & Environment* 123:271-279.

- Cotrufo, M.F., P. Ineson and A. Scott. 1998.  
Elevated CO<sub>2</sub> reduces the nitrogen concentration of plant tissues. *Global Change Biology* 4: 43-54.
- Dieleman, A. (2008)  
Effecten van luchtvochtigheid op groei en ontwikkeling van tomaat. Rapport Wageningen UR Glastuinbouw, nota 519.
- Duso, C., F. Chiarini, L. Conte, V. Bonora, L. D. Monta, and S. Otto. 2004.  
Fogging can control *Tetranychus urticae* on greenhouse cucumbers. *Journal of Pest Science* 77:105-111.
- Elad, Y. 1993.  
Regulators of ethylene biosynthesis or activity as a tool for reducing susceptibility of host plant tissues to infection by *Botrytis cinerea*. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 99: 105-113.
- Elad, Y., N.E. Malathrakis and A. Dik. 1996.  
Biological control of *Botrytis*-incited diseases and powdery mildews in greenhouse crops. *Crop Protection* 15:229-240.
- Feng, G., C. Fajun, and G. Feng. 2010.  
Elevated CO<sub>2</sub> lessens predation of *Chrysopa sinica* on *Aphis gossypii*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 135:135-140.
- Hibberd, J.M., R. Whitbread, J.F. Farrar. 1996.  
Effect of elevated concentrations of CO<sub>2</sub> on infection of barley by *Erysiphe graminis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 48:37-53.
- Jaronski, S. T. 2010.  
Ecological factors in the inundative use of fungal entomopathogens. *BioControl* 55:159-185.
- Jwa, N-S and L.L. Walling. 2001.  
Influence of elevated CO<sub>2</sub> concentration on disease development in tomato. *New Phytologist* 149: 509-518.
- Karonen M. *et al.* 2006.  
Effects of elevated carbon dioxide and ozone on foliar proanthocyanidins in *Betula platyphylla*, *Betula ermanii*, and *Fagus crenata* seedlings. *Journal of Chemical Ecology* 32:1445-1458.
- Köhl, J., P.H.B. De Visser en J. Wubben. 2007.  
Risico's op schimmelaantasting in vruchtgroenten: literatuurstudie. Nota 467.
- Lake, J.A. and R.N. Wade. 2009.  
Plant-pathogen interactions and elevated CO<sub>2</sub>: morphological changes in favour of pathogens. *Journal of Experimental Botany* 60: 3123-3131.
- Lambers, H. 1993.  
Rising CO<sub>2</sub>, Secondary Plant Metabolism, Plant-Herbivore Interactions and Litter Decomposition: Theoretical Considerations. *Vegetatio* 104:263-271.
- Loladze, I. 2002.  
Rising atmospheric CO<sub>2</sub> and human nutrition: toward globally imbalanced plant stoichiometry? *TRENDS in Ecology and Evolution* 17: 457-461.



- Luckwill, L. C. 1943.  
The genus *Lycopersicon*: An historical, biological and taxonomic survey of the wild and cultivated tomatoes.  
The genus *Lycopersicon*: An Historical, Biological and Taxonomic Survey of the Wild and Cultivated Tomatoes.  
Aberdeen University Press, U.K.
- Nederhoff, E.M. (1994)  
Effects of CO<sub>2</sub> concentration on photosynthesis, transpiration and production of greenhouse fruit vegetable crops.  
Proefschrift Wageningen.
- Pappas, M. L., G. D. Broufas, and D. S. Koveos. 2008.  
Effect of relative humidity on development, survival and reproduction of the predatory lacewing *Dichochrysa prasina* (Neuroptera: Chrysopidae). *Biological Control* 46:234-241.
- Rott, A. S., and D. J. Ponsonby. 2000.  
The effects of temperature, relative humidity and host plant on the behaviour of *Stethorus punctillum* as a predator of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *BioControl* 45:155-164.
- Svircev, A.M., W.E. McKeen and J.W. Berry. 1984.  
Sensitivity of *Peronospora hyoscyami* f. sp. *tabacina* to carbon dioxide, compared to that of *Botrytis cinerea* and *Aspergillus niger*. *Phytopathology* 74: 445–447.
- Shibuya, T., N. Hirai, Y. Sakamoto, and J. Komuro. 2009.  
Effects of Morphological Characteristics of *Cucumis sativus* Seedlings Grown at Different Vapor Pressure Deficits on Initial Colonization of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 102:2265-2267.
- Shipp, J. L., and T. J. Gillespie. 1993.  
Influence of Temperature and Water Vapor Pressure Deficit on Survival of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Environmental Entomology* 22:726-732.
- Shipp, J. L., and Y. M. van Houten. 1997.  
Influence of temperature and vapor pressure deficit on survival of the predatory mite *Amblyseius cucumeris* (Acari: Phytoseiidae). *Environmental Entomology* 26:106-113.
- Simmons, A. T. and G. M. Gurr. 2005.  
Trichomes of *Lycopersicon* species and their hybrids: effects on pests and natural enemies. *Agricultural and Forest Entomology* 7:265-276.
- Sivapalan, A. 1993.  
Effects of water on germination of powdery mildew conidia. *Mycological Research* 97: 71-76.
- Solomon, P.S., K-C. Tan and R. P. Oliver. 2003.  
The nutrient supply of pathogenic fungi; a fertile field of study. *Molecular Plant Pathology* 4: 203-210.
- Staff. 2006. "Carbon dioxide: IDLH Documentation". National Institute for Occupational Safety and Health. <http://www.cdc.gov/niosh/idlh/124389.html>. Retrieved 2007-07-05.
- Sun, Y. C., J. W. Su, and F. Ge. 2010.  
Elevated CO<sub>2</sub> reduces the response of *Sitobion avenae* (Homoptera: Aphididae) to alarm pheromone. *Agriculture Ecosystems & Environment* 135:140-147.

Tantue, H-J & D. Lange. 2003.

Greenhouse climate control: an approach for integrated pest management: Computers and Electronic in Agriculture 40: 141-152.

Tripp, K. E., W. K. Kroen, M. M. Peet, and D. H. Willits. 1992.

Fewer whiteflies found on CO<sub>2</sub>-enriched greenhouse tomatoes with high C : N ratios. Hortscience 27:1079-1080.

Vänninen, I., D. M. Pinto, A. I. Nissinen, N. S. Johansen, and L. Shipp. In the light of new greenhouse technologies: 1.

Plant-mediated effects of artificial lighting on arthropods and tritrophic interactions. Annals of Applied Biology 157:393-414.

Walzer, A., M. Castagnoli, S. Simoni, M. Liguori, E. Palevsky, and P. Schausberger. 2007.

Intraspecific variation in humidity susceptibility of the predatory mite *Neoseiulus californicus*: Survival, development and reproduction. Biological Control 41:42-52.

Whipps, J.M. & S.P. Budge (2000)

Effect of humidity on development of tomato powdery mildew (*Oidium lycopersici*) in the glasshouse. European Journal of Plant Pathology 106: 395-397.

Whittaker, J. B. 1999.

Impacts and responses at population level of herbivorous insects to elevated CO<sub>2</sub>. European Journal of Entomology 96:149-156.

Woodward, F.I. & C.K.Kelly (1995)

The influence of CO<sub>2</sub> concentration on stomatal density. New Phytologist 131: 311-327.



