



Bestrijding van de champignonvlieg *Megaselia halterata* met behulp van plantenextracten of componenten daarvan

Dr. Ir. J. Baar, Ing. A.J. Rutjens en Dr. W.J. de Kogel

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector paddestoelen
PPO projectnummer: 620169
December 2004

Publicatienummer: 2004-28

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

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vervaelvoudigd, 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@wur.nl
Internet : www.ppo.wur.nl



Inhoudsopgave

pagina

1	SAMENVATTING.....	4
2	INLEIDING	5
3	MATERIAAL EN METHODE	6
3.1	Kweek van de champignonvlieg.....	6
3.2	Windtunnel-experimenten	6
3.3	Olfactometer-experimenten.....	7
3.4	Curatief experiment in proefbedrijf PPO-Paddestoelen.....	8
3.5	Preventief experiment in proefbedrijf PPO-Paddestoelen.....	9
3.6	Fyto-toxiciteitsexperiment in kisten	11
3.7	Statistische analyse van de resultaten	11
4	RESULTATEN	12
4.1	Windtunnel experimenten.....	12
4.2	Olfactometer experimenten	12
4.3	Curatief effectiviteitsexperiment.....	13
4.4	Preventief effectiviteitsexperiment	14
4.5	Fyto-toxiciteitsexperiment	15
5	DISCUSSIE	16
6	CONCLUSIES	17
7	SUGGESTIES VOOR VERDER ONDERZOEK.....	17
8	LITERATUUR.....	18

1 Samenvatting

Champignonvliegen, *Megaselia halterata* (Diptera: Phoridae), vormen een probleem in de paddestoelenteelt, met name in de champignonteelt. De champignonvliegen kunnen ziekten verspreiden, die aanzienlijke schade kunnen toebrengen aan de teelt van champignons. Veelal worden de champignonvliegen met chemische gewasbeschermingsmiddelen bestreden. Echter, het gebruik van chemische middelen staat in toenemende mate onder druk en verwacht wordt dat het gebruik van chemische middelen binnen enkele jaren niet meer is toegestaan.

In dit project is onderzocht of het mogelijk is om alternatieven te ontwikkelen ter bestrijding van de champignonvlieg. Daartoe is getest of het mogelijk is om met plantenextracten, of componenten daarvan, de ontwikkeling van champignonvliegen te verhinderen of te remmen. Deze stoffen kunnen een toxisch of een afstotend effect hebben op insecten en vormen hiermee een potentieel milieu-vriendelijk alternatief voor de bestrijding van deze plaaginsecten.

De resultaten van dit project laten zien dat de toevoeging van plantenextracten effectief kan zijn. In een experiment in het proefbedrijf van de sector Paddestoelen van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving (PPO-Paddestoelen) bleek dat een preventieve toepassing van plantenextracten, op doorgroeide compost, het aantal champignonvliegen dat zich dan nog ontwikkelde met 60 % te reduceren. Deze afstotende werking is ook in kleinschalige experimenten bij het Plant Research International (PRI) waargenomen. Reducties tot zelfs 90% bleken mogelijk in een experiment in het proefbedrijf van PPO-Paddestoelen als de plantenextracten na de eiafzetting aan de doorgroeide compost werden toegevoegd.

Uit dit project komt naar voren dat verschillende plantenextracten geschikt zijn voor de verdere ontwikkeling tot bestrijdingsmiddel van de champignonvlieg.

2 Inleiding

Champignonvliegen, *Megaselia halterata* (Diptera: Phoridae), komen nog steeds voor in de champignonteelt. Deze vliegen vormen een probleem omdat ze ziekteverwekkers door en tussen champignonteeltbedrijven kunnen verspreiden en bovendien hinderlijk zijn voor champignonplukkers (Scheepmaker, 1999).

Een veel voorkomende ziekte op champignonteeltbedrijven is *Verticillium fungicola* (droge mollen). De schade die door *V. fungicola* wordt veroorzaakt is aanzienlijk en wordt geschat op 10 miljoen euro per jaar (Geels, mond. mededeling). De sporen van *V. fungicola* zijn kleverig waardoor ze blijven plakken aan de champignonvliegen. Met het rondvliegen van de champignonvliegen wordt zo *V. fungicola* ook verspreid.

Tot op heden proberen de telers via hygiënische maatregelen en het gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen de champignonvliegen preventief dan wel curatief, te onderdrukken. Echter, het gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen in de paddestoelenteelt staat in toenemende mate onder druk. Er zijn momenteel nog slechts drie insecticiden toegelaten in de champignonteelt: deltamethrin, diflubenzuron en malathion (College voor de Toelating van Bestrijdingsmiddelen), maar de toelatingen zijn beperkt. Het gebruik van diflubenzuron was toegestaan tot 1 september 2003, het gebruik van deltamethrin tot 1 juni 2004 en malathion mag worden toegepast tot 1 januari 2006. Diflubenzuron en deltamethrin hebben inmiddels een toelating van "rechtswege", waarbij de gebruikperiode afhankelijk is van de besluitvorming in de Europese Unie. Dit is een risicovolle ontwikkeling omdat in de nabije toekomst onvoldoende middelen beschikbaar zijn om de champignonvlieg te bestrijden.

Scheepmaker (1999) heeft onderzocht of het mogelijk is om champignonvliegen te bestrijden met insectparasitaire nematoden. Tegen de champignonmug zijn insectparasitaire nematoden effectief gebleken (Scheepmaker et al., 1994). De insectparasitaire nematoden kunnen de larven van de champignonmug penetreren via de relatief grote mondopening. Echter, deze nematoden bleken niet toepasbaar tegen champignonvliegen. De mondopening van de larven van de champignonvliegen was zo klein dat de insectparasitaire nematoden deze larven niet kunnen binnendringen.

Toch is het noodzakelijk dat er op korte termijn middelen beschikbaar zijn die ingezet kunnen worden ter bestrijding van de champignonvlieg. Uit eerder onderzoek is gebleken dat verschillende plantenextracten, of componenten daarvan, activiteit vertonen tegen insecten. Die activiteit kan bestaan uit een toxische werking waardoor insecten gedood worden. Ook kan het effect een afstotende (repellente) werking tegen insecten zijn (Tol et al., 2001; Kogel et al., 2002). In dit project hebben we onderzocht of plantenextracten preventief of curatief gebruikt kunnen worden ter bestrijding van de champignonvlieg.

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 insecten in de champignonteelt.

Het doel van dit project was om te onderzoeken of plantenextracten preventief dan wel curatief toegepast kunnen worden. Onder preventieve werking wordt verstaan dat de effectiviteit van plantenextracten zo groot is dat champignonvliegen ervan weerhouden worden om eieren af te zetten of dat het aantal eieren dat zich tot champignonvliegen ontwikkelt wordt gereduceerd. Onder curatieve werking wordt verstaan reductie van champignonvliegen na de ei-afzetting.

Door de sector Paddestoelen van Praktijkonderzoek Plant en Omgeving (PPO-Paddestoelen) zijn de preventieve en curatieve toepassingen getest, terwijl bij het Plant Research International (PRI) experimenten zijn uitgevoerd om het keuzegedrag van de vlieg te toetsen. Het doel van de PRI-experimenten was om de champignonvliegen met afstotende plantenextracten te verjagen en zo eileg in de doorgroeide compost te voorkomen. Daartoe zijn twee verschillende toetsmethoden toegepast: een windtunnel en een olfactometer. Dit project is een vervolgstudie op een in 2002 en 2003 uitgevoerde studie.

3 Materiaal en methode

3.1 Kweek van champignonvlieg

Kisten gevuld met doorgroeide compost werden bij de preventieve toepassing gedurende één dag in een teeltcel van het geselecteerde champignonteeltbedrijf geplaatst. Het champignonteeltbedrijf was geselecteerd op de aanwezigheid van een vliegenpopulatie. Voor de curatieve toepassing bedroeg de periode van plaatsen in een teeltcel vier dagen. In deze periode zetten de champignonvliegen de eieren af in de doorgroeide compost in de kisten. Doorgroeide compost is aantrekkelijk voor de champignonvlieg, omdat champignonvliegen fourageren op de champignonmycelia in de compost (Scheepmaker et al., 1993).

Nadat de kisten waren teruggebracht naar het proefbedrijf van PPO-Paddestoelen werd de doorgroeide compost met de vliegeneieren overgebracht naar emmers.

Deze procedure heeft vier maal plaatsgevonden ten behoeve van de experimenten bij het PRI en bij PPO-Paddestoelen.

3.2 Windtunnelexperimenten

Compost en vliegen

Doorgroeide compost, waarin eieren waren afgezet door champignonvliegen, werd door PPO-Paddestoelen in emmers aangeleverd. Verder werd ook schone (niet geïnfecteerde) doorgroeide compost door PPO-Paddestoelen aangeleverd. De emmers waren afgedekt met kaasdoek om ontsnappen van de champignonvliegen te voorkomen. Regelmatig werd gecontroleerd of er champignonvliegen in de emmers aanwezig waren. Wanneer de champignonvliegen uit kwamen werden deze verzameld door gebruik te maken van het gegeven dat de champignonvliegen op licht afkomen.



Figuur 1. Verzamelen champignonvliegen

Het kaasdoek werd aan de rand van de emmer losgemaakt en er werd een erlenmeyer met de opening in de emmer gestoken (zie Figuur 1). Omdat de champignonvliegen op licht afkomen liepen ze de erlenmeyer in en konden op deze manier eenvoudig verzameld worden.

Windtunnel experimenten

Als eerste toetsmethode werd gekozen voor een windtunnelproef. In een glazen windtunnel van circa 3 meter lengte werd een luchtstroom van 10 cm/sec ingesteld met een luchtvochtigheid van 63% en een temperatuur van 23 °C bij een zwak licht van 175 Lux. Bovenwinds werden twee vallen met elk 80 gram doorgroeide compost geplaatst waarboven plakstroken werden aangebracht. Benedenwinds werden 100 champignonvliegen losgelaten. Het principe van de windtunnelproef was dat de luchtstroom in de windtunnel de geur van de doorgroeide compost meeneemt die door de champignonvliegen waargenomen kan worden. De verwachting was dat de champignonvliegen naar de aantrekkelijke compost zouden gaan en vervolgens gevangen zouden worden op de plakstroken. Wanneer deze proefopzet werkzaam was, bestond de mogelijkheid om vervolgens een keuze aan de champignonvliegen aan te bieden: controle doorgroeide compost in de ene val en doorgroeide compost behandeld met een plantenextract in de andere val. Wanneer het plantenextract afstotend zou werken was de verwachting dat er meer champignonvliegen in de controleval zouden komen dan in de val met de behandelde doorgroeide compost.

3.3 Olfactometerexperimenten

Een tweede methode om op laboratoriumschaal het keuzegedrag van insecten te bestuderen is een olfactometer. Het principe is dat insecten in een keuzesituatie gebracht worden waarbij ze kunnen kiezen uit twee geuren. Er zijn verschillende typen olfactometers die aan het specifieke gedrag van verschillende insectensoorten aangepast kunnen worden. In geval van de champignonvlieg is gekozen voor een zogenaamde still-air olfactometer aangepast volgens Van Tol et al. (2002) (zie Figuur 2).



Figuur 2. Still-air olfactometer

Bij deze proefopzet worden tien champignonvliegen losgelaten in een grote glazen petrischaal die twee uitgangen heeft. Onder elke uitgang bevindt zich een geurbron die afgesloten wordt van de rest van de olfactometer door een stuk gaas. Vanuit de petrischaal kunnen de champignonvliegen kiezen uit twee uitgangen dan wel twee geurbronnen. Op deze manier kan bijvoorbeeld de keuze tussen doorgroeide compost met en zonder plantenextract aangeboden worden. Wanneer het merendeel van de

champignonvliegen naar de doorgroeide compost zonder plantenextract gaat is dat een sterke aanwijzing dat het plantenextract afstotend werkt tegen de champignonvliegen en daarmee de compost beschermt. In de olfactometerexperimenten in dit project werden als geurbronnen gebruikt: niets (geen geur), 4 gram doorgroeide compost (controle behandeling) of 4 gram doorgroeide compost met plantenextract. Het plantenextract (10 microliter) werd op een wattenschijfje aangebracht en op de doorgroeide compost gelegd. In de controle behandeling werd een wattenschijfje zonder extract gelegd. Na 2 uur incubatie in het donker bij 20 °C werden de aantallen champignonvliegen in de verschillende compartimenten geteld. Elk experiment werd in tienvoud uitgevoerd.

3.4 Curatief experiment in proefbedrijf PPO-Paddestoelen

Het doel van het curatieve experiment was om te onderzoeken of verschillende plantenextracten toegepast na de eileg van de champignonvlieg, een bestrijdend effect hebben.

Kisten met doorgroeide compost zonder eieren van de champignonvlieg werden gedurende vier dagen geplaatst in een cel van het geselecteerde champignonteeltbedrijf. Gedurende deze dagen was het mogelijk voor de champignonvliegen om de eieren af te zetten in de doorgroeide compost in de kisten.

Nadat de kisten waren teruggebracht naar het proefbedrijf van de sector Paddestoelen van PPO werd de doorgroeide compost per behandeling verzameld en behandeld met de plantenextracten. De formulering bestond uit 1 of 2 % plantenextract geformuleerd in Triton-X 100 olie. Een 0,5 kg van de geïnfecteerde en vervolgens met een plantenextract behandelde doorgroeide compost werd samen met 1 kg schone doorgroeide compost in een emmer (volume 10 l) overgebracht en tenslotte afgedekt met dekgrond.

Op de dekgrond in de emmers werden plakstroken gelegd. Vervolgens werden de emmers afgedekt met kaasdoek dat om de emmers werd geklemd met behulp van elastiek. In de emmers met deze (doorgroeide) compost ontwikkelden de larven van de champignonvliegen zich tot volwassen champignonvliegen bij een gemiddelde lucht- en composttemperatuur van 24 °C. De champignonvliegen in de emmers werden gevangen met plakstroken (zie Figuur 3).



Figuur 3. Emmer met kaasdoek en plakstrook

Na drie en een halve week werd aangenomen dat vrijwel alle larven zich tot volwassen champignonvliegen hadden ontwikkeld en werden de plakstroken uit de emmers verwijderd. De ontwikkeling van ei tot

volwassen champignonvlieg duurt bij 24°C, 3 weken. Het aantal champignonvliegen per plakstrook werd voor alle behandelingen vastgesteld.

Tabel 1. Voor het curatief experiment zijn de verschillende behandelingen weergegeven. Dit experiment is aangeduid met PPO-curatief 2004-1.

Experiment PPO-curatief 2004-1

Behandeling	Compost Concentratie actief extract (ml per m ²)
Extract PRI-02	8 ml 16 ml
Extract PRI-03	8 ml 16 ml
Extract PRI-04	8 ml 16 ml
Extract PRI-06	8 ml 16 ml
Extract PRI-11	8 ml 16 ml
Extract PRI-13	8 ml 16 ml
Triton-X 100	8 ml
Onbehandeld (ziekte controle)	0 ml
Onbehandeld (gezonde controle)	0 ml

Voor experiment PPO-curatief 2004-1 werden in totaal 105 emmers (10 liter) gevuld met 1,5 kg doorgroeide compost, die bestond uit 1,0 kg gezonde doorgroeide compost, aangevuld met 0,5 kg geïnfecteerde doorgroeide compost. Vervolgens werd de doorgroeide compost afgedekt met een laagje dekgrond. Elke behandeling bestond uit zeven herhalingen en de proefzet was volgens een gewarde blokkenproef.

Na drie en een halve week werd aangenomen dat alle afgezette eitjes zich tot champignonvliegen hadden ontwikkeld en werden de plakstroken verzameld voor het vaststellen van de aantallen champignonvliegen.

3.5 Preventief experiment in proefbedrijf PPO-Paddestoelen

Het doel van dit experiment in het proefbedrijf van PPO-Paddestoelen was om te onderzoeken of de preventieve toepassing van de verschillende plantenextracten zodanig afstotend of toxisch werken dat de eileg en/of de ontwikkeling tot champignonvliegen gereduceerd wordt.

Vier kisten met doorgroeide compost zonder vliegeneieren werden gedurende een dag geplaatst in een cel van het geselecteerde champignonteeltbedrijf. Gedurende deze dag was het mogelijk voor de champignonvliegen om de eieren af te zetten in de doorgroeide compost in de kisten. Twee kisten waren behandeld met een formulering van de plantenextracten in de concentratie van 20 ml actief extract/m².

Twee kisten bleven onbehandeld. De formulering bestond uit 1% plantenextract geformuleerd in 1% Luxan-H.

Nadat de kisten waren teruggebracht naar het proefbedrijf van PPO-paddestoelen werd de geïnfecteerde doorgroeide compost per behandeling verzameld. Een 0,5 kg van de geïnfecteerde doorgroeide compost werd samen met 1 kg schone doorgroeide compost in een emmer (volume 10 l) gemengd en afgedekt met dekgrond.

Op de dekgrond in de emmers werden plakstroken gelegd. Vervolgens werden de emmers afgedekt met kaasdoek dat om de emmers werd geklemd met behulp van elastiek. In de emmers met doorgroeide compost ontwikkelden de larven van de champignonvliegen zich tot volwassen champignonvliegen bij een gemiddelde lucht- en composttemperatuur van 24 °C. De champignonvliegen in de emmers werden gevangen met plakstroken.

Na drie en een halve week werd aangenomen dat vrijwel alle larven zich tot volwassen champignonvliegen hadden ontwikkeld en werden de plakstroken uit de emmers verwijderd. Het aantal champignonvliegen per plakstrook werd voor alle behandelingen vastgesteld.

Tabel 2. Voor het preventief effectiviteitsexperiment zijn de verschillende behandelingen weergegeven. Dit experiment is aangeduid als PPO-preventief 2004-1.

Experiment PPO-preventief 2004-1.

Behandeling	Compost Concentratie actief extract (ml per m ²)
Onbehandeld	0 ml
Extract PRI-02	20 ml
Onbehandeld	0 ml
Extract PRI-03	20 ml
Onbehandeld	0 ml
Extract PRI-04	20 ml
Onbehandeld	0 ml
Extract PRI-05	20 ml
Onbehandeld	0 ml
Extract PRI-11	20 ml
Onbehandeld	0 ml
Extract PRI-13	20 ml
Onbehandeld	0 ml
Luxan H	20 ml
Onbehandeld (gezonde controle)	0 ml

Voor experiment PPO-preventief 2004-1 werden in totaal 120 emmers (10 liter) gevuld met 1,5 kg doorgroeide compost, die bestond uit 1,0 kg gezonde doorgroeide compost, aangevuld met 0,5 kg geïnfecteerde doorgroeide compost. Vervolgens werd de doorgroeide compost afgedekt met een laagje dekgrond. Elke behandeling bestond uit acht herhalingen en de proefzet was volgens een gewarde blokkenproef.

Na drie en een halve week werd aangenomen dat alle afgezette eitjes zich tot champignonvliegen hadden ontwikkeld en werden de plakstroken verzameld voor het vaststellen van het aantal champignonvliegen.

3.6 Fytotoxiciteitsexperiment in kisten

Het doel van het fytotoxiciteitsexperiment in het proefbedrijf van PPO-Paddestoelen was om vast te stellen of verschillende plantenextracten een toxisch effect hebben op de productie van paddestoelen. Daartoe werden kisten, gevuld met doorgroeide compost. Op de doorgroeide compost werden een vijftal plantenextracten in één concentratie toegepast. Vervolgens werd de doorgroeide compost afgedekt met dekgrond en werd hetzelfde vijftal plantenextracten nog in twee concentraties op de dekgrond toegepast (Tabel 3). Deze extracten (1 of 2%) waren geformuleerd in het product 1% Triton-X 100. Van de kisten werden gedurende drie weken paddestoelen geoogst en de opbrengsten geregistreerd.

Tabel 3. Voor het fytotoxiciteitsexperiment zijn de verschillende behandelingen weergegeven. Dit experiment is aangeduid met PPO-fytotoxiciteit 2004-1.

Experiment PPO-fytotoxiciteit 2004-1

Behandeling	Compost Concentratie actief extract (ml per m ²)	Compost + Dekgrond Concentratie actief extract (ml per m ²)
Extract PRI-01	8 ml	8 ml + 8 ml 16 ml + 16 ml
Extract PRI-02	8 ml	8 ml + 8 ml 16 ml + 16 ml
Extract PRI-03	8 ml	8 ml + 8 ml 16 ml + 16 ml
Extract PRI-11	8 ml	8 ml + 8 ml 16 ml + 16 ml
Extract PRI-13	8 ml	8 ml + 8 ml 16 ml + 16 ml
Triton-X 100		8 ml + 8 ml 16 ml + 16 ml
Onbehandeld	0 ml	

Voor experiment PPO-fytotoxiciteit 2004-1 werden in totaal 90 kisten (0,2 m²) gevuld met 15 kg doorgroeide compost en afgedekt met een laagje dekgrond. 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 vastgesteld.

3.7 Statistische analyse van de resultaten

De resultaten van het olfactometerexperiment werden getoetst met een tweezijdige gepaarde t-toets (Sokal and Rohlf, 1995). In het experiment PPO-curatief 2004-1 is het verschil in aantal champignonvliegen per behandeling getoetst ten op zichte van de controle behandeling met ANOVA (Genstat). Tevens werd in het

experiment PPO-fytotoxiciteit 2004-1 een ANOVA toegepast om de verschillen in opbrengst te toetsen. De data van het experiment PPO-preventief 2004-1 zijn, vanwege de opzet van de proef, niet statistisch geanalyseerd.

4 Resultaten

4.1 Windtunnel experimenten

Om te onderzoeken of de windtunnel proefopzet bruikbaar was voor de experimenten met champignonvlieg werd in eerste instantie een experiment gedaan met twee vallen met onbehandelde doorgroeide compost. Bekeken werd of: 1) de champignonvliegen in de vallen terecht kwamen en 2) of de verdeling van de champignonvliegen over de twee vallen gelijkmatig was. Vierentwintig uur nadat 100 champignonvliegen losgelaten waren in de windtunnel, werden de vallen gescoord. In het totaal werden 19 champignonvliegen terug gevangen: 10 op de ene val en 9 op de andere val. Dezelfde vallen werden direct gebruikt voor een tweede vergelijkbaar experiment. In dit experiment werden slechts vijf champignonvliegen teruggevangen. Dit resultaat kan worden verklaard doordat de in de vallen aanwezige doorgroeide compost inmiddels uitgedroogd was en daardoor wellicht minder aantrekkelijk was. Een herhaling van het experiment met verse vochtige doorgroeide compost leverde 26 gevangen champignonvliegen op, waarvan 14 in de ene val en 12 in de andere val. De conclusie op dat moment was dat de proefopzet bruikbaar leek: met vochtige doorgroeide compost kan 20 à 25 % van de champignonvliegen gevangen worden met een evenredige verdeling over de twee vallen.

Een tweede serie experimenten in de windtunnel met een nieuwe batch doorgroeide compost en champignonvliegen, enkele maanden later, leverden zeer lage vangsten van champignonvliegen op. In de controle experimenten werden slechts enkele champignonvliegen gevangen. Tijdens deze serie experimenten trad herhaaldelijk een technische storing in de windtunnel op, maar ons inziens kan dat de slechte vangsten niet geheel verklaren. Het zou een nader onderzoek behoeven om er achter te komen waar de slechte respons van de champignonvliegen aan toe te schrijven is. Gebaseerd op deze resultaten werd besloten om de windtunnel experimenten niet verder voort te zetten, maar over te gaan op een alternatieve toetsmethode: de olfactometer.

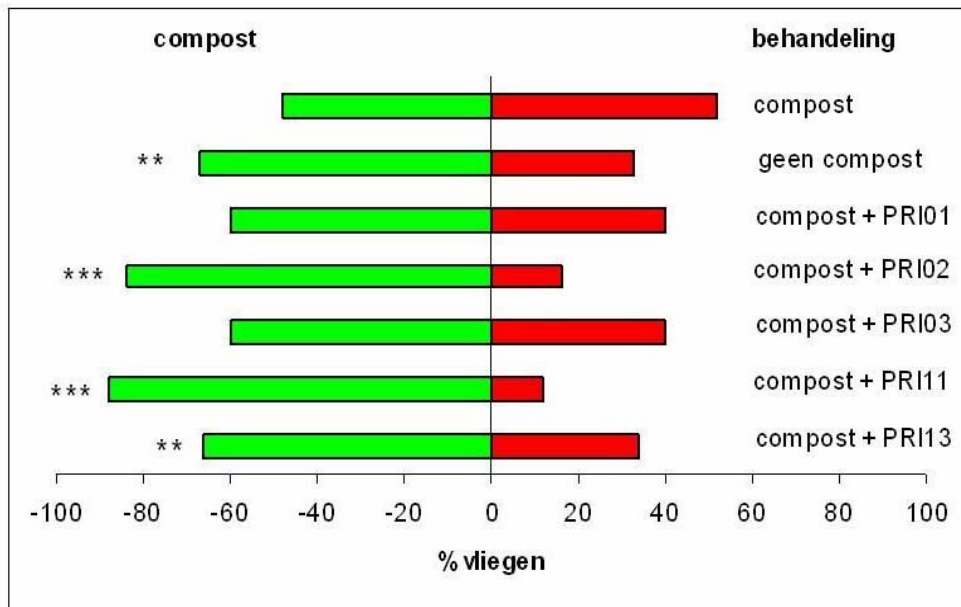
4.2 Olfactometer experimenten

In de olfactometer werd wel een goede respons van de champignonvliegen verkregen: gemiddeld 71% van de champignonvliegen bewoog zich naar de geurbronnen. Een overzicht van de resultaten is weergegeven in Figuur 4.

Er werden twee controle experimenten uitgevoerd: doorgroeide compost versus doorgroeide compost, waarbij de verwachting was dat de champignonvliegen zich evenredig over de twee geurbronnen zouden verdelen en doorgroeide compost versus niets (geen geur) waarbij de verwachting was dat de meerderheid van de champignonvliegen naar de doorgroeide compost zou gaan. Beide experimenten verliepen volgens verwachting: geen verschil in de doorgroeide compost versus doorgroeide compost proef en significant meer champignonvliegen bij de doorgroeide compost als de alternatieve keuze "geen geur" is.

In de vervolgentoetsen kregen de champignonvliegen de keuze tussen doorgroeide compost en doorgroeide compost met plantenextract. Wanneer de plantenextracten afstotend zouden zijn was de verwachting dat de meerderheid van de champignonvliegen naar de doorgroeide compost zonder geur zouden gaan. Andersom, als de meeste champignonvliegen naar de doorgroeide compost met plantenextract zouden gaan, betekende dat dat het plantenextract aantrekkelijk zou zijn voor de

champignonvliegen. De volgende extracten werden getest: PRI-01, PRI-02, PRI-03, PRI-11 en PRI-13. De keuze voor deze extracten werd bepaald door een bewezen toxische werking uit het eerder onderzoek (Baar & Kogel, 2003) of aanwijzingen dat de extracten mogelijk een repellente werking hebben.



Figuur 4. Resultaten olfactometerexperiment

Extract PRI-02, PRI-11 en PRI-13 bleken in de olfactometerproeven een significante afstotende werking te hebben op de champignonvliegen: de meerderheid van de champignonvliegen ging naar de controlebehandeling toe. Het sterkste effect was te zien bij extract PRI-11 waarbij 88% van de vliegen naar de onbehandelde doorgroeide compost ging, gevolgd door extract PRI-02 (84%) en PRI-13 (66%). Voor extract PRI-01 en PRI-03 werd geen afstotende werking aangetoond. Voor extract PRI-11 en in mindere mate voor extract PRI-13 werd ook een toxisch effect van de geur waargenomen, een zogeheten fumigatieëffect. Van de 11 champignonvliegen die naar de behandeling met plantenextract waren gegaan waren er 9 dood. Blijkbaar is de damp van dit extract dodelijk voor de champignonvliegen.

4.3 Curatief effectiviteitsexperiment

De verschillende plantenextracten in experiment PRO-curatief 2004-1 reduceerden het aantal champignonvliegen significant ($p < 0.05$) ten opzichte van onbehandeld (zie Tabel 4). Het plantenextract PRI-02 in de 1% dosering reduceerde het aantal champignonvliegen met 89%. De plantenextracten PRI-06 en PRI-13 in de 2% dosering reduceerden het aantal champignonvliegen significant sterker dan de 1% dosering.

Tabel 4. Weergegeven is het gemiddeld aantal champignonvliegen per behandeling in het curatieve experiment.

Experiment PPO-curatief 2004-1

Behandeling	Compost	Aantal champignon-	Reductie
-------------	---------	--------------------	----------

	Concentratie actief extract (ml per m ²)	vliegen per behandeling	
Extract PRI-02	10 ml	7,7*	89 %
	20 ml	5,9*	91 %
Extract PRI-03	10 ml	11,6*	83 %
	20 ml	8,6*	87 %
Extract PRI-04	10 ml	29,9*	56 %
	20 ml	18,4*	73 %
Extract PRI-06	10 ml	46,3*	31 %
	20 ml	33,1*	51 %
Extract PRI-11	10 ml	31,1*	54 %
	20 ml	19,3*	71 %
Extract PRI-13	10 ml	26,1*	61 %
	20 ml	4,9*	93 %
Triton-X 100	10 ml	32,6*	52 %
Onbehandeld (ziekte controle)	0 ml	67,3	
Onbehandeld (gezonde controle)		4,0	

* : $p < 0,05$
s.e.d. : 6,23
l.s.d. : 12,40

4.4 Preventief effectiviteitsexperiment

In PPO-preventief 2004-1 verminderde de preventieve toepassing van plantenextracten de aantallen champignonvliegen in de emmers aanzienlijk (Tabel 5). De extracten PRI-02 en PRI-11 waren het meest effectief en verminderde het aantal champignonvliegen met 50 tot 60%.

Opmerkelijk is dat Luxan-H olie eveneens een reducerend effect had en het aantal champignonvliegen verminderde met bijna 30% (Tabel 5).

Tabel 5. Voor het preventief effectiviteitsexperiment is het gemiddeld aantal champignonvliegen per behandeling weergegeven.

Experiment PPO-preventief 2004-1.

Behandeling	Compost Concentratie actief extract (ml /m ²)	Aantal champignon- vliegen per behandeling	Reductie
Onbehandeld	0 ml	69	
Extract PRI-02	20 ml	28	59 %
Onbehandeld	0 ml	31	
Extract PRI-03	20 ml	32	- 3 %

Onbehandeld	0 ml	67	
Extract PRI-04	20 ml	47	30 %
Onbehandeld	0 ml	48	
Extract PRI-05	20 ml	47	2 %
Onbehandeld	0 ml	81	
Extract PRI-11	20 ml	40	51 %
Onbehandeld	0 ml	51	
Extract PRI-13	20 ml	54	- 6 %
Onbehandeld	0 ml	89	
Luxan H	20 ml	64	28 %
Onbehandeld (controle gezond)		20	

4.5 Fytotoxiciteitsexperiment

Uit het fytotoxiciteitsexperiment (PPO-fytotoxiciteit 2004-1) bleek dat de éénmalige toepassing (1% dosering) van extract PRI-02 en PRI-03 de opbrengst van champignons significant ($p < 0.05$) verhoogden (Tabel 6). De tweemaalige toepassing van extract PRI-03 op de doorgroeide compost en de dekgrond in een 1% dosering verhoogde eveneens de opbrengst van champignons significant ($p < 0.05$; Tabel 6). De overige plantaardige extracten hadden in beide concentraties (1 of 2 %) nauwelijks een effect op de opbrengst.

Tabel 6. Weergegeven is de gemiddelde opbrengst in kg per m² van champignons zonder voetjes in het fytotoxiciteitsexperiment. Opbrengsten weergegeven als opbrengst met voetjes in gram per behandeling en in kg/ m² zonder voetjes.

Experiment PPO-fytotoxiciteit 2004-1

Behandeling	Compost actief extract (ml per m ²)	Compost + Dekgrond actief extract (ml per m ²)	Opbrengst per behandeling (gram)	Kg/ m ²
Extract PRI-01	8 ml		8838	37,56
		8 ml + 8 ml	8851	37,62
		16 ml + 16 ml	8742	37,15
Extract PRI-02	8 ml		9266*	39,38
		8 ml + 8 ml	8966	38,11
		16 ml + 16 ml	8998	38,24
Extract PRI-03	8 ml		9167*	38,96
		8 ml + 8 ml	9183*	39,03
		16 ml + 16 ml	8963	38,10
Extract PRI-11	8 ml		8953	38,05

		8 ml + 8 ml	8941	38,00
		16 ml + 16 ml	8831	37,53
Extract PRI-13	8 ml		8735	37,13
		8 ml + 8 ml	8941	38,00
		16 ml + 16 ml	8833	37,54
Triton-X 100		8 ml + 8 ml	8999	38,24
		16 ml + 16 ml	9028	38,37
Onbehandeld	0 ml		8778	37,31

Opbrengsten per behandeling *: $p = 0,05$: s.e.d. = 187,5
l.s.d. = 374,1

5 Discussie

Uit de resultaten van het experiment bij PPO-Paddestoelen naar de preventieve werking van plantenextracten kan worden afgeleid dat de omvang van de hieruit voorkomende generatie champignonvliegen verminderd wordt. Dat betekent dat de champignonvliegen minder eieren afzetten en/of dat de eieren zich niet ontwikkelen tot volwassen champignonvliegen. Dit kan worden veroorzaakt door een afstotende werking dan wel een toxisch effect van de plantenextracten. Het olfactometerexperiment gaf inderdaad aan, dat er sprake kan zijn van een afstotend effect. In het olfactometerexperiment bij het PRI kwamen evenals in het preventieve experiment bij PPO-Paddestoelen extract PRI-02 en PRI-11 als het meest effectief naar voren. De experimenten met behulp van een olfactometeropstelling zijn uitgevoerd bij het PRI. Het voordeel van een dergelijke opstelling is dat er betrekkelijk snel en met relatief kleine aantallen champignonvliegen gewerkt kan worden. Hierdoor was het mogelijk om elk experiment in tien herhalingen uit te voeren. De olfactometer wordt dan ook vaak gebruikt om afstotende of aantrekkelijke geuren op te sporen. Een olfactometer is echter wel een laboratoriumopstelling. Het daadwerkelijke effect van de met behulp van olfactometrie opgespoorde stoffen zal altijd in een praktijksituatie geverifieerd moeten worden. Als tussenstap kan een windtunnel- of klimaatcel experiment plaatsvinden. In het hier beschreven deel van het onderzoek bij het PRI is de voorkeur gegeven om in eerste instantie de windtunnel te gebruiken, maar dat was zoals beschreven niet succesvol.

Daarnaast is uit het curatieve experiment bij PPO-Paddestoelen duidelijk gebleken dat er ook sprake is van toxische effecten. Een indicatie dat een dergelijk toxisch effect verantwoordelijk kan zijn voor het resultaat werd ook gevonden in eerdere toxiciteitsexperimenten (Baar & De Kogel, 2003).

De resultaten van het experiment bij PPO-Paddestoelen met de curatieve toepassing van plantenextracten laten een duidelijke reductie van het aantal champignonvliegen zien. Dit geeft aan dat deze stoffen potentiële bestrijdingsmiddelen vormen voor de champignonvlieg. Ook voor andere insecten blijken dit soort stoffen een toxische of afstotende werking te hebben zoals voor bladluizen en galmuggen (Isman, 2000; Tol et al., 2001; Kogel et al., 2002).

Daarnaast blijkt uit de resultaten van dit project dat plantenextracten, of componenten daarvan, geen nadelig effect hebben op de opbrengsten. Ook blijkt één van de in dit project onderzocht plantenextracten de ontwikkeling van *Verticillium fungicola* (droge mollen) te remmen (Baar & Rutjens, 2004). Deze resultaten hebben de belangstelling gewekt van vertegenwoordigers van bedrijven, zoals Koppert B.V. om plantenextracten in de nabije toekomst in te zetten ter bestrijding van insecten in de champignonteelt.

Bij de toepassing van plantenextracten blijkt de formulering van belang, omdat daarmee de verdampingssnelheid van de veelal vluchtige verbindingen en de oplosbaarheid dan wel mengbaarheid in de waterige formulering bepaald worden. Zowel Luxan-H als Triton-X 100 hebben in meer of mindere mate een effect op de champignonvliegen (Baar & De Kogel, 2003). Vergelijkbare effecten van de formulering zijn ook

bij andere insecten waargenomen. Echter, het toevoegen van de plantenextracten heeft een duidelijke meerwaarde: het reducerend effect van de plantenextracten op de champignonvliegen was aanzienlijk groter dan dat van de formuleringen alleen.

Het bleek uit de experimenten bij PRI dat een aantal plantenextracten die in eerder onderzoek door Baar & De Kogel (2003) toxisch waren voor de champignonvlieg, een afstotende werking hebben op de champignonvliegen. Dit opent perspectieven voor ruimtebehandelingen met deze geurstoffen met als doel te voorkomen dat champignonvliegen de ruimte in willen vliegen. Gedacht kan worden aan verdampers die de geur in de ruimte verspreiden. Bij dergelijke toepassingen kan wellicht voorkomen worden dat het extract toegepast dient te worden op de compost. Het is echter niet uitgesloten dat champignonvliegen wennen aan de geur van plantenextracten en toch de teeltcellen binnen vliegen om de eieren af te zetten. Mogelijk leidt afwisseling van verschillende plantenextracten met afstotende werking tot de oplossing. Daarnaast zullen de toxische en de afstotende werking elkaar kunnen versterken. Zowel toepassing van plantenextracten op de compost, als bij toepassing van verdampers (fumigatie) zijn toxische effecten op de champignonvlieg te verwachten. Ook bij andere insecten zijn fumigatie effecten aangetoond van plantenextracten of componenten daarvan (Shaaya et al., 1997; Janmaat et al., 2002).

6 Conclusies

Uit dit onderzoek kwam het volgende naar voren:

- De curatieve toepassing van de onderzochte plantenextracten resulteerden in een significante reductie van het aantal champignonvliegen, tot zelfs 91 % door één plantenextract (PRI-02).
- De plantenextracten PRI-02 en PRI-11 reduceerden bij een preventieve toepassing het aantal champignonvliegen met 50 tot 60 %.
- De geteste plantenextracten hadden een licht stimulerend effect of geen invloed op de opbrengst van champignons.
- Uit de olfactometerexperimenten kwam naar voren dat verschillende plantenextracten, waaronder extract PRI-02, extract PRI-11 en in mindere mate extract PRI-13, een afstotende werking hebben op champignonvliegen.

Concluderend kan worden vastgesteld dat de resultaten van dit project aangeven dat plantenextracten, of componenten daarvan, geschikt blijken als middel om champignonvliegen te weren of te bestrijden.

Op grond van bovenstaande conclusies wordt voorgesteld het onderzoek voort te zetten om tot een middel te komen dat in de praktijk toegepast kan worden voor de bestrijding van de champignonvlieg. Het bedrijfsleven heeft reeds interesse getoond voor de plantenextracten, die in dit project zijn toegepast.

7 Suggesties voor verder onderzoek

Ook al bleken plantenextracten effectief te zijn tegen de champignonvlieg in de experimenten in dit project, toch zullen er nog verschillende vragen beantwoord moeten worden voordat plantenextracten toepasbaar zijn in de praktijk.

Wat is de optimale concentratie van plantenextracten ?

Daartoe dient onderzocht te worden wat de meest effectieve concentratie is van de

plantenextracten die in dit project als veelbelovend naar voren zijn gekomen.

Wat is de meest optimale toedieningsmethodiek?

Tot op heden is slechts een toedieningswijze getest, waarbij het extract werd toegevoegd op of gemengd door de doorgroeide compost. Echter verschillende toedieningswijzen en/of technieken zijn denkbaar.

Is het noodzakelijk dat de champignonvlieg met de vloeistof in directe aanraking komt of is contact met de damp voldoende?

De onderzochte plantenextracten zijn in meer of mindere mate vluchtig. Mogelijk is contact met de damp van de stoffen al voldoende om een toxisch effect te verkrijgen. Indien de damp reeds effectief zou zijn, opent dit mogelijkheden om met verdampers of dispensers te werken.

Tevens verdient de combinatie van toxische en repellente werking nader onderzoek. Mogelijk kan met een dergelijke combinatie een reducerende effect van 90% worden gehaald.

Wat zijn de effecten van plantenextracten op de smaak van de champignons?

Een mogelijk gevaar schuilt in de verandering van de smaak van de champignons door de dampen afkomstig uit de plantenextracten. In nader onderzoek zal onderzocht worden of de plantenextracten de smaak van de champignons niet nadelig beïnvloeden.

Wat zijn de effecten op andere pathogenen van de champignon?

Uit de literatuur is bekend dat plantenextracten zoals die in het onderzoek gebruikt zijn een toxisch effect kunnen hebben op micro-organismen (Srivastava-Anil et al., 2000). Het zou waardevol zijn om te onderzoeken of plantenextracten mogelijk de ontwikkeling van *V. fungicola* (droge mollen) of andere pathogenen van de champignon remmen of zelfs voorkomen.

8 Literatuur

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

Baar, J. & W.J. de Kogel. 2003. Bestrijding van de champignonvlieg *Megaselia halterata* met behulp van plantenextracten of componenten daarvan. PPO Publicatienummer 2003-9.

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

Janmaat, A.F., W.J. de Kogel & E.J. Woltering. 2002. Enhanced fumigant toxicity of p-cymene against *Frankliniella occidentalis* by simultaneous application of elevated levels of carbon dioxide. *Pest Management Science* 58: 167-173.

Kogel, W.J. de, C.G. Conijn, M.A. Jongsma, R.W.H.M. van Tol, J.H. Visser & J.J. de Vlieger. 2002. Signaalstoffen en waardplantresistentie voor duurzame beheersing van plaaginsecten. *Gewasbescherming* 33: 7.

Shaaya, E, M Kostjukovski, J Eilberg & C. Sukprakarn. 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Product Research* 33: 7-15.

Scheepmaker, W.A. 1999. Biological control of the mushroom sciarid *Lycoriella auripila* and the phorid *Megaselia halterata* by entomopathogenic nematodes. Proefschrift, Katholieke Univesiteit van Nijmegen, pp. 127.

Scheepmaker J.W.A., P.H. Smits & F.P. Geels. 1994. Nematoden ter bestrijding van de champignonmug (*Lycoriella auripila*) en de champignonvlieg (*Megaselia halterata*). De Champignoncultuur 38: 147-159.

Scheepmaker J.W.A., P.H. Smits & F.P. Geels. 1993. Bestrijding van insektenplagen in de champignonteelt. De Champignoncultuur 37: 387-395.

Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1995. Biometry. 3rd edition. Freeman and Company, New York.

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.

Tol, R.W.H.M. van 2004. Met vieze geuren luizen verdrijven. Vakblad voor de Bloemisterij 7: 50-51.

Tol, R.W.H.M. van, J.H. Visser & M.W. Sabelis. 2002. Olfactory responses of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* to tree odours. Physiological Entomology 27: 213-222.

Tol, R.W.H.M. van, C. Conijn, W.J. de Kogel, J.H. Visser & J. de Vlieger. 2001. Application of insect-repellent odours in agriculture. International Society of Chemical Ecology, 18th Annual Meeting, Lake Tahoe, USA.