



Onderzoek naar de toepassing van plantenextracten ter bestrijding van groene schimmel en spinnewebeschimmel

Dr. Ir. J. Baar en Ing. A.J. Rutjens

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector paddestoelen
PPO projectnummer: 620251
Juni 2007

Publicatienummer: 2007-4

© 2004 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

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

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

*Dit onderzoek is uitgevoerd in opdracht van Productschap Tuinbouw,
Louis Pasteurlaan 6, 2719, EE Zoetermeer.*

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Sector Paddestoelen

Adres : Peelheideweg 1, 5966 PJ America

: Postbus 6042, 5960 AA Horst

Tel. : 077 - 4647575

Fax : 077 - 4641567

E-mail : infopaddestoelen.ppo@wur.nl

Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

1	SAMENVATTING.....	4
2	INLEIDING	5
3	MATERIAAL EN METHODE	5
3.1	Infectieproef met groene schimmel (<i>Trichoderma harzianum</i>)	5
3.2	Infectieproef met spinnewebsschimmel (<i>Cladobotryum dendroides</i>).....	6
3.3	Infectieproeven van natte mollen (<i>Mycogone perniciosa</i>)	6
3.4	Toepassing van plantenextracten op groene schimmel	6
3.5	Toepassing van plantenextracten op spinnewebsschimmel	7
3.6	Toepassing van plantenextracten op natte mollen.....	9
3.7	Statistische analyse van de resultaten	11
4	RESULTATEN	11
4.1	Effecten van toepassing van plantenextracten op groene schimmel	11
4.2	Effecten van toepassing van plantenextracten op spinnewebsschimmel.....	13
4.3	Effecten van toepassing van plantenextracten op natte mollen	15
5	DISCUSSIE	19
6	CONCLUSIES	20
7	SUGGESTIES VOOR VERDER ONDERZOEK.....	21
8	LITERATUUR.....	22

1 Samenvatting

Behalve droge mollen (*Verticillium fungicola* var. *fungicola*) kunnen groene schimmel (*Trichoderma harzianum*; *Trichoderma*-spot) en spinnewebsschimmel ook een aanzienlijke schade veroorzaken. Beide laatstgenoemde ziekten ontwikkelen zich in de loop van de teelt en zijn hierdoor minder effectief te bestrijden.

Tot op heden proberen de champignonkweekers dan ook via hygiënische maatregelen en het gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen groene schimmel en spinnewebsschimmel curatief te onderdrukken. Echter, het gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen in de paddestoelenteelt staat in toenemende mate onder druk. Het toegelaten fungicide (carbendazim) komt per 01-07-07 te vervallen en het alternatief (thiofanaat-methyl) is al per 15-09-06 vervallen. Dit is een risicovolle ontwikkeling omdat er al op zeer korte termijn geen middelen meer beschikbaar zijn om de genoemde ziekten te bestrijden.

In dit project is onderzocht of het mogelijk is om alternatieven te ontwikkelen ter bestrijding van de groene schimmel of spinnewebsschimmel. Daartoe is getest of het mogelijk is om met plantenextracten de ontwikkeling van de genoemde ziekten te remmen of geheel te bestrijden.

De resultaten van dit project laten zien dat de curatieve toepassing van plantenextracten in doseringen van 2 tot 4% effectief zijn ter bestrijding van groene schimmel en spinnewebsschimmel. Echter deze toepassingen vertoonden ook bij beide ziekten een dramatische reductie van de opbrengst.

Op grond van de hierboven verkregen resultaten is in de loop van het project in overleg met het Produktschap Tuinbouw besloten om, in de nog resterende celproeven, ook het effect van plantenextracten op natte mollen te onderzoeken.

De resultaten van deze proeven laten zien dat verschillende plantenextracten in een- of tweemaalige toepassing het aantal natte mollen significant reduceerden. Een van de plantenextracten geeft bij een tweemaalige toepassing een reductie van het aantal natte mollen met ruim 62%.

Dit opent perspectief voor het ontwikkelen van een bestrijdingsmiddel, op basis van plantenextracten, waarbij zowel droge als natte mollen bestreden kunnen worden. Mogelijk heeft ook de curatieve toepassing van lagere doseringen potentie ter bestrijding van groene schimmel.

Nader onderzoek is noodzakelijk voor de verdere ontwikkeling tot een bestrijdingsmiddel van droge en/of natte mollen en eventueel andere ziekten, zoals bijv. groene schimmel, in de champignonkweek.

Tot op heden is niet onderzocht of plantenextracten nog effectief zijn in lagere doseringen variërend van 0.1% tot 2%. Het is wel van belang om daar meer inzicht in te verkrijgen, omdat het voor de ontwikkeling van een gewasbeschermingsmiddel van belang is om zo min mogelijk kosten te maken.

2 Inleiding

Behalve droge mollen (*Verticillium fungicola* var. *fungicola*) kunnen ook groene schimmel (*Trichoderma*) en spinnewebschimmel (*Cladobotryum dendroïdes*) een aanzienlijke schade veroorzaken. De schade wordt voor groene schimmel resp. spinnewebschimmel geschat op 2 tot 5 resp. 1 tot 2 miljoen euro per jaar (Geels, mond. meded.). Beide ziekten ontwikkelen zich in de loop van de teelt en zijn hierdoor vanwege toepassingstijdstip(pen) en veiligheidstermijn minder effectief te bestrijden.

Tot op heden proberen de champignon telers dan ook via hygiënische maatregelen en het gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen groene schimmel en spinnewebschimmel curatief te onderdrukken. Echter, het gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen in de paddestoelenteelt staat in toenemende mate onder druk. Het toegelaten fungicide (carbendazim) komt per 01-01-07 te vervallen en het alternatief (thiofanaat-methyl) is al per 15-09-06 vervallen (College voor de Toelating van Bestrijdingsmiddelen). Dit is een risicovolle ontwikkeling omdat er al op zeer korte termijn geen middelen meer beschikbaar zijn om de genoemde ziekten te bestrijden.

Toch is het noodzakelijk dat er op korte termijn middelen beschikbaar zijn die ingezet kunnen worden ter bestrijding van groene schimmel en spinnewebschimmel. In dit project is onderzocht of plantenextracten preventief of curatief gebruikt kunnen worden ter bestrijding van deze ziekten.

In het onderzoek naar de optimalisatie van concentraties van plantenextracten ter bestrijding van droge mollen (Baar en Rutjens, 2006) bleek dat verschillende plantenextracten, bij eenmalige toepassing in de doseringen van 2 tot 4%, het aantal droge mollen significant te reduceren. Een van de plantenextracten geeft zelfs een reductie van het aantal mollen met 80%. De reductie bij de toepassing van Sporgon bedraagt 73%.

Het gebruik van plantenextracten kan gunstig zijn met betrekking tot toelating. Zo wordt deze categorie van stoffen vermeld op de Regeling Uitzondering Bestrijdingsmiddelen (RUB-lijst): "Componenten van etherische oliën van plantaardige oorsprong, die volgens het Warenwetbesluit aroma's mogen worden toegepast in levensmiddelen, ter bestrijding van ziekten en plagen op planten en plantaardige producten mits toegepast door middel van dompeling of aangieting". Vertegenwoordigers van bedrijven, zoals Koppert B.V., staan positief ten opzichte van de mogelijkheden om plantenextracten in te zetten ter bestrijding van droge mollen.

Het doel van dit project was om te onderzoeken of een aantal plantenextracten van het PRI ook ingezet kunnen worden ter bestrijding van groene schimmel en/of spinnewebschimmel.

De studie is uitgevoerd in de periode van 1 oktober 2005 tot 1 oktober 2006.

Bij de uitvoering van het project bleek dat de curatieve toepassing van plantenextracten behalve een reductie van groene schimmel resp. spinnewebschimmel ook een dramatische opbrengstreductie veroorzaakten. In overleg met het Produktschap Tuinbouw is op grond van deze resultaten besloten om in de nog resterende celproeven het effect op natte mollen te onderzoeken. Een ziekte die zich in de praktijk, vaak in pieken, manifesteert en een geschatte schade veroorzaakt van 1 tot 2 miljoen euro per jaar.

3 Materiaal en methode

3.1 Infectieproef met groene schimmel (*Trichoderma harzianum*)

Kisten werden gevuld met doorgroeide compost (ras: A15) en vervolgens afgedekt met dekgrond. 5 Dagen voor de start van 1^e vlucht werd op de uitgroeïende knopjes een sporensuspensie (1.500.000 sporen per m²) van de groene schimmel (*Trichoderma harzianum*) aangebracht. Verder bleven er na de 1^e vlucht op een

gedeelte van de kist stompjes achter om de ontwikkeling van de groene schimmel te stimuleren. De proef werd uitgevoerd in de ziektecellen van het proefbedrijf van de sector Paddestoelen van Praktijkonderzoek Plant en Omgeving (PPO-Paddestoelen). Van de kisten werden gedurende drie weken paddestoelen geoogst. Van de gezonde paddestoelen werd het gewicht geregistreerd, terwijl het aantal door *Trichoderma* aangetaste paddestoelen werden geteld.

3.2 Infectieproef met spinnewebschimmel (*Cladobotryum dendroides*)

Kisten werden gevuld met doorgroeide compost (ras: A15) en vervolgens afgedekt met dekgrond. Direct na het afdekken werd een myceliumcultuur van de spinnewebschimmel in de dekgrond ingegraven. De proef werd uitgevoerd in de ziektecellen van het proefbedrijf van de sector Paddestoelen van Praktijkonderzoek Plant en Omgeving (PPO-Paddestoelen). Van de kisten werden gedurende slechts twee weken paddestoelen geoogst. Van de gezonde paddestoelen werd het gewicht geregistreerd, terwijl het aantal door spinnewebschimmel aangetaste paddestoelen werden geteld.

3.3 Infectieproeven van natte mollen (*Mycogone perniciosa*)

Kisten werden gevuld met doorgroeide compost (ras: A15) en vervolgens afgedekt met dekgrond. Direct na het afdekken werd op de dekgrond een sporensuspensie (300.000 tot 1.500.000 sporen per m²) van natte mollen aangebracht. De proeven werden uitgevoerd in de ziektecellen van het proefbedrijf van de sector Paddestoelen van Praktijkonderzoek Plant en Omgeving (PPO-Paddestoelen). Van de kisten werden gedurende twee of drie weken paddestoelen geoogst. Van de gezonde paddestoelen is het gewicht geregistreerd, terwijl het aantal natte mollen werden geteld.

3.4 Toepassing van plantenextracten op groene schimmel

Het doel van het experiment in het proefbedrijf van PPO-Paddestoelen was om te onderzoeken of plantenextracten preventief of curatief toegepast kunnen worden ter bestrijding van groene schimmel. Voor experiment PPO-Groene schimmel 2005-1 werden in totaal 90 kisten (0,2 m²) gevuld met 15 kg doorgroeide compost (ras: A15) en afgedekt met een laagje standaard dekgrond. Er werden vier plantenextracten in twee verschillende concentraties op twee tijdstippen toegevoegd (direct na het afdekken resp. na snijden van de 1^e vlucht). Vijf dagen voor het begin van de 1^e vlucht werd de infectie met groene schimmel uitgevoerd op de uitgroeiende knopjes (Tabel 1). De plantenextracten werden steeds opgelost in 1% Luxan H. De toepassings- oplossingen werden door Plant Research International (PRI) bereid. Ter controle werden uitgroeiende knopjes die niet met groene schimmel was geïnfecteerd onderzocht. Elke behandeling bestond uit vijf herhalingen en de proefzet was volgens een gewarde blokkenproef. Na drie oogstweken werd voor alle behandelingen de totale opbrengst aan paddestoelen en het aantal door groene schimmel aangetaste paddestoelen vastgesteld.

Tabel 1. Opzet van het experiment waarin verschillende concentraties plantenextracten op een tweetal tijdstippen aan de dekgrond zijn toegevoegd. Dit experiment werd aangeduid als PPO-Groene schimmel 2005-1.

Experiment PPO-Groene schimmel 2005-1 (26310)

Behandeling	Dekgrond na afdekken Concentratie actief extract (ml per m ²)	Dekgrond na 1 ^e vlucht
Geïnfecteerd met groene schimmel		
a. Eenmalige (preventieve) toepassing na afdekken		
Extract PRI-01	10 ml 20 ml	
Extract PRI-03	10 ml 20 ml	
Extract PRI-07	10 ml 20 ml	
Extraxt PRI-10	10 ml 20 ml	
b. Eenmalige (curatieve) toepassing na 1^e vlucht		
Extract PRI-01		10 ml 20 ml
Extract PRI-03		10 ml 20 ml
Extract PRI-07		10 ml 20 ml
Extraxt PRI-10		10 ml 20 ml
Onbehandeld (zieke controle)	0 ml	
Niet geïnfecteerd met groene schimmel		
Onbehandeld (gezonde controle)	0 ml	

3.5 Toepassing van plantenextracten op spinnewebsschimmel

Het doel van het experiment in het proefbedrijf van PPO-Paddestoelen was om te onderzoeken of plantenextracten preventief of curatief toegepast kunnen worden ter bestrijding van spinnewebsschimmel. Voor experiment PPO-Spinnewebsschimmel 2005-1 werden in totaal 90 kisten (0,2 m²) gevuld met 15 kg doorgroeide compost (ras: A15) en afgedekt met een laagje standaard dekgrond. Er zijn vier plantenextracten in twee verschillende concentraties op twee tijdstippen toegevoegd (direct na het afdekken

en na de 1^e vlucht). De infectie met spinnewebsschimmel is direct na het afdekken uitgevoerd (Tabel 2). De plantenextracten zijn steeds opgelost in 1% Luxan H. De toepassingsoplossingen werden door Plant Research International (PRI) bereid. Ter controle werd niet met spinnewebsschimmel geïnfecteerde dekgrond onderzocht. Elke behandeling bestond uit vijf herhalingen en de proefzet was volgens een gewarde blokkenproef. Na twee oogstweken werd, in verband met het hoge infectieniveau, voor alle behandelingen de totale opbrengst aan paddestoelen en het aantal door spinnewebsschimmel aangetaste paddestoelen vastgesteld.

Tabel 2. Opzet van het experiment waarin verschillende concentraties plantenextracten op een tweetal tijdstippen aan de dekgrond zijn toegevoegd. Dit experiment werd aangeduid als PPO-Spinnewebsschimmel 2005-1.

Experiment PPO-Spinnewebsschimmel 2005-1 (26320)

Behandeling	Dekgrond na afdekken	Dekgrond na 1 ^e vlucht
	Concentratie actief extract (ml per m ²)	
Geïnfecteerd met spinnewebsschimmel		
a. Eenmalige toepassing na afdekken		
Extract PRI-01	10 ml 20 ml	
Extract PRI-03	10 ml 20 ml	
Extract PRI-07	10 ml 20 ml	
Extract PRI-10	10 ml 20 ml	
b. Eenmalige toepassing na 1^e vlucht		
Extract PRI-01		10 ml 20 ml
Extract PRI-03		10 ml 20 ml
Extract PRI-07		10 ml 20 ml
Extract PRI-10		10 ml 20 ml
Onbehandeld (zieke controle)	0 ml	
Niet geïnfecteerd met spinnewebsschimmel		
Onbehandeld (gezonde controle)	0 ml	

3.6 Toepassing van plantenextracten op natte mollen

De experimenten met groene schimmel resp. spinnewebsschimmel resulteerden welliswaar in reductie van de aantasting maar tevens in een dramatische reductie van de opbrengst. In overleg met het Produktschap Tuinbouw is besloten om deze experimenten niet te herhalen en in de resterende 2 experimenten een andere belangrijke ziekte te onderzoeken. Om een goed beeld te krijgen van de mogelijkheden van

Tabel 3. Opzet van het experiment waarin drie plantenextracten in drie concentraties aan met natte mollen geïnfecteerde dekgrond zijn toegevoegd. Dit experiment werd aangeduid als PPO-natte mollen 2006-1.

Experiment PPO-natte mollen 2006-1 (26380)

Behandeling	Dekgrond na afdekken Concentratie actief extract (ml per m ²)	Dekgrond na 1 ^e vlucht Concentratie actief extract (ml per m ²)
1. Geïnfecteerd met natte mollen		
a. Eenmalige toepassing na afdekken		
Extract PRI-01	10 ml 20 ml 30 ml	
Extract PRI-03	10 ml 20 ml 30 ml	
Sporgon	2 gram	
Extract PRI-10	10 ml 20 ml 30 ml	
b. Toepassing na afdekken én na 1^e vlucht		
Extract PRI-01	10 ml	5 ml
Extract PRI-03	10 ml	5 ml
Extract PRI-10	10 ml	5 ml
Onbehandeld (zieke controle)	0 ml	
2. Niet geïnfecteerd met natte mollen		
Onbehandeld (gezonde controle)	0 ml	

Tabel 4. Opzet van het experiment waarin de twee geselecteerde plantenextracten in twee concentraties aan met natte mollen geïnfecteerde dekgrond zijn toegevoegd. Dit experiment werd aangeduid als PPO-natte mollen 2006-2.

Experiment PPO-natte mollen 2006-2 (26410)

Behandeling	Dekgrond na afdekken Concentratie actief extract (ml per m ²)	Dekgrond voor opruwen
1. Geïnfecteerd met natte mollen (1.000.000 sporen)		
a. Toepassing direct na het afdekken		
Extraxt PRI-01	20 ml 30 ml	
Extraxt PRI-07	10 ml 20 ml 30 ml	
Sporgon	2 gram	
b. Toepassing direct na het afdekken én voor opruwen		
Extraxt PRI-01	10 ml 10 ml	5 ml 10 ml
Extraxt PRI-01	20 ml 20 ml	5 ml 10 ml
Onbehandeld (zieke controle)	0 ml	
2. Geïnfecteerd met natte mollen (300.000 sporen)		
a. Toepassing direct na het afdekken		
Extraxt PRI-01	10 ml 20 ml 30 ml	
Onbehandeld (zieke controle)	0 ml	
3. Niet geïnfecteerd met natte mollen		
Onbehandeld (gezonde controle)	0 ml	

plantenextracten ter bestrijding van ziekten is er voor gekozen om in deze experimenten het effect bij natte mollen te onderzoeken. Voor het eerste experiment met natte mollen (PPO-natte mollen 2006-1) werden in totaal 90 kisten (0,2 m²) gevuld met 15 kg doorgroeide compost (ras: A15) en afgedekt met een laagje standaard dekgrond. Uiteindelijk werden slechts drie (van de vier) plantenextracten opgelost in drie concentraties en op twee tijdstippen (direct na het afdekken en na de 1^e vlucht) toegevoegd aan met natte mollen geïnfecteerde dekgrond. Omdat extraxt PRI-07 niet leverbaar bleek is dit vervangen door Sporgon (Tabel 3). Ter controle werd niet met natte mollen geïnfecteerde dekgrond onderzocht. Elke behandeling

bestond uit vijf herhalingen en de proefzet was volgens een gewarde blokkenproef.

Na twee oogstweken werd, in verband met het hoge infectieniveau, voor alle behandelingen de totale opbrengst aan paddestoelen en het aantal natte mollen vastgesteld.

Voor het tweede experiment PPO-natte mollen 2006-2 werden in totaal 90 kisten (0,2 m²) gevuld met 15 kg doorgroeide compost (ras: A15) en afgedekt met een laagje standaard dekgrond. Uit experiment PPO-natte mollen 2006-1 werden twee plantenextracten geselecteerd voor verder onderzoek. Deze plantenextracten opgelost in 1% Luxan H werden in twee concentraties en op twee tijdstippen toegevoegd (direct na het afdekken en voor het opruwen). In de proef werden verder twee infectieniveau's getoetst (Tabel 4). Verder werd nog het in de 1^e proef niet leverbare plantenextract PRI-07 in 3 doseringen toegevoegd aan de dekgrond. Ter controle werd niet met natte mollen geïnfecteerde dekgrond onderzocht. Elke behandeling bestond uit vijf herhalingen en de proefzet was volgens een gewarde blokkenproef.

Na drie oogstweken werd voor alle behandelingen de totale opbrengst aan paddestoelen en het aantal natte mollen vastgesteld.

3.7 Statistische analyse van de resultaten

In de experimenten is het verschil in opbrengst en het aantal door groene schimmel resp. door spinnewebsschimmel aangetaste paddestoelen of het aantal natte mollen per behandeling getoetst ten opzichte van de geïnfecteerde (zieke) of gezonde controle met behulp van een Anova met toetsing van het herhalingseffect (Genstat, 8th edition).

4 Resultaten

4.1 Effecten van toepassing van plantenextracten op groene schimmel

De éénmalige toepassing, na de 1^e vlucht, van de extracten PRI-01 in een 4% dosering resp. PRI-03 in de 2 en 4% dosering, opgelost in 1% Luxan H, geeft een betrouwbare reductie ($p < 0.05$) van het aantal door *Trichoderma* aangetaste paddestoelen ten opzichte van de onbehandelde en geïnfecteerde controle (Tabel 5). De reductie bedraagt in deze proef 93,5 tot 100 % bij een infectieniveau van slechts 1 %. De overige plantenextracten (PRI-07 en PRI-10) hebben geen effect op de reductie van het aantal door *Trichoderma* aangetaste paddestoelen.

De eenmalige toepassing van extracten (PRI-01, PRI-03, PRI-07 en PRI-10) na het afdekken heeft geen betrouwbaar effect op de *Trichoderma*-aantasting.

De berekende opbrengst, van de eenmalige toepassing na de 1^e vlucht, van de geteste PRI-extracten wijkt betrouwbaar ($p < 0.05$) af van de gezonde controle. De opbrengst wordt maar liefst met 16,9 tot 24,3 % gereduceerd. De toepassingen na het afdekken hebben geen betrouwbare effecten op de berekende opbrengsten (gezonde + aangetaste paddestoelen).

Verder kan nog opgemerkt worden dat de extracten PRI-01, PRI-07 en PRI-10 toegepast direct na het afdekken een betrouwbaar lagere beoordeling van de myceliumgroei in de dekgrond, ten opzichte van de onbehandelde gezonde controle, vertoonden.

Tabel 5. Weergegeven is de gemiddelde opbrengst van champignons en het aantal door groene schimmel aangetaste paddestoelen in experiment PPO-Groene schimmel 2005-1. Opbrengsten weergegeven als berekende opbrengst van gezonde en aangetaste paddestoelen met voetjes in gram per behandeling en in kg/m² zonder voetjes.

Experiment PPO-Groene schimmel 2005-1 (26310)

Behandeling	Dekgrond ¹ na afdekken	Dekgrond ¹ na vlucht 1	Aantal aangetaste ² paddestoelen (per behandeling)	Opbrengst per behandeling (gram)	Opbrengst kg/m ²
Geïnfecteerd met groene schimmel					
a. Eenmalige (preventieve) toepassing na afdekken					
Extract PRI-01	10 ml		1.4	8748	37.18
	20 ml		2.4	8831	37.53
Extract PRI-03	10 ml		3.8	8836	37.55
	20 ml		2.8	8702	36.98
Extract PRI-07	10 ml		3.6	8900	37.83
	20 ml		1.2	8728	37.09
Extract PRI-10	10 ml		4.8	8603	36.56
	20 ml		5.6	8645	36.74
b. Eenmalige (curatieve) toepassing na 1^e vlucht					
Extract PRI-01		10 ml	0.4	6890*	29.28
		20 ml	0.2*	6919*	29.41
Extract PRI-03		10 ml	0.0*	6949*	29.53
		20 ml	0.2*	6628*	28.17
Extract PRI-07		10 ml	8.0	7275*	30.92
		20 ml	1.6	7053*	29.98
Extract PRI-10		10 ml	1.8	6984*	29.68
		20 ml	0.4	6901*	29.33
Onbehandeld (zieke controle)	0 ml		6.2	8921	37.91
Niet geïnfecteerd met groene schimmel					
Onbehandeld (gezonde controle)	0 ml		1.2*	8758	37.22

¹ Concentratie actief extract in ml per m².

² Aantal door Trichoderma aangetaste paddestoelen.

Aantal door Trichoderma aangetaste paddestoelen per behandeling * = p < 0.05: s.e.d. = 3,00
l.s.d. = 5,98

Opbrengsten per behandeling * = p < 0.05: s.e.d. = 190,80
l.s.d. = 380,70

4.2 Effecten van toepassing van plantenextracten op spinnewebsschimmel

De éénmalige toepassing, na de 1^e vlucht, van de geteste plantenextracten geeft zowel in de 2% als in de 4% dosering een significante reductie van het aantal door spinnewebsschimmel aangetaste paddestoelen ($p < 0.05$) ten opzichte van de onbehandelde en geïnfecteerde controle. De eenmalige toepassing, na het afdekken, van de geteste plantenextracten geeft geen reductie van het aantal aangetaste paddestoelen (Tabel 6).

De berekende opbrengst, bij de eenmalige toepassing van de geteste plantenextracten, geeft zowel direct na het afdekken als ook na de 1^e vlucht een betrouwbaar lagere opbrengst ten opzichte van de onbehandelde en niet geïnfecteerde controle. De toepassing van de plantenextracten na de 1^e vlucht heeft een dramatische opbrengstverlaging tot gevolg met reducties van 44,6 tot 61,0%.

De toepassing na 1^e vlucht van de 2% dosering van het plantenextract PRI-10 resp. de 4% dosering van de overige plantenextracten (PRI-01, 03 en 07) resulteerde in een betrouwbaar lagere opbrengst dan de vergelijkbare toepassing direct na het afdekken.

De toepassing, direct na het afdekken, van de geteste plantenextracten geeft een betrouwbaar lagere ($p < 0.05$) beoordeling van de myceliumgroei in de dekgrond.

Tabel 6. Weergegeven is de gemiddelde opbrengst van champignons en het aantal door spinnewebschimmel aangetaste paddestoelen in experiment PPO-Spinnewebschimmel 2005-1. Opbrengsten weergegeven als berekende opbrengst van gezonde en aangetaste paddestoelen met voetjes in gram per behandeling en in kg/ m² zonder voetjes.

Experiment PPO-Spinnewebschimmel 2005-1 (26320)

Behandeling	Dekgrond ¹ na afdekken	Dekgrond ¹ na vlucht 1	Aantal aangetaste ^{2/3} paddestoelen (per behandeling)	Opbrengst ³ per behandeling (gram)	Opbrengst ³ kg/m ²
Geïnfecteerd met spinnewebschimmel					
a. Eenmalige toepassing na afdekken					
Extract PRI-01	10 ml		81.8	3276*	13.92
	20 ml		67.4	3648*	15.50
Extract PRI-03	10 ml		80.8	3312*	14.08
	20 ml		75.2	3411*	14.50
Extract PRI-07	10 ml		74.8	3205*	13.62
	20 ml		80.0	3572*	15.18
Extract PRI-10	10 ml		84.2	3188*	13.55
	20 ml		78.6	2736*	11.63
b. Eenmalige toepassing na 1^e vlucht					
Extract PRI-01		10 ml	39.2*	2374*	10.09
		20 ml	50.4*	2600*	11.05
Extract PRI-03		10 ml	48.8*	2510*	10.67
		20 ml	46.0*	2472*	10.51
Extract PRI-07		10 ml	40.2*	2563*	10.89
		20 ml	41.2*	1934*	8.22
Extract PRI-10		10 ml	36.8*	2229*	9.47
		20 ml	48.6*	1830*	7.78
Onbehandeld (zieke controle)	0 ml		75.8	3405*	14.47
Niet geïnfecteerd met spinnewebschimmel					
Onbehandeld (gezonde controle)	0 ml		47.8*	4692	19.94

¹ Concentratie actief extract in ml per m².

² Aantal door spinnewebschimmel aangetaste paddestoelen.

³ Aantal aangetaste paddestoelen en opbrengsten na 2 vluchten !

Aantal door spinnewebschimmel aangetaste paddestoelen per behandeling * = p < 0.05: s.e.d. = 11,82
l.s.d. = 23,59

Opbrengsten per behandeling * = p < 0.05: s.e.d. = 464,10
l.s.d. = 926,10

4.3 Effecten van toepassing van plantenextracten op natte mollen

Éénmalige toepassing, direct na het afdekken, van plantenextract PRI-01 en PRI-10 geeft in alle geteste doseringen (2, 4 en 6%) een significante reductie van het aantal natte mollen ($p < 0.05$) ten opzichte van de onbehandelde en geïnfecteerde controle. De eenmalige toepassing, na het afdekken van het plantenextract PRI-03 geeft alleen in de dosering van 4 en 6% een betrouwbare reductie (Tabel 7). Het plantenextract PRI-01 geeft in de 4% dosering de hoogste reductie van het aantal natte mollen en wel met 42,9 %.

Ook de tweemaalige toepassingen, direct na het afdekken en na de 1^e vlucht van de geteste (PRI01, 03 en 10) plantenextracten geven in de geteste doseringen een significante reductie van het aantal natte mollen ($p < 0.05$) ten opzichte van de onbehandelde en geïnfecteerde controle.

Het plantenextract PRI-01 geeft hier, in de 2% dosering na het afdekken plus de 1 % dosering na de 1^e vlucht, ook weer de hoogste reductie van het aantal natte mollen en wel met 47,9 %.

De (herhaalde) toepassing van PRI-01 na de 1^e vlucht geeft een betrouwbaar hogere reductie van het aantal natte mollen dan de toepassing alleen direct na het afdekken.

Het in de proefreeks opgenomen Sporgon geeft met 87,3% de beste reductie van het aantal natte mollen.

De berekende opbrengst, bij de eenmalige toepassing van het plantenextract PRI-03, geeft in alle doseringen een betrouwbare reductie ($P < 0.05$) ten opzichte van de onbehandelde en niet geïnfecteerde controle. Bij het plantenextract PRI-10 is dit het geval bij de 2 en 4% dosering.

De tweemaalige toepassing van de geteste plantenextracten geeft in de doseringen (2 % bij het afdekken en 1% na de 1^e vlucht) een betrouwbaar lagere opbrengst ten opzichte van de onbehandelde en niet geïnfecteerde controle. De toepassing van de 1% dosering na de 1^e vlucht heeft bij de geteste plantenextracten geen betrouwbare lagere opbrengst t.o.v. de toepassing alleen direct na het afdekken tot gevolg.

De toepassing van de plantenextracten PRI-01 en PRI-10 geeft bij alle geteste doseringen een betrouwbaar lagere ($p < 0.05$) beoordeling van de myceliumgroei in de dekgrond.

Bij het hoge infectieniveau geeft het plantenextract PRI-01 in alle geteste toepassingen en doseringen een significante reductie van het aantal natte mollen ($p < 0.05$) ten opzichte van de onbehandelde en geïnfecteerde controle (Tabel 8). De tweemaalige toepassing in de 2% dosering geeft de hoogste reductie van het aantal natte mollen en wel met 64,4 %.

De tweemaalige toepassing van plantenextract PRI-01 in dosering van 4% na het afdekken en 1% voor het opruwen geeft een betrouwbare hogere reductie dan de eenmalige toepassing van de 4% dosering bij het afdekken. Het plantenextract PRI-07 heeft geen effect op de reductie van het aantal natte mollen.

Bij het lage infectieniveau geeft het plantenextract PRI-01 in alle geteste toepassingen en doseringen een significante reductie van het aantal natte mollen ($p < 0.05$) ten opzichte van de onbehandelde en geïnfecteerde controle. Een hogere dosering heeft geen betrouwbaar grotere reductie van het aantal natte mollen. De 6 % dosering geeft de hoogste reductie van het aantal natte mollen en wel met 62,8 %.

Het in de proefreeks opgenomen Sporgon geeft met 98,2 % de beste reductie van het aantal natte mollen.

Bij het hoge infectieniveau wijken de berekende opbrengsten, bij alle geteste toepassingen en doseringen niet betrouwbaar af ($p < 0.05$) ten opzichte van de onbehandelde en niet geïnfecteerde controle.

Ook bij het lage infectieniveau wijken de berekende opbrengsten, bij alle geteste toepassingen en doseringen, niet betrouwbaar af.

Bij het hoge infectieniveau geeft de toepassing van de plantenextracten PRI-01 (alle doseringen) en PRI-07 (2% dosering) een betrouwbaar lagere ($p < 0.05$) beoordeling van de myceliumgroei in de dekgrond. Ook bij het lage infectieniveau geeft de toepassing van de plantenextracten PRI-01 (alle doseringen) een betrouwbaar lagere ($p < 0.05$) beoordeling van de myceliumgroei in de dekgrond.

Tabel 7. Weergegeven is de gemiddelde opbrengst van champignons en het aantal natte mollen in experiment PPO-Natte mollen 2006-1. Opbrengsten weergegeven als berekende opbrengst van gezonde en aangetaste paddestoelen met voetjes in gram per behandeling en in kg/ m² zonder voetjes.

Experiment PPO-Natte mollen 2006-1 (26380)

Behandeling	Dekgrond ¹ na afdekken	Dekgrond ¹ na vlucht 1	Aantal ² natte mollen (per behandeling)	Opbrengst ² per behandeling (gram)	Opbrengst ² kg/m ²
1. Geïnfecteerd met natte mollen					
a. Eenmalige toepassing na afdekken					
Extract PRI-01	10 ml		221.8*	6903	29.34
	20 ml		171.4*	6271	26.65
	30 ml		178.0*	6687	28.42
Extract PRI-03	10 ml		258.8	5846*	24.85
	20 ml		243.4*	5655*	24.03
	30 ml		240.8*	5758*	24.47
Sporgon	2 gram		38.2*	6713	28.53
Extraxt PRI-10	10 ml		230.8*	5824*	24.75
	20 ml		219.6*	5893*	25.05
	30 ml		195.8*	6370	27.07
b. Toepassing na afdekken en na 1^e vlucht					
Extract PRI-01	10 ml	5 ml	156.2*	5926*	25.19
Extract PRI-03	10 ml	5 ml	231.8*	5649*	24.01
Extract PRI-10	10 ml	5 ml	211.8*	6047*	25.70
Onbehandeld (zieke controle)	0 ml		300.0	5867*	24.93
2. Niet geïnfecteerd met natte mollen					
Onbehandeld (gezonde controle)	0 ml		6.4*	7242	30.78

¹ Concentratie actief extract in ml per m².

² Aantal natte mollen en opbrengsten na 2 vluchten !

Aantal natte mollen per behandeling * = p < 0.05: s.e.d. = 25,76
l.s.d. = 51,40

Opbrengsten per behandeling * = p < 0.05: s.e.d. = 568,60
l.s.d. = 1134,60

Tabel 8. Weergegeven is de gemiddelde opbrengst van champignons en het aantal natte mollen in experiment PPO-Natte mollen 2006-2. Opbrengsten weergegeven als berekende opbrengst van gezonde en aangetaste paddestoelen met voetjes in gram per behandeling en in kg/ m² zonder voetjes.

Experiment PPO-Natte mollen 2006-2 (26410)

Behandeling	Dekgrond ¹ na afdekken	Dekgrond ¹ voor opruwen	Aantal natte mollen (per behandeling)	Opbrengst per behandeling (gram)	Opbrengst kg/m ²
1. Geïnfecteerd met natte mollen (1.000.00 sporen)					
a. Eenmalige toepassing na afdekken					
Extract PRI-01	20 ml		163.8*	7643	32.48
	30 ml		136.8*	7959	33.83
Extract PRI-07	10 ml		222.6	7676	32.62
	20 ml		219.0	6844	29.09
	30 ml		221.8	7248	30.80
Sporgon	2 gram		4.6*	7850	33.36
b. Toepassing na afdekken en voor opruwen					
Extract PRI-01	10 ml	5 ml	123.0*	7478	31.78
	10 ml	10 ml	90.6*	7042	29.93
Extract PRI-01	20 ml	5 ml	112.2*	7295	31.00
	20 ml	10 ml	143.2*	7402	31.46
Onbehandeld (zieke controle)	0 ml		254.4	7885	33.51
2. Geïnfecteerd met natte mollen (300.00 sporen)					
a. Eenmalige toepassing na afdekken					
Extract PRI-01	10 ml		87.6*	7763	32.99
	20 ml		62.4*	7714	32.78
	30 ml		57.8*	8213	34.91
Onbehandeld (zieke controle)	0 ml		155.2	7253	30.83
3. Niet geïnfecteerd met natte mollen					
Onbehandeld (gezonde controle)	0 ml		8.2*	7398	31.44

¹ Concentratie actief extract in ml per m².

Infectieniveau 1.000.000 sporen:

Aantal natte mollen per behandeling * = p < 0.05: s.e.d. = 18,24
l.s.d. = 36,67

Opbrengsten per behandeling * = p < 0.05: s.e.d. = 435,90
l.s.d. = 876,40

Infectieniveau 300.000 sporen:

Aantal natte mollen per behandeling * = p < 0.05: s.e.d. = 24,05
l.s.d. = 51,11

Opbrengsten per behandeling * = p < 0.05: s.e.d. = 412,30
l.s.d. = 860,00

5 Discussie

Uit de resultaten van Baar en Rutjens (2006) kwam naar voren dat verschillende plantenextracten effectief kunnen zijn tegen droge mollen. Het betreft verschillende plantenextracten die afkomstig zijn van het PRI. Mogelijk dat een gewasbeschermingsmiddel op basis van plantenextracten van PRI ook tegen andere schimmelziekten, zoals groene schimmel (*Trichoderma*) en spinnewebsschimmel (*Cladobotryum dendroides*) effectief kan zijn.

In dit project zijn de plantenextracten (PRI-01, PRI-03-, PRI-07 en PRI-10) in eerste instantie onderzocht op hun preventieve of curatieve effect op groene schimmel en spinnewebsschimmel. Het ter bestrijding van de genoemde ziekten toegestane middel (carbendazim) staat onder druk. Inmiddels is bekend dat de toelating van het genoemde middel per 01-07-2007 komt te vervallen. De toelating van het alternatief (thiofanaat-methyl) is al per 15-09-2006 vervallen.

Relatief hoge doseringen (2 tot 4 %) van de plantenextracten, curatief toegepast direct na de 1^e vlucht) reduceerden bij een laag infectieniveau de aantasting door *Trichoderma*. Maar als bijkomend effect werd eveneens de opbrengst dramatisch gereduceerd. Verder kwam uit de resultaten van de experimenten met de PRI-plantenextracten ter bestrijding van de spinnewebsschimmel naar voren dat hierbij vergelijkbare effecten optraden.

Tot op heden is echter niet onderzocht of lagere doseringen ook effectief zijn en een minder negatieve invloed op de opbrengst hebben.

Op basis van de dramatische opbrengstredukties van 16,9 tot 24,3 % in de *Trichoderma*-proef resp. van 44,6 to 61,0 % in de proef met spinnewebsschimmel is in overleg met het Produktschap Tuinbouw besloten om de in resterende 2 proeven geen verder onderzoek met de genoemde schimmels uit te voeren.

De 2 resterende proeven in het project werden gebruikt om het effect op de bestrijding van natte mollen te onderzoeken.

Uit deze 2 proeven bleek dat een- en meermalige toepassingen van plantenextracten een betrouwbare reductie gaven van het aantal natte mollen. De meermalige toepassing van een van de plantenextracten gaf een reductie van het aantal mollen met ruim 64 %, zonder dat er sprake was van een betrouwbare (negatieve) invloed op de opbrengst.

Hierdoor ontstaat er perspectief voor de ontwikkeling van plantenextracten tot een bestrijdingsmiddel dat behalve op droge mollen ook een effect heeft op natte mollen.

Recent onderzoek door Glamoclija *et al.* (2006) heeft laten zien dat plantenextracten afkomstig van twee verschillende plantensoorten schimmelremmende componenten tegen natte mollen bevatten.

Een aantal plantenextracten, met name PRI-01, bieden perspectief voor deze verdere ontwikkeling als bestrijdingsmiddel. Wel is het noodzakelijk dat de toepassing van plantenextracten nog verder geoptimaliseerd wordt.

Tot op heden is echter niet onderzocht of plantenextracten nog effectief zijn in lagere doseringen variërend van 0.1% tot 2%. Het is wel van belang om daar meer inzicht in te verkrijgen, omdat het voor de ontwikkeling van een gewasbeschermingsmiddel van belang is om zo min mogelijk kosten te maken.

Vertegenwoordigers van bedrijven in gewasbeschermingsmiddelen, zoals Koppert B.V., hebben belangstelling getoond voor de mogelijke toepassing van plantenextracten in de praktijk.

6 Conclusies

Uit dit onderzoek kwam het volgende naar voren:

- Verschillende plantenextracten verminderen bij éénmalige toepassing in doseringen van 2 tot 4 % het aantal door *Trichoderma* aangetaste paddestoelen in significante mate.
- Verschillende plantenextracten verminderen bij éénmalige toepassing in doseringen van 2 tot 4 % het aantal door spinnewebsschimmel aangetaste paddestoelen in significante mate.
- Reduktie van de aantasting door *Trichoderma* resp. spinnewebsschimmel ging samen met een dramatische reductie van de opbrengst.
- Verschillende plantenextracten verminderen, in een eenmalige resp. tweemaalige toepassing in doseringen van 2 tot 6 %, het aantal natte mollen in significante mate.
- Een van de plantenextracten geeft bij de tweemaalige toepassing een reductie van het aantal natte mollen met ruim 62%
- De tweemaalige toepassing van dit plantenextract heeft geen betrouwbare (negatieve) invloed op opbrengst van champignons.

Concluderend kan worden vastgesteld dat de resultaten van dit project aangeven dat een aantal plantenextracten, geschikt zijn voor verdere ontwikkeling tot een bestrijdingsmiddel voor natte mollen en mogelijk ook voor groene schimmel (*Trichoderma*).

Op grond van bovenstaande conclusies wordt voorgesteld om het onderzoek voort te zetten om tot een middel te komen dat in de praktijk toegepast kan worden voor de bestrijding van droge als ook van natte mollen.

Verder wordt ook voorgesteld om te onderzoeken of de geselecteerde plantenextracten in lagere doseringen potentie hebben om andere ziekten, zoals *Trichoderma*, te bestrijden.

Vertegenwoordigers van het bedrijfsleven, zoals Koppert B.V., hebben al interesse getoond voor de plantenextracten die in dit project zijn toegepast.

7 Suggesties voor verder onderzoek

Ook al bleken een aantal plantenextracten geschikt voor verdere ontwikkeling tot een bestrijdingsmiddel met name voor natte mollen, toch zullen er nog verschillende vragen beantwoord moeten worden voordat plantenextracten toepasbaar zijn in de praktijk.

Is het mogelijk om een plantenextract dat effectief is tegen zowel droge mollen als natte mollen te ontwikkelen tot een gewasbeschermingsstrategie?

Het plantenextract PRI-01 is effectief tegen droge mollen. Indien de optimale dosering om tot reductie van natte mollen door dit plantenextract te komen kan worden vastgesteld, liggen er mogelijkheden om een strategie te ontwikkelen.

Wat is de laagst werkende dosering van een plantenextract tegen natte mollen?

Voor de toepassing in de praktijk is het van belang om na te gaan of ook met een veel lagere dosering een reducerend effect van natte mollen bereikt kan worden. Dit is van belang om de kosten van een mogelijk te ontwikkelen product zo laag mogelijk te houden.

Wat is de laagst werkende dosering van een plantenextract tegen groene schimmel?

Voor de toepassing in de praktijk is het van belang om na te gaan of ook met een veel lagere dosering een reducerend effect op groene schimmel bereikt kan worden.

Kan een optimaler bestrijdingseffect verkregen worden door de combinatie van verschillende plantenextracten?

Kan de werking van een combinatie van de geselecteerde stoffen resulteren in een hogere reductie of op langere termijn tot een lager risico voor resistentieontwikkeling leiden.

8 Literatuur

Baar J. & A.J. Rutjens. 2006. Onderzoek naar de optimalisatie van concentraties van plantenextracten ter bestrijding van droge mollen (*Verticillium fungicola*). PPO-Publicatienummer 2006-11.

Baar J. & A.J. Rutjens. 2004. Bestrijding van de ziekten in de paddestoelenteelt met behulp van plantenextracten. PPO-Publicatienummer 2004-29.

Glamoclija J., M. Sokovic, J. Vukojevic, J. Milenkovic & L.J.L.D. Van Griensven. 2006. Chemical composition and antifungal activities of essential oils of *Satureja thymbra* L. and *Salvia pomifera* ssp *calycina* (Sm.) Hayek. Journal of essential oil research 18: 115-117.

Isman, M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop protection 19: 603-608.

Srivastava-Anil, Shukla Y.N. & Kumar-Sushil. 2000. Recent development in plant derived antimicrobial constituents: a review. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences 22: 349-405.