



Detectie en bestrijding van wol- en schildluis in de sierteelt onder glas

Gerben Messelink¹, Ada Leman¹, Roland Vijverberg¹, Marjolein Kruidhof¹,
Jon Woning², Antje de Bruin², Roland Mumm² en Willem-jan de Kogel²

Rapport GTB-1339

1. Wageningen UR, Glastuinbouw 2. Wageningen UR, Plant Research International

Referaat

Wol-, en schildluis zijn een toenemend probleem in de sierteelt onder glas. In dit onderzoek zijn verschillende mogelijkheden voor bestrijding en detectie van wol- en schildluis onderzocht. In het eerste gedeelte van het rapport ligt de focus op wolluisdetectie. Hierbij is voortgebouwd op eerder onderzoek waaruit bleek dat op lab-schaal geuren die rozenplanten aanmaken na aantasting van wolluis verschillen van geuren van onaangetaste planten en planten met spint- of mechanische schade. Uit het voorliggende onderzoek bleek de verandering van verschillende geurstoffen als respons op een wolluisbesmetting van veel verschillende factoren afhankelijk te zijn: van het groeistadium van de plant (bloeiend/niet bloeiend), van het tijdstip van de dag waarop is bemonsterd, van de wolluisdichtheid en van de tijdsduur van wolluisbesmetting. Hoewel er in elk van de laboratoriumexperimenten meerderde geurstoffen zijn gevonden die significant verschilden tussen planten met een wolluisbesmetting en planten zonder wolluisbesmetting, zijn er nog geen onderscheidende kandidaat indicator-geurstoffen van een (beginnende) wolluisaantasting gevonden die betrouwbaar onder alle geteste omstandigheden naar voren kwamen. Bij onderzoek naar nieuwe middelen kwam één nieuw middel naar voren dat effectief was tegen zowel de citruswolluis *Planococcus citri* als de rozenschildluis *Aulacapsis rosae*. Verschillende isolaten van entomopathogene schimmels konden wolluisen infecteren, maar waren niet effectief in kasproeven. De gaasvlieg *Chrysoperla lucasina* kon wolluis goed bestrijden bij herhaaldelijk inzetten. Een overmaat van Ephestia-eieren als alternatief voedsel kan deze bestrijding verslechteren.

Abstract

Mealybugs and armoured scales are major pest species in ornamental crops in greenhouses. The first part of this report focuses on mealybug detection. The research presented here builds on previous study in which it was shown on laboratory scale that the odour profile released by plants after damage by mealybugs differs from the odour profile released by undamaged plants and plants that suffer from spider mite or mechanical damage. In the present study the change of several compounds in response to mealybug infection was shown to depend on a number of different factors: the growth stage of the plant (flowering/non-flowering), the time of the day sampling took place, the mealybug density and the duration of the mealybug infection. Although in each of the laboratory experiments several plant volatiles were found to significantly differ between mealybug-infested plants and control plants, so far no candidate indicator-volatiles have been found that always reacted significantly and in the same manner to a mealybug infection.

The screening of new pesticides showed one pesticide to be effective against both the citrus mealybug *Planococcus citri* and the rose scale *Aulacapsis rosae*. Several isolates of entomopathogenic fungi were able to infect mealybugs in the laboratory, but results obtained in the greenhouse were disappointing. Lacewing larvae of the species *Chrysoperla lucasina* were able to control mealybugs when released repeatedly. The addition of Ephestia eggs disrupted this control in some cases.

Rapportgegevens

Rapport GTB-1339

Projectnummer: 3242163900

PT nummer: 14804

Disclaimer

© 2015 Wageningen UR Glastuinbouw (instituut binnen de rechtspersoon Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek), Postbus 20, 2665 MV Bleiswijk, Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk, T 0317 48 56 06, F 010 522 51 93, E glastuinbouw@wur.nl, www.wageningenUR.nl/glastuinbouw. Wageningen UR Glastuinbouw.

Wageningen UR Glastuinbouw aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Adresgegevens

Wageningen UR Glastuinbouw

Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk

Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk

T +31 (0)317 48 56 06

F +31 (0)10 522 51 93

Inhoud

1	Samenvatting	5
	Introductie	7
2	Detectie van wolluis	9
2.1	Inleiding	9
2.2	Materiaal en methoden	9
2.2.1	Wolluis-geïnduceerde geurstoffen in bloeiende en niet-bloeiende rozenplanten	11
2.2.2	Invloed van wolluis dichtheid en tijdsduur van wolluis-besmetting op wolluis-geïnduceerde geurstoffen	11
2.2.3	Invloed van bemonsteringsduur en bemonsteringstijdstip op detectie van wolluis-geïnduceerde geurstoffen	12
2.2.4	Detectie van wolluis-geïnduceerde geurstoffen in de kas	13
2.3	Resultaten	14
2.3.1	Wolluis-geïnduceerde geurstoffen in bloeiende en niet-bloeiende rozenplanten	14
2.3.2	Invloed van wolluisdichtheid en tijdsduur van wolluis-besmetting op wolluis-geïnduceerde geurstoffen	16
2.3.3	Invloed van bemonsteringsduur en bemonsteringstijdstip op detectie van wolluis-geïnduceerde geurstoffen	19
2.3.4	Detectie van wolluis-geïnduceerde geurstoffen in de kas	22
2.4	Conclusies en aanbevelingen	22
3	Integreerbare middelen	25
3.1	Inleiding	25
3.2	Materiaal en methoden	25
3.2.1	Screening van middelen tegen wol- en schildluis door onderdompeling	25
3.2.2	Kasproef met nieuwe middelen tegen wolluis	26
3.2.3	Kasproef met nieuwe middelen tegen schildluis	26
3.3	Resultaten	28
3.3.1	Screening van middelen tegen wol- en schildluis door onderdompeling	28
3.3.2	Kasproef met nieuwe middelen tegen wolluis	29
3.3.3	Kasproef met nieuwe middelen tegen schildluis	30
3.4	Conclusies en aanbevelingen	31
4	Entomopathogene schimmels tegen wolluis	33
4.1	Inleiding	33
4.2	Materiaal en methoden	33
4.2.1	Screening voor vatbaarheid	33
4.2.2	Testen van isolaten uit wolluis bij verschillende concentraties	35
4.2.3	Kasproef met entomopathogene schimmels	35
4.2.4	Testen van uitvloeiers en hulpstoffen	36
4.3	Resultaten	37
4.3.1	Screening voor vatbaarheid.	37
4.3.2	Testen van isolaten uit wolluis bij verschillende concentraties	38
4.3.3	Kasproef met entomopathogene schimmels	38
4.3.4	Testen van uitvloeiers en hulpstoffen	39
4.4	Conclusies en aanbevelingen	40

5	Haardbestrijding met gaasvlieglarven	41
5.1	Inleiding	41
5.2	Materiaal en methoden	41
5.2.1	Laboratoriumproeven met verschillende diëten	41
5.2.2	Effecten van alternatief voedsel op wolluisbestrijding met gaasvliegenlarven	42
5.2.2.1	Kasproef met een eenmalige inzet van gaasvlieglarven	42
5.2.2.2	Kasproef met een herhaaldelijke inzet van gaasvlieglarven	43
5.3	Resultaten	44
5.3.1	Laboratoriumproeven met verschillende diëten	44
5.3.2	Effecten van alternatief voedsel op wolluisbestrijding met gaasvliegenlarven	46
5.3.2.1	Kasproef met een eenmalige inzet van gaasvlieglarven	46
5.3.2.2	Kasproef met een herhaaldelijke inzet van gaasvlieglarven	47
5.4	Conclusies en aanbevelingen	47
	Literatuur	49

1 Samenvatting

Wol-, en schildluis zijn een toenemend probleem in de sierteelt onder glas. Niet alleen het aantal bedrijven met besmetting neemt toe, ook de bestrijding wordt steeds moeilijker. In dit rapport wordt verslag gedaan van verschillende onderzoeksactiviteiten die gericht waren op de bestrijding en detectie van wol- en schildluis. Al het onderzoek met wolluis is uitgevoerd met de citruswolluis *Planococcus citri*. De experimenten met schildluis zijn uitgevoerd met de rozenschildluis *Aulacapsis rosae*.

Met betrekking tot het onderzoek naar wolluis detectie is in voorgaand onderzoek aangetoond dat rozenplanten die aangetast zijn door wolluis een onderscheidend geurprofiel afscheiden van niet-aangetaste rozenplanten. Ook bleek het geurprofiel van wolluis-aangetaste planten te verschillen van door spint aangetaste planten wat duidt op een bepaalde mate van specificiteit. Voortbordurend op deze kennis is in het voorliggende project verkend van welke factoren die geurproductie afhankelijk is en of de vindingen uit het laboratorium opgeschaald kunnen worden naar een kas-situatie. Uit de laboratoriumproeven is gebleken dat het groeistadium van de plant (bloeiend/niet bloeiend), het tijdstip van de dag waarop is bemonsterd, de wolluisdichtheid en de tijdsduur van wolluis besmetting een grote invloed op het afgegeven geurpatroon hadden. In elk van de laboratoriumexperimenten zijn meerderde geurstoffen gevonden die significant verschilden tussen planten met een wolluisbesmetting en planten zonder wolluisbesmetting. Echter zijn er nog geen onderscheidende kandidaat indicator-geurstoffen van een (beginnende) wolluisaantasting gevonden die betrouwbaar onder alle geteste omstandigheden naar voren kwamen. Verder hing de detectie van verschillende geurstoffen nauw samen met de bemonsteringsduur. De geurstoffen die in de verschillende laboratoriumexperimenten significant verschilden tussen met wolluis besmette planten en controleplanten konden vooralsnog niet bij 1 uur bemonstering in de kas worden gedetecteerd. Om alle variatie in geurpatronen te kunnen begrijpen, en een betrouwbaar elektronisch wolluisdetectieapparaat gebaseerd op wolluis-geïnduceerde plantengeuren te kunnen ontwikkelen, zou nog meer onderzoek nodig zijn.

Het onderzoek dat gericht was op de bestrijding van wol- en schildluis bestond uit 3 onderdelen: 1) integreerbare middelen, 2) entomopathogene schimmels en 3) gaasvliegen. Alle integreerbare middelen zijn getest tegen zowel wol- als schildluis. De overige onderdelen waren alleen gericht op citruswolluis.

In totaal zijn 13 middelen in het laboratorium gescreend op hun effect op citruswolluis, *Planococcus citri* en/of rozenschildluis *Aulacapsis rosae*. Van deze middelen zijn 5 nieuwe middelen geselecteerd om te testen in kasproeven met roos. De resultaten van de laboratoriumtesten, waarbij de plagen werden ondergedompeld in middelen, bleken niet altijd overeen te komen met de resultaten van de kasexperimenten. Sommige middelen waren zeer effectief in de dompeltest, maar totaal niet in de kasproef, zoals bijvoorbeeld het geval was bij het middel BCP425D van Bipa. Het is daarom aan te bevelen om de effectiviteit van middelen tegen wol- en schildluis altijd op plantniveau met bespuitingen uit te voeren. Zowel bij wolluis als schildluis was van de nieuwe middelen het middel PAI03001 van Certis het meest effectief in de bestrijding van de beide plagen. Bij wolluis gaf naast Teppeki en Silwet gold ook het nieuwe middel Dre200 BE van Denka een significant effect op wolluis. Het middel was echter zwaar fytoxisch. Mogelijk dat een lagere dosering nog steeds effect geeft zonder fytoxisch te zijn. Het is dus aan te bevelen om voor dit middel eerst fytoxiciteitstesten uit te voeren. Bij schildluis konden naast PAI03001 de middelen Teppeki, Silwet gold, Promanal R, AC 1513 en Envidor de schildluisdichtheden reduceren.

Het onderzoek aan entomopathogene schimmels was gericht op het selecteren van een effectief isolaat tegen wolluis. In totaal zijn 22 isolaten getest in het laboratorium. Bij 7 isolaten stierf het overgrote deel van wolluislarven wanneer ze gedwongen werden om over schimmelsporen te lopen. Bij spuittoepassingen bleken dezelfde schimmels nauwelijks in staat om wolluisen te infecteren, zowel in het laboratorium als in de kasproef. Dit is opmerkelijk, want de condities voor infectie waren ideaal (zeer hoge luchtvochtigheid en een niet al te hoge temperatuur). Een mogelijke verklaring is dat de schimmelsporen niet in staat waren om in de wolluisen te penetreren door de beschermende waslaag. Het toevoegen van de hulpstof/uitvloeier Addit verhoogde de werking van de schimmel *Isaria fumosorosea*. Het is aannemelijk dat de ademhalingsgaten op de rugzijde van wolluisen toegankelijker werden voor indringing van schimmelsporen door het verminderen van de waslaag door Addit. Vervolgonderzoek zou zich kunnen richten op de verhoging van effectiviteit van entomopathogene schimmels door het reduceren van de waslaag en het verhogen van de infectiekans door verstoring van wolluisen.

Uit het onderzoek met gaasvliegen kwam naar voren dat soort *Chrysoperla lucasina* effectiever is dan de standaardsoort *Chrysoperla carnea s.str.* De larven van de soort *C. lucasina* consumeerden meer wolluislarven en bleken zich ook beter te kunnen ontwikkelen op larven van wolluis dan *C. carnea s.str.*. Bij deze laatste soort stierven de meeste larven voortijdig, waardoor de bijdrage aan de bestrijding van wolluis beperkt zal zijn. Bij de inzet van gaasvlieglarven worden vaak (onbewust) ook *Ephestia*-eieren meegegeven, omdat de larven hierop gekweekt worden en dit dan aanwezig is in de kokers waarin ze worden aangeleverd. Uit dit onderzoek bleek dat een overmaat van deze eieren een negatief effect heeft op de bestrijding van wolluis. Het kan zelfs de bestrijding volledig teniet doen. Als alternatief zouden *Acarus*-mijten kunnen worden meegegeven. Deze mijten verhogen de overleving van gaasvlieglarven wanneer er alleen wolluis is en ze lijken de bestrijding van wolluis iets te verbeteren.

Introductie

Wol-, en schildluis zijn een toenemend probleem in de sierteelt onder glas. Niet alleen het aantal bedrijven met besmetting neemt toe, ook de bestrijding wordt steeds moeilijker. Vooral kleine haarden worden moeilijk gevonden. Chemische bestrijding is, naast dat het moeilijk integreerbaar is met natuurlijke vijanden, in veel gevallen niet effectief. De plagen zijn moeilijk onder in het gewas te bereiken. Dit alles maakt dat wol- en schildluis een van de belangrijkste obstakels zijn voor verdere uitbreiding van geïntegreerde bestrijding in snijbloemen en potplanten.

De afgelopen jaren is op allerlei manieren onderzocht hoe deze plagen het beste bestreden kunnen worden. Verschillende soorten sluipwespen zijn in proeven getest. Voor wolluis zijn de meest effectieve op de markt: *Leptomastix dactylopii* en *Anagyrus pseudococci*. De bestrijding is vooral effectief gebleken bij preventieve inzet van hoge dichtheden, maar in de praktijk wordt dit beperkt toegepast vanwege de hoge kosten (Pijnakker & Leman, 2012). Dit probleem is deels te ondervangen door sluipwespen te produceren op een bankerplantsysteem (Pijnakker et al., 2014). Naast sluipwespen, zijn verschillende predatoren onderzocht als bestrijders van wol- en schildluishaarden (Pijnakker et al., 2011, 2013a,b). Voor schildluis zijn goede resultaten behaald met de kever *Rhizobius lophantae* (Pijnakker et al., 2013a). De kever is wel erg gevoelig voor nevenwerking van meeldauwmiddelen als Meltatox. In 2012 zijn verschillende kevers getest voor de bestrijding van citruswolluis. De bekende *Cryptolaemus montrouzieri* bleek verreweg de meest effectieve soort te zijn (Pijnakker et al., 2013b). Toch worden deze kevers tot nu toe nauwelijks in de praktijk ingezet vanwege de wisselende resultaten in effectiviteit en hoge kosten.

De bestrijding van wol- en schildluis kan mogelijk verbeterd worden wanneer haarden sneller worden opgespoord en wanneer deze effectief bestreden kunnen worden met selectieve chemische/biologische middelen of met natuurlijke vijanden. Het doel van dit project was om effectieve en integreerbare bestrijdingsstrategieën voor wol-, dop- en schildluis in de sierteelt onder glas te ontwikkelen, en om de mogelijkheden voor detectie op basis van geuren te verkennen (PT-project nr. 14804).

Het onderzoek is uitgevoerd in 2013 en 2014 en bevatte de volgende onderdelen:

- Onderdeel A, automatische detectie van wolluis (PRI / WUR-Glas)
- Onderdeel B, integreerbare middelen tegen wol- en schildluis (WUR-Glas)
- Onderdeel C, entomopathogene schimmels tegen wolluis (WUR-Glas)
- Onderdeel D, haardbestrijding met gaasvliegen (WUR-Glas)
- Onderdeel E, best practices (Entocare)
- Onderdeel F, communicatie (LTO-Glaskracht)

In dit rapport wordt verslag gedaan van de onderdelen A tot en met D. Onderdeel E is in een afzonderlijk verslag gepubliceerd door Entocare. Al het onderzoek met wolluis is uitgevoerd met de citruswolluis *Planococcus citri*. De experimenten met schildluis zijn uitgevoerd met de rozenschildluis *Aulacapsis rosae*. Bij het onderdeel detectie hebben naast de genoemde auteurs ook Ron Wehrens (statistische analyse (Biometris)) en Henriette van Eekelen en Jacques Davies (GC-MS analyse) meegeholpen.

2 Detectie van wolluis

2.1 Inleiding

Het snel kunnen detecteren van kleine wolluishaarden is essentieel voor een goede bestrijding. Als een wolluishaard niet op tijd wordt ontdekt, kan deze zich ongemerkt sterk uitbreiden. Dit leidt er regelmatig toe dat telers genoodzaakt zijn om volvelds in te grijpen. Momenteel zijn er geen goede technieken beschikbaar om wolluis te detecteren, waardoor monitoren nog echt mensenwerk is. Dit brengt forse personele kosten met zich mee, en leidt er bovendien toe dat kleinere haarden - met overwegend jonge wolluisnimfen - gemakkelijk over het hoofd worden gezien. Uit voorgaand onderzoek is gebleken dat feromoonvallen een goed hulpmiddel kunnen zijn om de aanwezigheid van wolluis te bepalen. Echter waren ze niet geschikt om snel wolluishaarden te detecteren en te traag om telers te waarschuwen voor een wolluis toename (Pijnakker *et al.* 2013b).

Een mogelijk alternatieve manier om wolluis in een vroeg stadium te detecteren berust op het principe dat planten het geurprofiel dat ze afscheiden veranderen als respons op aantasting door plaaginsecten (zogenaamde 'herbivoor'-geïnduceerde plantengeuren) (Mumm & Dicke, 2010). Natuurlijke vijanden van de plaaginsecten, zoals roofinsecten en sluipwespen, maken veelvuldig gebruik van deze herbivoor-geïnduceerde plantengeuren om plaaginsecten op te sporen. Deze plantengeuren zijn namelijk veel beter detecteerbaar dan de geuren die door de plaag zelf worden afgescheiden, omdat de biomassa van de plant veel groter is dan die de plaaginsecten (Vet & Dicke, 1992). In voorgaand onderzoek is aangetoond dat rozenplanten die aangetast zijn door wolluis inderdaad een onderscheidend geurprofiel afscheiden van niet-aangetaste rozenplanten. Ook bleek het geurprofiel van wolluis-aangetaste planten te verschillen van door spint aangetaste planten wat duidt op een bepaalde mate van specificiteit. Voortbordurend op deze kennis wordt in het voorliggende project verkend van welke factoren die geurproductie afhankelijk is (wolluis dichtheden, tijdsduur van wolluisbesmetting, tijdstip van de dag, bloeiende versus niet-bloeiende planten etc.) en of de vindingen uit het laboratorium opgeschaald kunnen worden naar een kas-situatie. Uiteindelijk moet deze informatie leiden tot de ontwikkeling van een efficiënte en betrouwbare elektronische detectiemethode van wolluis in de kas.

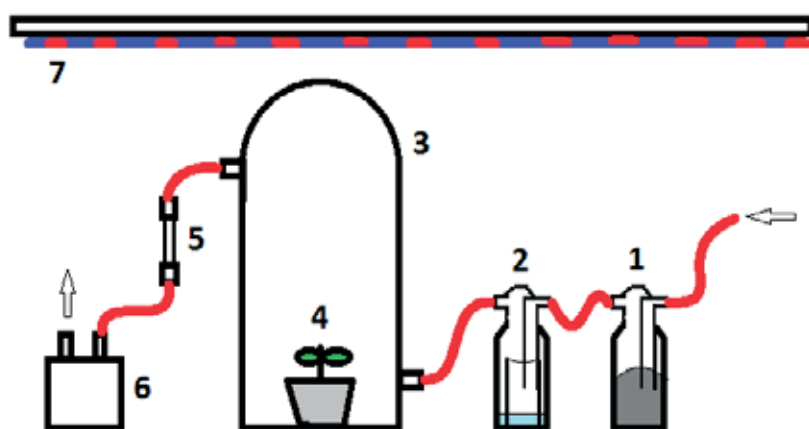
De mogelijkheden voor ontwikkeling van een dergelijke detectiemethode, en de haalbaarheid op de kortere en langere termijn, hangen samen met een aantal belangrijke criteria. 1) Het geurprofiel van met wolluis besmette rozenplanten onderscheidend zijn van het geurprofiel van onbesmette planten en bij voorkeur ook van het geurprofiel van planten die lijden onder andere soorten stress. 2) Het geurpatroon van besmette planten moet onder verschillende omstandigheden (e.g. bij verschillende groeistadia en bij voorkeur op verschillende tijdstippen van de dag) betrouwbaar te onderscheiden zijn van gezonde planten 3) De plant zou het liefst zo snel mogelijk na wolluis besmetting en bij relatief lage wolluisdichtheden de samenstelling van het geurprofiel moeten veranderen. 4) Deze veranderingen in het geurprofiel zouden detecteerbaar moeten zijn bij een zo kort mogelijke bemonsteringsduur. 5) De identificatie van specifieke geurstoffen die – gezamenlijk - onder verschillende omstandigheden een betrouwbare indicatie vormen van een wolluisbesmetting, zou goede uitzichten bieden op een relatief simpele detectiemethode. In een serie van laboratorium- en kasproeven zijn verschillende aspecten van de bovenstaande 5 criteria verder onderzocht.

2.2 Materiaal en methoden

Het hier beschreven onderzoek is een samenwerking van Wageningen UR Glastuinbouw in Bleiswijk en de Business Units Biointeractions and Bioscience van Plant Research International (ook onderdeel van Wageningen UR). bij Wageningen-UR op de locaties Wageningen (BU Biointeracties en Plantgezondheid en (WUR-Glastuinbouw).

Plantmateriaal. Uit praktische overwegingen is gekozen om in eerste instantie met potroosplanten te werken. Alle proeven zijn uitgevoerd met het cultivar Flamingo Jewel. Direct na de eerste snoei zijn de planten bij het bedrijf BM Roses opgehaald en in een kas ingesteld op 20°C en 80% RV, met dag/nacht ritme van 16 uur licht en 8 uur donker. Al naargelang de behandeling zijn deze planten vervolgens met wolluis besmet (aantallen en tijdstip van besmetting met wolluis verschillen per experiment), waarna de planten van de verschillende behandelingen in aparte kooien zijn geplaatst om kruisbesmetting te voorkomen.

Bemonstering. In alle experimenten is gebruik gemaakt van een zogenaamde dynamische "headspace" verzameling techniek waarbij de geurstoffen in de lucht boven de besmette en niet besmette rozenplanten middels pompjes op buizen wordt verzameld die gevuld zijn met een adsorbens. De bemonstering van de proeven die onder 1.2.1 tot en met 1.2.3 worden beschreven zijn uitgevoerd in een laboratoriumopstelling (zie figuur 2.1). Deze opstelling was in tweevoud aanwezig waardoor er steeds tegelijkertijd twee planten (een met wolluis-besmette plant en een controleplant) konden worden bemonsterd. De bemonstering van de proeven die onder 1.2.5 worden geschreven zijn uitgevoerd in een kasomgeving, en de details van de bemonstering worden in deze paragraaf nader beschreven.



Figuur 2.1 Laboratoriumopstelling voor bemonstering van geurprofielen. Lucht werd aangetrokken met behulp van een elektrische pomp (6), waarbij er 600 ml lucht per minuut door de opstelling stroomde. Eerst werd de binnenkomende lucht gefilterd van onzuiverheden in een actief-kool filter (1) waarna de lucht door een fles met een laagje water en filterpapier (2) werd geleid voor bevochtiging. Vervolgens werd de gezuiverde en bevochtigde lucht vanuit de onderkant door een luchtdichte glazen stolp (3) gevoerd. In deze glazen stolp stond ofwel een met wolluis-besmette plant ofwel een controleplant. Doordat de opstelling in tweevoud aanwezig was werd steeds een met wolluis-besmette en een controleplant tegelijkertijd bemonsterd, waarbij tussen de herhalingen de positie van de behandelingen in de opstelling werd gewisseld. De lucht met de geurstoffen die door de plant in de glazen stolp werden afgescheiden werd vervolgens over een buis met adsorbens (Tenax TA) geleid, waarbij de geurstoffen op het materiaal achterbleven. De gehele opstelling stond onder tweekleurige LED-verlichting, waarbij een dag-nachtritme van 16 uur licht en 8 uur donker is aangehouden.

Data-analyse. Alle monsters (buizen met gevangen geurstoffen) zijn met behulp van gas chromatografie - massa spectrometrie (GC-MS) geanalyseerd. De ruwe gegevens uit de GC-MS analyse zijn met een zogenaamde "untargeted metabolomics workflow" die binnen de BU Bioscience is ontwikkeld bewerkt. Op deze manier kan een groot aantal monsters met elkaar vergeleken worden. De ruwe data worden met een aantal softwarematige stappen (ontwikkelt binnen Wageningen UR) verwerkt waarbij in eerste instantie alle signalen van het massa spectrometer worden beschouwd. Vervolgens wordt bepaald wat echte signalen zijn (geen ruis) en na een kwaliteitscontrole wordt er een representatieve waarde per geurstof berekend. Alle geurstoffen worden in eerste instantie met een willekeurig nummer gelabeld. Vervolgens is onderzocht welke geurstoffen statistisch verschilden tussen de behandelingen. Voor de statistische analyse zijn de waarden van alle geurstoffen log-getransformeerd (base 2). Verder zijn de waarden van de geurstoffen die beneden de detectielimiet vervangen door een random getal tussen de 70% en de 90% van de kleinste waarde in de dataset. Deze statistische analyse moet worden gezien als een eerste screening van potentieel interessante geurstoffen.

2.2.1 Wolluis-geïnduceerde geurstoffen in bloeiende en niet-bloeiende rozenplanten

In dit experiment is onderzocht hoe het geurprofiel verandert in respons op een wolluis aantasting bij bloeiende en niet-bloeiende rozenplanten. Hiervoor zijn voor elk van de volgende 4 behandelingen in totaal 5 planten bemonsterd: a) wolluis aantasting niet-bloeiend, b) controle niet-bloeiend, c) wolluis aantasting bloeiend, d) controle bloeiend. Alle planten zijn tussen de 21-24 dagen voor bemonstering besmet met 12 volwassen wolluis vrouwtjes met eizak. Dit betekende voor planten van de behandeling "niet-bloeiend" dat ze 1-1.5 week nadat de planten (net na de 1^e snoei) bij de rozenkweker waren opgehaald zijn besmet, terwijl dit voor planten van de behandeling "bloeiend" na 2-2.5 weken was. Steeds zijn een met wolluis besmette plant en een controleplant van hetzelfde groeistadium tegelijkertijd bemonsterd gedurende een periode van 5 uur (van 11.00 uur tot 16.00 uur), waarbij de behandelingen bloeiend en niet-bloeiend elke dag werden afgewisseld. Tijdens de bemonstering hadden de planten van de behandeling "bloeiend" gemiddeld 3 open bloemen en 1.5 knoppen. Planten van de behandeling "niet-bloeiend" hadden geen open bloemen, maar wel gemiddeld 1.2 beginnende knoppen. Aan het einde van de proef is op elke plant het aantal wolluizen bepaald. Voor planten van de behandeling "bloeiend" varieerde het aantal wolluizen per plant van 827 tot 2540 met een gemiddelde van 1540. Voor de planten van de behandeling "niet-bloeiend" varieerde het aantal wolluizen per plant van 723 tot 1111 met een gemiddelde van 959.

2.2.2 Invloed van wolluis dichtheid en tijdsduur van wolluis-besmetting op wolluis-geïnduceerde geurstoffen

In dit experiment is onderzocht wat de invloed van de wolluis dichtheid en de tijdsduur van wolluis-besmetting is op wolluis-geïnduceerde geurstoffen. Rozenplanten zijn enkele dagen na de 1^e snoei besmet met een laag aantal (25) 'crawlers' (eerste nimfenstadium van wolluis), een middelhoog aantal (250) 'crawlers', een hoog aantal (500) 'crawlers' besmet, of niet besmet (controleplanten). Voor elk van deze wolluis dichtheidsbehandelingen zijn 4 planten besmet, op achtereenvolgende dagen. Vervolgens zijn deze planten 7 dagen, 14 dagen, 21 dagen en 28 dagen na besmetting steeds opnieuw bemonsterd. Per bemonsteringsdag zijn er steeds 's ochtends en 's middags twee planten tegelijkertijd gedurende een periode van 4 uur bemonsterd, waarbij de volgorde van de 4 verschillende dichtheden volledig was gerandomiseerd. Na afloop van de proef is het aantal wolluizen op alle 16 planten bepaald. Hierbij bleek dat zich toch een klein aantal crawlers tot volwassen vrouwtjes met eizak had ontwikkeld, welke op hun beurt weer nakomelingen hadden gekregen. Hierdoor zaten er na afloop van de proef meer wolluizen op de planten dan aan het begin van de proef. Op de planten die tot de behandeling 'lage wolluisdichtheid' behoorden werden 29-351 wolluizen geteld, met een gemiddelde van 137 wolluizen. Op de planten die tot de behandeling 'middelhoge wolluisdichtheid' behoorden werden 743-2360 wolluizen geteld, met een gemiddelde van 1658, en op de planten die tot de behandeling 'hoge wolluisdichtheid' behoorden werden 1863-2317 wolluizen geteld, met een gemiddelde van 1912. Bovendien bleek één van de controleplanten besmet te zijn met 21 wolluizen. Deze plant is niet meegenomen in de statistische analyse. Verder bleken de planten met een middelhoge en hoge wolluisdichtheid een duidelijk groeiachterstand te hebben ten opzichte van de controleplanten en de planten met een lage wolluisdichtheid, met een reductie in de hoogte van gemiddeld 32% (zie foto 1c). Geen van de planten, behalve één controleplant, is tijdens het experiment gaan bloeien. Deze controleplant had 21 dagen na wolluisbesmetting 1 open bloem ontwikkeld. Omdat de aantallen wolluizen tussen de behandelingen middelhoge en hoge wolluisdichtheid aan het eind van de proef niet bleken te verschillen, en beide behandelingen een vergelijkbare groeiachterstand in de plant teweeg hadden gebracht, is ervoor gekozen om deze twee behandelingen voor de statistische analyse samengenomen onder 'hoge wolluisdichtheid'. Verder zijn de plant en het tijdstip van de dag waarop is bemonsterd (ochtend/middag) meegenomen als zogenaamde random variabelen in de statistische analyse.

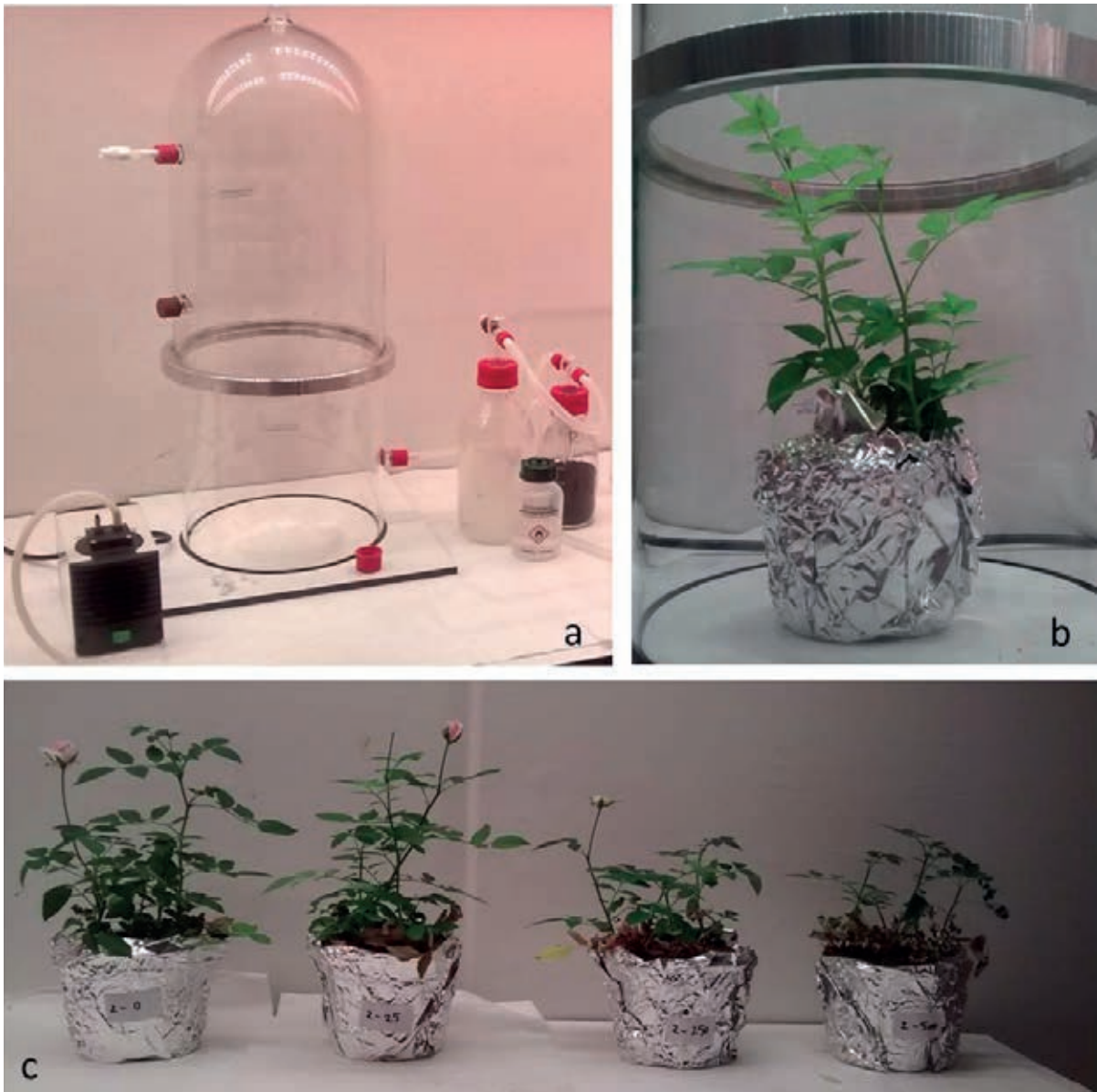


Foto 1 Laboratoriumopstelling voor bemonstering van geurprofielen (a), potroosplant in glazen stolp tijdens bemonstering geurprofiel (b), effect van wolluisdichtheid op groei van potroosplanten, met van links naar rechts de planten zonder wolluis, met lage wolluisdichtheid, middelhoge wolluisdichtheid en hoge wolluisdichtheid. Deze foto is enkele dagen na afloop van de proef genomen (planten waren niet in bloei tijdens de bemonstering van het geurprofiel).

2.2.3 Invloed van bemonsteringsduur en bemonsteringstijdstip op detectie van wolluisgeïnduceerde geurstoffen

In dit experiment is het effect van bemonsteringsduur en bemonsteringstijdstip op de detectie van wolluisgeïnduceerde geurstoffen onderzocht. Er zijn door de tijd heen 3 plantenparen, elk bestaande uit één met wolluis besmette potroosplant en één controleplant, bemonsterd. Planten zijn 1-1.5 weken nadat ze (net na de 1^e snoei) bij de rozenkweker waren opgehaald met wolluis besmet, door op elke 12 volwassen wolluisvrouwtjes met eizak te plaatsen. Bemonstering van het geurprofiel vond drie weken na de besmetting wolluis plaats. Elk plantenpaar is 3 dagen lang, elke dag 6 uur, 3 uur en 1 uur lang bemonsterd. De volgorde van de bemonsteringsduren is steeds gewisseld, waardoor iedere bemonsteringsduur zowel 's ochtends als 's middags is uitgevoerd. Aan het einde van de proef is het aantal wolluizen op elke plant bepaald. Hierbij werden op de drie besmette planten respectievelijk 982, 124 en 711 wolluizen geteld. Geen van de planten had open bloemen tijdens de bemonstering.

In de statistische analyse zijn de hoofdeffecten van wolluisbehandeling, bemonsteringsduur, bemonsteringstijdstip (ochtend/middag), de interactie tussen bemonsteringsduur en bemonsteringstijdstip en de interactie tussen bemonsteringsduur en wolluisbehandeling geanalyseerd. De plant is als een random variabele in het model opgenomen.

2.2.4 Detectie van wolluis-geïnduceerde geurstoffen in de kas

Dit experiment is opgezet met als doel te onderzoeken in hoeverre mogelijke kandidaat-indicator geuren die uit de laboratoriumexperimenten naar voren zijn gekomen ook in een kasomgeving kunnen worden teruggevonden, en zo ja, op welke afstand van de wolluis haard. Het experiment is uitgevoerd in twee kassen van 38 m², ingesteld op 20°C, 80% RV en L:D 16:8. In week 43 zijn in de ene kas 16 met wolluis besmette planten en in de andere kas 16 controleplanten geplaatst, waarvan de met wolluis besmette planten 3 weken voorafgaand aan de eerste bemonstering zijn geïnfecteerd. Binnen de groep van controleplanten zijn 2 pompjes (Gil Air 3 constant flow personal air samplers) geplaatst die lucht vanuit de kas over een buis met absorbens aanzogen. In de kas met wolluis besmette planten werden er in totaal 5 pompjes geplaatst, zowel in het midden, aan de rand en buiten de groep met planten (zie foto 2a). Er is voor alle kasmetingen gekozen om met een bemonsteringsduur van 1 uur te werken. Bemonstering vond voor elke behandeling 1x aan het eind van de ochtend, en 1x aan het begin van de middag plaats.

In week 44 werd in elk van de twee kassen de groep van planten met 128 schone potroosplanten omringd (zie foto 2b). Vervolgens is er bemonsterd met als doel te onderzoeken of een wolluis besmetting ook tegen een achtergrond van schone planten kan worden gedetecteerd. Dit is op 3 verschillende dagen gedaan, bij 3 verschillende flowrates van de pompjes (600 ml lucht/min, 200 ml lucht/min en 50 ml lucht/min).

In week 46 is de groep van 16 planten in het midden van elke kas vervangen met 16 nieuwe planten, om de tijdsduur van wolluis besmetting terug te zetten naar 3 weken. Alle planten (zowel de 16 planten in het midden, als de gezonde planten daaromheen) waren in bloei (zie foto 2c). Met een flowrate van 600 ml/min is er bemonsterd. De dag na deze bemonstering zijn alle planten gesnoeid. Omdat de meeste wolluizen onderin de planten zaten, was het merendeel van de wolluizen gewoon op de plant blijven zitten na snoeien. Eén dag na snoeien zijn de planten opnieuw bemonsterd met een flowrate van 600 ml/min (zie foto 2d).

Aan het einde van de proef is voor zowel de groep van met wolluis besmette planten van week 43 en 44, als voor de groep van met wolluis besmette plant van week 46 het aantal wolluizen op een subset van 4 planten van geteld. Op de subset van planten week 43 en 44 is geteld zaten gemiddeld 274 wolluizen en op de subset van planten van week 46 zaten gemiddeld 226 wolluizen.



Foto 2 Opstelling van planten en pompjes voor luchtbemonstering in de kasexperimenten. Opstelling van 16 met wolluis besmette planten en bemonsteringspompjes in week 43 (a). Opstelling van 16 met wolluis besmette planten omringd door schone planten in week 44 (b). Opstelling van 16 met wolluis besmette bloeiende planten omringd door schone bloeiende planten in week 46 (c). Opstelling van 16 met wolluis besmette gesnoeide planten omringd door schone geschoeide planten in week 46 (d).

2.3 Resultaten

2.3.1 Wolluis-geïnduceerde geurstoffen in bloeiende en niet-bloeiende rozenplanten

Voor 17 verschillende geurstoffen werd een significant effect van groeistadium (bloeiend/niet bloeiend), wolluisbehandeling (wel/geen wolluis) of een interactie tussen deze twee factoren gevonden (zie tabel 2.1).

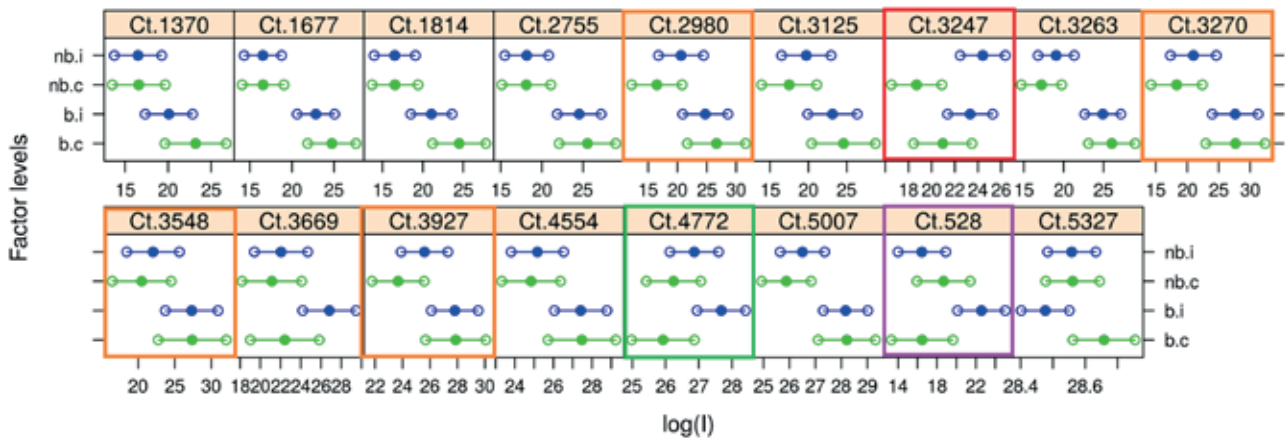
Tabel 2.1

Geurstoffen die significant werden beïnvloed door groeistadium (flowering) en/of wolluis behandeling (treatment).

geurstof	flowering	treatment	flowering : treatment
Ct.528	2.2	6.11**	-8.34**
Ct.1370	-6.61**	-3.1	3.02
Ct.1677	-8.19***	-1.9	1.88
Ct.1814	-7.95**	-3.44.	3.42
Ct.2755	-7.43**	-1	1.05
Ct.2980	-10.16**	-1.91	6.02
Ct.3125	-7.08*	-1.44	3.68
Ct.3247	-2.26	2.36	3.35
Ct.3263	-8.82***	-1.13	2.97
Ct.3270	-9.34**	-0.04	2.7
Ct.3548	-6.9*	-0.07	1.62
Ct.3669	-1.28	4.41*	-3.5
Ct.3927	-4.2**	-0.07	1.99
Ct.4554	-2.63*	-0.06	0.39
Ct.4772	0.32	1.75**	-1.13
Ct.5007	-2.33**	-0.05	0.67
Ct.5327	-0.1	-0.18**	0.18*

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

De verwachte waarden en 95% betrouwbaarheidsintervallen van de 4 behandelingen zijn voor deze 17 geurstoffen weergegeven in figuur 2.2. Hiervan lijkt vooral Ct. 4772 (figuur 2.2, groen kader) interessant, welke zowel in bloeiende en niet-bloeiende planten in significant grotere hoeveelheden aanwezig was in met wolluis besmette planten. Hoewel er geen significante interactie was tussen wolluis behandeling en groeistadium, lijkt het effect van wolluis op deze geurstof wel iets sterker te zijn bij bloeiende planten. Verder is er voor geurstof 528 (figuur 2.2, paars kader) een significant effect van wolluisbehandeling, en dit effect is wel duidelijk afhankelijk van het groeistadium. In bloeiende planten was de hoeveelheid van deze geurstof juist verhoogd in de aanwezigheid van wolluis, terwijl de hoeveelheid bij niet-bloeiende planten juist ietwat lager was in de aanwezigheid van wolluis. Verder leek ook geurstof 3247 (figuur 2.2, rood kader) een interessant patroon te vertonen, maar uit de voorlopige identificatie van deze stof blijkt het hier om een weekmaker te gaan, waarschijnlijk voortgekomen uit een artefact in de proef. De geurstoffen 3927, 2980, 3270 en 3548 zijn allemaal voorlopig als dezelfde geurstof geïdentificeerd (figuur 2.2, oranje kader). Voor deze 4 nummers is inderdaad een vergelijkbaar patroon herkenbaar tussen de 4 behandelingen, waarbij de hoeveelheid geurstof hoger is in bloeiende planten. Alleen bij niet-bloeiende planten lijkt er een lichte verhoging van deze geurstof te zijn in aanwezigheid van wolluis, al is dit niet significant wanneer de 4 nummers apart worden geanalyseerd.



Figuur 2.2 De verwachte waarden en 95% betrouwbaarheidsintervallen van de 4 behandelingen van de 17 geurstoffen met een significant effect van groeistadium en/of wolluisbehandeling. Blauwe lijnen geven de met wolluis besmette planten (i) weer, en groene lijnen de controleplanten (c). De twee bovenste rijen in elk vierkant vertegenwoordigen de niet-bloeiende planten (nb), en de twee onderste rijen de bloeiende planten (b).

2.3.2 Invloed van wolluisdichtheid en tijdsduur van wolluis-besmetting op wolluis-geïnduceerde geurstoffen

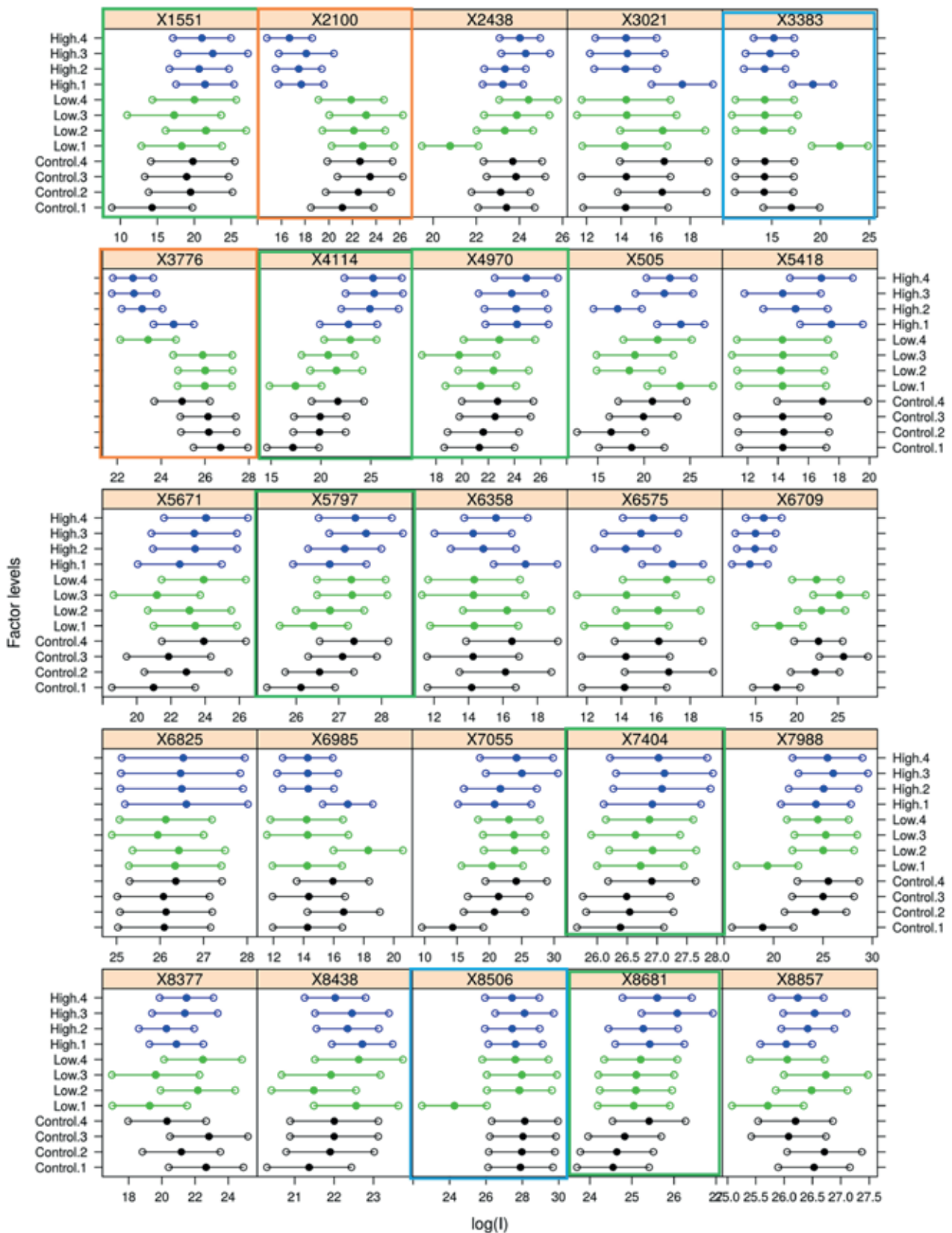
We zien bij hoge wolluisdichtheid duidelijk meer geurstoffen die significant verschilden van de controleplanten dan bij lage wolluisdichtheid. Voor de geurstoffen 1151, 4114, 4970, 5797, 7404 en 8681 (figuur 2.3, groene kaders) gingen de hoeveelheden significant omhoog bij planten met hoge wolluisdichtheid, terwijl voor de geurstoffen 2100 en 3776 (figuur 2.3, oranje kaders) de hoeveelheden juist significant omlaag gingen. Vooral de geurstoffen 4114 en 4970 lijken interessant, omdat ze vrij consistent toenamen met tijdsduur van wolluis besmetting en wolluisdichtheid. Geurstof 3776 kwamen we ook in het vorige experiment tegen (dit had toen nummer Ct. 4772, zie paragraaf 2.3.1), alleen was in aanwezigheid van wolluis de hoeveelheid daar verhoogd, terwijl deze hier juist lager was.

Interessant genoeg waren er ook enkele geurstoffen welke kort na besmetting sterker reageerden op een lage wolluis besmetting dan op een hoge wolluis besmetting (bv geurstoffen 3383 en 8506; figuur 2.3, blauwe kaders). Aan deze geurstoffen is nog geen voorlopige annotatie toegeschreven.

Tabel 2.2

In deze tabel staan alle geurstoffen weergegeven die significant worden beïnvloed door wolluisdichtheid. De dikgedrukte nummers geven de significante ($p < 0.05$) hoofd- en/of interactie effecten van wolluisdichtheid en tijdsduur van wolluis besmetting weer. Hoofdeffecten van wolluisdichtheid staan aangeduid onder L en H. L = effect van lage wolluis dichtheid, H = effect van hoge wolluis dichtheid. Hoofdeffecten van tijdsduur van wolluis besmetting staan aangeduid onder W2, W3, en W4. W2 = verschil tussen 1 en 2 weken na wolluis besmetting, W3 = verschil tussen 1 en 3 weken na wolluis besmetting. W4 = verschil tussen 1 en 4 weken na wolluis besmetting. De kolommen L:W2 tot en met H:W4 staan voor de interacties tussen de verschillende behandelingen.

geur	L	H	W2	W3	W4	L:W2	H:W2	L:W3	H:W3	L:W4	H:W4
X1551	4	7.16	5.21	4.68	5.52	-1.93	-6	-5.7	-3.63	-3.8	-5.94
X2100	1.74	-3.47	1.36	2.35	1.49	-2.13	-1.57	-2.08	-1.92	-2.49	-2.49
X2438	-2.61	-0.16	-0.26	0.44	0.29	2.8	0.36	2.65	0.61	3.34	0.49
X3021	-0.04	3.27	2.11	0.03	2.23	0.08	-5.39	0.07	-3.21	-2.16	-5.49
X3383	4.97	2.21	-2.8	-2.76	-2.73	-5.01	-2.16	-4.93	-1.63	-4.98	-1.28
X3776	-0.72	-2.14	-0.54	-0.57	-1.76	0.56	-0.9	0.48	-1.23	-0.83	-0.1
X4114	0.26	5.58	2.67	2.74	4.51	1.43	-0.51	0.54	-0.15	1	-2.04
X4970	0.1	2.87	0.29	1.2	1.4	0.69	-0.35	-2.85	-1.6	0.03	-0.68
X505	5.25	5.32	-2.23	1.27	2.25	-3.28	-4.61	-6.17	-3.06	-4.7	-3.42
X5418	-0.02	3.19	0.06	-0.01	2.61	-0.17	-2.42	0.05	-3.19	-2.62	-3.27
X5671	2.44	1.53	1.92	0.88	2.94	-2.26	-1.03	-3.13	-0.03	-2.45	-1.41
X5797	0.3	0.68	0.44	0.98	1.24	-0.05	-0.08	-0.08	-0.12	-0.36	-0.64
X6358	0.15	3.13	1.96	0.08	2.34	-0.05	-4.41	-0.12	-3.12	-2.35	-4.05
X6575	0.11	2.78	2.57	0.07	1.98	-0.73	-5.29	-0.08	-1.91	0.36	-3.09
X6709	0.33	-3.23	4.7	8.16	5.1	0.43	-4.07	-0.84	-7.48	-0.57	-3.42
X6825	0.25	0.51	0.04	-0.02	0.26	0.04	-0.15	-0.38	-0.11	-0.48	-0.34
X6985	-0.02	2.68	2.4	0.09	1.69	1.65	-5.03	-0.06	-2.74	-1.72	-4.35
X7055	6.13	6.5	6.47	7.11	9.83	-3.03	-5.59	-3.73	-2.9	-7.25	-6.45
X7404	0.34	0.53	0.16	0.1	0.53	0.05	0	-0.19	0.1	-0.37	-0.42
X7988	0.48	5.39	5.34	6.12	6.64	0.31	-4.55	-0.2	-4.37	-1.55	-5.47
X8377	-3.4	-1.79	-1.49	0.17	-2.35	4.39	0.89	0.19	0.34	5.56	2.96
X8438	1.19	1.35	0.53	0.63	0.64	-1.61	-0.91	-1.27	-0.89	-0.57	-1.32
X8506	-3.64	-0.27	0.07	0.13	0.24	3.5	-0.25	3.58	0.36	3.12	-0.42
X8681	0.5	0.87	0.09	0.28	0.86	-0.04	-0.25	-0.22	0.38	-0.7	-0.68
X8857	-0.82	-0.49	0.18	-0.45	-0.33	0.59	0.2	1.47	0.95	0.67	0.53



Figuur 2.3 De verwachte waarden en 95% betrouwbaarheidsintervallen van alle behandelingencombinaties voor de geurstoffen waarop wolluis dichtheid een hoofdeffect had. Blauwe lijnen geven de hoge wolluisdichtheid weer ("High"), groene lijnen de lage wolluisdichtheid ("Low"), en zwarte lijnen de controleplanten ("Control"). De nummers 1, 2, 3 en 4 staan voor het aantal weken na wolluisbesmetting waarop is bemonsterd.

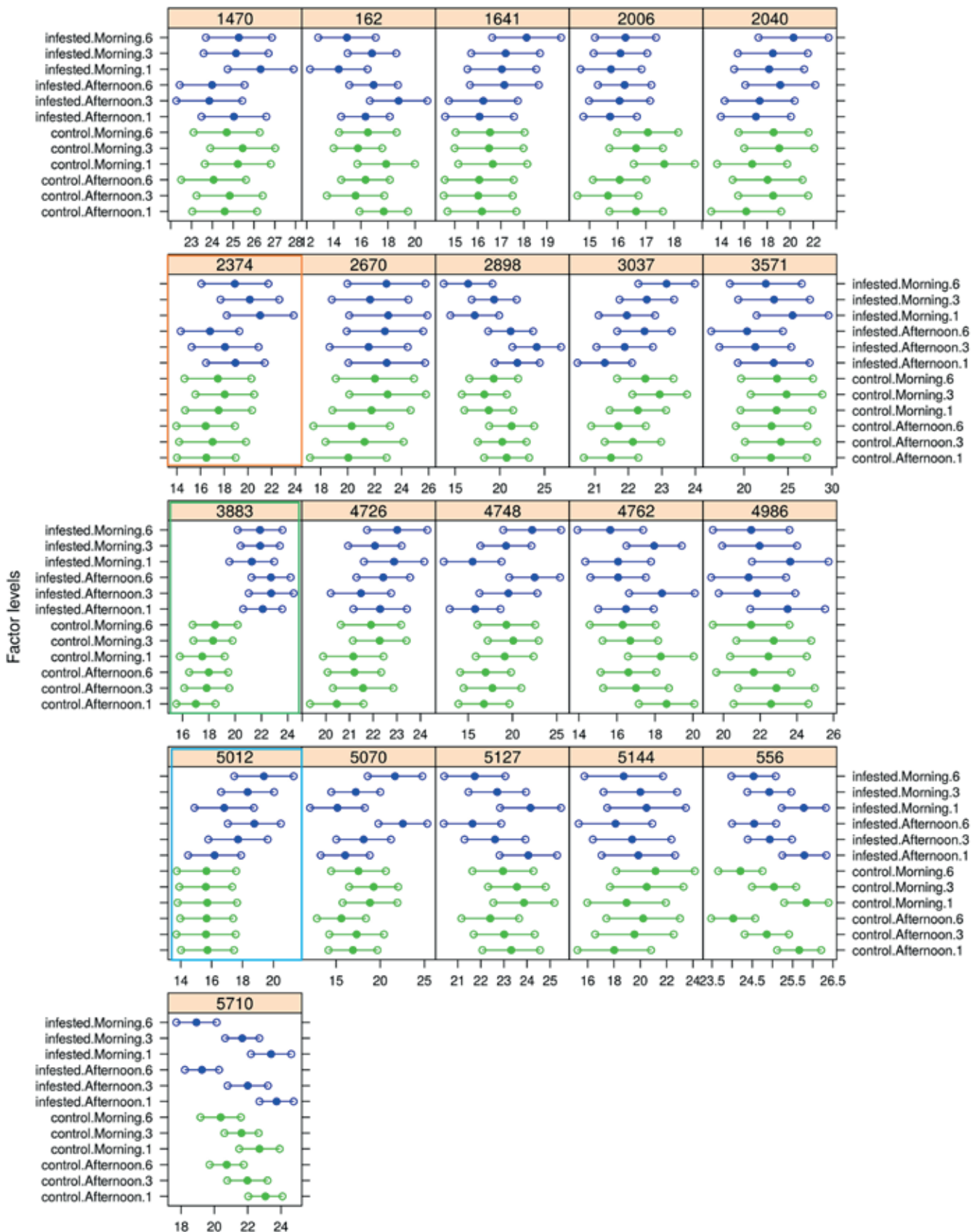
2.3.3 Invloed van bemonsteringsduur en bemonsteringstijdstip op detectie van wolluisgeïnduceerde geurstoffen

Uit deze proef bleek dat veel meer geurstoffen gevoelig waren voor bemonsteringstijdstip dan voor de aanwezigheid van wolluis. Maar liefst 47 geurstoffen reageerden significant op het bemonsteringstijdstip tegen "slechts" 7 geurstoffen die significant op de aanwezigheid van wolluis reageerden. Hiervan lijkt vooral geurstof 3883 interessant (figuur 2.4, groene kader). Voor deze geurstof is de hoeveelheid geur altijd groter in aanwezigheid van wolluis, onafhankelijk van het bemonsteringstijdstip en de bemonsteringsduur. Voor 2 geurstoffen (nummers 2898 en 5070) was de reactie op de aanwezigheid van wolluis (mede) afhankelijk van het bemonsteringstijdstip. Verder bleek voor 10 geurstoffen het effect van de aanwezigheid wolluis op de hoeveelheid geur af te hangen van de bemonsteringsduur. Van deze geurstoffen lijkt vooral 5012 interessant (figuur 2.4, blauwe kader). Voor deze geurstof geldt: hoe langer de bemonsteringsduur, hoe groter het verschil in de hoeveelheid geur tussen met wolluis besmette planten en controleplanten. Voor geurstof 2374 was er alleen een significant effect van bemonsteringstijdstip. Echter lijkt het erop dat vooral 's ochtends, en alleen bij 1 uur bemonstering, een toename in de hoeveelheid geurstof kan worden waargenomen (figuur 2.4, oranje kader). Door verzadiging van de hogere pieken bleek het lastig om de geurstoffen op naam te brengen. Ook moet hiermee rekening gehouden worden bij de interpretatie van de statistische gegevens.

Tabel 2.3

In deze tabel staan alle geurstoffen weergegeven die significant worden beïnvloed door wolluisbesmetting. De dikgedrukte nummers geven de significante ($p < 0.05$) hoofd- en/of interactie effecten van wolluisdichtheid en tijdsduur van wolluis besmetting weer. Het hoofdeffect van bemonsteringstijdstip (ochtend/middag) staat aangeduid onder 'Aft', waarbij 'Aft' staat voor middag. Het hoofdeffect van wolluis besmetting staat aangeduid met 'Inf'. De hoofdeffecten van bemonsteringsduur staan aangeduid onder 'D3' en 'D6'. D3 = verschil tussen 1 en 3 uur lang bemonsteren. D6 = verschil tussen 1 en 6 uur lang bemonsteren. De kolommen 'Aft:Inf', 'Inf.3' en 'Inf.6' staan voor de interacties tussen de verschillende behandelingen.

geur	Aft	Inf	D3	D6	Aft:Inf	Inf.3	Inf.6
162	-0.17	-3.5	-2.08	-1.35	2.14	4.53	1.95
556	-0.18	-0.06	-0.8	-1.64	0.19	-0.05	0.39
1470	-0.63	1.1	0.24	-0.53	-0.66	-1.42	-0.51
1641	-0.47	0.39	-0.16	-0.12	-0.5	0.33	1.19
2006	-1	-1.89	-1	-0.58	0.97	1.33	1.1
2040	-0.52	1.47	2.35	1.86	-0.62	-2.02	0.25
2374	-1.03	3.51	0.52	-0.06	-1.06	-1.39	-2.08
2670	-1.72	1.25	1.2	0.25	1.6	-2.55	-0.39
2898	2	-1.57	-0.5	0.56	2.76	2.67	-1.3
3037	-0.8	-0.33	0.65	0.22	0.14	-0.06	0.96
3571	-0.63	1.82	1.14	0.06	-1.51	-3.24	-3.1
3883	-0.49	3.77	0.82	0.98	1.32	-0.18	-0.35
4726	-0.7	1.72	1.11	0.75	0.11	-1.93	-0.62
4748	-2.34	-3.62	0.96	0.18	2.62	2.8	6.54
4762	0.3	-2.25	-1.61	-2.01	0.11	3.5	1.59
4986	0.14	1.19	0.29	-0.94	-0.28	-1.96	-1.18
5012	0.01	1.09	-0.1	-0.06	-0.63	1.61	2.63
5070	-1.93	-3.7	0.41	-1.31	2.82	1.67	7.84
5127	-0.55	0.29	-0.31	-0.91	0.45	-1.14	-1.51
5144	-0.93	1.52	1.53	2.2	0.31	-2	-3.93
5710	0.36	0.7	-1.08	-2.32	-0.03	-0.65	-2.15



Figuur 2.4 De verwachte waarden en 95% betrouwbaarheidsintervallen van alle behandlungscombinaties voor die geurstoffen waarop wolluis besmetting een effect had (dit kon een hoofdeffect van wolluis besmetting zijn, of er een interactie effect van wolluis besmetting met bemonsteringsduur en/of bemonsteringstijdstip). Blauwe lijnen geven de met wolluis besmette planten weer ("infested") en de groene lijnen geven de controleplanten weer ("control"). De nummers 1, 3 en 6 staan voor het aantal uren dat is bemonsterd. "Afternoon" betekent dat er 's middags is bemonsterd, en "Morning" betekent dat er 's ochtends is bemonsterd.

2.3.4 Detectie van wolluis-geïnduceerde geurstoffen in de kas

In eerste instantie zijn de data van week 43 en week 44 (alleen bij de hoogste flowrate) onderzocht. Hiervan waren er in week 43 (geen schone achtergrondplanten) in totaal 6 metingen verricht binnen de groep van 16 met wolluis besmette planten en 4 metingen binnen de groep van 16 controleplanten. In week 44 (wel schone achtergrondplanten) waren er 2 metingen verricht binnen de groep van met wolluis besmette planten en 4 metingen binnen de groep van controleplanten. In totaal zijn er voor beide datasets 248 signalen geclusterd tot geurstoffen. Het is geconstateerd dat er duidelijke verschillen in de gemeten geurpatronen van de lab- en van de kasexperimenten waren. Dit kan door een aantal factoren in de proefopzet en de omgeving verklaard worden. Het is vooralsnog niet gelukt om voor deze datasets de geurstoffen die in de verschillende laboratoriumexperimenten significant verschilden tussen de met wolluis besmette planten en controleplanten te detecteren. Echter moet hierbij worden vermeld dat het vooralsnog niet haalbaar is gebleken om binnen dit project alle data uit de kasexperimenten volledig en diepgaand te analyseren en de geurstoffen op naam te brengen.

2.4 Conclusies en aanbevelingen

In voorafgaand onderzoek is er een onderscheid gevonden tussen de geurprofielen van planten met een (zware) wolluis besmetting, controleplanten en rozenplanten met mechanische schade en schade door spint. Voortbouwend hierop zijn in elk van de vervolggexperimenten meerderde geurstoffen gevonden die significant verschilden tussen planten met een wolluisbesmetting en planten zonder wolluisbesmetting. Een aantal factoren bleken er een grote invloed op het afgegeven geurpatroon te hebben, het groeistadium van de plant (bloeiend/niet bloeiend), van het tijdstip van de dag waarop is bemonsterd, van de wolluisdichtheid en van de tijdsduur van wolluis besmetting. Sommige geurstoffen namen vrij consistent toe met de tijdsduur van wolluis besmetting en wolluisdichtheid (zie resultaten beschreven onder 1.3.2), maar konden in de andere vervolggexperimenten vooralsnog niet duidelijk aangetoond. Voor een andere geurstof was er als reactie op wolluis besmetting in het ene experiment zelfs een significante toename, terwijl in het andere experiment een significante afname was waargenomen. Verder hing de detectie van verschillende geurstoffen nauw samen met de bemonsteringsduur (zie resultaten beschreven onder 1.3.3). De geurstoffen die in de verschillende laboratoriumexperimenten significant verschilden tussen met wolluis besmette planten en controleplanten konden vooralsnog niet bij 1 uur bemonstering in de kas worden gedetecteerd.

Uit dit onderzoek zijn nog geen onderscheidende kandidaat indicator-geurstoffen van een (beginnende) wolluisaantasting gevonden die betrouwbaar onder alle geteste omstandigheden naar voren gekomen. Biologisch gezien is het echter niet vreemd dat er zoveel variatie is in de gemeten plantengeuren. Planten reageren op aantasting door ziektes en plagen door het aanschakelen van planthormoon-gedreven verdedigingsroutes, waarvan de jasmonzuur- en salicylzuurroute de bekendste zijn. Uiteindelijk resulteert de keten van reacties binnen zo'n verdedigingsroute onder andere in het afscheiden van geurstoffen door de plant. Veel eiwitten die betrokken zijn bij de biosynthese kunnen uit dezelfde voorlopers een hele reeks van stoffen maken. Kleine variaties in de omzettingen binnen de reactieketen kunnen daarom voor grote verschillen in het geurprofiel zorgen. Om deze variatie in het geurprofiel te begrijpen, zouden niet alleen de geurstoffen zelf, maar ook de reactieketen die hieraan voorafgaat beter in beeld moeten worden gebracht. Op die manier zouden we beter kunnen gaan begrijpen welke geurstoffen onder welke omstandigheden worden aangemaakt als respons op een wolluis aantasting, waar dan vervolgens met de ontwikkeling van een detectiemethode rekening mee kan worden gehouden. Ook verdere analyse van de huidige datasets zou nog additionele inzichten kunnen opleveren. Het is tot dusver niet haalbaar gebleken om binnen dit project alle data volledig en diepgaand te analyseren, en alle interessante geurstoffen op naam te brengen. Dit geldt zeker voor de datasets van de kasexperimenten, maar ook de datasets van de laboratoriumexperimenten zouden nog meer belangrijke informatie kunnen bevatten.

In de context van al deze variatie aan geurstoffen lijkt het misschien vreemd dat insecten wél op een goede manier gebruik weten te maken van plantengeuren om hun voedsel te vinden. Echter hebben insecten twee belangrijke voordelen ten opzichte van elektronische apparatuur. In de eerste plaats is het reukorgaan van insecten voor veel geurstoffen vaak vele malen gevoeliger is dan wat met elektronische apparaten kan worden bereikt. Er zijn dan ook verschillende voorbeelden bekend waarbij insecten worden aangetrokken of afgestoten door geurstoffen die slechts in zeer geringe hoeveelheden door planten worden afgescheiden (McCormick *et al.* 2014). Ten tweede kunnen insecten hun voorkeuren voor specifieke geurprofielen zeer snel aanpassen door associatief leren, waardoor ze beter met variatie in hun omgeving kunnen omgaan. Het opnieuw programmeren van een elektronisch apparaat zal daarentegen een veel tijdrovender en moeilijker proces zijn. Al met al zal het nog veel onderzoek vergen voordat een toepassing in de vorm van een elektronisch detectieapparaat van wolluis-geïnduceerde plantengeuren in beeld komt. Daarom lijkt het slim om ook naar alternatieve ontwikkelingen te kijken. Zo zijn er in het laatste decennium een aantal mobiele apparaatjes ontwikkeld op basis van geurdetectie door insecten die op specifieke geurprofielen zijn getraind, en waarbij de respons van de insecten op geuren automatisch kan worden verwerkt (samengevat in Rains *et al.* 2008). Ook de mogelijkheden voor detectiemethoden van wolluis op basis van vision-technieken zou verdere kunnen worden verkend. Wellicht ligt de oplossing juist in de combinatie van deze verschillende technieken.

3 Integreerbare middelen

3.1 Inleiding

Bij de bestrijding van wol- en schildluis is het vaak wenselijk om middelen in te zetten die goed integreerbaar zijn met natuurlijke vijanden die tegen andere plagen worden ingezet. Verschillende alternatieve middelen zoals bepaalde botanicals, zepen of suikerpolymeren zijn niet selectief, maar wel beter integreerbaar dan de neonicotinoïden door hun korte nawerking. De inzet van natuurlijke vijanden kan bij korte nawerking veel sneller worden hervat dan wanneer middelen zijn gebruikt die soms maanden lang een nawerking hebben op natuurlijke vijanden. Van een aantal van deze middelen is de werking op wolluis nog onbekend. Daarnaast is de werking van een aantal nieuwe insecticiden waarvan binnenkort een toelating wordt verwacht ten opzichte van de standaard middelen nog niet bekend. In dit onderzoek zijn verschillende middelen eerst in het laboratorium getest. De 5 meest perspectiefvolle middelen zijn vervolgens op plantniveau in twee kasproeven tegen wol- en schildluis getest.

3.2 Materiaal en methoden

3.2.1 Screening van middelen tegen wol- en schildluis door onderdompeling

In het laboratorium zijn 13 middelen gescreend op hun effect op citruswolluis, *Planococcus citri* en/of rozenschildluis *Aulacapsis rosae* (Tabel 3.1). Rozen die besmet waren met wolluis of schildluis werden in stukjes geknipt zodat er per takje ca. 50 wolluislarven of 90 schildluizen aanwezig waren. Schildluis was afkomstig van cv Red Naomi en wolluis van cv Flamingo Jewel. Per takje werd in een voortelling het exacte aantal bepaald. Vervolgens werden deze takjes gedurende 5 seconden ondergedompeld in een spuitvloeistof met middel. De doseringen zijn weergegeven in Tabel 3.1. Als controlebehandeling is onderdompeling in water meegenomen. Na de dompeling werden de takjes gedroogd bij kamertemperatuur en in bakjes weggezet bij in een klimaatkast bij 20°C en 80% luchtvochtigheid en 16 uur licht/dag. Na 7 dagen werden de takjes onder de binoculair beoordeeld en werd het aantal dode en levende wol- of schildluizen geteld.

Tabel 3.1

Chemische middelen en de doseringen waarbij ze zijn getest in laboratoriumproeven tegen wol- en schildluis.

Middel	werkzame stof	fabrikant	dosering per 100 l water
Teppeki	flonicamid	Belchim	14 g
AC 1513	-	Bayer	75 ml
AC 1606	-	Bayer	75 ml
AE/esp001	-	Biobest	300 ml
Dre 200 BE	-	Denka	150 ml (advies 300 ml)
Silwet gold	heptamethyltrisiloxaan	Certis	150 ml (advies 20-30 ml)
Spruzit R	pyrethrinen/ koolzaadolie	Ecostyle	150 ml
ER II	maltodextrine	Certis	2500 ml
Neem Azal	azadirachtine (neem extract)	Nufarm	250 ml (advies voor roos 125 ml)
BCP425D	-	Bipa	250 ml (advies voor roos 125 ml)
Algeco	Ascophyllum nodosum (zeewier)	Ecostyle	500 ml
PAI03001	buprofezin	Certis	80 ml
VBC Ultra	kresol/zeep	Nufarm	6300 ml

3.2.2 Kasproef met nieuwe middelen tegen wolluis

Voor het testen van bespuitingen met middelen tegen wolluis op planten zijn 5 middelen geselecteerd (Tabel 3.2) die werden vergeleken met een het standaardmiddel Teppeki en een controlebehandeling met water. Totaal dus 7 behandelingen die zijn uitgevoerd in 4 herhalingen. De proef werd uitgevoerd op potrozen van het cultivar Flamingo Jewel (De Ruiter). De planten waren schoon van chemische middelen, net na de eerste knip. De planten werden geplaatst op tafels van elk 4 m² in een kas van 144 m². Planten werden voorzien van voeding en water met een systeem van druppelaars. Klimaatinstellingen werden ingesteld op 20 °C en 80% luchtvochtigheid. De planten werden besmet met wolluis door per plant 2 vrouwtjes met eizak aan te brengen in week 12. Dit werd herhaald in week 13 en 14 om een gemengde wolluispopulatie te krijgen. In week 17 werd per plant het aantal wolluizen geteld en planten werden geclusterd in blokken op basis van deze tellingen. De eerste bespuiting werd uitgevoerd een dag na de voortelling, vroeg in de ochtend, op een bewolkte dag. Er werd 1 liter van het spuitvloeistof van elk middel voorbereid. Voor de bespuiting werden de planten per behandeling op aparte tafel gezet. De bespuitingen werden uitgevoerd met een spuitstok, type Birchmeier Spray- Matic 5S, bij een druk van 3 bar. De planten werden gespoten tot run-off van het middel. Het overgebleven vloeistof werd gemeten, er werd gemiddeld 75 ml middel per plant gespoten. De bespuitingen werden 3 keer uitgevoerd met het interval van één week. Bij de tweede en derde behandeling werd er circa 95 ml middel per plant gespoten.

Tabel 3.2

Chemische middelen en de doseringen waarbij ze zijn getest in een kasproef tegen de citruswolluis op roos.

Behandeling	Fabrikant	Werkzame stof	Dosering per 100 L water
Teppeki	Belchim	flonicamid	28 gr
Silwet gold	Certis	heptamethyltrisiloxaan	100 ml
BCP425D	Bipa	-	200 ml
PAI03001	Certis	-	80 ml
AC 1513	Bayer	-	75 ml
Dre 200 BE	Denka	-	300 ml

* Dit is géén adviesdosering van de fabrikant, maar besloten in overleg met de begeleidingscommissie.

In totaal werden er 6 waarnemingen uitgevoerd. De eerste vond plaats één week na de eerste bespuiting. Aantallen van levende wolluizen per plant werden gescoord, de wolluizen werden geteld per stadium: crawlers en tweede nimfenstadium, derde nimfenstadium (ook wel larven genoemd) en jonge vrouwtjes, vrouwtjes met eizakken. De laatste waarneming werd uitgevoerd 7 weken na de eerste bespuiting. Bij elke waarneming werden ook fytoxische reacties van de plant geobserveerd en genoteerd.

3.2.3 Kasproef met nieuwe middelen tegen schildluis

Net als bij wolluis zijn ook voor rozenschildluis 5 middelen geselecteerd voor een kasproef (Tabel 3.3) die werden vergeleken met een het standaardmiddel Teppeki en een controlebehandeling met water. Totaal dus 7 behandelingen die zijn uitgevoerd in 4 herhalingen. De proef werd uitgevoerd op jonge rozenplanten van het cultivar Red Naomi (Schreurs). Deze werden in week 21 op steenwol matten gezet op teelttafels in een kasafdeling van 144 m² (Fig. 3.1.). Planten werden aangesloten aan druppelaars voor de water en nutriëntenvoorziening. Het klimaat was ingesteld op 20 °C en 80% luchtvochtigheid. Dezelfde week werden er takjes van rozen besmet met schildluis vanuit de praktijk gehaald en in de steenwol blokken bij de proefrozen gezet. In week 33 was de infectie van schildluis voldoende om de proef te beginnen (Fig. 3.1). Tussen week 21 en begin van de proef in week 33 werden de planten vijf keer met dodemorf (Meltatox) tegen meeldauw behandeld. Planten werden nagekeken en aantallen van schildluizen werden gescoord. Op basis daarvan werden de planten in blokken verdeeld en over de teelttafels per herhaling verspreid.

De eerste bespuiting werd uitgevoerd één dag na de voortelling. In totaal werd er 3x gespoten met een interval van een week. Alle drie bespuitingen werden vroeg in de ochtend uitgevoerd. Er werd 1 liter van het spuitvloeistof van elk middel voorbereid. Voor de bespuiting werden de planten per behandeling op aparte tafel gezet. De bespuitingen werden uitgevoerd met een spuitstok, type Birchmeier Spray- Matic 5S, bij een druk van 3 bar. De planten werden gespoten tot run- off van het middel. Na de bespuiting werden de planten terug op de juiste plek gezet en aan de druppelaar aangesloten. Het overgebleven vloeistof werd gemeten, er werd gemiddeld 120 ml middel per plant gespoten.

Tabel 3.3

Chemische middelen en de doseringen waarbij ze zijn getest in een kasproef tegen de rozenschildluis op roos.

Behandeling	Fabrikant	Werkzame stof	Dosering per 100 L water
Teppeki	Belchim	flonicamid	28 gr
Silwet gold	Certis	heptamethyltrisiloxaan	100 ml
Promanal R	Eco style	natuur pyrethrum/ koolzaadolie	5 g/ 825,3 g
Applaud	Certis	buprofezin	80 ml
AC 1513	Bayer	-	75 ml
Envidor	Bayer	spirodiclofen	40 ml

* Dit is géén adviesdosering van de fabrikant, maar besloten in overleg met de begeleidingscommissie.

In totaal werden er 2 waarnemingen uitgevoerd: in week 36 en 38, 1 en 3 weken na de laatste bespuiting. Daarbij werden de aantallen van levende schildluizen per plant gescoord, de schildluizen werden geteld per 3 categorieën: crawlers en eerste nimfenstadium dat niet meer beweegt, tweede nimfenstadium met schildje, jonge vrouwtjes en vrouwtjes met eieren. Bij de waarneming werden ook fytoxische reacties van de plant geobserveerd en genoteerd.

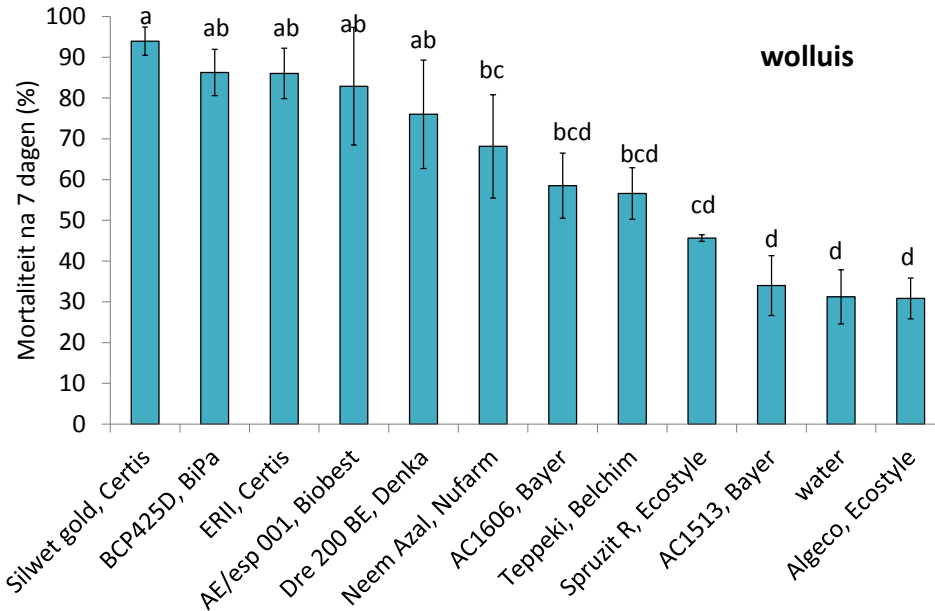


Figuur 3.1 Rozenplanten van cultivar Red Naomi besmet met de rozenschildluis voor het testen van middelen.

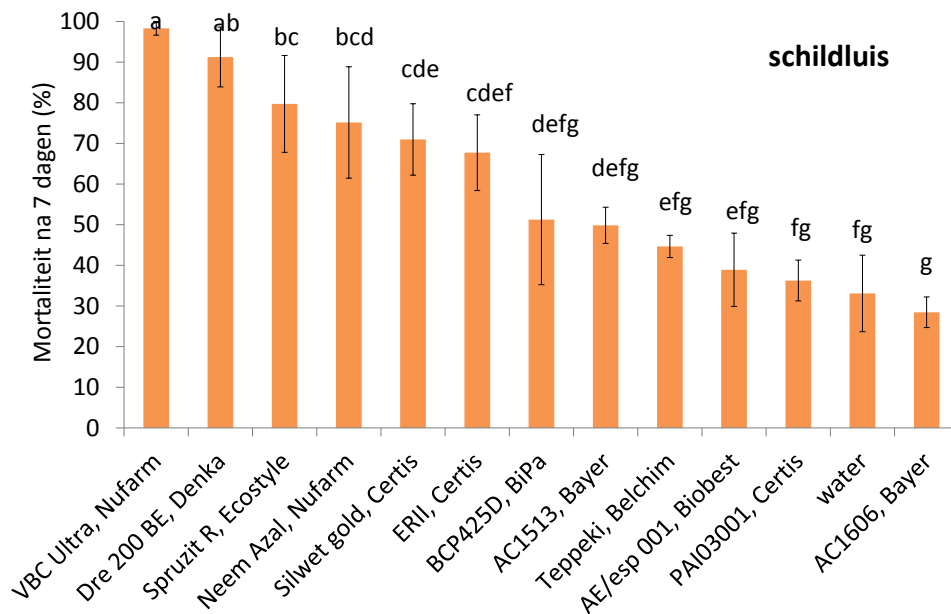
3.3 Resultaten

3.3.1 Screening van middelen tegen wol- en schildluis door onderdompeling

De effecten van onderdompeling van wol- en schildluizen op de overleving zijn weergegeven in figuur 3.2 en 3.3. De mortaliteit varieerde in beide proeven van 30 tot 100%. Ook bij de waterbehandeling stierf gemiddeld 30 % van de wol- en schildluizen.



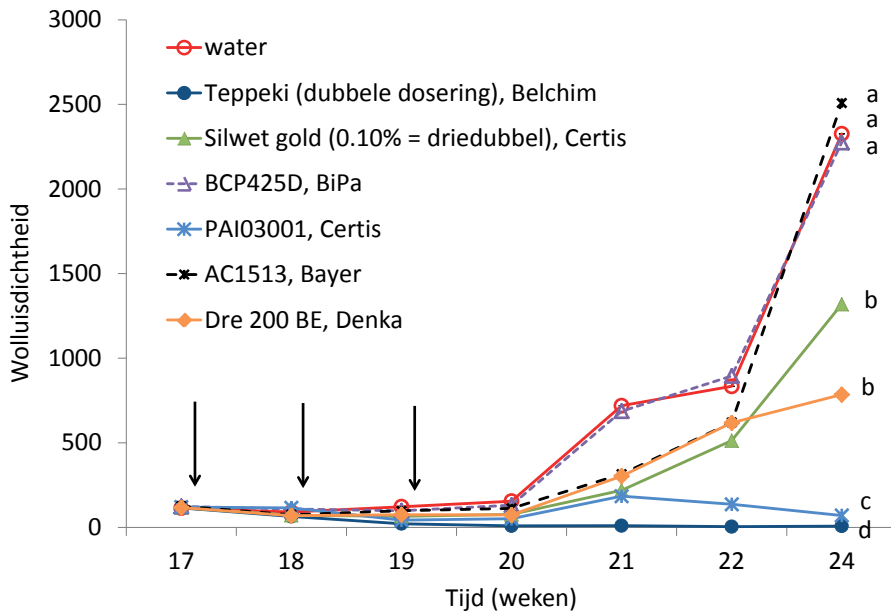
Figuur 3.2 Gemiddeld percentage dode wolluizen 7 dagen na onderdompeling met verschillende middelen. Verschillende letters tussen staven geven significante verschillen tussen behandelingen aan ($p < 0.05$).



Figuur 3.3 Gemiddeld percentage dode schildluizen 7 dagen na onderdompeling met verschillende middelen. Verschillende letters tussen staven geven significante verschillen tussen behandelingen aan ($p < 0.05$).

3.3.2 Kasproef met nieuwe middelen tegen wolluis

Bij de kasproef was het middel Teppeki het meest effectief in de bestrijding van wolluis (Fig. 3.4). Het nieuwe middel PAI03001 was ook zeer effectief en reduceerde de wolluisdichtheden tot bijna nul (Fig. 3.1). Het middel DRE 200 BE had net als Silwet gold een significant effect op wolluis, maar was ook zeer fytoxisch (Fig. 3.4 en 3.6). De overige middelen hadden géén significant effect op wolluis en de wolluisen bereikten hoge dichtheden (Fig. 3.4 en 3.5). Het middel AC1513 van Bayer had tot en met week 22 een significant effect op wolluis, maar de uiteindelijke dichtheden waren niet significant lager dan bij onbehandeld (Fig. 3.4).



Figuur 3.4 Gemiddelde populatieontwikkeling van wolluis op potrozen na 3 toepassingen van verschillende middelen in week 17, 18 en 19 (pijlen). Behandelingen verschillen significant over de tijd heen wanneer de letters bij de lijnen verschillend zijn ($p < 0.05$).



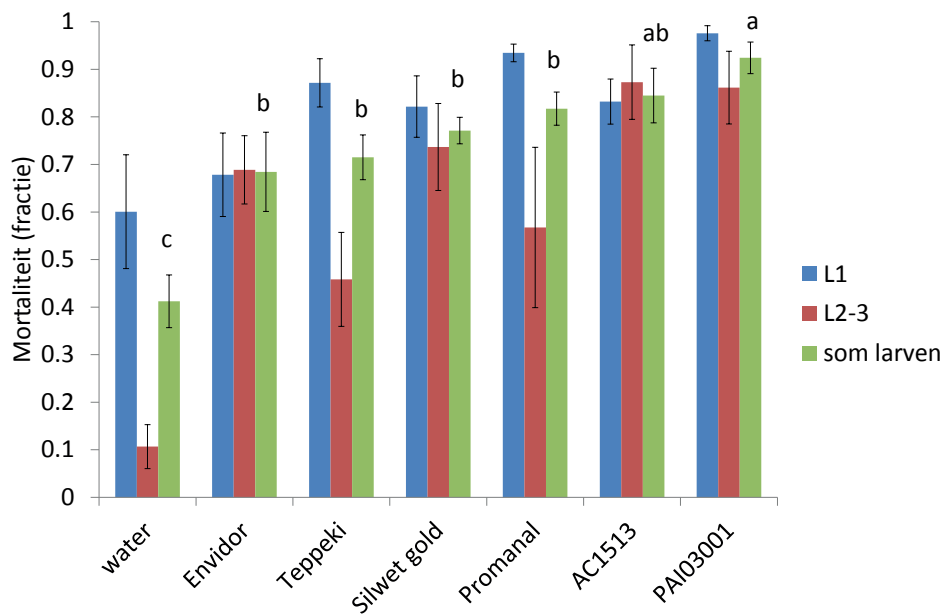
Figuur 3.5 Besmetting met wolluis in de controlebehandeling aan het einde van de kasproef (week 24).



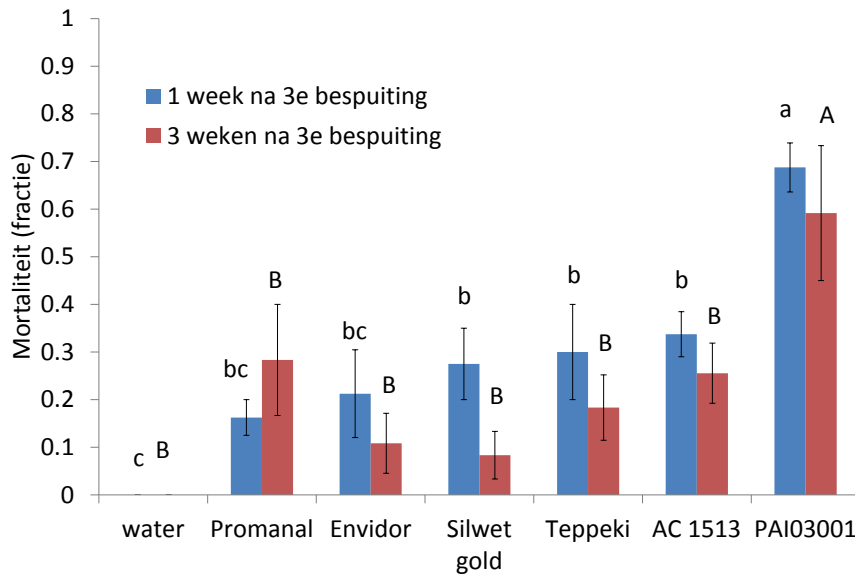
Figuur 3.6 Fytotoxiciteit bij toepassing met het middel Dre200 BE van Denka in week 20 (links) en week 24 (rechts).

3.3.3 Kasproef met nieuwe middelen tegen schildluis

Net als bij wolluis gaf ook bij schildluis het middel PAI03001 de beste bestrijding van de nieuwe middelen, zowel bij de onvolwassen stadia (Fig. 3.7) als bij de volwassen vrouwtjes (Fig. 3.8).



Figuur 3.7 Gemiddelde fractie dode larven van schildluis 21 dagen na bespuitingen met verschillende middelen. Verschillende letters tussen staven geven significante verschillen tussen behandelingen aan voor de som van schildluislarven ($p < 0.05$).



Figuur 3.8. Gemiddelde fractie dode vrouwtjes van schildluis 7 en 21 dagen na bespuitingen met verschillende middelen. Verschillende letters tussen staven geven significante verschillen tussen behandelingen aan per tijdstip ($p < 0.05$).

3.4 Conclusies en aanbevelingen

Het testen van middelen door onderdompeling kan tot een overschatting van het effect leiden. Sommige middelen waren zeer effectief in de dompeltest, maar totaal niet in de kasproef, zoals bijvoorbeeld het geval was bij het middel BCP425D van Bipa. Het is daarom aan te bevelen om de effectiviteit van middelen tegen wol- en schildluis altijd op plantniveau met bespuitingen uit te voeren.

Zowel bij wolluis als schildluis was van de nieuwe middelen het middel PAI03001 van Certis het meest effectief in de bestrijding van de beide plagen. Bij wolluis gaf naast Teppeki en Silwet gold ook het nieuwe middel Dre200 BE van Denka een significant effect op wolluis. Het middel was echter zwaar fytotoxisch. Mogelijk dat een lagere dosering nog steeds effect geeft zonder fytotoxisch te zijn. Het is dus aan te bevelen om voor dit middel eerst fytotoxiciteitstesten uit te voeren. Bij schildluis konden naast PAI03001 de middelen Teppeki, Silwet gold, Promanal R, AC 1513 en Envidor de schildluisdichtheden reduceren.

4 Entomopathogene schimmels tegen wolluis

4.1 Inleiding

Entomopathogene schimmels zijn schimmels die insecten en mijten infecteren en doden. Enige dagen na infectie groeien de schimmels uit hun gastheer en beginnen te sporuleren. Met de sporen die ze afgeven kunnen weer andere insecten of mijten geïnfecteerd worden. Deze schimmels zijn vaak redelijk specifiek, waardoor ze in de meeste gevallen goed integreerbaar zijn met inzet van natuurlijke vijanden. In Nederland is een aantal van deze schimmels op de markt (Tabel 4.1). Deze schimmels worden hoofdzakelijk ingezet tegen wittevlies, trips en spint. Bij wol- en schildluis is relatief weinig bekend over de mogelijkheden voor bestrijding met entomopathogene schimmels. Waarschijnlijk worden deze plagen minder snel geïnfecteerd doordat ze beschermd zijn met een waslaag (wolluis) of een moeilijk doordringbaar schild (schildluis). Recent is in Turks onderzoek aangetoond dat de citruswolluis vatbaar kan zijn voor de schimmel *Isaria farinosa* (Demirci et al., 2011). Dit isolaat bleek echter niet beschikbaar te zijn voor verder onderzoek en de resultaten tot nu toe zijn beperkt gebleven tot laboratoriumonderzoek. In dit onderzoek hebben we 22 isolaten van entomopathogene schimmels getest op hun potentie om citruswolluis te infecteren.

Tabel 4.1

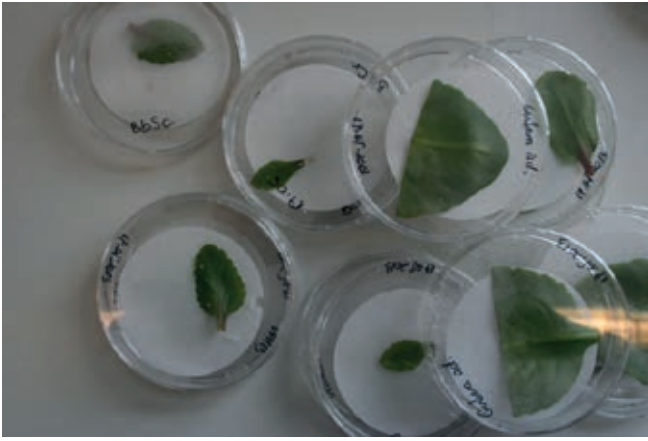
Entomopathogene schimmels die zijn toegelaten voor de bestrijding van plagen in de Nederlandse glastuinbouw.

Schimmel	isolaat	commerciële naam	doelorganisme
<i>Beauveria bassiana</i>	ATCC 74040, GHA	Naturalis, Botanigard	wittevlies, trips
<i>Isaria fumosorosae</i> (voorheen <i>Paecilomyces fumosorosae</i>)	Apopka 97	PreFeRal	wittevlies
<i>Lecanicillium muscarium</i> (voorheen <i>Verticillium lecanii</i>)	Ve-6	Mycotal	Wittevlies, trips, spint
<i>Metarhizium brunneum</i> (voorheen <i>Metarhizium anisopliae</i>)	Bipesco 5/F52	Met52EC/ BIO1020	wittevlies, trips, spint

4.2 Materiaal en methoden

4.2.1 Screening voor vatbaarheid

De vatbaarheid van citruswolluis voor entomopathogene schimmels werd in het laboratorium getest. Vier toegelaten isolaten (Mycotal, BIO1020, Botanigard, PreFeRal) zijn vergeleken met nog 17 andere isolaten uit de collectie van Wageningen UR Glastuinbouw, de Universiteit van Siedlce, in Polen en het plantenziektenkundig instituut in Boekarest, Roemenië (Tabel 4.2). Alle isolaten werden gekweekt op een PDA medium. Voor een eerste vatbaarheidsscreening werden per isolaat 10 wolluis larven (derde stadium) van een kweek op rozenplanten met behulp van een kwastje gehaald en binnen de buizen met groeiende schimmel geplaatst. Na 5 minuten werden ze terug verzameld en geplaatst in "natte kamers" met 100% luchtvochtigheid met een stuk van kalanchoë-blad erbij. Kalanchoë is een goede waardplant voor wolluis en het blad blijft lang goed. Er werd ook één controlebehandeling meegenomen waarin de wolluisen werden niet behandeld. Alle schaalpjes werden geplaatst in de klimaatkast bij 25°C. Na 4 dagen werden de wolluisen visueel beoordeeld op aanwezigheid van schimmels. Na 1 week werden alle levende wolluisen en kalanchoë-bladeren uit natte kamers verwijderd. De schaalpjes werden opnieuw dicht geplakt en terug gezet in de klimaatkast. Drie dagen later werden de dode wolluisen onder binoculair zorgvuldig nagekeken om de groei van schimmel vast te stellen. Alle beschimmelde kadavers werden bewaard voor het maken van nieuwe isolaten voor verdere proeven.



Figuur 4.1 "Natte kamers" voor een screening voor vatbaarheid.

Tabel 4.2

Herkomst van isolaten die zijn getest tegen de citruswolluis.

schimmel	isolaat	organisme van isolatie	bron
<i>Beauveria bassiana</i>	BbCr	<i>Cryptocephalus sp.</i> , Coleoptera	RDIPP, Bucharest, Roemenië
<i>Beauveria bassiana</i>	BbEl	<i>Eriosoma lanigerum</i> , Hemiptera	RDIPP, Bucharest, Roemenië
<i>Beauveria bassiana</i>	BbId	<i>Ips duplicatus</i> , Coleoptera	RDIPP, Bucharest, Roemenië
<i>Beauveria bassiana</i>	BbRb	<i>Rhynchites bacchus</i> , Coleoptera	RDIPP, Bucharest, Roemenië
<i>Beauveria bassiana</i>	BbSc	<i>Sciara sp.</i> , Diptera	RDIPP, Bucharest, Roemenië
<i>Beauveria bassiana</i>	Botanigard	<i>Diabrotica undecimpunctata</i> , Coleoptera	Certis
<i>Beauveria bassiana</i>	BpMp	<i>Myzus persicae</i> , Hemiptera	RDIPP, Bucharest, Roemenië
<i>Hirsutella kirchneri</i>	UPH17	<i>Abacarus hystrix</i> , Class Arachnida	University of Siedlce, Polen
<i>Hirsutella thompsonii</i>	UPH18	Fam. Eriophyidae, Class Arachnida	University of Siedlce, Polen
<i>Isaria fumosorosea</i>	Preferal	<i>Phenacoccus solani</i> , Hemiptera	Biobest
<i>Lecanicillium longisporum</i>	Vertalec	bladluis, Hepiptera	Koppert B.V.
<i>Lecanicillium muscarium</i>	Mycotal	wittevlieg, Hemiptera	Koppert B.V.
<i>Lecanicillium muscarium</i>	UPH12	Fam. Coccidae, Hemiptera	University of Siedlce, Polen
<i>Lecanicillium muscarium</i>	UPH13	<i>Amphorophora idaei</i> , Hemiptera	University of Siedlce, Polen
<i>Lecanicillium muscarium</i>	UPH14	Fam. Aleyrodidae, Hemiptera	University of Siedlce, Polen
<i>Lecanicillium muscarium</i>	UPH15	<i>Tetranychus sp.</i> , Class Arachnida	University of Siedlce, Polen
<i>Lecanicillium muscarium</i>	UPH16	<i>Galeria mellonella</i> , Lepidoptera	University of Siedlce, Polen
<i>Lecanicillium muscarium</i>	VI/DSMZ	<i>Hemileia vastatrix</i> - schimmel, Pucciniales	RDIPP, Bucharest, Roemenië
<i>Lecanicillium muscarium</i>	WURLIMP	<i>Myzus persicae</i> , Hemiptera	Wageningen UR Glastuinbouw
<i>Metarhizium brunneum</i>	Bio 1020	<i>Cydia pomonella</i> , Lepidoptera	Bayer
<i>Metarhizium brunneum</i>	MaDSMZ	<i>Curculio caryae</i> , Coleoptera	RDIPP, Bucharest, Roemenië
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Bb004/ Bioact	wortelknobbelaaltjes	Bayer

4.2.2 Testen van isolaten uit wolluis bij verschillende concentraties

Op basis van de eerste vatbaarheidstest zijn van de 22 isolaten uiteindelijk 7 isolaten geselecteerd voor verder onderzoek. Al deze isolaten zijn geïsoleerd uit de geïnfecteerde wolluizen van de eerste proef. De volgende isolaten zijn getest:

- *Metarhizium anisopliae*, MaDSMZ.
- *Lecanicillium longisporum*, Vertalec.
- *Lecanicillium muscarium*, WURLIMp.
- *Lecanicillium muscarium*, UPH14.
- *Isaria fumosorosea*, Preferal.
- *Beauveria bassiana*, BbEl.
- *Lecanicillium muscarium*, UPH16.

Per isolaat werden 3 concentraties voorbereid: 10^8 , 10^7 en 10^5 sporen/ml. Elke behandeling werd voorbereid met de uitvloeier Tween 80 om dekkingsgraad te verhogen. Als controle werd er water met Tween 80 genomen. Deze proef werd uitgevoerd 7 behandelingen in 3 herhalingen. In bakjes met diameter van 9 cm en een laag wateragar met daarop pons van paprikabladd (willekeurig gekozen blad als ondergrond) werden 10 larven van wolluis geplaatst (L2, L3/ jonge vrouwtjes). Wolluis was afkomstig van de kweek op potrozen. In elke bakje werd gespoten met een handspruit van 100 ml totdat het ponsje volledig met de spuitvloeistof was bedekt. Daarna werden de bakjes dichtgesloten met een deksel voorzien in de opening met gaas. Alle behandelingen werden gezet in de klimaatkast bij 80% luchtvochtigheid en 25°C.

Eerste waarneming werd gedaan na 3 dagen. Alle dode wolluizen werden verzameld en per behandeling in natte kamers geplaatst. Zes dagen later werden de wolluizen uit de natte kamers zorgvuldig onder de binoculair nagekeken. Er werd geen schimmelgroei waargenomen. Alle bakjes werden opnieuw nagekeken en de procedure met verzamelen van dode wolluizen werd herhaald.

Tien dagen na de bespuiting werden alle wolluizen (in bakjes en in natte kamers) nogmaals beoordeeld. Vanwege de tegenvallende resultaten bij de doseringsreeks, is de proef bij 4 isolaten nog eens herhaald bij een zeer hoge concentratie van 10^{11} sporen/ml en een luchtvochtigheid van 100%. Hiervoor werden de volgende isolaten getest:

- *Metarhizium brunneum*, MaDSMZ.
- *Lecanicillium longisporum*, Vertalec.
- *Lecanicillium muscarium*, WURLIMp.
- *Isaria fumosorosea*, Preferal.

Alle spuitoplossingen werden opnieuw bereid met Tween 80. Op het paprikabladd werden 100 larven van *P. citri* met een kwastje geplaatst. Wolluis was afkomstig van de kweek op potrozen. Het blad werd gespoten met de spuitoplossing tot druppelvorming. Op het blad aanwezige wolluizen werden na 15 minuten per 10 in natte kamers met een stukje aardappel met spruit (voeding voor wolluis) geplaatst. De schaaltes werden dicht geplakt met parafilm en in de klimaatkast gezet bij 25°C en 80% RV. De proef werd uitgevoerd met 5 behandelingen en 10 herhalingen.

Vijf dagen na de behandeling werden de schaaltes onder binoculair nagekeken. Dode larven werden apart in nieuwe natte kamers gezet. Alle schaaltes werden dicht geplakt en terug in de klimaatkast gezet. Vier dagen later werden de dode larven beoordeeld op aanwezigheid van schimmels. Opnieuw werden dode larven van de schaaltes weggehaald en in nieuwe natte kamers geplaatst. Na 12 dagen sinds de behandeling werden alle dode wolluizen beoordeeld op aanwezigheid van schimmels. Later werden alle schimmels ter controle op een PDA medium uitgeplaat.

4.2.3 Kasproef met entomopathogene schimmels

Twee commercieel verkrijgbare entomopathogene schimmels, *Isaria fumosorosea* (Preferal) en *Metarhizium brunneum* (Bio102), zijn verder getest in een kasproef. De middelen zijn zowel als spuitbehandeling als droge poederbehandeling toegepast.

Potroosplantjes van 12 weken oud, cv Flamingo, werden geplaatst op teelttafels geplaatst met een eb en vloed watergeefstelsysteem (Fig. 4.2). Voordat de proef begon zijn de planten behandeld met Meltatox (dodemorf) tegen meeldauw. Na deze bespuitingen werden de planten besmet met één eizak van een wolluisvrouwje en 50 crawlers. Dit resulteerde in een gemiddelde wolluisdichtheid van 38 wolluizen per plant (deel sterft na overzetten). De proef is uitgevoerd met 5 behandelingen in 8 herhalingen, dus totaal 40 planten. De volgende behandelingen zijn getest:

- a. Onbehandeld.
- b. Spuiten *I. fumosorosea*.
- c. Spuiten *M. brunneum*.
- d. Verstuiven *I. fumosorosea*.
- e. Verstuiven *M. brunneum*.

Bij de spuitbehandeling werd een dosering van 2×10^9 sporen/ml aangehouden met daaraan toegevoegd Tween 20. Per plant werd ca. 30 ml spuitvloeistof gebruikt. Bij het verstuiven zijn sporen droog toegevoegd met een kwastje: 0,025 gr van *M. brunneum* en 0,0625 gr van *I. fumosorosea* per plant. Alle behandelingen zijn 3x uitgevoerd, 4, 5 en 6 weken na de besmetting met wolluis. In week 8 (2 weken na de laatste behandeling) is bij ieder plant het aantal gezonde en zieke wolluizen geteld.

De proef is uitgevoerd in de maanden januari-februari 2014. De gemiddelde temperatuur in de kas was toen 19.8 °C (range 16.4-25) en de gemiddelde luchtvochtigheid 88% (range 68-97%).



Figuur 4.2 Potrozen met wolluis voor het testen van entomopathogene schimmels.

4.2.4 Testen van uitvloeiers en hulpstoffen

In het laboratorium is getest of bepaalde uitvloeiers en hulpstoffen de werking van entomopathogene schimmels verbeteren, doordat ze de waslaag van wolluizen aantasten. Voor dit onderzoek zijn 8 producten getest (Tabel 4.3). De schimmel *Isaria fumosorosea* (Preferal) is voor deze testen als modelpathogeen gekozen. Alle middelen werden uitzonderlijk of in combinatie met het isolaat van preferal op het laboratorium getest, waarbij de hulpstoffen/uitvloeiers of wel tegelijkertijd of 15 minuten voorafgaan aan de entomopathogene schimmels werden toegediend. De 8 behandelingen zijn in viervoud getest in plastic bakjes met daarin een paprikabladd (willekeurig blad als ondergrond) op wateragar. Vervolgens zijn per bakje 15 L2/L3 larven van wolluis toegevoegd op een stukje kalanchoë-blad als voeding. Na de bespuitingen zijn de bij 25°V en 80%RV weggezet in een klimaatcel. Na een week is per bakje het aantal dode wolluizen geteld. Dode larven zijn vervolgens weggezet bij 100% RV om te bepalen of de doding was veroorzaakt door schimmelinfectie.

Tabel 4.3

Uitvloeiers en hulpstoffen die zijn getest in combinatie met de entomopathogene schimmel *I. fumosorosea* (Preferal).

Naam middel	Werkzame stof	Fabrikant
Addit	emulgeerbare plantaardige olie met uitvloeier	Koppert
Silwet gold	heptamethyltrisiloxaan	Certis
Motto	suikerderivaat en gemodificeerd vetzuuramine	Basf

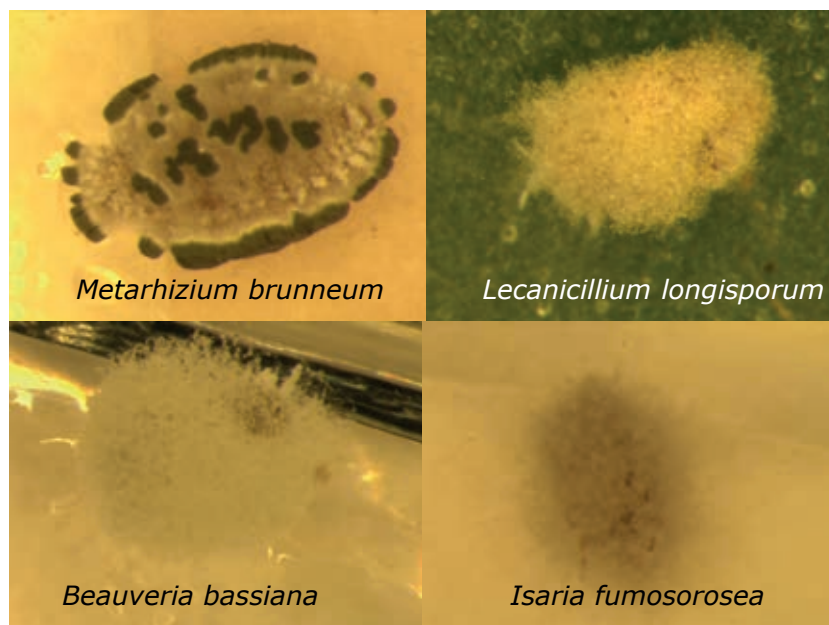
4.3 Resultaten

4.3.1 Screening voor vatbaarheid.

Bij de volgende 6 isolaten werden 7-10 van de 10 larven geïnfecteerd door de entomopathogene schimmel waarmee ze in contact waren gebracht, namelijk:

- MaDSMZ: *Metarhizium brunneum*.
- Vertalec: *Lecanicillium longisporum*.
- WURLIMp: *Lecanicillium muscarium*.
- UPH14: *Lecanicillium muscarium*.
- Preferal: *Isaria fumosorosea*.
- BbEi: *Beauveria bassiana*.

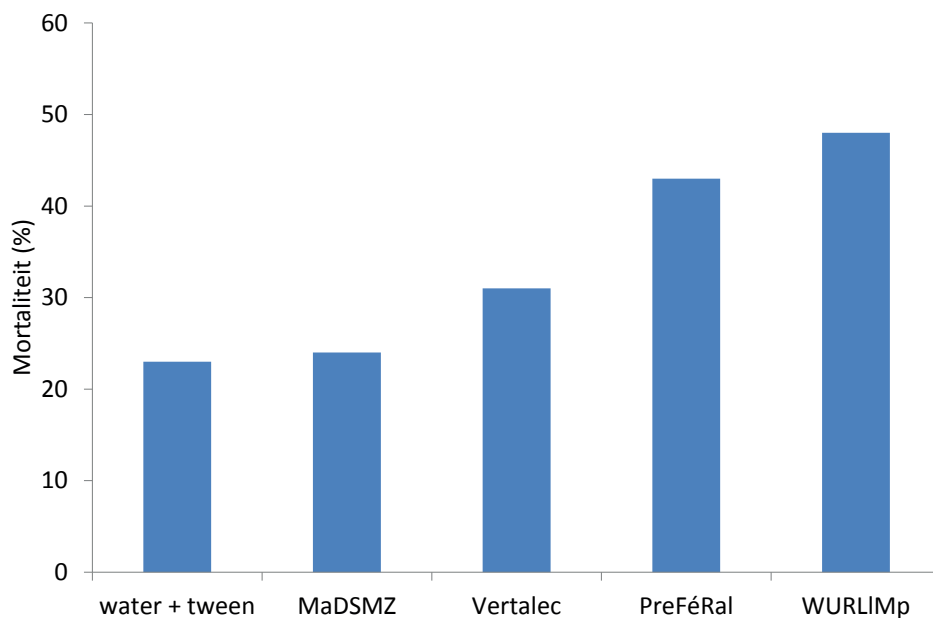
De sporulering van verschillende isolaten is te zien in figuur 4.3. De rest van geteste isolaten had onvoldoende of helemaal geen bestrijdingseffect op wolluizen. Beschimmelde kadavers van wolluis van het best uitgekomen schimmels werden opnieuw geïsoleerd en doorgekweekt voor verder onderzoek.



Figuur 4.3 Wolluislarven geïnfecteerd door entomopathogene schimmels.

4.3.2 Testen van isolaten uit wolluis bij verschillende concentraties

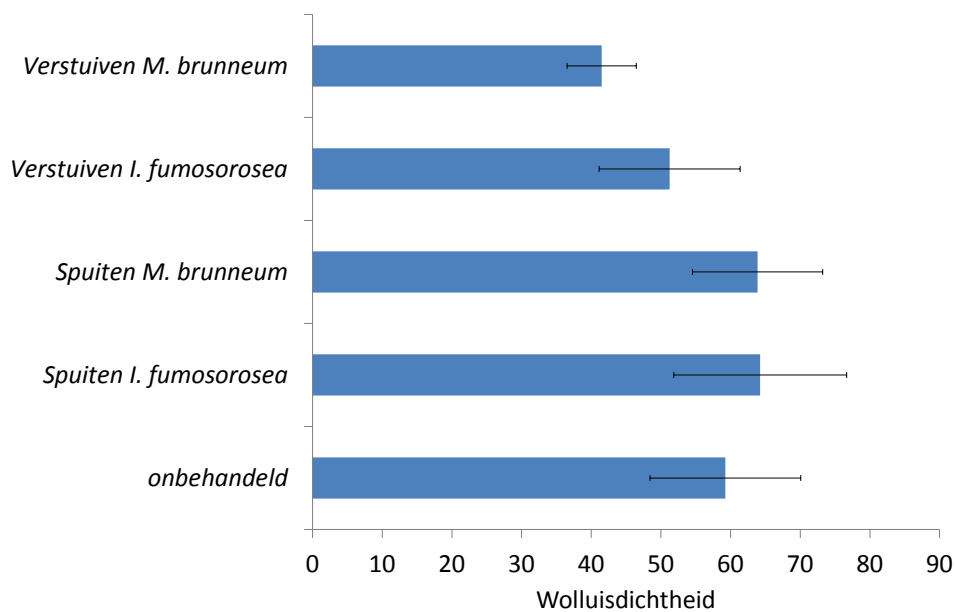
De resultaten van de 7 geselecteerde isolaten bij 3 concentraties waren teleurstellend. De wolluizen gingen niet dood van de bespuitingen met schimmels. In de enkele gevallen waar dit wel het geval was, bleek de wolluis niet door de aangebrachte entomopathogene schimmels geïnfecteerd te zijn, maar door secundaire schimmels. Bij de zeer hoge dosering van 10^{11} sporen/ml gaven 2 van de schimmels een mortaliteit van wolluis van meer dan 40%. Bij de behandeling met *L. longisporum* was slechts 25% geïnfecteerd en bij *M. brunneum* maar 13% (Figuur 4.4).



Figuur 4.4 Percentage geïnfecteerde wolluizen na een bespuiting met 10^{11} sporen/ml bij 4 isolaten van entomopathogene schimmels.

4.3.3 Kasproef met entomopathogene schimmels

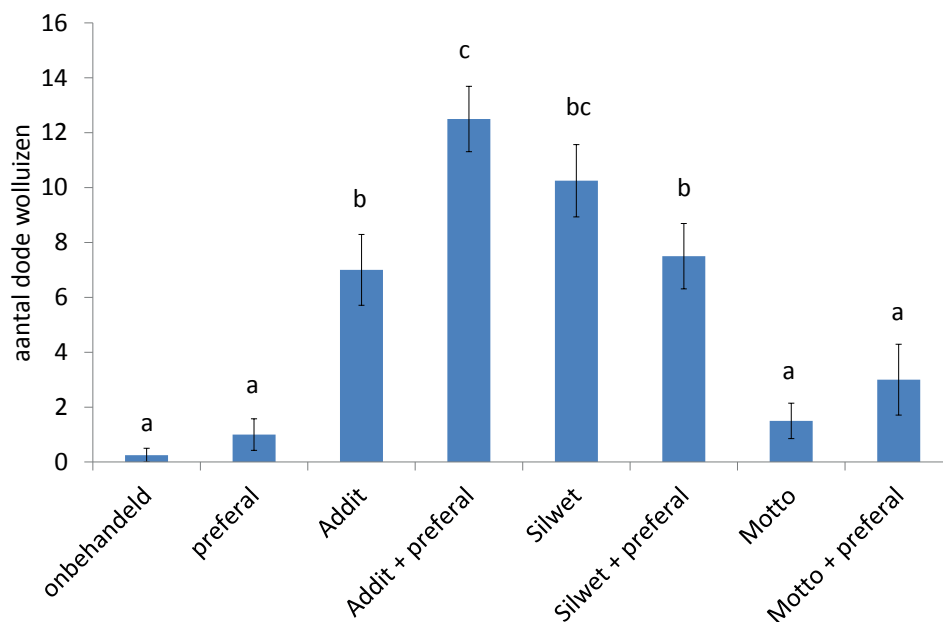
Het toedienen van entomopathogene schimmels op planten had géén significant effect op de populatiegroei van wolluis (Fig. 4.5). Bij alle behandelingen is er ongeveer een verdubbelingen te zien ten opzichte van de nultelling. De verschillen waren onderling niet significant (GLMM, $p = 0.378$), maar er lijkt wel een trend te zijn dat het verstuiwen van entomopathogene schimmels meer effect heeft op wolluis dan bij het verspuiten van dezelfde schimmels (Fig. 4.5).



Figuur 4.5 Gemiddelde wolluisdichtheid (larven + adulten) per plant, 2 weken na de laatste toepassing van entomopathogene schimmels. De dichtheden waren niet significant verschillend ($p < 0.05$).

4.3.4 Testen van uitvloeiers en hulpstoffen

In het laboratorium had Preferal géén significant effect op wolluis. De uitvloeiers Addit en Silwet hadden een significant effect. Alleen bij de uitvloeier/hulpstof Addit was er een significante verhoging van mortaliteit bij wolluis wanneer Preferal werd toegevoegd.



Figuur 4.6 Percentage geïnfecteerde wolluizen na een bespuiting met 10^{11} sporen/ml bij 4 isolaten van entomopathogene schimmels. Verschillende letters boven de balken geven significante verschillen tussen behandelingen weer ($p < 0.05$).

4.4 Conclusies en aanbevelingen

De eerste laboratoriumtesten lieten zien dat entomopathogene schimmels in potentie zeer effectief wolluis kunnen bestrijden. Bij 7 isolaten stierf het overgrote deel van wolluislarven wanneer ze gedwongen werden om over schimmelsporen te lopen. Bij spuittoepassingen bleken dezelfde schimmels nauwelijks in staat op wolluizen te infecteren, zowel in het laboratorium als in de kasproef. Dit is opmerkelijk, want de condities voor infectie waren ideaal (zeer hoge luchtvochtigheid en een niet al te hoge temperatuur). Een mogelijke verklaring is dat de schimmelsporen niet in staat waren om in de wolluizen te penetreren door de beschermende waslaag. Het lijkt erop dat de wolluizen zich platdrukken tegen de plant, waardoor ze beschermd zijn. In een onderzoek met een verwante wolluissoort is gevonden dat entomopathogene schimmels de wolluizen vooral infecteren op zwakke plekken: bij de pootscharnieren, de monddelen of via de ademhalingsgaten (Amnuaykanjanasin et al., 2013). Dit kan verklaren dat de eerste testen waarbij de poten in aanraking kwamen met de sporen tot hogere aantallen geïnfecteerde wolluizen leidde dan bij bespuitingen. Ook in de kasproef was er een trend te zien dat bij verstuiven er meer doding van wolluis was, mogelijk doordat de wolluizen dan eerder in contact komen met de sporen op de plant dan bij een bespuiting. Het toevoegen van de hulpstof/uitvloeier Addit verhoogde de werking van de schimmel *I. fumosorosea*. Het is aannemelijk dat de ademhalingsgaten op de rugzijde van wolluizen toegankelijker werden voor indringing van schimmelsporen door het verminderen van de waslaag door Addit. Vervolgonderzoek zou zich kunnen richten op de verhoging van effectiviteit van entomopathogene schimmels door het reduceren van de waslaag en het verhogen van de infectiekans door verstoring van wolluizen.

5 Haardbestrijding met gaasvlieglarven

5.1 Inleiding

Bestrijding van wolluizen met natuurlijke vijanden is vaak gericht op *Cryptolaemus montrouzieri* en specialistische sluipwespen, maar vanuit zeer oud onderzoek is bekend dat er ook een redelijke bestrijding behaald kan worden met gaasvlieglarven (Doutt & Hagen, 1949; Goolsby et al., 2000). Het voordeel van deze larven is dat ze vrij goedkoop gekweekt kunnen worden waardoor ze tegen lagere kosten kunnen worden ingezet. In dit onderzoek zijn de mogelijkheden voor bestrijding verkend bij de standaard groene gaasvlieg *Chrysoperla carnea* s.str. en een verwante soort *Chrysoperla lucasina*. De soorten lijken qua uiterlijk erg op elkaar (Fig. 5.1), maar zijn goed te onderscheiden door de verschillende akoestische signalen die mannetjes afgeven voordat ze met vrouwtjes paren (Henry et al., 1996). In het laboratorium is eerst gekeken hoe goed deze 2 soorten zich ontwikkelen op een menu van wolluizen en of dit verbeterd kan worden door toevoeging van bepaalde voedselbronnen. Vervolgens is bepaald of larven ook langer in wolluishaarden blijven wanneer bepaalde voedselbronnen aan haarden worden toegevoegd. Het uiteindelijke doel was om de bestrijding met gaasvlieglarven te optimaliseren.



Figuur 5.1 Volwassen groene gaasvliegen van de soort *Chrysoperla carnea* s.str. (links) en *Chrysoperla lucasina* (rechts).

5.2 Materiaal en methoden

5.2.1 Laboratoriumproeven met verschillende diëten

Bij de gaasvliegsoorten *Chrysoperla carnea* s.str. en *Chrysoperla lucasina* is bepaald hoe snel ze zich van ei tot pop ontwikkelen op verschillende diëten van wolluizen, anders prooien/voedselbronnen of combinaties daarvan. De volgende behandelingen zijn getest:

- a. Ephestia (meelmot)-eieren.
- b. Rode perzikluis *Myzus persicae* (alle stadia).
- c. Citruswolluis, *P. citri*, (L2-L3).
- d. Lisdodde pollen (*Typha latifolia*).
- e. *Acarus siro* (meelmijt) + gist (alle stadia).
- f. Artemia (pekelkreeft) cysten.
- g. Citruswolluis + Ephestia.
- h. Citruswolluis + stuifmeel.
- i. Citruswolluis + Artemia.

Bij deze proeven is bepaald hoeveel jonge stadia sterven tijdens deze ontwikkeling en hoe snel ze het popstadium bereiken. De gaasvliegjes zijn onder omstandigheden van 25°C, 70% RV en 16/8 L/D weggezet tot de dag dat ze uitkwamen. Om het uur werd er gekeken of er larven uitgekomen waren. De net uit het ei gekomen larven zijn per individu met behulp van een kwastje in een potje (3,5 x 4 x 3,5 cm) gedaan en gecodeerd. Hierna is het betreffende dieet in overmaat (ad libitum) en per dieet in gelijke hoeveelheden toegevoegd. Op de bodem van het potje zijn twee boekweitdoppen geplaatst waarin de larve kan schuilen. Op het potje zit een deksel met hierin een gat bedekt met fijnmazig gaas ter ventilatie. De potjes zijn weggezet onder omstandigheden van 25°C, 70% RV en 16/8 L/D. Om de twee dagen werd elke larve bijgevoerd en werd er gekeken naar de mortaliteit en stadia waarin de larve zich in bevond. De stadia konden worden bepaald door de aanwezige vervellingshuidjes of de aanwezige pop (Figuur 5.2). Per dieet zijn er 55 herhalingen uitgevoerd voor *C. lucasina* en 30 herhalingen voor *C. carnea s. str.*



Figuur 5.2 Verschillende ontwikkelingsstadia van gaasvliegen, van links naar rechts L1, L3 en pop.

Naast de ontwikkeling op verschillende diëten is voor beide soorten bepaald hoeveel wolluizen de larven consumeren per dag. Van beide soorten zijn larven van het tweede stadium verzameld voor proeven. Iedere larve werd individueel in een potje geplaatst en gevoerd met 20 larven van wolluis (I2). Iedere dag werd zo'n larve overgeplaatst naar een nieuw potje met opnieuw 20 wolluislarven. Het aantal dagelijks geconsumeerde wolluizen werd gedurende 3 dagen waargenomen.

5.2.2 Effecten van alternatief voedsel op wolluisbestrijding met gaasvlieglarven

5.2.2.1 Kasproef met een eenmalige inzet van gaasvlieglarven

Een kasproef is uitgevoerd om te bepalen wat het effect is van alternatief voedsel op de bestrijding van wolluis. Hiervoor werd gebruik gemaakt van potrozen cv. Flamingo, waarvan 24 planten van 20 weken oud werden geplaatst op 8 teelttafels van 1 bij 4.5 m² (Figuur 5.3). Per teelttafel werden 3 planten geplaatst en daaromheen werd een lijmrand met een diameter van 1 meter aangebracht om vermenging van behandelingen tegen te gaan. Planeten werden voorzien van voeding en water via druppelaars. De planten werden met wolluis besmet door per plant 2 vrouwtjes met een eizak aan te brengen. Dit werd 2 weken later herhaald met één vrouwtje met eizak. Dit resulteerde in een beginaantasting van gemiddeld 21 eerste en tweede larvale stadia van wolluis. Drie weken na de eerste wolluisbesmetting werden de volgende behandelingen in 6-voud uitgevoerd:

- a. Onbehandeld.
- b. 10 Gaasvlieglarven.
- c. 10 Gaasvlieglarven + 0.5G ephestia.
- d. 10 Gaasvlieglarven + ca. 1200 Acarus-mijten in zemelen.

Voor deze proef werd gebruik gemaakt van de gaasvlieg *C. lucasina*. Na 1 en 2 weken werd het aantal wolluislarven per plant geteld. De gemiddelde temperatuur tijdens deze proef was 20.1°C en de luchtvochtigheid 71%.



Figuur 5.3 Opzet kasproef met gaasvlieglarven voor de bestrijding van wolluis.

5.2.2.2 Kasproef met een herhaaldelijke inzet van gaasvlieglarven

Een tweede kasproef werd uitgevoerd op dezelfde manier als de eerste kasproef, maar deze keer met een herhaaldelijke inzet van gaasvlieglarven. Potrozen werden 3 weken achter elkaar besmet met 1 wolluisvrouwkje met eizak per plant. Dit resulteerde in een startpopulatie van gemiddeld 52 larven per plant, 5 weken na de eerste inzet van wolluis. Deze keer werden 2 extra behandelingen toegevoegd. De volgende behandelingen werden in 7-voud uitgevoerd:

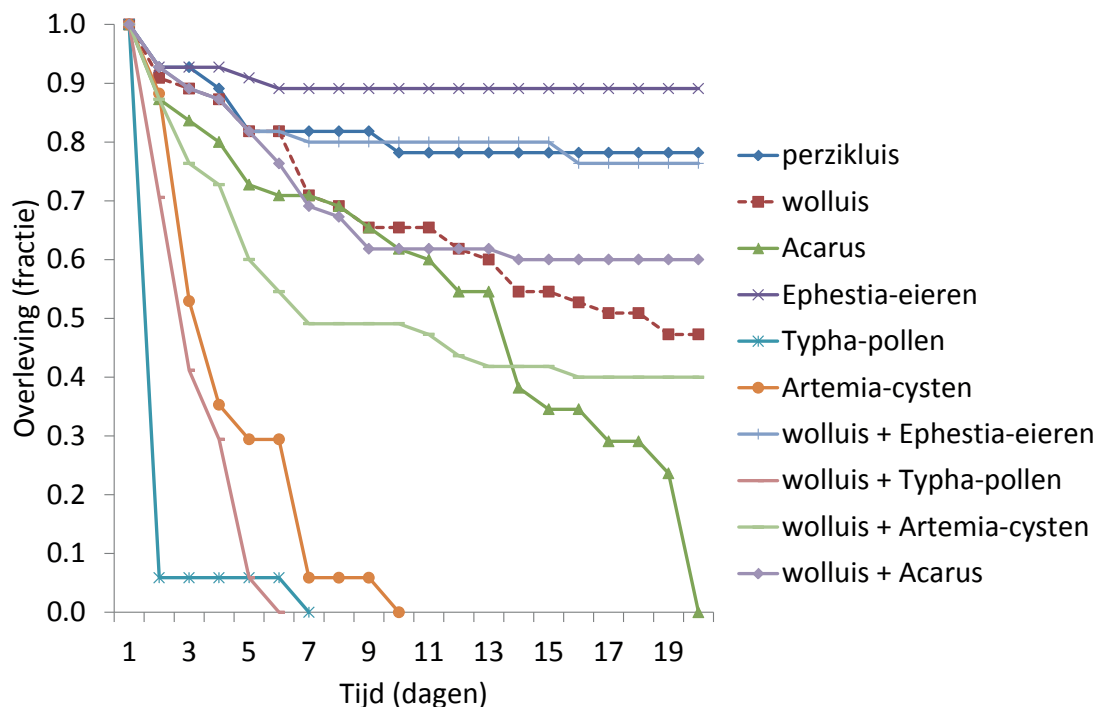
- a. Onbehandeld.
- b. Ephestia-eieren.
- c. Acarus-mijten in zemelen.
- d. Gaasvlieglarven.
- e. Gaasvlieglarven + ephestia.
- f. Gaasvlieglarven + acarus-mijten in zemelen.

De proef is opnieuw uitgevoerd met L2-larven van *C. lucasina*. Deze werden totaal 3x uitgezet in een dichtheid van 12, 28 en 20 per plant. De Acarus mijten en Ephestia-eieren werden tegelijk met de gaasvlieglarven uitgezet. De mijten in een dichtheid van ca. 1600 mijten/keer. Van Ephestia werd de eerste keer 0.5 g/plant toegevoegd en de tweede en derde keer 1g/plant. De wolluisdichtheden werden gedurende 5 weken geteld. De gemiddelde temperatuur tijdens deze proef was 20°C en de luchtvochtigheid 70%.

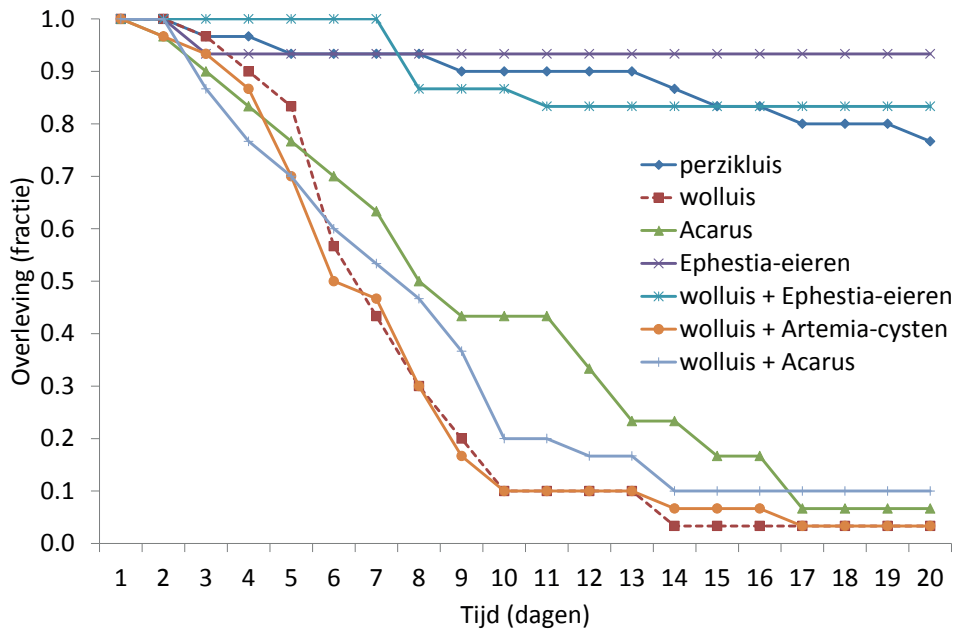
5.3 Resultaten

5.3.1 Laboratoriumproeven met verschillende diëten

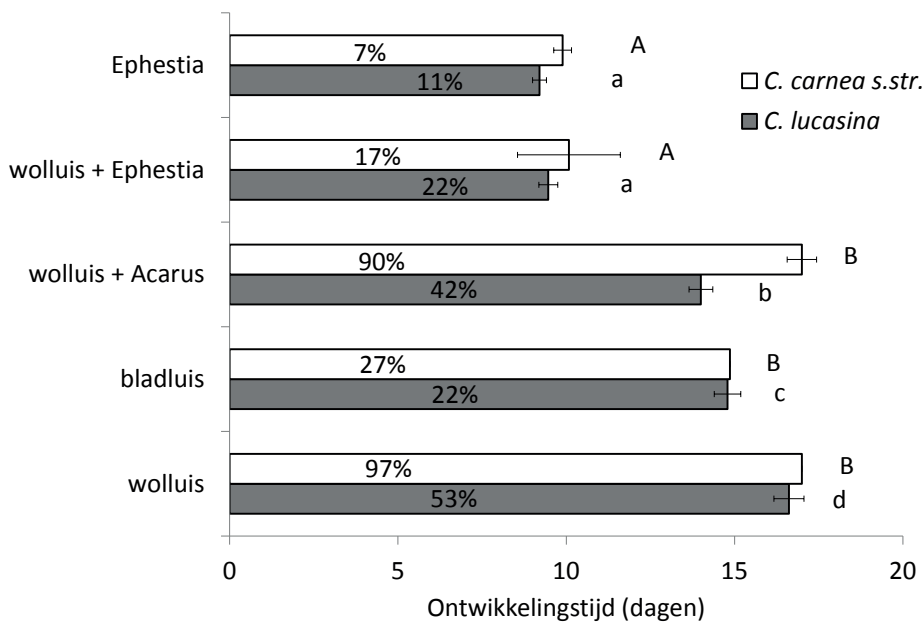
De ontwikkeling en sterfte van gaasvlieglarven was sterk verschillend per dieet en gaasvliegsoort. Bij *C. lucasina* overleefde bijna de helft van de larven wanneer ze uitsluitend wolluislarven als voedsel kregen voorgeschoteld, terwijl bij *C. carnea s.str.* nagenoeg alle larven voortijdig stierven (Fig. 5.4 en 5.5). Ephestia-eieren waren voor beide gaasvliegsoorten een superieure voedselbron waar ze zich snel op ontwikkelden en waar weinig sterfte optrad (Fig. 5.6). Stuifmeel (Typha-pollen) en Artemia cysten waren voor beide soorten géén geschikte voedselbron. De meelmijt *Acarus* was een matig geschikte voedselbron. Bij *C. lucasina* stierf ongeveer de helft van de larven op dit dieet. Verrassend genoeg bleek dat de toevoeging van deze mijten aan wolluis leidde tot een hogere overleving van de gaasvlieglarven. De betere ontwikkeling van *C. lucasina* op wolluis ten opzichte van *C. carnea s.str.* werd bevestigd in de predatieproef. Ook daar kwam naar voren de *C. lucasina* een betere predator is van wolluis. Op dag 1 en 2 werd bij beide soorten nog niet zoveel wolluis gegeten, maar op de derde dag consumeerde *C. lucasina* bijna 2x zoveel wolluislarven als *C. carnea s.str.* (Fig. 5.7). Deze verschillen waren statistisch significant.



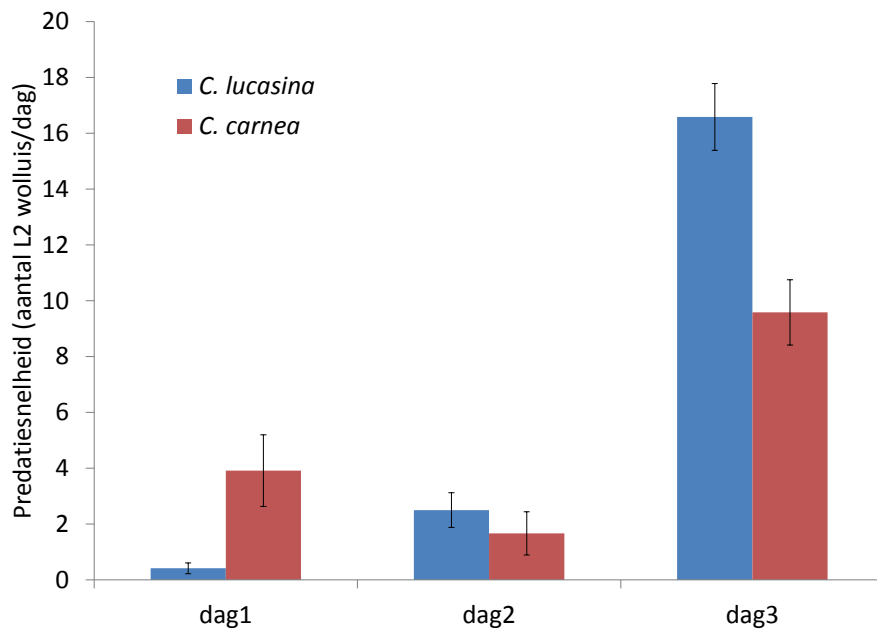
Figuur 5.4 Overleving van larven van *C. lucasina* op verschillende diëten. De lijnen geven het aandeel overlevende larven over de tijd heen weer.



Figuur 5.5 Overleving van larven van *C. carnea* s.str. op verschillende diëten. De lijnen geven het aandeel overlevende larven over de tijd heen weer.



Figuur 5.6 Gemiddelde ontwikkelingstijd van ei tot pop bij 2 soorten gaasvliegen op verschillende diëten. De getallen in de staven geven het percentage sterfte aan. Verschillende letters naast de staven geven statistisch betrouwbare verschillen tussen de diëten per gaasvliegsoort weer ($p < 0.05$).

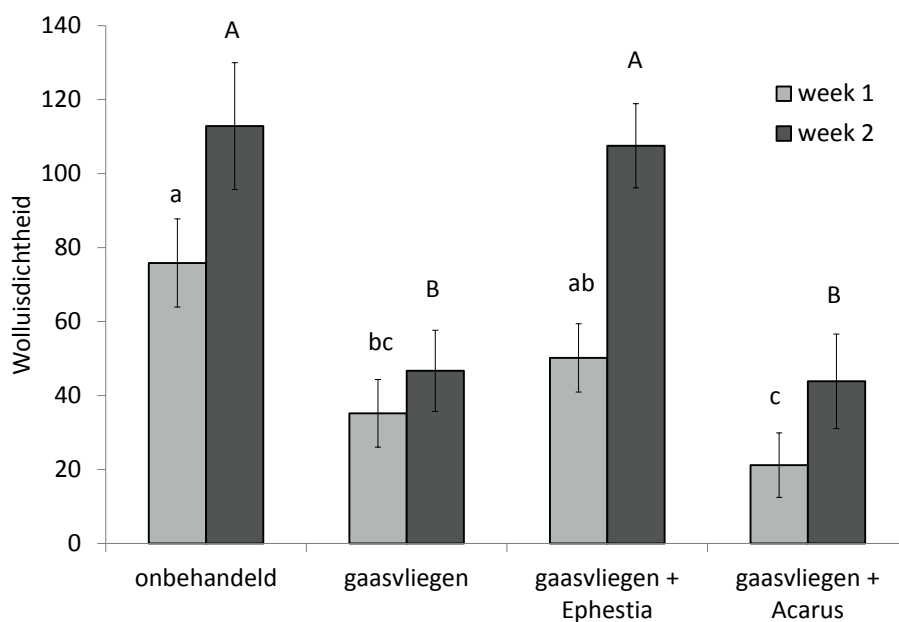


Figuur 5.7 Gemiddeld aantal geconsumeerde wolluislarven per dag door tweede larvale stadia van *C. lucasina* en *C. carnea* s. str.

5.3.2 Effecten van alternatief voedsel op wolluisbestrijding met gaasvliegenlarven

5.3.2.1 Kasproef met een eenmalige inzet van gaasvlieglarven

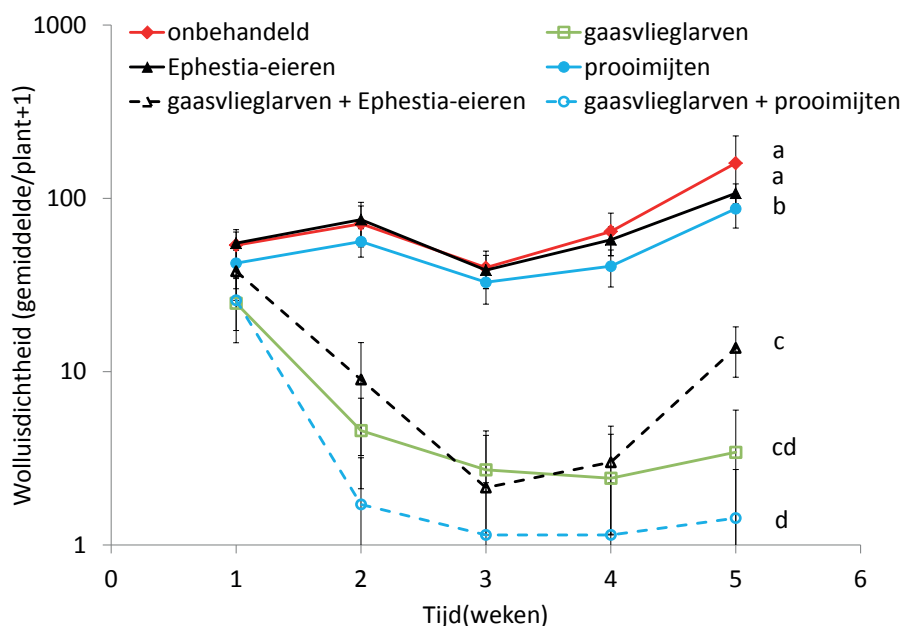
Bij een eenmalige inzet van 10 gaasvlieglarven per potroos werd de wolluispopulatie ongeveer met de helft gereduceerd. Bij toevoeging van *Ephestia*-eieren werd dit effect volledig tenietgedaan, waardoor er geen significante bestrijding van wolluis was (Fig. 5.8). Bij *Acarus* leek de bestrijding van wolluis in eerste instantie te verbeteren, maar uiteindelijk was er geen verschil ten opzichte van de behandeling zonder alternatief voedsel.



Figuur 5.8 Effecten van alternatief voedsel op de bestrijding van wolluis na een éénmalige inzet van gaasvlieglarven. Verschillende letters boven de staven duiden op significante verschillen tussen de behandelingen per week.

5.3.2.2 Kasproef met een herhaaldelijke inzet van gaasvlieglarven

Bij een herhaaldelijke inzet van gaasvlieglarven had het toevoegen van alternatief voedsel een beperkter effect op de bestrijding van wolluis. In alle gevallen werd wolluis goed bestreden tot zeer lage niveaus van minder dan 10 larven per plant, terwijl deze dichtheden bij de planten zonder wolluis opliepen tot meer dan 100 per plant (Fig. 5.9). Bij *Ephestia*-eieren was opnieuw een trend te zien van hogere wolluisdichtheden ten opzichte van gaasvliegen zonder alternatief voedsel. Bij de *Acarus*-mijten werd juist een verbeterde bestrijding waargenomen, hoewel dit niet significant was. Opvallend was dat de *Acarus*-mijten zelf ook een significant effect hadden op wolluis (Fig. 5.9). Het lijkt erop dat de mijten het wolluisen verstoren, waardoor ze zich minder goed kunnen ontwikkelen



Figuur 5.9 Effecten van alternatief voedsel op de bestrijding van wolluis bij herhaaldelijke inzet van gaasvlieglarven (pijlen geven moment van inzet weer). Verschillende letters aan het einde van de lijnen duiden op significante verschillen tussen de behandelingen over de tijd heen ($p < 0.05$).

5.4 Conclusies en aanbevelingen

Voor de bestrijding van wolluis met gaasvliegen is het aan te bevelen om gebruik te maken van de soort *C. lucasina* en niet de standaardsoort *C. carnea s.str.* De larven van de soort *C. lucasina* consumeerden meer wolluislarven en blijken zich ook beter tot kunnen ontwikkelen op larven van wolluis dan *C. carnea s.str.*. Bij deze laatste soort sterven de meeste larven voortijdig, waardoor de bijdrage aan de bestrijding van wolluis beperkt zal zijn.

Bij de inzet van gaasvlieglarven worden vaak (onbewust) ook *Ephestia*-eieren meegegeven, omdat de larven hier op gekweekt worden en dit dan aanwezig is in de kokers waarin ze worden aangeleverd. Uit dit onderzoek kwam naar voren dat een overmaat van deze eieren een negatief effect heeft op de bestrijding van wolluis. Het kan zelfs de bestrijding volledig teniet doen. Als alternatief zouden *Acarus*-mijten kunnen worden meegegeven. Deze mijten verhogen de overleving van gaasvlieglarven wanneer er alleen wolluis is en ze lijken de bestrijding van wolluis iets te verbeteren.

Literatuur

- Amnuaykanjanasin, A., J. Jirakkakul, C. Panyasiri, P. Panyarakkit, P. Nounurai, D. Chantasingh, L. Eurwilaichitr, S. Cheevadhanarak, and M. Tanticharoen. 2013.
Infection and colonization of tissues of the aphid *Myzus persicae* and cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* by the fungus *Beauveria bassiana*. *BioControl* 58:379-391.
- Demirci, F., M. Mustu, M. B. Kaydan, and S. Ulgenturk. 2011.
Laboratory evaluation of the effectiveness of the entomopathogen; *Isaria farinosa*, on citrus mealybug, *Planococcus citri*. *Journal of Pest Science* 84:337-342.
- Doutt, R. L., and K. S. Hagen. 1949.
Periodic colonization of *Chrysopa californica* as a possible control of mealybugs. *Journal of Economic Entomology* 42:560-561.
- Goolsby, J. A., M. Rose, R. K. Morrison, and J. B. Woolley. 2000.
Augmentative biological control of longtailed mealybug by *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister) in the interior plantscape. *Southwestern Entomologist* 25:15-19.
- Henry, C. S., S. J. Brooks, J. B. Johnson, and P. Duelli. 1996.
Chrysoperia lucasina (Lacroix): A distinct species of green lacewing, confirmed by acoustical analysis (Neuroptera: Chrysopidae). *Systematic Entomology* 21:205-218.
- McCormick A.C., Gershenzon, J., Unsicker, S.B. (2014)
Little peaks with big effects: establishing the role of minor plant volatiles in plant-insect interactions. *Plant, Cell and Environment* 37: 1836-1844.
- Mumm, R., Dicke, M. 2010.
Variation in natural plant products and the attraction of bodyguards involved in indirect plant defense. *Canadian Journal of Zoology*. 88: 628-667.
- Pijnakker, J., A. Leman, and M. Van der Staij. 2011.
Geïntegreerde bestrijding van citruswolluis *Planococcus citri* in roos. Rapport GTB-1117.
- Pijnakker, J., and A. Leman. 2012.
Bestrijding van citruswolluis in potplanten. Rapport GTB-1181.
- Pijnakker, J., A. Leman, and M. Hennekam. 2013a.
Geïntegreerde bestrijding van rozenschildluis *Aulacapsis rosae* in roos. Rapport GTB-1235.
- Pijnakker, J., A. Leman, and M. Hennekam. 2013b.
Geïntegreerde bestrijding van citruswolluis *Planococcus citri* in roos. Rapport GTB-1238.
- Pijnakker, J., A. Leman, and G. Messelink. 2014.
Handhaven van sluipwespen tegen wolluis. Rapport GTB-1313.
- Rains, G.C., Tomberlin, J.K., Kulasiri, D. 2008.
Using insect sniffing devices for detection. *Trends in biotechnology*. 26(6): 288-294.
- Vet, L.E.M., Dicke, M. 1992.
Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual review of entomology*. 37: 141-172.

To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life



Wageningen UR Glastuinbouw
Postbus 20
2665 ZG Bleiswijk
Violierenweg 1
2665 MV Bleiswijk
T +31 (0)317 48 56 06
F +31 (0) 10 522 51 93
www.wageningenUR.nl/glastuinbouw

Glastuinbouw Rapport GTB-1339

Wageningen UR Glastuinbouw initieert en stimuleert de ontwikkeling van innovaties gericht op een duurzame glastuinbouw en de kwaliteit van leven. Dat doen wij door toepassingsgericht onderzoek, samen met partners uit de glastuinbouw, toeleverende industrie, veredeling, wetenschap en de overheid.

De missie van Wageningen UR (University & Research centre) is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van stichting DLO en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.000 medewerkers en 9.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.