



# Ontwikkeling duurzame beheersmaatregelen ter preventie van *Leucocoprinus birnbaumii*

Nancy Beerens, Jantineke Hofland-Zijlstra, Rob van den Broek,  
Suzanne Breeuwsma en Marianne Noordam

Rapport GTB-1333

## Referaat

Dit onderzoek richtte zich op het ontwikkelen van duurzame beheersmaatregelen ter preventie van overmatige groei van de goudgele plooiparasol, *Leucocoprinus birnbaumii*. De schade die telers van groene planten, succulenten en orchideeën kunnen ondervinden door aanwezigheid van deze schimmel is groot. Onderzoek op labschaal liet zien dat *Leucocoprinus* groei afhankelijk is van het suikergehalte van het substraat. Oxidatieve producten gaven een licht remmende werking op schimmelgroei. Twee producten op basis van een antagonistische schimmel verminderen de schimmelgroei, en een derde experimenteel product komt als veelbelovend naar voren. Deze potentiële middelen werden vervolgens getest in een kasproef. Ook werd onderzocht of de waardplant van invloed is op schimmelgroei, maar er werd geen verschil aangetoond tussen Aloë vera en Kalanchoë. Goede resultaten werden behaald met experimenteel product 3, dat *Leucocoprinus* groei verminderde. Daarnaast werden goede resultaten behaald met electrolysewater, wat schimmelgroei onderin de pot sterk verminderde. Tijdens de looptijd van deze proef zagen we geen verspreiding via het water, terwijl planten in besmette en niet-besmette potgrond op dezelfde eb- en vloedtafel stonden. In de kasproef werd vastgesteld dat de met *Leucocoprinus* besmette potgrond een lager vochtgehalte heeft. De groei van Kalanchoë was vertraagd (13-35%), en de wortelontwikkeling verminderd (20-60%) in de besmette potgrond.

## Abstract

The aim of this research project was to develop sustainable prevention methods to control the growth of the flowerpot parasol, *Leucocoprinus birnbaumii*. Uncontrolled growth of this mushroom can cause severe economic damage during cultivation of green pot plants, succulents and orchids in greenhouses. Laboratory tests showed that the sugar content of the substrate influences the growth of *Leucocoprinus*, whereas preventive application of oxidative and experimental biological products based on antagonistic fungi may reduce *Leucocoprinus* growth. Promising results were also obtained with a third experimental product. These products were subsequently tested in a greenhouse experiment with Kalanchoë and Aloë vera plants. In this experiment no effect of the host plant on *Leucocoprinus* growth was measured. However, good results were obtained with the third experimental product, and electrolysis water, that reduced the growth of *Leucocoprinus*. During this greenhouse experiment we detected no dissemination of *Leucocoprinus* by watering of the plants. We demonstrated that *Leucocoprinus* growth reduced the water content of the substrate, reduced the growth of Kalanchoë (13-35%), and negatively affected root development (20-60%).

## Rapportgegevens

Rapport GTB-1333

Projectnummer: 3242139200

PT nummer: 14680

## Disclaimer

© 2014 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](mailto:glastuinbouw@wur.nl), [www.wageningenUR.nl/glastuinbouw](http://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

	<b>Samenvatting</b>	<b>5</b>
<b>1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>7</b>
	1.1 Aanleiding en doel	7
	1.2 Probleemschets plooiaddestoel, <i>Leucocoprinus birnbaumii</i>	7
	1.3 Levenswijze van <i>Leucocoprinus</i>	8
	1.4 Verspreiding en beheersing	8
<b>2</b>	<b>Suikertest op labschaal</b>	<b>11</b>
	2.1 Doel	11
	2.2 Uitvoering	11
	2.3 Resultaten	11
	2.4 Conclusie	12
<b>3</b>	<b>Screening preventieve behandelingen op kunstmatige voedingsbodems</b>	<b>13</b>
	3.1 Doel	13
	3.2 Uitvoering	13
	3.3 Resultaten	14
	3.4 Conclusie	15
<b>4</b>	<b>Kasproef met besmette praktijkgrond</b>	<b>17</b>
	4.1 Doel	17
	4.2 Uitvoering	17
	4.2.1 Potgrond, gewassen en kasruimte	17
	4.2.2 Middelen	18
	4.2.3 Beoordeling	19
	4.2.4 Statistische analyse	19
	4.3 Resultaten	19
	4.3.1 Mate van <i>Leucocoprinus</i> besmetting	19
	4.3.2 Vochtgehalte van de grond	21
	4.3.3 Groei van het gewas	22
	4.3.4 Ontwikkeling van het wortelstelsel	23
	4.4 Conclusie	24
<b>5</b>	<b>Discussie en Conclusie</b>	<b>25</b>
	5.1 Snelle besmetting via substraatresten	25
	5.2 Preventieve maatregelen	25
	5.3 Sturing op plantprocessen	25
	5.4 Onherstelbare economische schade	26
	5.5 Tot slot	26
<b>6</b>	<b>Aanbevelingen</b>	<b>27</b>
<b>7</b>	<b>Literatuur</b>	<b>29</b>
	<b>Bijlage I. Kasindeling</b>	<b>31</b>



# Samenvatting

Dit onderzoek richtte zich op het ontwikkelen van duurzame beheersmaatregelen ter preventie van overmatige groei van de goudgele plooi parasol, *Leucocoprinus birnbaumii* en is gefinancierd door Productschap Tuinbouw. De schade die telers van groene planten, succulenten en orchideeën kunnen ondervinden door aanwezigheid van deze schimmel is groot. In de eerste fase van het onderzoek is informatie verzameld om besmettingsbronnen op te teeltbedrijven in kaart te brengen. De resultaten hiervan zijn beschreven in het rapport van Ludeking et al. (2013) dat eerder als afzonderlijk rapport is verschenen. In het huidige rapport zijn de resultaten weergegeven van Fase 2 en 3 van het onderzoek. Daarin was het doel om meer zicht te krijgen op optimale groeicondities van de schimmel en duurzame beheersstrategieën te testen om problemen met plooi paddestoel in de teeltfase beter te beheersen.

In Fase 2 is op labschaal onderzocht wat de suikerbehoefte is van de schimmel om meer zicht te krijgen op de optimale groeicondities van de schimmel en de effectiviteit is onderzocht van preventieve producten (oa. biologische) op de groei van plooi paddestoel. Het suikergehalte in het voedingssubstraat is van invloed op de groeisnelheid van *Leucocoprinus*. Een optimale groei wordt bereikt als het suikergehalte ca. 2% bedraagt en remming treedt op bij waardes hoger dan 10%. De labproeven bevestigen dat de groei van *Leucocoprinus* gevoelig is voor water. Bij langdurige blootstelling aan water wordt de schimmelgroei sterk geremd (tot 80%). Bij oxidatieve producten en een plantversterkende meststof geeft een éénmalig spuitbehandeling een licht remmende werking. Het werkingsmechanisme berust op een directe contactwerking, waardoor frequente toepassing naar verwachting noodzakelijk zal zijn voor een sterker effect. Bij de experimentele producten zijn de twee producten op basis van een antagonistische schimmel in staat om de schimmelgroei direct en langdurig te verminderen. Een derde experimenteel product komt als zeer veelbelovend alternatief in de bestrijding van *Leucocoprinus* naar voren.

In fase 3 zijn de meest potentiële producten van het voorgaande onderzoek getest onder meer realistische praktijkcondities. Verschillende milieuvriendelijke middelen werden nu in een kasproef getest op hun werkzaamheid tegen *Leucocoprinus* groei. Daarnaast werd onderzocht of de waardplant van invloed is op schimmelgroei. Aloë vera werd als toetsplant gekozen omdat deze continue een hoog niveau van de afweerstof salicylzuur produceert, en werd vergeleken met Kalanchoë. Er werd echter geen verschil aangetoond tussen deze gewassen. De behandeling van de gewassen met INA, dat productie van salicylzuur stimuleert, had ook geen significant effect op *Leucocoprinus* groei. Goede resultaten werden behaald met het experimentele product 3, dat *Leucocoprinus* groei sterk verminderde (25-40%). Dit milieuvriendelijke middel werd eenmalig aangegoten bij de start van de kasproef. Daarnaast werden goede resultaten behaald met electrolysewater, wat schimmelgroei onderin de pot met 60% verminderde. Electrolyse water werd meegegeven met de watergift in het eb-en-vloed systeem. Het heeft een contact werking, en is daardoor met name effectief tegen schimmelgroei onderin de pot. Daarnaast zagen we tijdens de looptijd van deze proef geen verspreiding via het water. Planten die niet in besmette potgrond stonden, maar wel op dezelfde eb- en vloedtafel bleven vrij van visuele symptomen van *Leucocoprinus*. In de kasproef werd vastgesteld dat de met *Leucocoprinus* besmette potgrond een lager vochtgehalte heeft. De groei van Kalanchoë was vertraagd (13-35%), en de wortelontwikkeling verminderd (20-60%) in de met *Leucocoprinus* besmette potgrond.



# 1 Inleiding

## 1.1 Aanleiding en doel

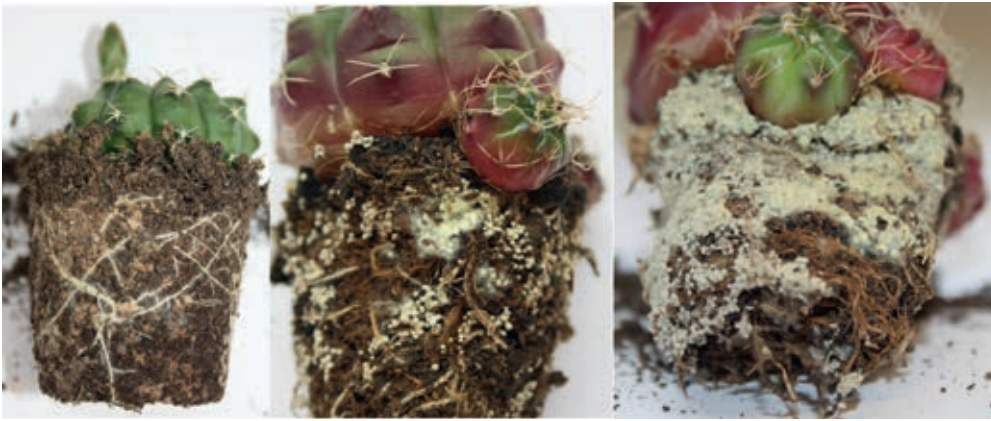
In de teelt van potplanten kan overmatige groei optreden van de goudgele plooiparasol, *Leucocoprinus birnbaumii*. Ook andere *Leucocoprinus* soorten worden waargenomen in de teelt. Dit onderzoek richtte zich op het ontwikkelen van duurzame beheersmaatregelen en is gefinancierd door Productschap Tuinbouw. In de eerste fase van het onderzoek is informatie verzameld om besmettingsbronnen op teeltbedrijven in kaart te brengen. De resultaten hiervan zijn beschreven in het rapport van Ludeking et al. (2013) dat eerder als afzonderlijk rapport is verschenen. Hierin wordt een uitgebreide beschrijving gegeven van de plooiaddestoel en de problemen die deze schimmel veroorzaakt in de teelt van potplanten. Tegelijkertijd worden de belangrijkste bronnen aangegeven die op bedrijven aanwezig kunnen zijn waar een besmetting uit kan voortkomen. Hieruit bleek dat hygiëne belangrijk is om verspreiding via grondresten en water te voorkomen. Gedeeltes uit dit rapport zijn overgenomen, zodat dit rapport goed te lezen is als een zelfstandig stuk.

In het huidige rapport zijn de resultaten weergegeven van Fase 2 en 3 van het onderzoek. Daarin was het doel om meer zicht te krijgen op optimale groeicondities van de schimmel en duurzame beheersstrategieën te testen om problemen met plooiaddestoel in de teeltfase beter te beheersen. In Fase 2 is op labschaal onderzocht wat de suikerbehoefte is van de schimmel om meer zicht te krijgen op de optimale groeicondities van de schimmel (zie Hoofdstuk 2), zodat gericht op teeltcondities is te sturen en meer inzicht te krijgen op gunstige substraatsamenstellingen die groeivertragend kunnen werken. Vervolgens is de effectiviteit onderzocht van oxidatieve en biologische producten op de groei van plooiaddestoel op een kunstmatige voedingsbodem als deze preventief werden toegediend, voordat de schimmel de kans kreeg om zich te vestigen (zie Hoofdstuk 3). In Fase 3 is een kasproef uitgevoerd met een aantal veelbelovende producten uit de labscreening om de werking in een teeltsysteem met besmette potgrond te testen en in aanwezigheid van een waardplant (zie Hoofdstuk 4).

## 1.2 Probleemschets plooiaddestoel, *Leucocoprinus birnbaumii*

Bij de teelt van potplanten kan een plotseling groei van schimmelpluis, vruchtlichamen en paddenstoelen worden waargenomen. De in het teeltmedium gebruikte materialen, waaronder gemalen boomschors, zijn niet steriel en hebben vaak een tropische herkomst (kokos). In het substraat zijn daarom van nature schimmels en andere organismen aanwezig. De teelt van potplanten heeft vooral te maken met de overmatige groei van de schimmel de goudgele plooiparasol, *Leucocoprinus birnbaumii*. Ook andere soorten uit het geslacht worden waargenomen gedurende de teelt.

De schade die telers van groene planten, succulenten en orchideeën kunnen ondervinden door aanwezigheid van deze schimmel is groot. *Phalaenopsis* wordt geteeld in doorzichtige potten, dit betekent dat er eenvoudig is waar te nemen wat er in de pot gebeurt. Bij een aantasting door de schimmel ontstaan schimmelpluis en primordia en paddenstoelen. Primordia zijn de gele bolletjes tussen het substraat ofwel klompjes schimmeldraden (mycelium) waaruit zich een paddenstoel kan ontwikkelen. Ook voor de consument is de schimmelgroei zichtbaar. Dit heeft in de praktijk klachten uit handel of van de eindafnemer als gevolg. Naast deze cosmetische schade wordt bij verschillende potplantteelten groeiremming waargenomen, vooral bij succulenten en groene potplanten. De schimmel kapselt het substraat in, doordat de schimmeldraden, het mycelium, het substraat overgroeit en inkapselt. Als gevolg hiervan wordt het substraat hydrofoob (waterafstotend), waardoor het minder vocht vast kan houden. De wortels van de planten kunnen hierdoor minder water opnemen. Zeker tijdens de teelt van succulenten is dit een groot probleem. Na een lange periode van droge condities neemt het substraat geen of nauwelijks vocht meer op wat kan leiden tot enorme groeistagnatie en waardoor de teeltduur verlengd wordt. Doordat er nauwelijks of geen directe interactie met de plant is, wordt de schimmel niet als ziekteverwekkende schimmel beschouwd.



**Figuur 1.1** De eerste symptomen zijn de verdroogde plekken in het substraat (links), bij ernstige aantasting worden ook de gele schimmelbolletjes (primordia) zichtbaar. Foto: Wageningen UR Glastuinbouw.

### 1.3 Levenswijze van *Leucocoprinus*

De schimmel *Leucocoprinus birnbaumii* behoort tot het genus *Leucocoprinus* en de familie *Agaricaceae*. Tot deze grote familie behoren ook de bekende champignon (*Agaricus bisporus*) en inktzwammen (*Coprinus*). Vooral de goudgele plooiparasol zoals de schimmel *Leucocoprinus birnbaumii* genoemd wordt, komt het meeste voor bij potplanten. Ook de roze/paarse lilakorrelige plooiparasol *Leucocoprinus lilacinogranulosus* of de bruinige spikkelplooiparasol (*Leucocoprinus brebissonii*) wordt regelmatig waargenomen op substraten in potten.

De schimmel *Leucocoprinus* behoort taxonomisch tot de Basidiomyceten. De Basidiomyceten vormen samen met de Ascomyceten de hogere schimmels. Van de Basidiomyceten zijn ongeveer 30.000 soorten beschreven. Onder de Basidiomyceten vallen ook de schimmels die als vruchtlichaam een paddenstoel vormen (*Agaricales*). Deze vruchtlichamen zijn seksuele reproductieorganen waarin doorgaans enorme aantallen sporen worden gevormd. De paddenstoel gevormd door *Leucocoprinus birnbaumii* heeft een karakteristieke zwavelgele kleur (de kleurstoffen zijn zeer specifiek en worden Birnbaumin A en B genoemd, Bartsch et al. 1995), en kan niet worden gegeten daar deze ernstige darmklachten en diarree kan veroorzaken.

*Leucocoprinus* is saprofytisch, dat wil zeggen dat de schimmel leeft van dood organisch materiaal en heeft geen levende waardplant nodig om zijn levenscyclus te voltooien. De schimmel groeit onder warme condities en de paddenstoelen kunnen zich plotseling alleen of in groepjes openbaren. Niet alleen in de kas wordt *L. birnbaumii* waargenomen, in warme klimaatzones worden de paddenstoelen van de schimmel waargenomen in tuinen of bossen. Oorspronkelijk komt deze schimmel uit de tropen, maar is inmiddels wereldwijd gedistribueerd. Hoewel niet bewezen, is het aannemelijk dat verspreiding met plantmateriaal en grond heeft plaats gevonden (Vellinga, 2001).

### 1.4 Verspreiding en beheersing

Uit het eerdere bronnenonderzoek is gebleken dat verspreiding mogelijk is via potgrondresten, drainwater of jong plantmateriaal. Oppotmachines / eb- en vloedtafels met potgrondresten kunnen een bron zijn van nieuwe besmettingen. Evenals voedingswater met vervuilde potgrondresten en hergebruikte materialen met potgrondresten.

Om een bestaande besmetting op een bedrijf zoveel mogelijk te beperken is aandacht voor hygiëne zeer belangrijk.



Bij binnenkomst van potgrond en plantmateriaal is het aan te raden om een moleculaire diagnose uit te voeren gericht op *Leucocoprinus* soorten om eventuele besmettingen vroegtijdig op te sporen en herbesmetting zoveel mogelijk te voorkomen. Maatregelen om verspreiding op het bedrijf te voorkomen zijn:

- Besmette potten verwijderen uit de kas.
- Reiniging van oppotmachines, eb- en vloedtafels.
- Fysieke scheiding van oppot- en teeltgedeelte.
- Ontsmetting van voedingswater.
- Ontsmetting van (fust-)materiaal.
- Ontsmetting van snoeischaren

Eén van de eerste onderzoeken richtte zich op de bestrijding van plooiaddestoelen met chemische middelen in een labtest (Ludeking et al. 2013). Van de geteste middelen, was Ortiva (azoxystrobine) in een labtest bij een lage dosering effectief (vanaf 0,001 ml/l). Dit product is beperkt in te zetten vanwege de gevoeligheid voor resistentieopbouw. Switch (fludioxonil en cyprodinil) en Topsin waren effectief in hogere concentraties (0,1 ml/l). De resultaten in een vervolproef met toevoeging van middelen aan substraat waren niet betrouwbaar door het achterblijven van de groei in de controlebehandelingen.



## 2 Suikertest op labschaal

### 2.1 Doel

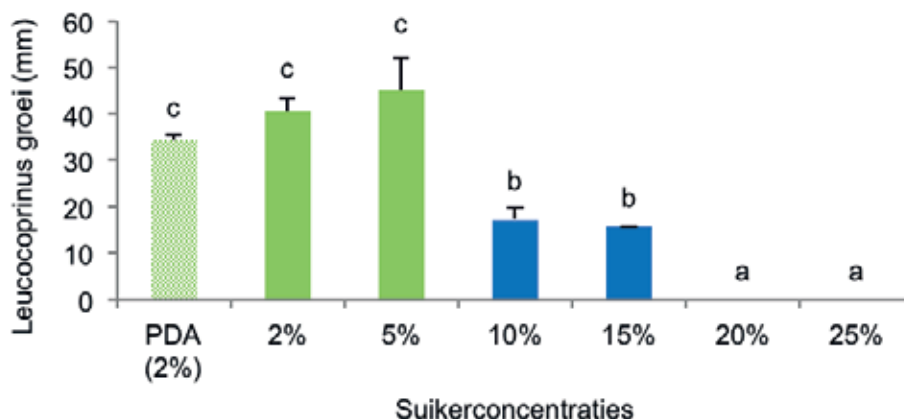
Doel van dit onderzoek was om meer inzicht te krijgen in de optimale groeicondities van de schimmel. Er is getest wat de invloed is van verschillende C:N verhoudingen op de vegetatieve groei van *Leucocoprinus* op een kunstmatige voedingsbodem. Met deze kennis is wellicht gericht op teeltcondities is te sturen en wordt meer inzicht verkregen op gunstige substraatsamenstellingen die groeivertragend voor de schimmel kunnen werken.

### 2.2 Uitvoering

In een test met kunstmatige voedingsbodems zijn verschillende C:N concentraties getest door te variëren met de hoeveelheid suiker (glucose) die is toegevoegd aan een glucose arm medium (wateragar met maismeel agar). Er is ook een behandeling op aardappel extract agar (PDA) met 2% suiker meegenomen als referentie voor standaardgroei condities. Glucose bestaat vooral uit koolstof verbindingen. De hoeveelheid stikstof werd gelijk gehouden en suiker werd in concentraties van 2, 5, 10, 15, 20 en 25% toegevoegd aan het medium. Hierbij werd gebruik gemaakt van een vaste ratio fructose:glucose, 70:30. Fructose wordt gebruikt voor groei en glucose voor de ademhaling (respiratie). In het midden van de voedingsbodem is een ponsje met *Leucocoprinus* gelegd. Per behandeling zijn 5 platen ingezet. De platen zijn weggezet in het donker bij 25 °C. De uitgroei wordt diagonaal gemeten (mm) en hieruit wordt een oppervlakte berekend.

### 2.3 Resultaten

In Figuur 2.1 zijn de resultaten van de suikertest weergegeven. Bij lage suikerconcentraties met 2 en 5% is er een gezonde groei van de kolonie zichtbaar, vergelijkbaar met die op het standaardmedium (PDA). Bij suikerconcentraties tussen 10-15% raakt de groei sterk geremd en bij suikergehaltes boven de 20% is er helemaal geen groei meer mogelijk. Deze test is eerder ook uitgevoerd voor de pathogene schimmel, *Fusarium lactis* die vruchtrot in paprika veroorzaakt (WUR rapport vruchtkwaliteit in paprika, in opdracht van DPA, 2014). Daar lag het optimale suikergehalte voor schimmelgroei hoger, nl. tussen de 15-20%. Bij lagere suikerniveaus werden de schimmeldraden sterk dunner en langer ten opzichte van de groei op PDA platen. Het lijkt dan meer op een soort noodgroei om sneller bij nieuwe voedselrijke plekken te komen. Voor een optimale groei heeft de basidiomyceet, *Leucocoprinus* kennelijk een lagere suikerbehoefte dan een ziekteverwekkende ascomyceteet, zoals *F. lactis*.



**Figuur 2.1** Ontwikkeling van *Leucocoprinus birnbaumii* bij verschillende suikergehaltes in het voedingsmedium. Kolom geeft gemiddelde waarde aan plus standaardfout. Verschillende letters geven significante verschillen aan tussen behandelingen (Tukey's test,  $P < 0,05$ ).

## 2.4 Conclusie

Het suikergehalte in het voedingssubstraat is van invloed op de groeisnelheid van *Leucocoprinus*. Een optimale groei wordt bereikt als het suikergehalte ca. 2% bedraagt en remming treedt op bij waardes hoger dan 10%.

# 3 Screening preventieve behandelingen op kunstmatige voedingsbodems

## 3.1 Doel

Doel van dit onderdeel in Fase 2 was om perspectiefvolle preventieve maatregelen tegen *Leucocoprinus in vitro* te toetsen, d.w.z. op een kunstmatige voedingsbodem. Hierbij is gekozen voor een aantal oplossingsrichtingen. Allereerst een product uit de groep van oxidatieve producten waarmee verspreiding via het water en substraatdeeltjes is tegen te gaan. Ten tweede voor producten uit de groep van biologische antagonisten welke preventief ingezet dienen te worden waardoor de schimmel zich slechter kan vestigen en verspreiden. En tenslotte om de directe werking van een plantversterkende meststof te testen op schimmelontwikkeling. In deze testen is de directe werking onderzocht op schimmelgroei en is de interactie met een waardplant niet meegenomen. De meest perspectiefvolle behandelingen uit deze test zijn eveneens onderzocht onder meer realistische teeltcondities in een kasproef met Kalanchoë en Aloë vera (zie Hoofdstuk 4).

## 3.2 Uitvoering

Voor het opkweken van een reïncultuur van plooiaddestoel werd deze eerst geïsoleerd uit een besmette praktijkgrond met duidelijk zichtbare schimmelstructuren (primordia) van plooiaddestoel (zie Figuur 1.1). DNA analyse van de reïncultuur door PPO Lisse bevestigde dat het om een *Leucocoprinus* soort ging. De cultuur is niet verder op ondersoort gedetermineerd.

Alle producten zijn éénmalig als spuitbehandeling toegepast op een jonge agarplug met *L. birnbaumii*. De spuitbehandelingen werden uitgevoerd direct na plaatsing van de agarplug om de preventieve werking te toetsen. Zie Tabel 3.1 voor een overzicht van de behandelingen. Hierdoor kreeg *Leucocoprinus* niet de kans om zich eerder te vestigen dan de productbehandelingen. De platen werden in een broedstof weggezet bij 22 °C. De schimmelgroei is gemeten na 2 en 6 dagen (dpi).

Tabel 3.1

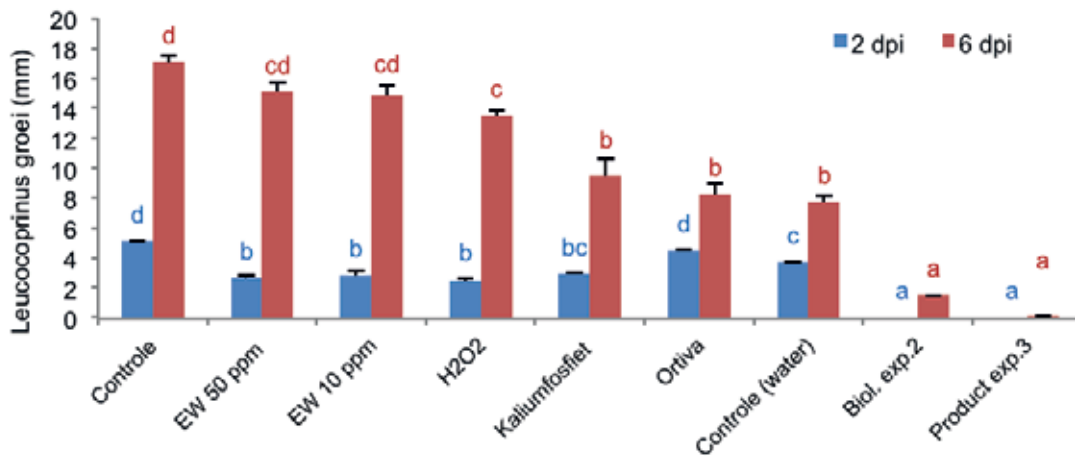
*Overzicht van de behandelingen toegediend in de labscreening.*

Behandeling (producent)	Dosering
Controle (onbehandeld)	
Controle (water)	kraanwater
Chem. referentie (Ortiva)	(0.001 ml/L)
Electrolysewater (EW)	10 en 50 ppm onderchlorig zuur
Waterstofperoxide	0,5%
Plantversterkende meststof (kaliumfosfiet)	0,1%
Biologisch product exp. 1*	0,5%
Biologisch product exp. 2*	0,5%
Product exp. 3*	0,4%

\*De biologische producten en Exp. product 3 zijn niet toegelaten als substraatbehandeling.

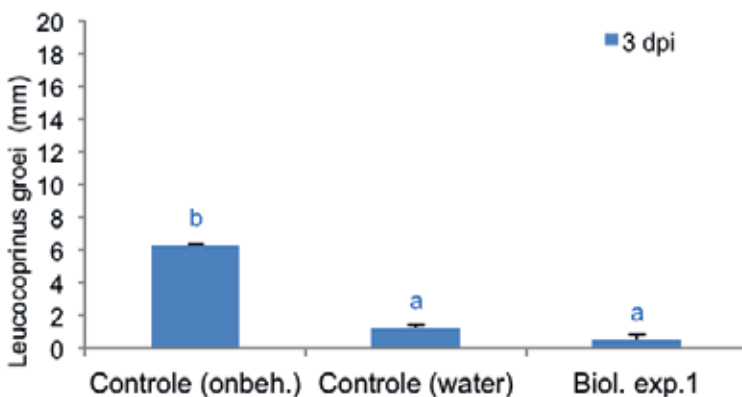
### 3.3 Resultaten

In Figuur 3.1 zijn de resultaten weergegeven van de effecten van preventieve behandelingen op de groei van *Leucocoprinus* onder labcondities op kunstmatige voedingsbodems. De oxidatieve producten (electrolysewater en waterstofperoxide) en plantversterkende meststof met een duidelijke contactwerking hebben de schimmelgroei na 2 dagen zichtbaar afgeremd met 50% ten opzichte van de onbehandelde controle. Zodra de behandeling echter is gestopt, herstelt de schimmel zich weer, zodat na 6 dagen de groeiremming nog slechts 10-20% bedraagt ten opzichte van de onbehandelde controle. Herhaling van de behandeling lijkt nodig om voldoende groeiremming te handhaven. De chemische referentie heeft geen directe contactwerking, maar lijkt wel een zekere duurwerking te geven. Na 6 zes dagen is de schimmelgroei met 50% geremd. Opvallend is de sterke werking van de experimentele producten waarmee *Leucocoprinus* na één bespuiting al met meer dan 80% wordt geremd. Zodra de biologische producten zich goed hebben gevestigd op het kunstmatige substraat is er geen of nauwelijks nog groei mogelijk voor de plooiPADdestoel. Daarnaast blijkt de schimmelgroei ook sterk te worden geremd na een behandeling met water.



**Figuur 3.1** Resultaten van de verschillende productbehandelingen op hun directe werking tegen *Leucocoprinus*, 2 en 6 dagen na de behandeling (dpi). Kolom geeft gemiddelde waarde aan plus standaardfout. Verschillende letters geven significante verschillen aan tussen behandelingen (Tukey's test,  $P < 0,05$ ).

Een tweede onafhankelijk experiment laat opnieuw zien dat een waterbehandeling de ontwikkeling van *Leucocoprinus* sterk remt met 80% (Figuur 3.2). Dit effect lijkt daarmee zelfs nog sterker dan in het vorige experiment. Daarnaast zien we dat Biologische exp. 1 de schimmelgroei na 4 dagen met meer dan 90% remt ten opzichte van de onbehandelde controle.



**Figuur 3.2** Resultaten van behandeling met Biologische exp. 1 tegen *Leucocoprinus*, 3 dagen na de behandeling (dpi). Kolom geeft gemiddelde waarde aan plus standaardfout. Verschillende letters geven significante verschillen aan tussen behandelingen (Tukey's test,  $P < 0,05$ ).

## 3.4 Conclusie

De proeven bevestigen dat de groei van *Leucocoprinus* gevoelig is voor water. Bij langdurige blootstelling aan vocht wordt de schimmelgroei sterk geremd (tot 80%). Diverse oxidatieve en natuurlijke producten kunnen bij preventieve toepassing de schimmelgroei verminderen. Bij oxidatieve producten en een plantversterkende meststof geeft een éénmalig spuitbehandeling een licht remmende werking. Het werkingsmechanisme berust op een directe contactwerking, waardoor frequente toepassing naar verwachting noodzakelijk zal zijn voor een sterker effect. Bij de experimentele producten zijn de twee producten op basis van een antagonistische schimmel in staat om de schimmelgroei direct en langdurig te verminderen. Een derde experimenteel product komt als zeer veelbelovend alternatief in de bestrijding van *Leucocoprinus* naar voren. De schimmel is nauwelijks in staat uit te groeien. De meest potentiële producten zijn in de volgende fase van het onderzoek getest onder meer realistische praktijkcondities.





## 4 Kasproef met besmette praktijkgrond

### 4.1 Doel

In Fase 3 is een kasproef uitgevoerd met een aantal veelbelovende producten uit de labscreening om de werking in een teeltsysteem met besmette potgrond te testen en in aanwezigheid van een waardplant. In deze kasproef werd getest of de groei van *Leucocoprinus* verhinderd dan wel vertraagd kan worden door toevoeging van milieuvriendelijke middelen aan het substraat. Daarnaast werd onderzocht of niveaus van natuurlijke afweerstoffen tegen biotrofe schimmels in een plant een rol kan spelen bij het verminderen van *Leucocoprinus* groei in de potgrond. Het idee daarvan is dat deze stoffen (oa. salicylzuur) ook sterker uitgescheiden worden via de wortels en door contact met schimmeldeeltjes in de wortelzone ook de schimmelgroei in het substraat zouden kunnen remmen.

### 4.2 Uitvoering

#### 4.2.1 Potgrond, gewassen en kasruimte

De kasproef met *Leucocoprinus birnbaumii* werd uitgevoerd in de periode augustus tot oktober 2014. De besmette grond werd aangeleverd vanuit de praktijk (zie Hoofdstuk 3). We vergeleken de besmette grond met onbesmette potgrond met 0,15l/m<sup>3</sup> kokos. Tevens werd deze onbesmette potgrond behandeld met gammastraling, dat alle microbiële leven dood. Deze grond is na de behandeling dus volkomen steriel. Daarnaast werd de potgrond en de gamma-bestraalde potgrond gemengd met de besmette praktijkgrond in de verhouding 6:1. Er werden in totaal dus 5 verschillende potgrondbehandelingen getest in deze proef:

1. Standaard potgrond.
2. Gamma-bestraalde potgrond.
3. Besmette praktijkgrond.
4. Mengsel normaal/praktijkgrond (6:1).
5. Mengsel gamma-bestraald/praktijkgrond (6:1).

Er is gekozen voor twee toetsgewassen; een succulent, Aloë vera en een niet-succulent, Kalanchoë (*Blossfeldiana*) om te bepalen of er nog verschil zou optreden tussen gewastypes. Daarnaast werd dezelfde Kalanchoë soort ook gebruikt in een meeldauwproef die parallel aan deze proef liep zodat resultaten (tav meeldauwgevoeligheid en productie van natuurlijke afweerstoffen) onderling beter te vergelijken zijn. Aloë vera werd als toetsplant gekozen omdat deze van nature al een hoog niveau van salicylzuur produceert en daarmee een geliefd ingrediënt is voor handcrèmes, e.d. Als er een effect is van verhoogde niveaus van salicylzuur uitscheiding via de wortels, dan zou dat bij deze toetsplant duidelijk zichtbaar moeten worden in een mindere ontwikkeling van *Leucocoprinus* in het substraat.

De gewassen werden geplant in doorzichtige potten met een doorsnede van 15 cm en een inhoud van ca. 800 ml potgrond. De kasproef werd uitgevoerd in een potplantenafdeling met individuele eb-en vloedtafels (constante temperatuur van 20°C, 70% relatieve luchtvochtigheid). In deze ruimte stonden 24 tafels die elk individueel konden worden gestuurd op voeding, een overzicht van de indeling van de kas is te vinden in bijlage I. Er zijn 7 verschillende productbehandelingen getest op hun werking tegen *Leucocoprinus* groei. Elke productbehandeling werd in duplo op twee verschillende tafels getest. Op elke tafel stonden 10 planten per potgrond soort, totaal dus 50 planten. Watergift werd handmatig toegediend naar behoefte. Tweemaal per week voor Kalanchoë en 1 maal per week voor Aloë vera.

#### 4.2.2 Middelen

Er werden 7 verschillende (biologische) middelen getest op hun mogelijke werking tegen *Leucocoprinus* groei. Het gewas Kalanchoë werd behandeld met de middelen Ortiva, biologisch product experimenteel 2, product experimenteel 3, kaliumfosfiet, zwavelzure ammoniak, electrolyse water en INA, en een controle behandeling met water. Het gewas Aloë vera werd alleen behandeld met een selectie van deze middelen, kaliumfosfiet en INA, en een controle behandeling met water. Een overzicht van deze behandelingen is te vinden in Tabel 4.1. Als chemische referentie werd gebruik gemaakt van Ortiva dat een brede werking heeft tegen schimmels. De werkzame stof is azoxystrobine. Azoxystrobine is afkomstig uit de chemische groep van de strobilurinen. Strobilurinen zijn verbindingen die bepaalde paddestoelsoorten afscheiden om andere schimmels op afstand te houden. Azoxystrobine heeft zowel translaminaire als systemische eigenschappen, waardoor ook langdurige bescherming optreedt van plantdelen die niet direct zijn geraakt. Ortiva werd gespoten op gewas en substraat direct na het planten, en dit werd om de 7 dagen herhaald.

In deze proef werden twee experimentele middelen getest, biologisch experimenteel 2 op basis van een antagonistische schimmel, en experimenteel product 3. Deze middelen werden eenmalig aangegoten direct na het planten

Ook werden effecten van plantversterkende meststof op de groei van *Leucocoprinus* getest. Kaliumfosfiet is een minerale meststof, die kalium en fosfiet bevat. Kalium zorgt bij de plant voor stevigheid, terwijl fosfiet de wortelvorming en -uitloop bevordert en celwanden versterkt. Tevens is er in de literatuur beschreven dat fosfiet-achtige verbindingen een rol kunnen spelen bij het verhogen van natuurlijke afweerstoffen tegen biotrofe schimmels (oa. salicylzuur productie). Kaliumfosfiet moet preventief toegepast worden om de weerstand tijdig op te bouwen. Kaliumfosfiet (0,1%) werd elke week vers toegevoegd aan het bassinwater, en toegediend met het eb-en-vloed systeem.

Zwavelzure ammoniak is een meststof bestaand uit ammoniumsulfaat. Ammoniak moet eerst door het bodemleven worden omgezet in nitraat voordat het door de plant opgenomen kan worden. Hierdoor is de werking van deze meststof vertraagd en spoelt niet zo snel uit. Zwavelzure ammoniak werkt verzurend (pH-verlagend) waardoor sporenelementen beter beschikbaar komen voor opname door de plant. Daarnaast zou het voor schimmels moeilijker zijn om zich in een zuur milieu te vestigen. Zwavelzure ammoniak werd eenmalig toegevoegd aan het waterbassin, en met watergift toegediend. Hierna werd het waterbassin opnieuw gevuld met de standaard voedingsoplossing.

Electrolyse water wordt gevormd door membraan electrolyse van natriumchloride en water. Hierbij worden een aantal chloorproducten gevormd zoals onderchlorig zuur en hypochloriet, maar ook waterstofperoxide en ozon komen vrij. Deze stoffen hebben een brede antimicrobiële werking, en kunnen schimmels en sporen doden. Electrolyse water werd elke week vers toegevoegd aan het bassinwater, en toegediend met de watergift. Tenslotte activeren we de natuurlijke afweer reactie van de plant. Deze wordt aangestuurd door salicylzuur. Salicylzuur is zelf geen afweerstof, maar een signaalstof. Bij voldoende hoge concentratie 'schakelt' het de aanmaak van afweereiwitten aan in de gehele plant. In deze proef gebruiken we een stabiele vorm van salicylzuur, INA (2,6-dichloroisonicotinic acid). Deze signaalstof werd aangebracht op een blad. De stof wordt opgenomen door de plant, waarna de concentratie salicylzuur in de hele plant omhoog gaat, zelfs in de wortels. Het natuurlijke afweersysteem van de plant wordt hierdoor dus geactiveerd. INA werd op 1 blad per plant gespoten, en dit werd om de 7 dagen herhaald.

**Tabel 4.1***Overzicht van de behandelingen in de kasproef.*

Behandeling	Werkzame stof	Concentratie	Toediening	Frequentie
Water	-	-	-	-
Ortiva	azoxystrobine	0.08 ml/L	spuiten	elke week
Biologisch product exp. 2*	biologisch	0.50%	aangieten	eenmalig
Product exp. 3*	-	0.36 ml/L	aangieten	eenmalig
Kaliumfosfiet	$K_2HPO_3$	0.10%	met watergift	bij elke watergift
Zwavelzure ammoniak	$(NH_4)_2SO_4$	6 g/L	met watergift	eenmalig
Electrolyse water	chloor	10 ppm	met watergift	elke week
INA	salicylzuur	1 mM	spuiten op 1 blad	elke week

\*Biologische product experimenteel 2 en product experimenteel 3 zijn niet toegelaten als substraatbehandeling.

### 4.2.3 Beoordeling

De mate waarin gele primordia en schimmelpuis aanwezig waren in de potten werd visueel beoordeeld, 4 weken na het planten en de start van de behandelingen. Per pot werd de schimmelgroei beoordeeld in de pot, bovenop de potgrond en onderin de pot. Dit werd gedaan met een klasse indeling, waarin met 0 beoordeeld werd als er geen schimmel zichtbaar was, 1 bij matige *Leucocoprinus* groei, en 2 bij ernstige groei.

Acht weken na het planten en de start van de behandelingen werd het vochtgehalte, vers gewicht en wortelstelsel van de gewassen in de verschillende potgronden bepaald. Het vochtgehalte werd gemeten met een vochtmeter, 1 dag na de watergift. De groei van het gewas werd bepaald door het gewicht van de bovengrondse plant te wegen (versgewicht). De groei van het wortelstelsel werd visueel beoordeeld volgens een klasse indeling, waarin met 1 werd beoordeeld als er weinig wortels gevormd waren, 2 bij gemiddelde wortelgroei, en 3 bij uitgebreide wortelgroei.

### 4.2.4 Statistische analyse

De gegevens werden geanalyseerd door middel van multivariate analyse (MANOVA) met behulp van het software programma SPSS. Verschillen tussen de groepen werden getoetst met een t-test.

## 4.3 Resultaten

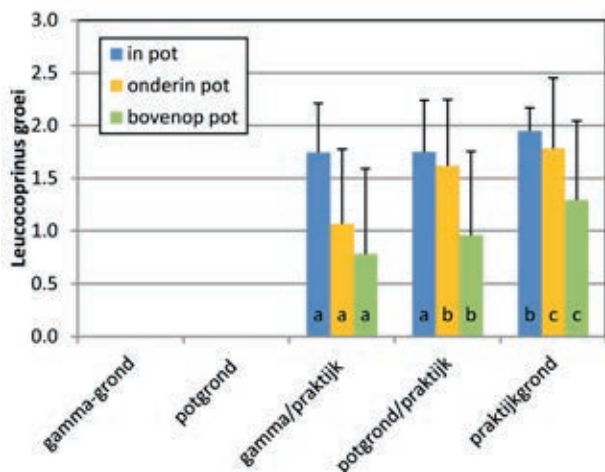
### 4.3.1 Mate van *Leucocoprinus* besmetting

De mate waarin gele primordia en schimmelpuis aanwezig waren in de potten werd visueel beoordeeld, 4 weken na het planten en de start van de behandelingen. Per pot werd de schimmelgroei beoordeeld in de pot, bovenop de potgrond en onderin de pot (zie figuur 4.1). Dit werd gedaan met een klasse indeling, waarin met 0 beoordeeld werd als er geen schimmel zichtbaar was, 1 bij matige *Leucocoprinus* groei, en 2 bij ernstige groei.



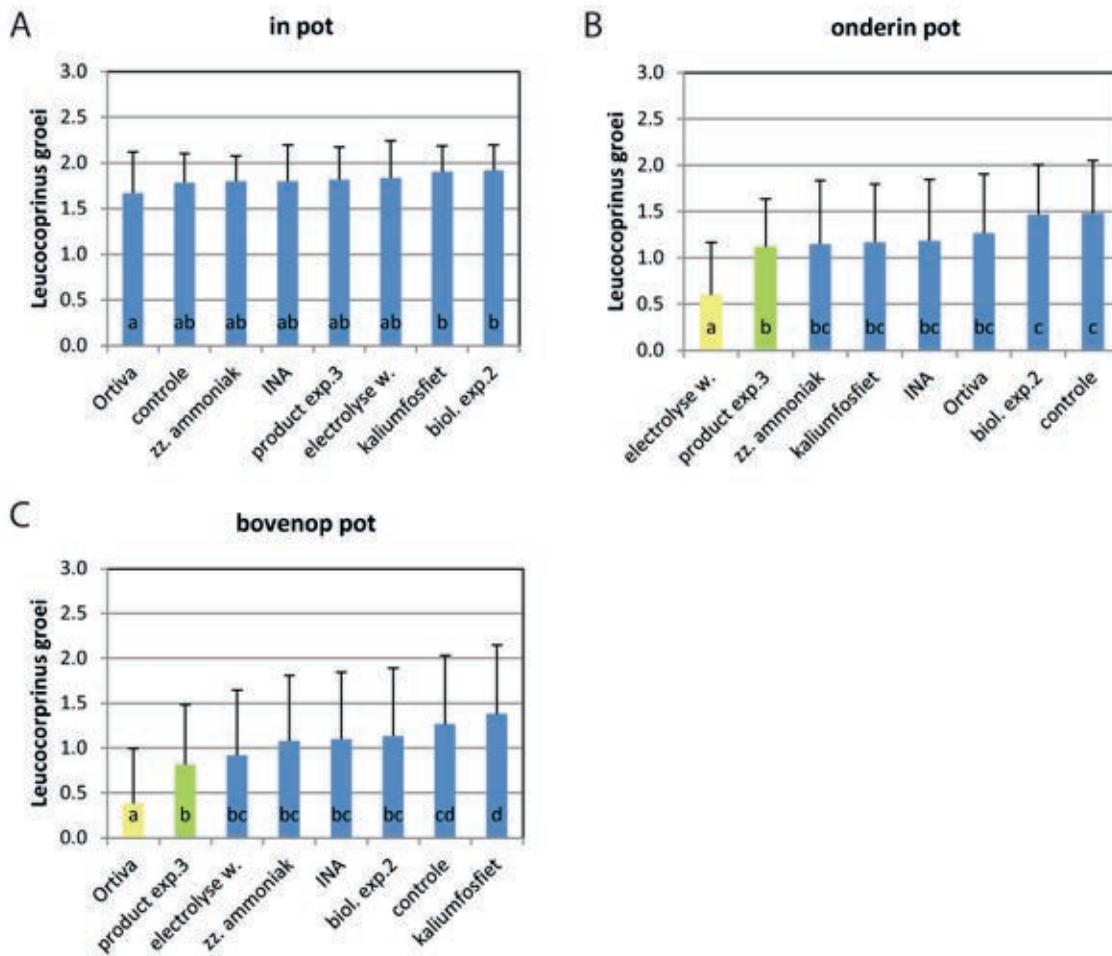
**Figuur 4.1** De beoordeling van de *Leucocoprinus* groei (A) in de pot, (B) onderin de pot, en (C) bovenop het substraat

In de normale en gamma-bestraalde potgrond is geen *Leucocoprinus* groei zichtbaar in de potten (Figuur 4.2, score = 0). De praktijkgrond was ernstig besmet (score = 1.95), terwijl de besmetting in de gemengde grond wat lager scoorde (score = 1.75). Dezelfde trend was zichtbaar bovenop de potgrond en onderin de pot. Er was geen verschil tussen de gewassen Kalanchoë en Aloë vera. In dit experiment was er dus geen zichtbare verspreiding van *Leucocoprinus* naar de niet-besmette potten op dezelfde tafel door het eb-en-vloed systeem. In de loop van het experiment namen de gele primordia en schimmelpluis af, omdat de schimmel in een ander stadium van de levenscyclus komt. De schimmel is dan nog wel aanwezig in de potgrond, maar niet meer duidelijk zichtbaar, waardoor een visuele eindbeoordeling in week 8 niet mogelijk was.



**Figuur 4.2** De groei van *Leucocoprinus* 4 weken na de start van het experiment in de verschillende soorten potgrond, met standaard deviatie. De groepen a, b en c verschillen significant van elkaar.

Vervolgens werd het effect van de verschillende middelen op *Leucocoprinus* groei (in week 4) in de besmette grondsoorten bepaald voor Kalanchoë (Figuur 4.3). Bij de beoordeling van *Leucocoprinus* groei in de pot zagen we voor geen van de geteste middelen een significant effect van de behandeling. Onderin de pot zagen we een sterke vermindering van *Leucocoprinus* groei bij de behandeling met electrolyse water (60% reductie) en met experimenteel product 3 (reductie 25%). Electrolyse water werd toegediend met de watergift via het eb-en-vloed systeem, en zal door contactwerking dus met name van schimmelgroei onderin de pot tegen gaan. Experimenteel product 3 werd eenmalig aangegoten bij de start van de kasproef. Dit product had ook een significant effect op schimmelgroei bovenop de pot (40% reductie). Daarnaast zagen we vermindering van schimmelgroei bij de behandelingen met Ortiva (70% reductie). Ortiva werd wekelijks gespoten op het gewas en bovenop de potgrond, maar dringt dus niet voldoende door in de grond om ook schimmelgroei in en onderin de pot tegen te gaan. Voor Aloë vera werden geen verschillen tussen de controle behandeling met water en de behandelingen met INA en kaliumfosfiet op *Leucocoprinus* groei gemeten (resultaten niet getoond).

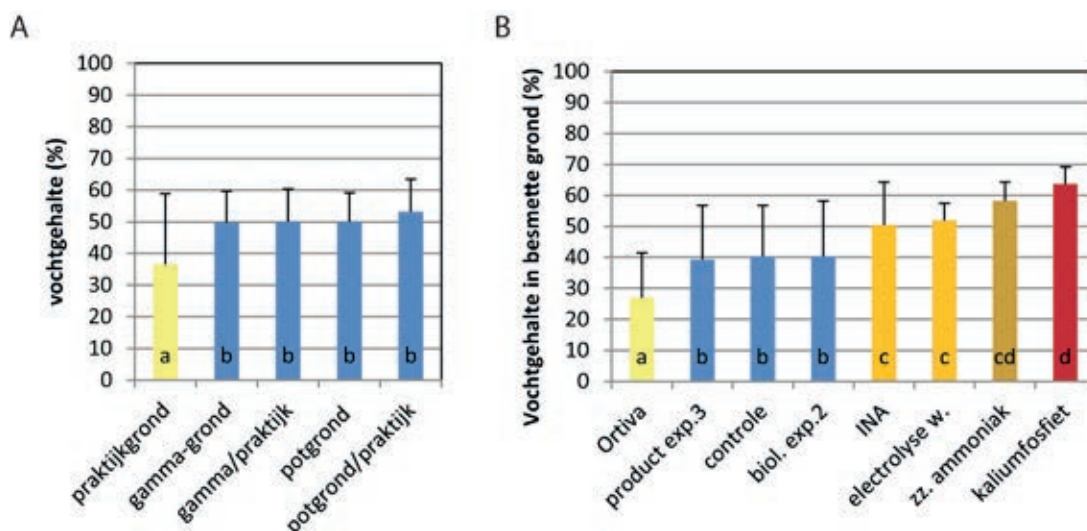


**Figuur 4.3** Het effect van de verschillende behandelingen op *Leucocoprinus* groei in de besmette grondsoorten, 4 werken na de start van het experiment. Gemiddelde *Leucocoprinus* score (A) in de pot, (B) onderin de pot, (C) bovenop het substraat, met standaard deviatie voor het gewas *Kalanchoë*. De groepen a, b, c en d verschillen significant van elkaar.

#### 4.3.2 Vochtgehalte van de grond

De groei van *Leucocoprinus* schimmeldraden de potgrond kunnen ervoor zorgen dat de grond hydrofoob wordt, en minder vocht vast kan houden. Daarom werd het vochtgehalte van de verschillende potgronden gemeten 8 weken na het planten en de start van de behandelingen. De metingen werden uitgevoerd met een vochtmeter, 1 dag na de watergift.

Voor *Kalanchoë* werd een aanzienlijk lager vochtgehalte gemeten in de besmette praktijkgrond (Figuur 4.4 A), terwijl er geen significante verschillen waren tussen de met praktijkgrond gemengde potgronden en de niet-besmette grondsoorten. In de besmette praktijkgrond werd 28% minder vocht gemeten. Voor *Aloë vera* werden geen significante verschillen in vochtgehalte gemeten tussen de verschillende potgronden (resultaten niet getoond)

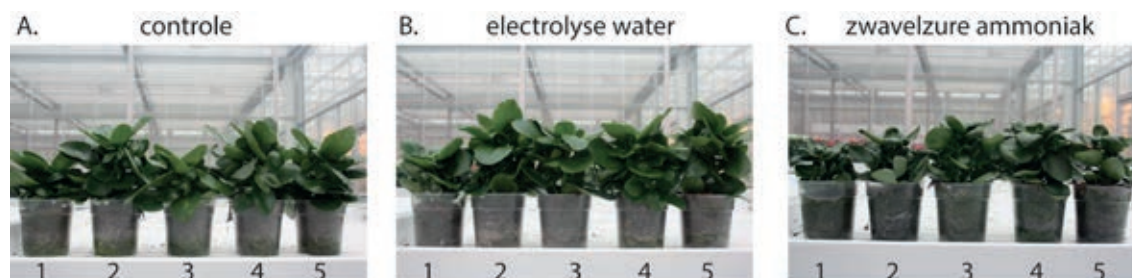


**Figuur 4.4** Het vochtgehalte van de potgrond 8 weken na de start van het experiment voor *Kalanchoë* (A) Vochtgehalte van de verschillende soorten potgrond. (B) Het effect van de verschillende behandelingen op het vochtgehalte van de besmette grondsoorten. Gemiddelde vochtgehalte met standaard deviatie, de groepen a, b, c, d verschillen significant van elkaar.

Vervolgens werd het effect van de verschillende middelen op de vochtopname gemeten voor *Kalanchoë* in de besmette grondsoorten (Figuur 4.4 B). Het chemische middel Ortiva verminderde het vochtgehalte van de besmette grondsoorten. Terwijl INA, elektrolyse water, zwavelzure ammoniak en kaliumfosfiet de vocht opname juist verhogen. Voor *Aloë vera* werd een vochtgehalte van 30 gemeten voor de controle (resultaten niet getoond). De behandeling met kaliumfosfiet liet ook hier een significante stijging naar 43 zien. De behandeling met INA had geen significant effect.

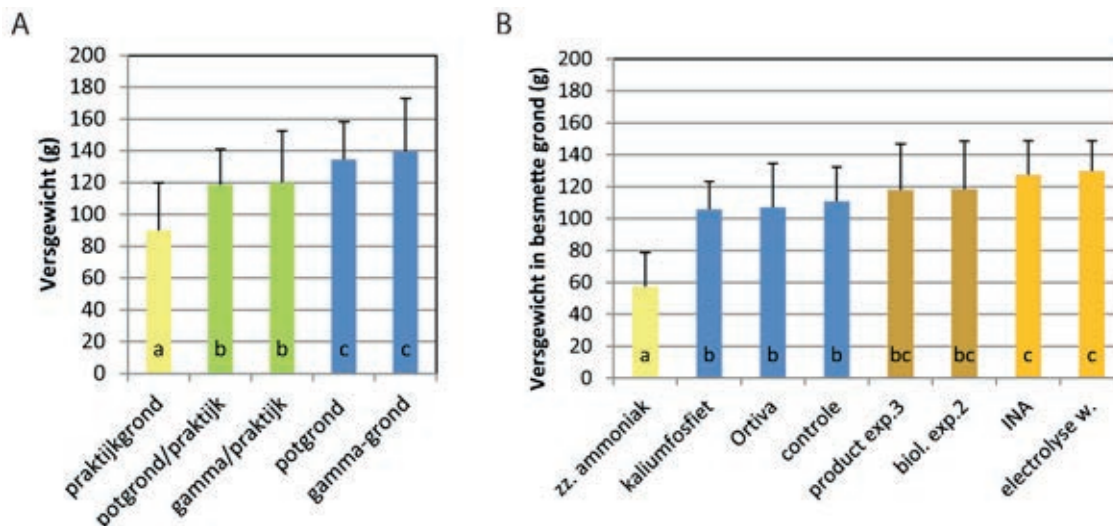
#### 4.3.3 Groei van het gewas

Na 8 weken waren er verschillen zichtbaar tussen de groei van *Kalanchoë* in besmette in niet-besmette grondsoorten (Figuur 4.5). De planten in de besmette grondsoorten waren duidelijk kleiner. De groei van het gewas werd bepaald door het meten van het gewicht van de bovengrondse plant. Het vers gewicht van *Kalanchoë* was significant minder in de besmette praktijkgrond dan in de niet-besmette potgronden (figuur 4.6 A). Er werd een groei reductie van 35% gemeten. Ook in de met praktijkgrond gemengde potgronden was het vers gewicht minder, er werd een groei reductie van 13% gemeten. Voor *Aloë vera* werden geen verschillen in vers gewicht aangetoond tussen de verschillende potgronden. Dit komt waarschijnlijk door een grote variatie in het aantal bladeren, en dus het gewicht van de plant.



**Fig. 4.5** Groei van *Kalanchoë* in de verschillende potgronden, 8 weken na de start van het experiment. (A) water controle behandeling (B) behandeling met elektrolyse water en (C) met zwavelzure ammoniak, in de verschillende potgronden: praktijkgrond (1), gamma-grond (2), potgrond/praktijk (3), potgrond (4) en gamma/praktijk (5)

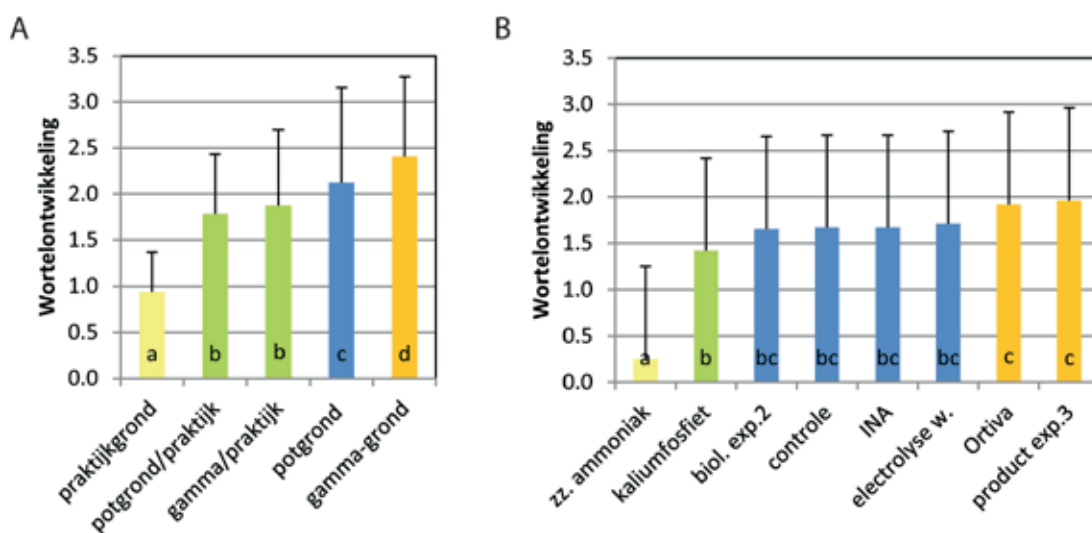
Vervolgens werd het effect van de verschillende middelen op de groei van Kalanchoë gemeten in de besmette grondsoorten (Figuur 4.6 B). Het vers gewicht voor de behandeling met zwavelzure ammoniak was aanzienlijk lager. Het gewas was gedrongen en donker groen, door een negatief effect van deze meststof (Figuur 4.5 C). Hieruit blijkt dat Kalanchoë gevoelig is voor het toevoegen van zwavelzure ammoniak, in vervolg experimenten zou een lagere concentratie van deze meststof getest kunnen worden. We zagen een kleine toename in het vers gewicht voor de behandelingen met de experimentele producten 2 en 3, en een wat grotere toename voor de behandelingen met INA en electrolyse water (Figuur 4.6 B). Voor Aloë vera werden geen verschillen tussen de behandelingen aangetoond .



**Figuur 4.6** Het versgewicht van de bovengrondse deel van de Kalanchoë planten, 8 weken na de start van het experiment. (A) Het versgewicht in de verschillende soorten potgrond. (B) Het effect van de verschillende behandelingen op het versgewicht in de besmette grondsoorten. Gemiddeld versgewicht met standaard deviatie, de groepen a, b en c verschillen significant van elkaar.

#### 4.3.4 Ontwikkeling van het wortelstelsel

De ontwikkeling van het wortelstelsel werd visueel beoordeeld, 8 weken na het planten en de start van de behandelingen. Per pot werd de wortelontwikkeling beoordeeld volgens een klasse indeling, waarin met 1 werd beoordeeld als er weinig wortels gevormd waren, 2 bij gemiddelde wortelgroei, en 3 bij uitgebreide wortelgroei. We zagen een sterke vermindering van wortelgroei van Kalanchoë in de besmette praktijkgrond (Figuur 4.7 A), en ook in de besmette gemengde grondsoorten werd een significante vermindering van wortelgroei gemeten. De wortelontwikkeling was met 60% verminderd in de besmette praktijkgrond ten opzichte van de niet besmette grondsoorten. In de besmette gemengde grondsoorten was wortelgroei met 20% verminderd.



Figuur 4.7. De ontwikkeling van het wortelstelsel van Kalanchoë, 8 weken na de start van het experiment. (A) De wortelontwikkeling in de verschillende soorten potgrond. (B) Het effect van de verschillende behandelingen op wortelontwikkeling in de besmette grondsoorten. Gemiddelde wortelscore met standaard deviatie, de groepen a, b, c en d verschillen significant van elkaar.

Vervolgens werd het effect van de verschillende middelen op de groei van het Kalanchoë wortelstelsel gemeten in de met *Leucocoprinus* besmette grondsoorten (Figuur 4.7 B). Zoals voor het versgewicht, zien we opnieuw een negatief effect van de behandeling met zwavelzure ammoniak op wortelgroei, Kalanchoë is gevoelig voor deze meststof, en in vervolg experimenten zou een lagere concentratie getest moeten worden. Kaliumfosfaat lijkt ook een klein negatief effect op Kalanchoë wortelgroei te geven. De middelen Ortiva en experimenteel product 3 hebben een positief effect op de wortelontwikkeling in de met *Leucocoprinus* besmette grondsoorten.

## 4.4 Conclusie

Verschiedende milieuvriendelijke middelen werden in deze kasproef getest op hun werkzaamheid tegen *Leucocoprinus* groei. Spuiten met het chemische middel Ortiva verminderde alleen de *Leucocoprinus* groei bovenop de potgrond. Goede resultaten werden behaald met het experimentele product 3, dat *Leucocoprinus* groei in zowel bovenop de potgrond als onderin de pot sterk verminderde (25-40%). Dit milieuvriendelijke middel werd eenmalig aangegoten bij de start van de kasproef. Daarnaast werden goede resultaten behaald met electrolysewater, wat schimmeligroei onderin de pot met 60% verminderde. Electrolyse water werd toegevoegd aan het voedingsbassin, en meegegeven met de watrigift. Het heeft een contact werking, en is daardoor met name effectief tegen schimmeligroei onderin de pot. Alhoewel de gewassen in de besmette en niet-besmette potgrond per behandeling op dezelfde tafel stonden, werd tijdens de duur van dit experiment geen besmetting van de schone potgrond gezien. Dit geeft aan dat *Leucocoprinus* zich niet via het water heeft verspreid in het eb-en-vloed systeem.

In de kasproef werd vastgesteld dat de met *Leucocoprinus* besmette potgrond een lager vochtgehalte heeft. De groei van Kalanchoë was vertraagd (13-35%) in besmette grond, en de wortelontwikkeling was verminderd (20-60%). De behandeling met electrolyse water leek de opname van vocht te verhogen, en bevorderde de groei in de met *Leucocoprinus* besmette grondsoorten. De behandeling met experimenteel product 3 resulteerde in een kleine toename van de groei en had een positief effect op de wortelontwikkeling in de besmette grondsoorten.

In deze kasproef werd geen verschil aangetoond in *Leucocoprinus* groei tussen de waardplanten Kalanchoë en Aloë vera. Aloë vera werd als toetsplant gekozen omdat deze continue een hoog niveau van salicylzuur produceert. De behandeling van de gewassen met INA had een klein (niet significant) effect op *Leucocoprinus* groei onderin de pot en bovenop de potgrond. Daarnaast verhoogde INA significant het vochtgehalte van de besmette grond, en bevorderde de groei van Kalanchoë. Vervolg onderzoek is nodig om het effect van de natuurlijke afweerstof salicylzuur op *Leucocoprinus* groei op te helderen.



## 5 Discussie en Conclusie

### 5.1 Snelle besmetting via substraatresten

Een belangrijk resultaat van de kasproef is dat via besmette substraatresten een goede verspreiding van *Leucocoprinus* mogelijk is naar niet besmette potgrond. Daarnaast zagen we in de korte looptijd van de proef geen verspreiding via het water. Planten die niet in besmette potgrond stonden, maar wel op dezelfde eb- en vloedtafel, bleven vrij van visuele symptomen van *Leucocoprinus*. Om dit met zekerheid te kunnen vaststellen is een aanvullende moleculaire test voor *Leucocoprinus* besmetting aan te bevelen. Dit was niet mogelijk binnen het gegeven budget van deze proef. De onbesmette potten zijn daarom opgeslagen voor eventuele analyse in de toekomst. Gronddeeltjes blijken dus een belangrijke besmettingsbron, terwijl de vegetatieve schimmeldelen (primordia) niet binnen enkele weken via het water verspreid worden naar naburige potplanten.

Het suikergehalte van het substraat beïnvloedt de groei van *Leucocoprinus*, een optimale groei werd gevonden bij een suikergehalte tussen 2-5%, terwijl remming optreedt op bij waarden hoger dan 10%. De groei van *Leucocoprinus* is dus afhankelijk van het suikergehalte van de potgrond. In de kasproef had de besmette praktijkgrond niet dezelfde samenstelling als de onbesmette potgrond. In vervolg onderzoek is het van belang om de besmette praktijkgrond in voldoende volumes door te enten, zodat verschillen in groei en wortelontwikkeling door *Leucocoprinus* besmetting zijn te beoordelen zonder een eventuele invloed van substraatsamenstelling.

### 5.2 Preventieve maatregelen

In de kasproef wordt opnieuw duidelijk hoe belangrijk hygiëne is. Daarbij is het van belang de maatregelen vooral te richten op substraatresten. Zoveel mogelijk organische resten opruimen in de teeltruimte, oppotruimtes en opslagruimtes (fust, oppotmachines, teelttafels, vloer, bunkers). Daarnaast is een bestaande besmetting en de gevolgen daarvan in potplanten in lichte mate terug te dringen door voedingswater te ontsmetten met oxidatieve middelen (bijv. waterstofperoxide, electrolysewater). In de labscreening werd duidelijk dat direct contact tussen een oxidatief middel en de schimmel zorgt voor directe groeiremming. In de kasproef werd duidelijk dat bij frequente toediening van electrolysewater aan het voedingswater er nog genoeg reactief vermogen overblijft om ook schimmelgroei onderin de pot te verminderen. Ook een behandeling met Product exp. 3 lijkt goede perspectieven te bieden om de negatieve effecten op groei te verminderen door onder meer een stimulerend effect op de wortelontwikkeling in besmette gronden.

De perspectieven voor biologische antagonisten in de teeltfase zijn nog onzeker. In de labscreening is goed te zien dat, wanneer de antagonist vroegtijdig bij de schimmel aanwezig is, deze nauwelijks meer kan uitgroeien. In de kasproef is een lichte remming zichtbaar bij behandeling met biologisch product 2, maar dit effect is veel geringer dan wanneer het middel preventief aanwezig is voordat een besmetting is opgetreden.

### 5.3 Sturing op plantprocessen

Uit praktijkervaringen van telers komt naar voren dat de plooiPADdestoel zich sneller ontwikkelt in potgronden met een plant dan zonder plant. Kennelijk gedijt de schimmel beter in aanwezigheid van een plant die een continue aanvoer van voedingsstoffen levert. Dit zou suggereren dat de uitwisseling van voedingsstoffen in de wortelzone een belangrijke voedselbron is voor de schimmel en de groei kan bevorderen. Dit onderzoek toont aan dat de ontwikkeling van *Leucocoprinus* sterk samenhangt met verminderde wortelontwikkeling. Voorlopig lijkt het sturen op verhoging van natuurlijke afweerreacties tegen plantpathogenen weinig perspectief te bieden in de strijd tegen een saprotrofe schimmel, zoals *Leucocoprinus*. Plantbehandeling met een chemische activator (INA) van de natuurlijke afweerreacties tegen biotrofe organismen zoals meeldauw leidde slechts tot een lichte, niet significante vermindering van aantasting. Wellicht dat een volledige plantbehandeling sterkere effecten zou laten zien, omdat in deze proef slechts één blad per plant bespoten was om de systemische werking te toetsen.

Daarnaast zagen we dat de toetsplant, Aloë vera die bekend staat om de hoge aanwezigheid van salicylzuur, helaas ook geen sterke remming gaf van Leucocoprinus in besmette potgrond.

## 5.4 Onherstelbare economische schade

Dit onderzoek laat voor eerst duidelijk meetbaar zien hoe groot de economische schade kan zijn als gevolg van een sterke besmetting met Leucocoprinus. De groei van Kalanchoë planten was in besmette grond 13-35% vertraagd ten opzichte van onbesmette grond. Dit hing samen met een sterk verminderde wortelontwikkeling in besmette grond (>20%). Onduidelijk is of dit komt door een lager vochtgehalte die in de potgrond wordt aangetroffen na een besmetting of dat er ook een meer directe remming is als gevolg van uitgescheiden metaboliëten door Leucocoprinus waardoor de wortels worden aangetast en zich niet verder ontwikkelen. Beide processen kunnen elkaar gaan versterken en groeiachterstand bevorderen. Tevens was goed te zien dat een grond die eenmaal besmet is met Leucocoprinus snel leidt tot de aanwezigheid van ingekapselde, verdroogde gronddeeltjes die niet meer zijn te bevochtigen en irreversibel uitdrogen. In deze proef werd gebruik gemaakt van een vochtmeter. Maar hoewel visueel alle met Leucocoprinus besmette potten duidelijk droger waren, is dit alleen statistisch significant voor de praktijkgrond. De vochtmeter lijkt dus een snelle (goedkope) methode om enig inzicht te krijgen in het vochtpercentage, maar meer uitgebreid fysisch onderzoek is nodig om een betrouwbare waterretentie curve te verkrijgen. Wel leek electrolyse water leek de vochtopname van de besmette grond wel enigszins te verbeteren.

## 5.5 Tot slot

Dit onderzoek heeft meer inzicht gegeven in de groeivoorwaarden van Leucocoprinus en waar beheersing in de teelt zich op kan richten. Dit kan hopelijk meer houvast bieden voor bedrijven die al eerder besmet zijn geraakt en risico blijven lopen op economische schade. Ook al zijn ze van substraattype gewisseld die minder gevoelig is voor overmatige schimmelgroei. Er is nog steeds onzekerheid of een latente infectie toch niet opnieuw weer kan uitgroeien onder de juiste teeltcondities.

Naast deze teelt maatregelen is het van groot belang om aan het begin in de keten te toetsen op de aanwezigheid van de schimmel. Besmetting van het substraat met Leucocoprinus moet tijdig worden opgespoord. Niet alleen in de potgrondmengsels, maar ook in de oorspronkelijke gebieden waar gevoelige materialen (oa. kokos) vandaan komt.

## 6 Aanbevelingen

Het verdient aanbeveling om dit onderzoek te vervolgen en om een aantal nog openstaande vragen te beantwoorden.

### ***Wat is de aard van de interactie tussen schimmel en waardplant?***

Leucocoprinus is saprofytisch, dat wil zeggen dat de schimmel leeft van dood organisch materiaal en geen levende waardplant nodig heeft om zijn levenscyclus te voltooien. Toch komt uit praktijkervaringen van telers naar voren dat de plooiaddestoel zich sneller ontwikkelt in potgronden met een plant dan zonder plant. Kennelijk gedijt de schimmel beter in aanwezigheid van een plant die een continue aanvoer van voedingsstoffen levert. Dit zou suggereren dat de uitwisseling van voedingsstoffen in de wortelzone een belangrijke voedselbron is voor de schimmel en de groei kan bevorderen. Dit onderzoek toont aan dat de ontwikkeling van Leucocoprinus sterk samenhangt met verminderde wortelontwikkeling. Het is daarom goed mogelijk dat Leucocoprinus stoffen afscheidt die een direct negatief effect hebben op wortelgroei. Gerichte analyse van de excretie van Leucocoprinus zou hier meer inzicht in kunnen geven. Gekoppeld hieraan zou onderzocht moeten worden of de schimmel in bepaalde omstandigheden meer of minder nadelige effecten voor de waardplant heeft.

### ***Karakteriseren van het bronmateriaal voor de schimmel***

De in het teeltmedium gebruikte materialen, waaronder gemalen boomschors, zijn niet steriel en hebben vaak een tropische herkomst (kokos). In het substraat zijn daarom van nature schimmels en andere organismen aanwezig. Het is van belang om het bronmateriaal te karakteriseren. Dit zal inzicht geven in de voorwaarden en voedings- eigenschappen die van belang zijn voor schimmel groei. Dit kan vervolgens als uitgangspunt dienen voor selectieprocedures om primaire substraatbronnen met een hoog risicoprofiel op besmetting te mijden.

### ***Ontwikkelen van biologisch of moleculaire testen om besmetting te toetsen***

Het is belangrijk om aan het begin in de keten te toetsen op de aanwezigheid van de schimmel. Besmetting van het substraat met Leucocoprinus moet tijdig worden opgespoord. Niet alleen in de potgrondmengsels, maar ook in de oorspronkelijke gebieden waar gevoelige materialen (oa. kokos) vandaan komt. Het is van belang om gevoelige en betrouwbare biologische en moleculaire testen te ontwikkelen, die Leucocoprinus besmetting in een vroegtijdig stadium kunnen aantonen.



# 7 Literatuur

Hofland-Zijlstra, J.D. ; Breeuwsma, S.J. (2014)

Beheersing van plooiaddestoel in potplanten. Bleiswijk : Wageningen UR Glastuinbouw, Poster Themadag Gewasgezondheid 2014, 2014-03-13

Hofland-Zijlstra, J.D. ; Breeuwsma, S.J. (2014).

Informatiefolder Plooiaddestoel in potplanten: Herkenning, biologie, herkomst, verspreiding & beheersing. Wageningen UR Glastuinbouw.

Ludeking, D.; S.J. (Pim) Paternotte; R. Hamelink; M. van Slooten (2011)

Bestrijding en beheersing van overmatige groei van de schimmel *Leucocoprinus birnbaumii* bij de teelt van *Phalaenopsis*. Rapport GTB-1109. Wageningen UR Glastuinbouw, Bleiswijk.

Ludeking, D.; R. Hamelink; J. Baars (2013)

Bronnenonderzoek *Leucocoprinus birnbaumii* Fase A. Rapport GTB-1259 Wageningen UR Glastuinbouw, Bleiswijk.

Slegers, J. (2014).

Potgrond nooit 100% vrij van schadelijke organismen. Vakblad voor de Bloemisterij 43: 28-29.



# Bijlage I. Kasindeling

Kasindeling 10.02 Leucocoprinus proef

Gewassen: Kalanchoë

Aloë vera

24	18 Aloë Vera 8. INA	12 Aloë Vera 5. Kaliumfosfiet	6 Aloë Vera 1. controle
23 Kalanchoë 5. Kaliumfosfiet	17 Kalanchoë 7. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	11 Kalanchoë 8. INA	5 Kalanchoë 3. biol. exp.2
22 Kalanchoë 2. Ortiva	16 Kalanchoë 4. product exp.3	10 Kalanchoë 6. Electrolyse w	4 Kalanchoë 1. controle
21 Kalanchoë 8. INA	15 Kalanchoë 3. biol. exp.2	9 Kalanchoë 5. Kaliumfosfiet	3 Kalanchoë 7. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
20 Kalanchoë 6. Electrolyse w	14 Kalanchoë 1. controle	8 Kalanchoë 2. Ortiva	2 Kalanchoë 4. product exp.3
19 Aloë Vera 5. Kaliumfosfiet	13 Aloë Vera 1. controle	7 Aloë Vera 8. INA	1

A

B

C

D

Deur

Per behandeling op 1 tafel:

Trays met 10 planten

Per tafel 5 trays met verschillende grondsoorten

onbesmet

	gamma-grond		

	potgrond		



water flow in eb/vloed systeem

besmet

	praktijkgrond		

	potgrond/praktijk		

	gamma/praktijk		











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](http://www.wageningenUR.nl/glastuinbouw)

Glastuinbouw Rapport GTB-1333

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.