

- **Wat mogen we verwachten van biologische bestrijding van plantepathogenen?**
 - INLEIDING
 - DE HUIDIGE SITUATIE
 - VOORBEELDEN UIT ONDERZOEK
 - DISCUSSIE
 - CONCLUSIE
 - REFERENTIES

Wat mogen we verwachten van biologische bestrijding van plantepathogenen?

M. Gerlagh, P.H.J.F. van den Boogert en J. Köhl

DLO-Instituut voor Planteziektenkundig Onderzoek (IPO-DLO), Postbus 9060, 6700 GW Wageningen

Samenvatting

Voor biologische bestrijding van plantepathogenen is een ecologische benadering essentieel. Met drie voorbeelden uit IPO-DLO-onderzoek worden mogelijkheden van biologische bestrijding van belangrijke ziekten geïllustreerd. In geval van de grauwe schimmel (*Botrytis* spp.) is gewasbehandeling met een competitieve saprofyt, *Ulocladium atrum*, erop gericht *Botrytis* van zijn substraat voor sporulatie, dood weefsel, te beroven. Hierdoor vertraagt de epidemie-opbouw. Bij *Rhizoctonia solani* wordt gebruik gemaakt van de mycoparasiet *Verticillium biguttatum*, die de vorming van sclerotiën van *R. solani* belet. Toepassing bij groenrooien van pootaardappelen bestrijdt effectief de gevreesde lakschurft. Verder kan de mycoparasiet door terugdringing van sclerotiënvorming het overleven van *R. solani* op gewasresten beperken, wat resulteert in geringere toekomstige aantastingen. Ook bij sclerotiënrot wordt een mycoparasiet toegepast om overleving van sclerotiën, in dit geval van *Sclerotinia sclerotiorum*, tegen te gaan. Toepassing vindt plaats wanneer een gewas is aangetast of op gewasresten na de oogst. Terugdringing van bodembesmetting leidt ook hier tot een beperking van toekomstige aantasting. Bij witlof blijkt directe bestrijding van sclerotiënrot tijdens bewaring en trek mogelijk. Kansen en beperkingen van biologische bestrijding worden besproken in vergelijking met chemische middelen.

INLEIDING

Wanneer een KLV-studiekring en een DLO-instituut samen een themadag organiseren onder de titel 'Hoe ecologisch kan de landbouw worden?', mogen we rustig van een strikt rationeel ecologisch uitgangspunt vertrekken. Dit leidt onmiddellijk tot de constatering dat elke ons vertrouwde vorm van landbouw zondigt tegen ecologische principes door beperking van differentiatie in ruimte (grote homogene velden) en tijd (krappe rotaties). Hoewel diversiteit niet per se stabiliteit inhoudt, is grote homogeniteit inherent instabiel. Dit kan leiden tot ernstige epidemieën.

In de natuur komen verschijnselen voor die pathogenen inperken:

- 'decline', dat wil zeggen een natuurlijke teruggang van een ernstige epidemie door opgewekt antagonisme. Het verschijnsel is bekend bij parasieten en pathogenen, maar de aanduiding als 'decline' is sterk met ziekten verbonden.

- fylosfeer-effect, wat inhoudt dat de microflora op het blad necrotrofe pathogenen beconcurrereert door onder andere voedselcompetitie, eventueel ook antibiose. Eenzelfde verschijnsel speelt een rol in de carposfeer, en, ondergronds, in de rhizosfeer.

Bij een ecologische benadering van actieve gewasbescherming gaan we in de leer bij in de natuur optredende processen. Zijn er essentiële schakels in de levenscyclus van het pathogeen, waar het kwetsbaar is voor aanvallen? En valt een interventie op dit punt te combineren met een rationele en efficiënte landbouwkundige praktijk?

DE HUIDIGE SITUATIE

Bij de bestrijding van planteziekten richt chemische bestrijding zich traditioneel in de eerste plaats op voorkóming van infectie. Pas met de komst van systemische middelen werd curatief handelen soms ook mogelijk. Vele klassieke schimmelbestrijdingsmiddelen hebben zó'n brede werking, dat een correcte bepaling van het ziekte-veroorzakende organisme niet eens strikt noodzakelijk is om toch resultaat te boeken. Hier tegenover staat de denklijn van biologische

bestrijding: het ingrijpen richten op het versnellen of versterken van natuurlijke processen. Dit vóóronderstelt kennis van het pathogeen en zijn omgeving, en daarbij relevante processen. Daarbij dienen zich twee zwaarwegende beperkingen aan:

de duur van de potentiële en effectieve interactie-tijd, en de bereikbaarheid van de plaats van de gewenste interactie (Fokkema, 1993). Zo is de fyllosfeer een zeer extreem milieu; er heerst vrijwel permanent voedselschaarste, en het klimaat is uitermate wisselend, en voor schimmels meestal vijandig (droog, UV-straling). Daardoor is het praktisch ondoenlijk de microflora in de fyllosfeer langdurig te wijzigen. Dit neemt niet weg, dat de fyllosfeer-microflora van nature een belangrijke rol speelt in het beperken van infectie door consumptie van infectie-stimulerende voedingsstoffen (stuifmeel, honingdauw, bladexudaat), zodat vernietiging van de fyllosfeer-microflora door breedwerkende chemische middelen ziekten door voor deze middelen ongevoelige pathogenen kan bevorderen (Fokkema, 1976; Dik et al., 1991). Het effect van interacties tussen pathogenen en biologische bestrijdings-organismen in de fyllosfeer wordt verder beperkt, doordat het pathogeen onder infectie-bevorderende omstandigheden zich in enkele uren in de gastheer in veiligheid kan brengen. Dus is er in het algemeen middels concurrerende micro-organismen geen succes te verwachten van maatregelen gericht op voorkóming van infectie, niet bij regelmatige toediening aan de fyllosfeer, noch bij doelbewuste toediening na landing van het pathogeen.

Toch zijn er hoopvolle varianten, wanneer beperkingen zoals in de fyllosfeer niet zo'n rol spelen: na-oogst-behandeling van fruit, zoals appel, perzik, citrusvruchten (Wilson & Wisniewski, 1989; Wilson et al., 1994); wondbehandeling (Köhl et al., 1991) en zaadcoating. In deze gevallen kan een concurrerende microflora worden aangebracht op het juiste tijdstip en in grote doses. Verder is het fysische milieu, zeker bij na-oogst-behandeling en bij toepassing als zaadcoating, beter te regelen dan op het blad van een gewas. De grote discrepantie tussen antagonistische activiteit op laboratoriumschaal en werkzaamheid in praktijksituaties - ieder die zich met biologische bestrijding bezighoudt maar al te zeer bekend - doet zich in deze situaties veel minder voor. Bij de biologische bestrijding van bodemorganismen is hun moeilijke bereikbaarheid vaak een zwak punt. Het zogenaamde groenrooien van aardappelen is een inventieve manier van afrekenen met deze handicap.

Aangezien er de laatste jaren wegens de toegenomen aandacht voor milieu-aspecten een stroom voordrachten en publikaties is geweest onder andere over de bovengenoemde ziektebestrijdings-methoden, zullen wij hierop niet verder ingaan, doch aan de hand van lopend onderzoek enkele essentiële ecologische benaderingen illustreren.

VOORBEELDEN UIT ONDERZOEK

De eerste vraag luidt: 'Wat zijn de strategieën van het pathogeen?'. Wij stellen deze vraag met betrekking tot enkele zeer schadelijke en veelvoorkomende (groepen van) pathogenen.

1. *Botrytis*, meeldauw, roest. Deze pathogenen, bekend als r-strategisten (Andrews & Harris, 1986), hebben gemeen dat zij veel sporen produceren in korte cycli, leidend tot snelle verspreiding en veel nieuwe sporen, en dus een snelle toename van de ernst van de aantasting. Voor overleving zijn ze aangewezen op restanten van gekoloniseerd weefsel, waarbij een nieuwe epidemie start vanuit een zeer laag niveau.

2. *Rhizoctonia* en *Sclerotinia*. Deze pathogenen, K-strategisten, produceren sclerotia voor langdurig overleven. Er is geen duidelijke of slechts een beperkte, éénmalige rol voor sporen.

Hoe kunnen we hierop inspelen? Voor de eerste groep zal het doel zijn het terugdringen van de massale sporenproductie, want daar ligt de kracht van de pathogenen. Bij de tweede groep richten we ons primair op het overleven van de sclerotien. Deze doelen worden bij de volgende voorbeelden nagestreefd door de inzet van concurrenten tegen het necrotrofe pathogeen *Botrytis* en mycoparasieten tegen de biotrofen meeldauw en roest, alsmede tegen *Rhizoctonia* en *Sclerotinia*.

Voorkómen van massale vorming van sporen

Het necrotrofe pathogeen *Botrytis*

Botrytis cinerea veroorzaakt grote economische schade door aantasting van de bovengrondse plantedelen in een reeks van gewassen zoals aardbeien, druiven, erwt en bloemisterijgewassen. Voor het vuur in tulp en lelie zijn de soortspecifieke *B. tulipae* en *B. elliptica* verantwoordelijk.

Levenscyclus van *Botrytis*

Botrytis spp. overleven in de vorm van mycelium in gewasresten en dode plantedelen

van meerjarige gewassen (Braun & Sutton, 1987) of in de vorm van sclerotiën (Nair & Nadtotchei, 1987). Onder gunstige omstandigheden worden conidiën gevormd die primaire infecties in het gewas veroorzaken. Na de infectie moeten necrotrofe pathogenen zoals *Botrytis* spp. het planteweefsel door middel van toxinen en enzymen doden om het weefsel vervolgens te kunnen koloniseren. Pas daarna is productie van sporen voor een verdere verspreiding van het pathogeen in het gewas mogelijk. Later in de epidemie vormen naast de al genoemde gewasresten, en het door *Botrytis* spp. gedood planteweefsel ook natuurlijk afgestorven plantedelen zoals bloembladeren potentiële bronnen van conidiën. Hoewel conidiën van *Botrytis* spp. bijna altijd in de lucht aanwezig zijn, is de snelle toename van de ziekte in een gewas alleen te verklaren door de overmatige productie van conidiën in het al aangetaste gewas. Het reduceren van de conidiënproductie, in de hier geïllustreerde proef nagestreefd door het verwijderen van dood blad of toepassing van een antagonist, leidt daarom tot een vertraagde ziekte-ontwikkeling in het gewas (Fig. 1; Jordan & Pappas, 1977; Köhl et al., 1995b).



[Figuur 1](#)

Concurrenten van *Botrytis* op afgestorven planteweefsel

Er bestaat een groot aantal schimmels dat in staat is necrotisch weefsel te koloniseren en uiteindelijk af te breken. Vaak is er een successie van verschillende groepen van schimmels tijdens de decompositie van bladweefsel en van gewasresten te constateren (Pfender & Wootke, 1988). Een aanzet voor de ontwikkeling van een systeem voor biologische bestrijding is uit deze pool van saprofytische schimmels die te selecteren welke in staat zijn met *Botrytis* spp. om het substraat te concurreren. Gevolg van een succesvolle competitie met *Botrytis* spp. in het necrotisch weefsel zal een gereduceerde kolonisatie van het weefsel door *Botrytis* spp. zijn, met als gevolg een verminderde sporulatie van het pathogeen. Op deze manier zal de verdere verspreiding in het gewas geremd worden. Als eisen voor een ideale antagonist voor een dergelijke toepassing zijn te noemen:

- * Sterk concurrentievermogen tegenover mycelium van *Botrytis* spp. De antagonist moet in staat zijn weefsel te koloniseren al of niet in aanwezigheid van *Botrytis* spp. en de myceliumgroei van het pathogeen in dit weefsel te onderdrukken.
- * Overleven van omstandigheden waarbij schimmelgroei niet mogelijk is, zoals droogte of extreem hoge of lage temperaturen.
- * Snelle hergroei na zulke rustfasen.

Voor een aantal necrotrofe pathogenen zijn antagonistische schimmels gebruikt met als doel de sporenproductie van het pathogeen te reduceren. De antagonisten *Athelia bombacina* en *Chaetomium globosum* onderdrukken de productie van ascosporen van *Venturia inaequalis* op dode appelbladeren (Heye & Andrews, 1983) en *Limonomyces roseipellis* onderdrukt de productie van vruchtlichamen (ascocarpen) van *Pyrenophora tritici-repentis* op tarwestro (Pfender, 1988; Pfender et al., 1993). Op het IPO-DLO wordt het gebruik van saprofytische schimmels ter voorkoming van sporulatie van *Botrytis* spp. en het gevolg hiervan op de ziekteontwikkeling in het gewas onderzocht.

De antagonist *Ulocladium atrum*

Een groot aantal saprofyten is geïsoleerd uit necrotische bladdelen en vervolgens getoetst op hun vermogen de

sporulatie van *Botrytis* spp. te onderdrukken. Deze selectie werd uitgevoerd op dode uiebladeren onder geconditioneerde omstandigheden. De met *Botrytis* spp. en een dag later met de antagonisten bespoten dode, necrotische bladeren werden vochtig geïncubeerd, maar de vochtperiode werd onderbroken door droge perioden. Op deze manier werd de in het veld vaak optredende afwisseling van bladnat- met droge perioden gesimuleerd. Slechts enkele antagonisten waren in staat ook na herhaald uitdrogen van het substraat nog succesvol met *Botrytis* spp. te concurreren (Köhl et al., 1995c). Bekende antagonisten zoals *Gliocladium* spp. en *Trichoderma* spp. waren na een droogteperiode niet meer effectief waardoor hun slechte werkzaamheid onder veldomstandigheden te verklaren is (Fig. 1 en Fig. 2).

Uit deze proeven kwam een saprofytische schimmel, *Ulocladium atrum*, als de meest effectieve naar voren. In vervolgonderzoek werd gevonden dat de antagonist niet alleen op uiebladeren werkzaam is maar op necrotisch weefsel van een breed scala van gewassen, zoals geranium, begonia, cycлаam, lelie, aardbei en kiwi. Ook is het antagonisme effectief tegen verschillende *Botrytis*-soorten.

In een serie veldproeven onder verschillende weersomstandigheden werd gevonden dat conidiën van *U. atrum* binnen enkele uren tijdens een bladnatperiode kunnen kiemen en de schimmel necrotische bladeren goed kan koloniseren (Köhl et al., 1995a). Vervolgens waren bladeren waarin *U. atrum* aanwezig was geen geschikt substraat meer voor *Botrytis* om te koloniseren en sporen te produceren (Fig. 2). Deze resultaten geven aan dat de antagonist *U. atrum* een geschikte kandidaat is voor de ontwikkeling van een product voor de biologische bestrijding van ziekten veroorzaakt door *Botrytis* spp.

Biotrofen (roest, meeldauw)

Biotrofen springen zeer zorgvuldig om met hun gastheer. In de biotrofe fase is geen andere mogelijkheid van interventie denkbaar, dan door verhoging van de weerstand van de gastheer, hetzij door genetische verandering (resistentieveredeling), hetzij door het opwekken van geïnduceerde resistentie (Kuc & Strobel, 1992). Wel zijn er mogelijkheden tot verminderen van sporulatie door directe parasitering van mycelium en sporen door mycoparasieten. De LUW-vakgroep Fytopathologie heeft hieraan veel onderzoek gedaan (Hijwegen, 1988; Verhaar, 1995). Een ernstig probleem blijft het feit dat het pathogeen deels gevestigd is in het blad van de gastheer, terwijl de mycoparasiet in veel sterkere mate blootstaat aan de grillen van het klimaat. Met name een lage relatieve vochtigheid is beperkend voor de effectiviteit van parasitering.

Voorkómen van vorming of overleven van sclerotiën

Rhizoctonia

De bodembewonende pathogene schimmel *R. solani* is voor zijn overleving afhankelijk van de vorming van sclerotiën die onder gunstige omstandigheden (temperatuur en bodemvocht) op of in de directe nabijheid van de waardplant kiemen om deze vervolgens te koloniseren. Met name de jonge plantdelen, zoals hypocotylen van kiemplanten, ondergrondse stengels, blijken het meest gevoelig voor infectie. Dit gebeurt door gespecialiseerde infectiestructuren, zogenaamde infectiekussens, van waaruit fijne infectiehyfen het onderliggend planteweefsel binnendringen. Vanuit een lokale infectie groeit de schimmel ectotroof verder om elders opnieuw een infectie te beginnen. Op deze manier vormt het pathogeen een uitgebreid netwerk van onderling verbonden schimmeldraden.

Binnen het netwerk worden nieuwe sclerotiën afgezet, met name op de opslagorganen van reserve-voedsel van de waardplant, zoals knol, bol en penwortel. Het tijdstip van productie van sclerotiën valt samen met de natuurlijke veroudering van de waardplant. Naast sclerotiën en infectiekussens vormt *R. solani* een hymenium (basidiocarp) als onderdeel van de levenscyclus. Basidiosporen kunnen een rol spelen bij bovengrondse (wind-)verspreiding, welke vooral in de vochtige tropen tot bovengrondse aantasting leidt ('sheath blight' bij rijst en 'web blight' bij boon; Jones & Belmar, 1989; Thurston, 1984). In de gematigde streken is verspreiding door basidiosporen van minder belang en bovengrondse aantasting door *R. solani* komt zelden voor.



Figuur 2

Tabel 1 Effect van een lokale infectie (5 mm diameter) van het *Rhizoctonia solani* netwerk (90 mm diameter) door *Verticillium biguttatum* op de produktie van sclerotiën op cellulose-nitraat agar in Petrischalen. (LSD 0,05 = 11,6)

Isolaten van <i>R. solani</i> van tulp	Totale oppervlakte van sclerotiën (mm ²) per 90 mm diameter <i>Rhizoctonia</i> -kolonie				
	<i>R. solani</i> alleen		<i>Verticillium biguttatum</i>		
		M73	M92	M95	M98
2tR-12	233,5	3,3	2,7	34,0	5,6
2tR-118	238,7	39,4	16,0	42,3	27,8
2tR-144	173,1	56,9	33,3	52,7	40,1

(De bladeren werden in het veld bespoten, gedurende 6 dagen blootgesteld aan veldomstandigheden en vervolgens geïncubeerd in vochtige kamers.)

(Kolommen met gelijke letters zijn niet verschillend; $P < 0,05$.)

(90 mm diameter) door *Verticillium biguttatum* op de produktie van sclerotiën op cellulose-nitraat agar in Petrischalen. (LSD_{0,05} = 11,6)

Aan de strategie van ectotrofe groei en produktie van persistente sclerotiën op vermeerderingsmateriaal dankt het pathogeen zijn overleving en daarmee een bijzonder succesvol bestaan in tal van akkerbouw- en tuinbouwgewassen wereldwijd.

Gewasschade als gevolg van *R. solani* omvat kiemval (slechte opkomst), afsnoeringen van ondergrondse stengels en stolonen of bladaantasting met als gevolg opbrengstverliezen. In de aardappelpootgoedteelt leidt de vorming van sclerotiën op de jonge knollen (lakschurft) tot kwaliteitsverlies van het oogstbaar produkt.

Aangrijpingspunten voor antagonisten in de levenscyclus van *R. solani*

Voor de verspreiding en overleving van *R. solani* is netwerkvorming van het mycelium van groot belang ten behoeve van translocatie van nutriënten, bijvoorbeeld voor de produktie van sclerotiën. Verbreking van het netwerk kan ter plekke maar ook elders binnen het netwerk grote gevolgen hebben. Door minder infectiekussens is er minder infectie, en door minder sclerotiën wordt de overleving beperkt. Dit zogenaamde afstandseffect kan door mechanische (Neate, 1994) maar ook door biologische factoren (Van den Boogert & Deacon, 1994) veroorzaakt worden. Een goed voorbeeld vormt het effect van de mycoparasitaire schimmel *Verticillium biguttatum* die op Petri-schalen bij een zeer lokale infectie met een haard van 5 mm diameter de sclerotiumvorming binnen het hele netwerk (90 mm diameter) vrijwel geheel kan onderdrukken (Tabel 1).

Dit onderdrukkend effect wordt toegeschreven aan de 'nutrient sink'-werking, waarbij de mycoparasiet ten koste van de gastheer-schimmelnutriënten aan het hyfen-netwerk onttrekt ten behoeve van zijn eigen groei en sporulatie.

Naast ingrijpen in het netwerk kunnen antagonisten ook een rol spelen bij het terugdringen van kolonisatie en infectie. Effectieve antagonisten moeten dan in staat zijn ondergrondse delen van de plant vooruit te koloniseren om zodoende het pathogeen buiten te sluiten. Uit de literatuur is een aantal voorbeelden bekend van *Trichoderma* en *Gliocladium* spp. die na zaadcoating de rhizosfeer bijvoorbeeld van katoen en radijs (Harman & Nelson, 1994; Howell, 1982) bezetten en *R. solani* door middel van competitie en/of fungitoxische werking van de metabolieten gliovirine en gliotoxine belemmeren bij kolonisatie en infectie.

***Verticillium biguttatum* als biologisch gewasbeschermingsmiddel**

Van de antagonisten die van nature in en op sclerotiën voorkomen is de eerder genoemde mycoparasiet *V. biguttatum* in een aantal opzichten de ideale antagonist om groei van *R. solani* en, nog belangrijker, de vorming van sclerotiën te verminderen. De mycoparasiet is in staat de vorming van sclerotiën te onderdrukken en/of de vitaliteit ervan te verminderen (Van den Boogert & Jager, 1984). Zijn ten opzichte van *R. solani* relatief lage groeisnelheid van 2 versus 20 mm per dag, bij een relatief hoge minimum temperatuur van 13 versus 1 °C, en zijn obligate mycoparasitaire karakter maken *V. biguttatum* echter minder geschikt om kolonisatie en infectie door *R. solani* onder alle omstandigheden te voorkómen (Van den Boogert & Velvis, 1992).

Tabel 2 Effect van toepassing van *Verticillium biguttatum*-sporen tijdens groenrooien op lakschurftvorming en de vitaliteit van de sclerotiën van *R. solani* (significante reductie bij P < 0,01; t-test)**

Proefveld	Lakschurft-index (0-100)		Vitaliteit (%)	
	Controle (water)	<i>V. biguttatum</i>	Controle (water)	<i>V. biguttatum</i>
Slootdorp (1991)	39	20**	67	7
Rolde (1991)	29	10**	85	7
De Krim (1991)	23	2**	54	0
Rolde (1992)	14	5**	37	9
Munnekezijl	51	36**	92	26
Slootdorp (1992)	45	42	84	66
Creil (1993)	8	1**	88	0
Creil (1994)	37	24**	94	43

De mycoparasiet is relatief eenvoudig op agarbodems te kweken voor experimentele doeleinden en biedt daarmee uitzicht op een commercieel verantwoorde produktie. Bovendien is *V. biguttatum* goed te combineren met andere antagonisten (*Trichoderma*, *Gliocladium* en *Pseudomonas* spp.) en specifieke fungiciden tegen Oömyceten (*Phytophthora infestans* en *P. erythroseptica*) en *R. solani*, waardoor een brede inzetbaarheid van *V. biguttatum* tot de mogelijkheden behoort (Van den Boogert & Kastelein, 1994). Onderzoek aan *V. biguttatum* op IPO-DLO heeft aangetoond dat zeker twee toepassingen perspectief bieden a) in de pootaardappelteelt tegen lakschurft en b) in diverse gewassen als fytosanitaire maatregel.

ad a. In de pootgoedteelt

Groenrooien als loofdodingsmethode in de pootaardappelteelt (Van den Boogert et al., 1994) biedt de mogelijkheid om de jonge knollen te bereiken met sporen van *V. biguttatum*. Niet alleen de gerichte toepassing op de jonge knollen maar ook het tijdstip van groenrooien is van cruciaal belang: namelijk vlak vóór de natuurlijke afsterving van de aardappelplant, waarbij lakschurftvorming nog geen kans heeft gekregen. Deze vorm van toediening, tijdens groenrooien, heeft als resultaat minder lakschurft en de lakschurft die toch gevormd wordt is minder vitaal (Tabel 2).

ad b. Fytosanitaire maatregel

Gewasresten van de waardplant worden als een belangrijk overlevingssubstraat voor *R. solani* beschouwd. Door geïnfecteerde gewasresten te bespuiten met sporen van *V. biguttatum* wordt de vorming van sclerotiën voorkomen en daarmee de mogelijkheid van overleving van het pathogeen in de grond. Uit Tabel 3 blijkt dat de overleving op gewasresten sterk vermindert door behandeling met de mycoparasiet. In de pootaardappelteelt biedt groenrooien een ideale mogelijkheid om naast de knollen ook de gewasresten doelgericht te behandelen. In principe is deze fytosanitaire maatregel (biologische ontsmetting) relevant voor andere toepassingen en teelten, zoals bijvoorbeeld bij het biologisch ontsmetten van pootgoed vlak voor het inschuren. Echter, de technische uitvoering ervan hangt af van de mogelijkheden om het oogstbaar produkt of de gewasresten doelgericht te raken met een sporensuspensie.

Tabel 3 Effect van toepassing van *Verticillium biguttatum* tijdens groenrooien op de overleving van *R. solani* op gewasresten

(stolonen/wortels) na een verblijf van 50 dagen in de grond. (**
Significante reductie bij $P < 0,01$; t-test).

Proefveld	Vitaal R. solani inoculum op gewasresten		(%; N=50)
	Controle (water)	V. biguttatum	
Creil (1993)	16	2	**
Rolde (1993)	24	0	**
Kollum (1994)	66	28	**

Sclerotinia

Vanuit in de grond overlevende sclerotiën ontstaan, meestal samenvallend met de bloei van een gewas, vlak boven de grond vruchtlichamen (z.g. apotheciën). De hierop gevormde sporen worden door de lucht verspreid en infecteren bloemen of verzwakte plantedelen, waarna de schimmel door direct contact in de gezonde plant verder groeit. Het is duidelijk, dat de omvang van de epidemie samenhangt met het aantal sclerotiën in de bodem. De aanpak die zich bij biologische bestrijding richt op beperking van produktie en overleven van sclerotiën, is bepalend voor de 'eisen' die aan een antagonist gesteld worden:

- * hij moet het mycelium zodanig verzwakken, dat er geen energie overblijft voor vorming van reserves (sclerotiën);
- * hij moet sclerotiën verzwakken of doden. In dit laatste geval valt te denken aan werking tegen reeds in de bodem aanwezige sclerotiën, of tegen sclerotiën die zich vormen op een ziek gewas;
- * hij moet in staat zijn tot overleven en infecteren onder zeer variabele milieu-omstandigheden (temperatuur, relatieve vochtigheid);
- * hij moet gemakkelijk kweekbaar zijn, wil hij ooit kans maken op praktische toepassing.

De literatuur vermeldt veel potentiële antagonisten die zijn aangetroffen op mycelium of sclerotiën van *Sclerotinia*. De meest serieuze kandidaten zijn *Sporidesmium sclerotivorum* en *Coniothyrium minitans*, gespecialiseerde mycoparasieten van *Sclerotinia* spp. Beide zijn matig effectief wat betreft het verzwakken van mycelium; hun groeisnelheid ligt veel lager dan van *Sclerotinia*, zodat deze zich bij voldoende aanbod van voedsel aan de invloed van de antagonisten kan onttrekken door snelle groei. Beide zijn dodelijk voor geïnfecteerde sclerotiën onder ruim variërende condities, maar alleen *S. sclerotivorum* kan in niet-steriele grond naar sclerotiën toegroeien (Adams, 1989). Dit voordeel in vergelijking met *C. minitans* wordt teniet gedaan door een zeer trage groei en hoge eisen aan het substraat, waardoor hij moeilijk op grote schaal te kweken is. Voorts is aangetoond dat zich op sclerotiën voedende insecten in staat zijn sporen van *C. minitans* over te dragen (Whipps & Budge, 1993), wat tot een vergelijkbaar resultaat kan leiden als bij actieve groei van de schimmel door de grond.

Tabel 4. Effect van behandeling van een door sclerotiënrot aangetast bonegewas met *Coniothyrium minitans* in 1990 op bodembesmetting met sclerotiën (aantal sclerotiën per 100 m rijlengte) in latere jaren (cijfers vanaf 2 jaar na behandeling), en aantasting van een in rotatie 4 jaar later weer geteeld gewas boon (tussen haakjes: aantal zieke boneplanten per 100 m rijlengte). Het effect van *C. minitans* is alle jaren significant; $P < 0,05$.

Behandeling	Jaar			
	1992	1993	1994	1995
<i>C. minitans</i>	11	26	4 (265)	20
Onbehandeld	100	95	14 (482)	80

Onderzoek aan *C. minitans* op IPO-DLO en veel andere plaatsen (Canada, U.K., Roemenië, Duitsland; zie Whipps & Gerlagh, 1992) heeft aangetoond dat deze mycoparasiet perspectief biedt voor de biologische bestrijding van *Sclerotinia* spp.

We geven in het kort drie benaderingen weer:

- I. toediening aan bodem of gewas met de bedoeling infectie te voorkómen;
- II. bespuiting van een ziek gewas om massale bodembesmetting met sclerotiën te voorkómen;
- III. toediening aan een geïnfecteerd gewas om uitbreiding van de ziekte af te remmen.

Ad I. De meest frequente toepassing zoals die uit de literatuur naar voren komt, is bespuiting van een gewas en vooral toediening aan de bodem om daardoor de infectie van het gewas te verminderen. Toedienen aan de bodem mikt op toevallig in contact komen van *C. minitans* met sclerotiën. Aangezien dit veel materiaal kost, en nooit alle sclerotiën worden geraakt, is het effect beperkt, en het perspectief troebel. Een uitzondering vormt toepassing tegen *Sclerotinia minor* als component van 'smet' in sla, waarbij alleen zeer oppervlakkig gelegen sclerotiën een rol spelen.

Ad II. Bespuiting van een ziek gewas leidt tot een zeer hoog percentage infectie van sclerotiën door *C. minitans*. De bereikbaarheid van de sclerotiën in deze fase is groot, en vereist geen speciale maatregelen. In een vijfjarige proef op ROC de Waag bleek deze benadering inderdaad de bodembesmetting met sclerotiën drastisch te beperken, met een daling van de aantasting van een vatbaar gewas in latere jaren tot gevolg (Tabel 4; cijfers verkregen door sommering over 10 veldjes per behandeling). Uit een oogpunt van duurzaam landgebruik is dit welhaast een ideale situatie, immers de bodembesmetting wordt geleidelijk teruggedrongen: exact het tegendeel van wat jarenlange teelt in te nauwe rotaties heeft bewerkt. Tegen deze methode pleit, dat de ziekte-incidentie van het behandelde gewas niet bleek te dalen, de ernst van de aantasting overigens wel enigszins, vermoedelijk doordat het pathogeen de antagonist bij infectie te snel af is, maar later wel de gevolgen van parasitering ondervindt, dus verzwakt wordt.

Ad III. Directe bestrijding van *Sclerotinia* bleek mogelijk bij witlof. *Sclerotinia* treedt hier vaak zeer schadelijk op als bewaarziekte, maar ook tijdens de trek. Bespuiting van witlofpennen na de oogst en vóór de bewaring met sporen van *C. minitans* deed in semi-praktijkproeven niet onder voor de standaard-behandeling met een dicarboximide-fungicide (Tabel 5, experiment A en B), tenzij het gewas reeds te velde volkomen 'versleten' was (Tabel 5, experiment C). Dat directe remming van infectie van witlof door *Sclerotinia* in de als A en B aangeduide proeven mogelijk blijkt, wordt toegeschreven aan een synergistisch effect van resistentie van de wortel, waardoor *Sclerotinia* slechts langzaam vordert, en de antagonist, die het vertraagde pathogeen wèl kan 'bijhouden'.

Tabel 5. Effect van toediening van *Coniothyrium minitans* aan witlof te velde en aan witlofpennen op wegval door sclerotiënrot (% aangetast) tijdens bewaring en trek, in vergelijking met onbehandeld en fungicide. Voor de drie experimenten zijn de gegevens afkomstig van minimaal 200 (exp. A) en maximaal meer dan 1000 (exp. B) pennen per behandeling. (- = geen waarnemingen)

Behandeling	Experiment A		Experiment B		Experiment C	
	Bewaring	Trek	Bewaring	Trek	Bewaring	Trek
Onbehandeld	4,6	22,6	0,9	2,1	5	52
<i>C. minitans</i> op gewas	6,6	4,7	-	-	4	44
<i>C. minitans</i> op pennen	3,1	0,6	0,3	0,6	3	42
Fungicide	3,2	5,4	0,5	0,3	1	6

DISCUSSIE

Tot slot willen we de sterke en zwakke kanten van biologische bestrijding afwegen ten opzichte van een chemische behandeling en/of onbehandeld.

1. Biologische bestrijding is niet gericht op het volledig uitroeien van het pathogeen. Ecologisch gezien is volledige uitschakeling van één der partners in een interactie onbestaanbaar. Wat dat betreft is het verklaarde doel dus minder absoluut dan bij fungicide-gebruik. Deze minder stringente aanpak heeft ook voordelen, omdat juist hoge selectiedruk vaak leidt tot resistentieproblematiek, bij moderne, specifieke fungiciden een groot probleem.

2. *V. biguttatum* en *C. minitans* worden pas actief als er (voldoende) pathogeen aanwezig is. Zij zijn daarin dus inherent minder effectief dan fungiciden idealiter kunnen zijn. Voor de aanpak van *Botrytis* is de situatie anders. Een antagonistische saprofyt kan zowel 'natuurlijk' afgestorven weefsel als door *Botrytis* gedood weefsel koloniseren. Daardoor kan de eerste infectie vanuit bronnen binnen het veld worden teruggedrongen. In dat opzicht ligt de aanpak zelfs een stap voor op een fungicide. Dit geldt niet voor die primaire infecties die afkomstig zijn van bronnen buiten het veld. Doch vaak zijn juist bronnen in het veld van het grootste belang (Braun & Sutton, 1987).

3. In tegenstelling tot de chemische bestrijdingsmiddelen stellen biologische bestrijdingsmiddelen hoge eisen aan omgevingsfactoren als temperatuur en vochtigheid. Het na toepassing van een biologisch bestrijdingsmiddel overleven tot het moment van activiteit kan kritisch zijn: het falen van directe infectie-voorkoming wordt er mede door verklaard. Het meest riskant wordt de situatie wanneer de omstandigheden tijdens de toepassing gunstig zijn voor de kieming van de sporen van de aangebrachte antagonist, terwijl het doel-organisme (nog) ontbreekt. Vervolgens worden er bij bovengrondse toepassingen immers hoge eisen gesteld aan o.a. droogte-, hitte- en UV-resistentie van het gevormde mycelium. Formulering kan helpen de overleving van het aangebrachte middel te verbeteren. In en op de bodem is uitdrogen minder een probleem, maar de bodemmicroflora en de mycofage mesofauna kunnen een rechtstreekse bedreiging vormen.

4. Zowel *V. biguttatum* als *C. minitans* zijn ecologisch biotroof: zij sterven weer uit bij afwezigheid van de gastheer. Zij zoeken de gastheer niet actief op, wat, zoals we zagen, een handicap is bij toepassing als bodembehandeling. Van de sterke kanten van deze antagonisten wordt echter ten volle geprofiteerd door toepassing van *V. biguttatum* onder andere bij groenrooien of bij de bewaring van poters, en van *C. minitans* op de bovengrondse delen van een gewas.

5. Mycoparasieten zijn zeer selectief, *U. atrum* als saprofyt is dat juist niet. De laatste is dus in principe geschikt tegen meerdere necrotrofe pathogenen, een voordeel dat hij deelt met breedwerkende fungiciden.

6. In vergelijking met *Rhizoctonia* en *Sclerotinia* groeien de antagonisten *V. biguttatum* en *C. minitans* relatief langzaam, waardoor het pathogeen nog enige tijd een voorsprong kan behouden. Partiële resistentie van de waard kan in zulke gevallen door het afremmen van het pathogeen de effectiviteit van de antagonist verhogen. Ook andere combinaties van biologische bestrijding, b.v. met fytosanitaire maatregelen of lage concentraties van chemische middelen, maken biologische middelen soms toepasbaar, terwijl zij op zichzelf onvoldoende effect sorteren. Een mooi voorbeeld is het uitstekende *Rhizoctonia*-onderdrukkende effect van een combinatie van *V. biguttatum* en een sterk verlaagde dosis fungicide (Jager & Velvis, 1989).

7. De hier behandelde biologische bestrijdingsmiddelen zijn eigen aan het systeem. Zij werden geïsoleerd van dood blad, respectievelijk van sclerotiën van *Rhizoctonia*, respectievelijk *Sclerotinia*. In eerste aanleg kunnen ze dus als onschadelijk worden aangemerkt.

8. De antagonisten kunnen hun effectiviteit sterk verhogen door een eigen epidemie-opbouw (vermeerdering op dood organisch materiaal, respectievelijk op het pathogeen; vandaaruit verspreiding).

9. Bij een nieuwe ontwikkeling die bekend staat als 'Biorational Control', waarbij specifieke componenten van biologische bestrijdings-organismen worden gebruikt als biofungicide (antibiotica, metabolieten) of werkzaam middel (celwand-splitsende enzymen) wordt getracht het pathogeen gevoeliger te maken voor meer klassieke chemische middelen. Voor deze laatste benadering bestaat veel belangstelling vanuit de genees- en voedingsmiddelenindustrie omdat zij de 'know how' voor productie bezitten.

CONCLUSIE

Hoe ecologisch kan de landbouw worden? We hebben een aantal kansrijke voorbeelden van biologische bestrijding van frequent voorkomende planteziekten besproken. In de uitgewerkte voorbeelden hielden, in vergelijking met fungiciden, sterke en zwakke punten met betrekking tot mogelijke toepassing van de antagonisten elkaar voldoende in evenwicht om deze vergelijking met fungiciden aan te durven. Bij sommige andere belangrijke ziekten zien we voorlopig minder perspectief. Voorts is het mogelijk het effect van

V. biguttatum, zoals genoemd, te versterken met een lage dosis fungicide. Ook in andere gevallen zou verenigbaarheid van biologische bestrijdingsmiddelen met bepaalde fungiciden tot aanbeveling strekken. We hebben dan de bouwstenen voor een waarlijk geïntegreerde teelt. In alle gevallen blijft bij toepassing van biologische bestrijders directe infectie door het pathogeen, het gebied waar fungiciden sterk zijn, mogelijk. Voorts dienen we ons te realiseren dat een biologisch bestrijdingsmiddel vooral zinvolle toepassing kan vinden, indien hij tegen het voornaamste pathogeen van een gewas kan worden ingezet. Wanneer andere belangrijke ziekten gelijktijdig een rol spelen, en niet bestreden worden door het biologische middel, blijft biologische bestrijding van een deel van de belagers al gauw een leuke hobby. Doordat bij het tegengaan van sporulatie van *Botrytis* spp. een saprofyt wedijvert om het door het necrotrofe pathogeen gedode weefsel, kan deze benadering wel breder worden ingezet: in principe worden alle necrotrofen geremd in hun epidemie-opbouw.

Slechts zelden zal er op korte termijn financieel gewin zijn in vergelijking met fungiciden, waarbij men vaak kan kiezen uit breedwerkende middelen. Juist tegen dominante pathogenen als *Botrytis*, *Rhizoctonia* en meeldauw worden echter steeds vaker specifieke fungiciden ingezet. Resistentie-, residu- en milieuproblemen, verbonden aan de gangbare bestrijding van planteziekten, scheppen zeker ruimte voor kansvolle toepassingen van biologische gewasbescherming bij een aantal van de ernstigste ziekten in land- en tuinbouw. Succesvolle biologische bestrijding van zulke belangrijke ziekten is essentieel voor vergroting van het aandeel biologische teelten, waarvan het areaal in Nederland tot dusverre schamel afsteekt bij dat van de gangbare teelten. De ervaring leert dat volhardend onderzoek soms wordt beloond met onverwachte openingen.

REFERENTIES

Adams, P.B. (1989)

Comparison of antagonists of *Sclerotinia* species. *Phytopathology* 79: 1345-1347.

Andrews, J.H. & R.F. Harris (1986) r- and K-selection and microbial ecology. *Advances in Microbial Ecology* 9: 99-147.

Boogert P.H.J.F. van den & J.W. Deacon (1994)

Biotrophic mycoparasitism by *Verticillium biguttatum* on *Rhizoctonia solani*. *European Journal of Plant Pathology* 100: 137-156.

Boogert, P.H.J.F. van den & G. Jager (1984)

Biological control of *Rhizoctonia solani* on potatoes by antagonists. 3. Inoculation of seed potatoes with different fungi. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 90: 117-126.

Boogert P.H.J.F. van den, P. Kastelein & A.J.G. Luttikholt (1994)

Green-crop-harvesting, a mechanical haulm destruction method with potential for disease control of tuber pathogens in potato. In: T. Martin (Ed.), *Seed treatment: Progress and Prospects*. BCPC Monograph 57, 237-246.

Boogert, P.H.J.F. van den & H. Velvis (1992)

Population dynamics of the mycoparasite *Verticillium biguttatum* and its host *Rhizoctonia solani* in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry* 24: 157-164.

Braun, P.G. & J.C. Sutton (1987)

Inoculum sources of *Botrytis cinerea* in fruit rot of strawberries in Ontario. *Canadian Journal of Plant Pathology* 9: 1-5.

Dik, A.J., N.J. Fokkema, & J.A. van Pelt (1991)

Consumption of aphid honeydew, a wheat yield reduction factor, by phyllosphere yeasts under field conditions. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 97: 209-232.

Fokkema, N.J. (1976)

Antagonism between fungal saprophytes and pathogens on aerial plant surfaces. In: C.H. Dickinson & T.F. Preece (Eds), *Microbiology of aerial plant surfaces*. Academic Press, London, 487-507.

- Fokkema, N.J. (1993)
Opportunities and problems of control of foliar pathogens with micro-organisms. *Pesticide Science* 37: 411-416.
- Harman, G.E. & E.B. Nelson (1994)
Mechanisms of protection of seed and seedling by biological seed treatments: Implications for practical disease control. In: T. Martin (Ed.), *Seed treatment: Progress and Prospects*. BCPC Monograph 57: 237-246.
- Heye, C.C. & J.H. Andrews (1983)
Antagonism of *Athelia bombacina* and *Chaetomium globosum* to the apple scab pathogen, *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 73: 650-654.
- Hijwegen, T. (1988)
Effect of seventeen fungiculous fungi on sporulation of cucumber powdery mildew. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 94: 185-190.
- Howell, C. R. (1982)
Effect of *Gliocladium virens* on *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* and damping-off of cotton seedlings. *Phytopathology* 72: 496-498.
- Jager, G. & H. Velvis (1989)
Naar een geïntegreerde bestrijding van *Rhizoctonia solani*. *Gewasbescherming-Dossier* 2: 40-43.
- Jones, R.K. & S.B. Belmar (1989)
Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. isolated from rice, soybean and other crops grown in relation with rice in Texas. *Journal of Plant Diseases and Protection* 95: 81-107.
- Jordan, V.W.L. & A.C. Pappas (1977)
Inoculum suppression and control of strawberry *Botrytis*. *Proceedings British Crop Protection Conference - Pests and Diseases* 34:1348.
- Köhl, J., W.M.L. Molhoek, & N.J. Fokkema (1991)
Biological control of onion neck rot (*Botrytis aclada*): protection of wounds made by leaf topping. *Biocontrol Science and Technology* 1: 261-269.
- Köhl, J., W.M.L. Molhoek, C.H. van der Plas, & N.J. Fokkema (1995a)
Effect of *Ulocladium atrum* and other antagonists on sporulation of *Botrytis cinerea* on dead lily leaves exposed to field conditions. *Phytopathology* 85: 393-401.
- Köhl, J., C.H. van der Plas, W.M.L. Molhoek, & N.J. Fokkema (1995b)
Suppression of sporulation of *Botrytis* spp. as a valid biocontrol strategy. *European Journal of Plant Pathology* 101: 251-259.
- Köhl, J., C.H. van der Plas, W.M.L. Molhoek, & N.J. Fokkema (1995c)
Selection of antagonists suppressing sporulation of *Botrytis allii* and *B. cinerea* after interrupted wetness periods. *European Journal of Plant Pathology* (in druk).
- Kuc, J. & N.E. Strobel (1992)
Induced resistance using pathogens and nonpathogens. In: E.C. Tjamos, G.C. Papavizas & R.J. Cook (Eds), *Biological control of plant diseases - Progress and challenges for the future*. Plenum Press, New York, 295-303.
- Nair, N.G. & A. Nadtotchei (1987)
Sclerotia of *Botrytis* as a source of primary inoculum for bunch rot of grapes in New South Wales, Australia. *Journal of Phytopathology* 119: 42-51.
- Neate, S.M. (1994)

Soil and crop management practices that affect root diseases and crop plants.

In: C.E. Pankhurst, B.M. Daube, V.V.S.R. Gupta & P.R. Grace (Eds), Soil biota management in sustainable farming systems. CSIRO Press, 96-106.

Pfender, W.F. (1988)

Suppression of ascocarp formation in *Pyrenophora tritici-repentis* by *Limonomyces roseipellis*, a basidiomycete from reduced-tillage wheat straw. *Phytopathology* 78: 1254-1258.

Pfender, W.F. & S.L. Wootke (1988)

Microbial communities of *Pyrenophora*-infested wheat straw as examined by multivariate analysis. *Microbial Ecology* 15: 95-113.

Pfender, W.F., W. Zhang & A. Nus (1993)

Biological control to reduce inoculum of the tan spot pathogen *Pyrenophora tritici-repentis* in surface-borne residues of wheat fields. *Phytopathology* 83: 371-375.

Sutton, J.C. (1990)

Epidemiology and management of *Botrytis* leaf blight of onion and gray mold of strawberry: a comparative analysis. *Canadian Journal of Plant Pathology* 12: 100-110.

Thurston, D. (1984)

Tropical plant diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, USA, 208 pp.

Verhaar, M.A. (1995)

Towards a model for the tritrophic system: cucumber, powdery mildew, mycoparasite. Proceedings Third EFPP Conference on environmental biotic factors in integrated plant disease control, Poznan, 5-9 September 1994, 579-581.

Whipps, J.M. & S.P. Budge (1993)

Transmission of the mycoparasite *Coniothyrium minitans* by collembolan *Folsomia candida* (Collembola: Entomobryidae) and glasshouse sciarid *Bradysia* sp. (Diptera: Sciaridae). *Annals of Applied Biology* 123: 165-171.

Whipps, J.M. & M. Gerlagh (1992)

Biology of *Coniothyrium minitans* and its potential use in disease biocontrol. *Mycological Research* 96: 897-907.

Wilson, C.L., A. El Ghaouth, E. Chalutz, S. Droby, C. Stevens, J.Y. Lu, V. Khan & J. Arul (1994)

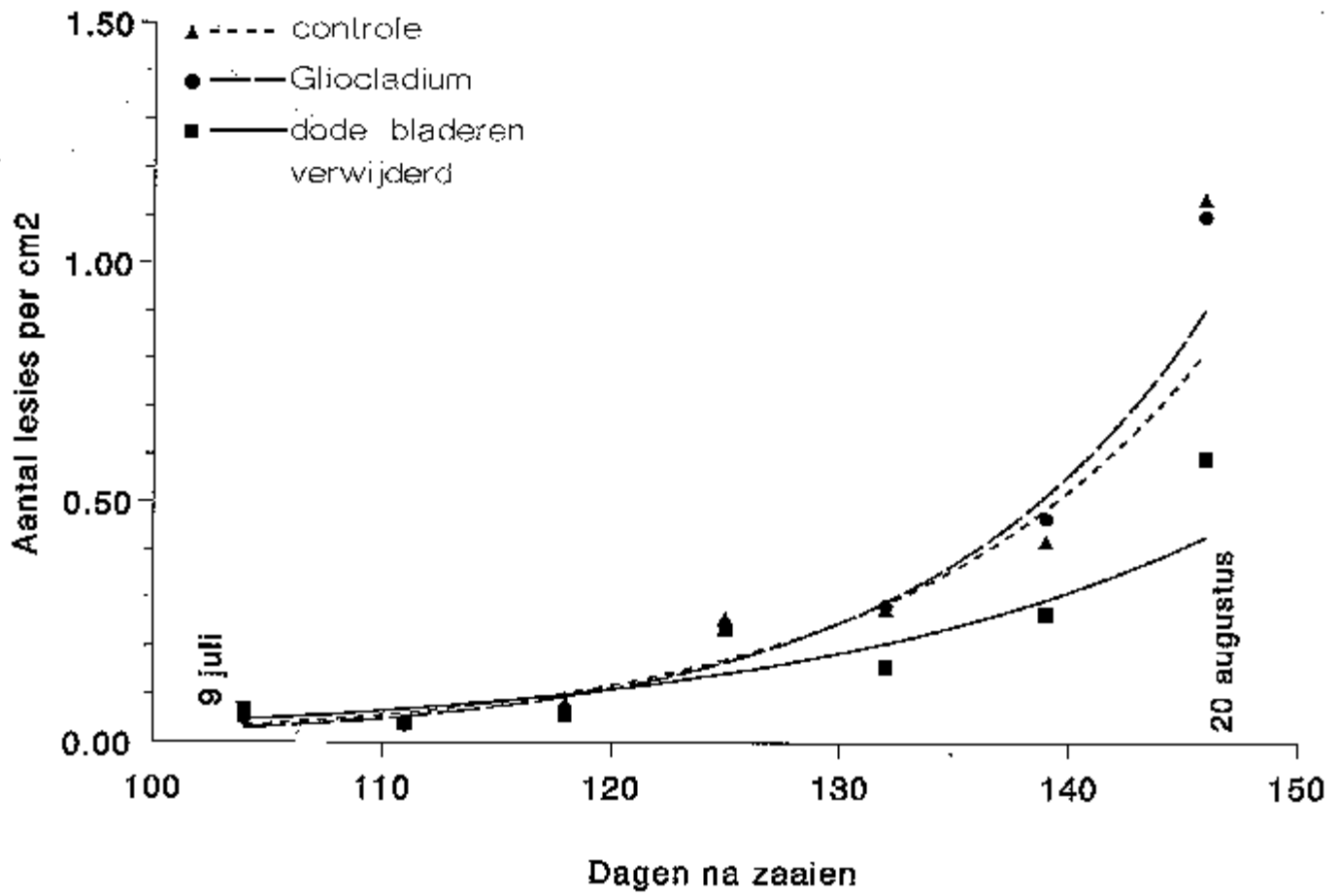
Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Plant Disease* 78: 837-844.

Wilson, C.L. & M.E. Wisniewski (1989)

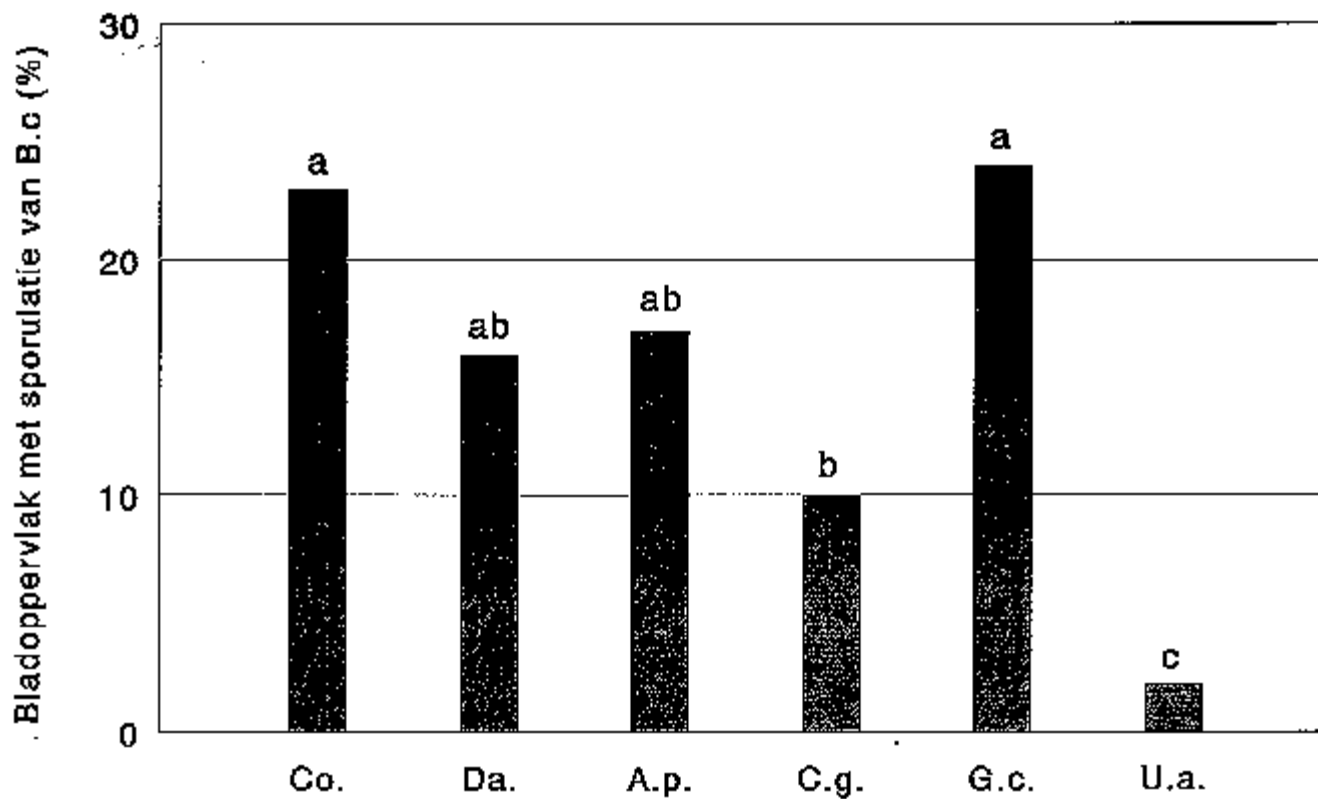
Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: an emerging technology. *Annual Review of Phytopathology* 27: 425-441.

[← Vorige artikel](#) [⇒ Volgende artikel](#) [↑ Inhoudsopgave](#)

Last updated on 1995-12-22 by [Hugo Besemer](#)



Figuur 1 Effect van het verwijderen van necrotische bladeren en van de antagonist *Gliocladium roseum* op de ontwikkeling van een epidemie van de bladvlekkenziekte in ui



Figuur 2 Effect van de antagonisten *Aureobasidium pullulans* (A.p.), *Chaetomium globosum* (C.g.), *Gliocladium catenulatum* (G.c.) en *Ulocladium atrum* (U.a.) en van het fungicide Daconil M (Da.) op de bedekking van necrotische leliebladeren met conidioforen van *Botrytis cinerea* (B.c.) vergeleken met de controle-behandeling.