



# Bestrijding en beheersing van overmatige groei van de schimmel *Leucocoprinus birnbaumii* bij de teelt van *Phalaenopsis*

Auteurs: Daniël Ludeking, Pim Paternotte, Roel Hamelink en Marc van Slooten



## Referaat

Bij de teelt van *Phalaenopsis* wordt als teeltmedium over het algemeen boombast gebruikt, al dan niet gemengd met verschillende vulstoffen zoals sphagnum of foam. Gedurende de teelt wordt regelmatig een plotselinge groei van schimmelpuis of vruchtlichamen en zelfs paddenstoelen waargenomen. De teelt van *Phalaenopsis* heeft vooral te maken met de overmatige groei van de schimmel *Leucocoprinus birnbaumii*, de goudgele plooiparasol.

De schade is vooral cosmetisch van aard, de planten zijn vitaal, groeien goed en er is geen effect op de houdbaarheid vast te stellen ondanks de aanwezigheid van de schimmelbolletjes. De schimmels hebben wel de eigenschap dat de boomschors door het mycelium wordt inkapselt, waardoor de schors geen vocht meer opneemt. In dit onderzoek is gekeken naar de levenswijze en op welke manier deze levenswijze kan worden beïnvloed. In het bijzonder is er gekeken naar de omstandigheden op basis waarvan de schimmel groeit, zich ontwikkelt en overgaat tot de vorming van de gele bolletjes, de zogenaamde primordia. Daarnaast is er gekeken naar de effecten van gewasbeschermingsmiddelen op de groei en ontwikkeling van de schimmel. De schimmel stopt met groeien bij een directe toepassing van Ortiva (azoxystrobin) en bij een hoge dosering van Switch (fludioxonil en cyprodinil). De experimenten op praktijkniveau hebben onbevredigende resultaten gegeven. De oorzaak lag niet in de werking of toepassing van de middelen, maar in de kweekomstandigheden van de schimmel. Er is geen conclusie te trekken over de werking van de eerder genoemde middelen op praktijkschaal in bark. De uitkomsten, hypothesen en ervaringen uit dit project vragen om een vervolg.

## Abstract UK

*Phalaenopsis* is cultivated using mainly bark as a substrate, in some cases additional material is added like sphagnum or foam. During cultivation a sudden fungal growth can be determined in the substrate. In some cases only primordia are visible but even mushrooms develop on the substrate. *Leucocoprinus birnbaumii*, the yellow parasol or the flower pot parasol, is observed in *Phalaenopsis*. Damage is mainly cosmetic. There is no or hardly any interference with *Phalaenopsis*, plants are vital, develop well and have a long shelf life. An excessive growth of fungal hyphae can turn the bark into a hydrophobic substrate. In this research the biology of *L. birnbaumii* is studied. Especially the influence of different parameters on the biology of this fungus is studied. On top of this the effect of plant protection products are studied to observe the effect on the fungus directly as well as in growing substrate.

The development of this fungus will stop if treated with a fungicide like Ortiva (azoxystrobin) and if a high dosage of the fungicide Switch (fludioxonil en cyprodinil) is used. These results cannot be repeated under practical circumstances. Therefore we are not able to draw any conclusions about the effect of the previously mentioned fungicides in substrate. The outcome of this research, the hypotheses and the experience this gathered during this experiment ask for more research in the near future.

© 2011 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Wageningen UR Glastuinbouw.

## Wageningen UR Glastuinbouw

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk  
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk  
Tel. : 0317 - 48 56 06  
Fax : 010 - 522 51 93  
E-mail : [glastuinbouw@wur.nl](mailto:glastuinbouw@wur.nl)  
Internet : [www.glastuinbouw.wur.nl](http://www.glastuinbouw.wur.nl)

# Inhoudsopgave

	Samenvatting	5
1	Inleiding	7
	1.1 Probleemstelling	7
	1.2 Doel van het onderzoek	7
2	<i>Leucocoprinus birnbaumii</i>	9
	2.1 Beschrijving en levenswijze	10
	2.2 Waardplanten	12
	2.3 Schade	12
	2.4 Bestrijding	12
3	Beheersing van de groei en ontwikkeling van <i>Leucocoprinus birnbaumii</i>	13
	3.1 Kweken van <i>Leucocoprinus birnbaumii</i> onder geconditioneerde omstandigheden	13
	3.1.1 Kas	13
	3.1.2 Klimaatkast en laboratorium	13
	3.1.2.1 Inoculum	14
	3.1.2.2 Potten en bamibakjes met deksel	14
	3.1.2.3 Vocht	15
	3.1.2.4 Licht en fluorescentie	16
	3.1.2.5 Zuurgraad (pH)	16
	3.1.2.6 Verstoring	16
	3.1.2.7 Temperatuur	16
	3.1.2.8 Substraat en bodemleven	17
	3.1.2.9 Conclusies	17
	3.1.3 Reincultuur van <i>L. birnbaumii</i>	18
	3.2 Effect van middelen op reinculturen van <i>L. birnbaumii</i>	18
	3.2.1 Doel	18
	3.2.2 Materiaal en methode	19
	3.2.2.1 Materialen	19
	3.2.2.2 Behandelingen	19
	3.2.2.3 Metingen	19
	3.2.3 Resultaten	20
	3.2.4 Conclusie	21
	3.3 Gewasbeschermingsmiddelenexperiment tegen <i>L. birnbaumii</i> op teeltsubstraat	21
	3.3.1 Preventieve gewasbeschermingsmiddelentoets tegen <i>Leucocoprinus birnbaumii</i>	21
	3.3.1.1 Doel	21
	3.3.1.2 Materiaal en methode	22
	3.3.1.2.1 Materiaal	22
	3.3.1.2.2 Behandelingen	22
	3.3.1.2.3 Metingen	22
	3.3.1.3 Resultaat	23
	3.3.1.4 Conclusie	24

3.3.2	Curatieve gewasbeschermingsmiddelentoets tegen <i>Leucocoprinus birnbaumii</i>	24
3.3.2.1	Doel	24
3.3.2.2	Materiaal en methode	25
3.3.2.2.1	Materiaal	25
3.3.2.2.2	Behandelingen	25
3.3.2.2.3	Metingen	25
3.3.2.3	Resultaten	25
3.3.2.4	Conclusie	26
4	Inventarisatie naar de ervaring met <i>Leucocoprinus birnbaumii</i> onder telers	27
4.1	Aanleiding	27
4.2	Doel	27
4.3	Materiaal en methode	27
4.4	Resultaten	28
4.5	Conclusie	28
5	Conclusie en discussie	29
6	Literatuur	31

# Samenvatting

Bij de teelt van *Phalaenopsis* wordt als teeltmedium over het algemeen boombast gebruikt, al dan niet gemengd met verschillende vulstoffen zoals sphagnum of foam. Gedurende de teelt wordt regelmatig een plotselinge groei van schimmelpuis of vruchtlichamen en zelfs paddenstoelen waargenomen. De in het teeltmedium gebruikte materialen, waaronder gemalen boombast zijn niet steriel. In het substraat zijn daarom van nature schimmels en andere organismen aanwezig. De teelt van *Phalaenopsis* heeft vooral te maken met de overmatige groei van de schimmel *Leucocoprinus birnbaumii*, de goudgele plooi parasol. Ook bij andere potplantenteelten worden paddenstoelen waargenomen op het substraat. Vaak komen de schimmels in onvoorspelbare vluchten die niet afhankelijk lijken te zijn van weer, instralingsniveau of andere omgevingsfactoren.

*Phalaenopsis* wordt geteeld in doorzichtige potten, dit betekent dat er eenvoudig is waar te nemen wat er in de pot gebeurt. Bij een aantasting door de schimmel ontstaan schimmelpuis en primordia van de schimmel (gele bolletjes) Dit heeft in de praktijk klachten uit handel of van de eindafnemer als gevolg. Deze schade is vooral cosmetisch van aard, de planten zijn vitaal, groeien goed en er is geen effect op de houdbaarheid vast te stellen ondanks de aanwezigheid van de schimmelbolletjes.

De schimmels hebben wel de eigenschap dat de boomschors door het mycelium wordt inkapselt, waardoor de schors geen vocht meer opneemt. Het gevolg is dat het substraat gedeeltelijk hydrofoob (waterafstotend) wordt en minder vocht vast kan houden waardoor de wortels van de planten minder water kunnen opnemen. Hierdoor kan de bladformatie stagneren met gevolg dat de groei terugloopt en de teeltduur verlengd wordt.

In dit onderzoek is gekeken naar de levenswijze en op welke manier deze levenswijze kan worden beïnvloed. In het bijzonder is er gekeken naar de omstandigheden op basis waarvan de schimmel groeit, zich ontwikkelt en overgaat tot de vorming van de gele bolletjes Primordia. Daarnaast is er gekeken naar de effecten van gewasbeschermingsmiddelen op de groei en ontwikkeling van de schimmel. De schimmel stopt met groeien bij een directe toepassing van Ortiva (azoxystrobine) en bij een hoge dosering van Switch (fludioxonil en cyprodinil). De hoogste dosering van Topsin M (thiofanaat methyl) remde de groei van de schimmel, maar minder dan eerder genoemde middelen. De experimenten op praktijkniveau hebben onbevredigende resultaten gegeven. De oorzaak lag niet in de werking of toepassing van de middelen, maar in de kweekomstandigheden van de schimmel. Er is geen conclusie te trekken over de werking van de eerder genoemde middelen op praktijkschaal in bark

De schimmels lijken op basis van de pilot(kweek)experimenten en van de informatie uit de inventarisatie in de praktijk voornamelijk te worden beïnvloed door licht en vocht. Ook in de literatuur zijn aanwijzingen gevonden dat schimmels uit de groep van de Basidiomyceten gevoelig zijn voor licht, vocht, C/N ratio's in het medium bij de formatie van vruchtlichamen. Er zijn aanwijzingen in de richting van licht als de primaire factor voor de inductie van primordia. Ook vocht lijkt bij te dragen aan de ontwikkeling van primordia. De in dit project uitgevoerde experimenten wijzen in die richting. Echter de resultaten uit de eerder genoemde experimenten spreken elkaar tegen en ook geluiden uit de praktijk zijn niet altijd eenduidig. Zo komen *Leucocoprinus* soorten voor bij succulenten die over het algemeen zeer droog worden opgekweekt. Mogelijk dat een combinatie van factoren, zoals watergift én licht, uiteindelijk bepaald of de formatie van primordia en paddenstoelen plaats vindt.

In project is kennis vergaard die waardevol is, maar nog niet direct toepasbaar is voor de praktijk. Er zijn aanwijzingen dat gewasbeschermingsmiddelen een preventieve werking kunnen hebben tegen de groei en ontwikkeling van *Leucocoprinus birnbaumii*. Deze informatie dient bevestigd te worden op praktijkschaal. Ook zijn er aanleidingen om te veronderstellen dat de schimmel met behulp van cultuurmaatregelen onderdrukt kan worden gedurende de teelt. De uitkomsten, hypothesen en ervaringen uit dit project vragen om een vervolg.



# 1 Inleiding

## 1.1 Probleemstelling

Bij de teelt van *Phalaenopsis* wordt als teeltmedium over het algemeen boombast gebruikt, al dan niet gemengd met verschillende toeslagstoffen zoals sphagnum of foam. In de praktijk wordt vaak op onverklaarbare wijze een plotseling groei van schimmelpuis of vruchtlichamen en zelfs paddenstoelen waargenomen. De in het teeltmedium gebruikte materialen, waaronder gemalen boombast zijn niet steriel. In het substraat zijn daarom van nature schimmels en andere organismen aanwezig. De teelt van *Phalaenopsis* heeft vooral te maken met de overmatige groei van de schimmel de goudgele plooiparasol, *Leucocoprinus birnbaumii* ook andere soorten uit het genus worden waargenomen gedurende de teelt. Ook bij andere potplantenteelten worden incidenteel paddenstoelen waargenomen op het substraat. Vaak komen de schimmels in onvoorspelbare vluchten die niet afhankelijk lijken te zijn van weer, instralingsniveau of andere omgevingsfactoren.

*Phalaenopsis* wordt geteeld in doorzichtige potten, dit betekent dat er eenvoudig is waar te nemen wat er in de pot gebeurt. Bij een aantasting door de schimmel ontstaan schimmelpuis en primordia van de schimmel (gele bolletjes tussen het substraat, dit is een klompje schimmeldraden (mycelium) waaruit zich een paddenstoel ontwikkelt) en paddenstoelen. Ook de consument kan zien wat zich in de pot ontwikkelt. Dit heeft in de praktijk klachten uit handel of van de eindafnemer als gevolg. Deze schade is vooral cosmetisch van aard, de planten zijn vitaal, groeien goed en er is geen effect op de houdbaarheid vast te stellen ondanks de aanwezigheid van de schimmelbolletjes.

De schimmels hebben wel de eigenschap dat de boomschors door het mycelium wordt inkapselt, waardoor de schors geen vocht meer opneemt. Het gevolg is dat het substraat gedeeltelijk hydrofoob (waterafstotend) wordt en minder vocht vast kan houden waardoor de wortels van de planten minder water kunnen opnemen. Hierdoor kan de bladformatie stagneren met gevolg dat de groei terugloopt en de teeltduur verlengd wordt.

## 1.2 Doel van het onderzoek

Doel van het onderzoek is om:

1. Een teeltwijze, methode of middel vinden die de uitgroei van vooral de schimmel *Leucocoprinus* in de pot voorkomt.
2. Bepalen onder welke omstandigheden de zwam op de bast groeit en nog belangrijker; onder welke omstandigheden dat niet meer het geval is.
3. Middelen en methoden vinden waarmee de zwam bestreden kan worden en die geen nadelige gevolgen hebben voor de groei en kwaliteit van de planten.





## 2 *Leucocoprinus birnbaumii*

Het onderwerp van dit onderzoek zijn vooral schimmelsoorten uit het genus *Leucocoprinus*. Ook andere schimmels kunnen soms plotseling tot uiting komen bij het oppotten van het gewas en het plaatsen van de potjes in voor de schimmel gunstige omgevingscondities. Schimmels uit het genus *Peziza* (*P. ostracoderma*, ook wel stoomschimmel genoemd) staan erom bekend om steriele gronden snel te koloniseren. Echter deze schimmels worden snel weggeconcentreerd door andere bodembioïologie en vormen over het algemeen geen probleem gedurende het vervolg van de teelt.

In principe zijn de gevolgen van een aantasting met *Leucocoprinus spp.* beperkt voor de plant zelf, echter door de verminderde capaciteit van het substraat als gevolg van de snelle en overmatige mycelium groei kan de groei van het gewas teruglopen. Ook de cosmetische effecten van deze schimmel en dan vooral de enorme productie van primordia (schimmelbolletjes) kan er toe leiden dat de handel partijen Phalaenopsis weigert of terugstuurt en dat verkochte partijen veel klachten opleveren. De consument stelt de aanwezigheid van de schimmel niet op prijs.



Figuur 1. Duizenden primordia van *Leucocoprinus birnbaumii* in de pot. (Foto Wageningen UR Glastuinbouw).

Figuur 2. Vruchtlichaam van *L. birnbaumii* (Paddenstoel) in een pot van een potplant (Foto <http://www.hiddenforest.co.nz>).

Figuur 3. Botanische schildering van *L. birnbaumii* (<http://www.latvijasdaba.lv>).

Voor de goudgele plooiparasol zoals de schimmel *Leucocoprinus birnbaumii* genoemd wordt, komt het meeste voor bij potplanten en in het bijzonder Phalaenopsis. Ook de roze/paarse lilakorrelige plooiparasol *Leucocoprinus lilacinogranulosus* of de bruinige Spikkelplooiparasol (*Leucocoprinus brebissonii*) wordt regelmatig waargenomen op substraten in potten. Aangezien de goudgele plooiparasol *Leucocoprinus birnbaumii* primair problemen geeft bij Phalaenopsis, het vaakst wordt aangetroffen en het bekendst is, wordt het onderzoek toegespitst op deze soort.

## 2.1 Beschrijving en levenswijze

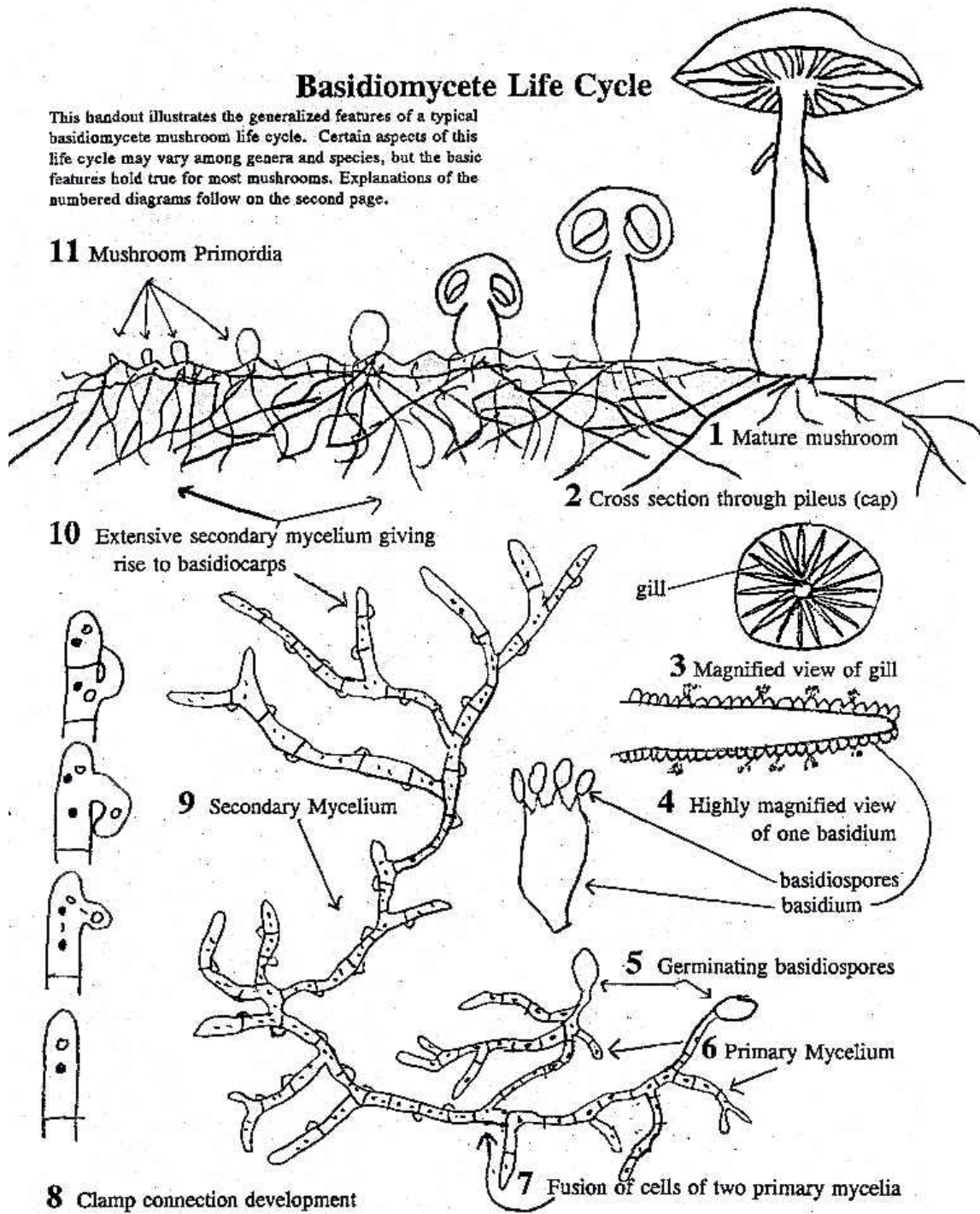
De schimmel *Leucocoprinus birnbaumii* (Corda) Singer behoort taxonomisch tot de Basidiomyceten. De Basidiomyceten vormen samen met de Ascomyceten de hogere schimmels. Van de Basidiomyceten zijn zo'n 30.000 soorten beschreven. Onder de Basidiomyceten vallen ook de schimmels die als vruchtlichaam een paddenstoel vormen (Agaricales). Deze vruchtlichamen zijn seksuele reproductieorganen waarin doorgaans enorme aantallen sporen worden gevormd. Deze groep van schimmels speelt een enorme rol in de afbraak van organisch materiaal de meeste soorten leven net als *Leucocoprinus* van organische stof zoals bladresten of afgestorven hout.

*Leucocoprinus* is sarcofaag, dat wil zeggen dat de schimmel leeft van dood organisch materiaal en niet plant pathogeen is. De schimmel groeit onder warme condities en de paddenstoelen kunnen zich plotseling alleen of in groepjes openbaren. Niet allen in de kas wordt *L. birnbaumii* waargenomen, in warme klimaatzones worden de paddenstoelen van de schimmel waargenomen in tuinen of bossen. De paddenstoelen worden dan vaak waargenomen in een verstoorde bodem (bijvoorbeeld aan de kant van een looppad of border). De schimmel groeit dan in de diepere strooisellaag en verteert daar waarschijnlijk lignine en cellulose.

De steel van de paddenstoel kan wel tot 10 cm lang worden en 1 tot 5 mm dik. De basis van de steel is opgezwollen en vaak enkele millimeters dikker dan de steel zelf. Op de steel is een kleine ring te zien die ook weer kan verdwijnen. De hoed kan in 2-6 cm groot worden. Vaak ontvouwt de hoed zich in verschillende vormen. Eerst enigszins in een punt, klokvormig, in een later stadium rond en vlak. Kenmerkend is dat het centrum van de hoed vaak donkerder van kleur is. Het totale oppervlak van de hoed is korrelig, rafelig en stoffig van uiterlijk. De paddenstoel is smaak- en geurloos. De paddenstoel kan niet worden gegeten en kan ernstige darmklachten en diarree veroorzaken. *Leucocoprinus birnbaumii* heeft een onmiskenbare zwavelgele kleur (De kleurstoffen zijn zeer specifiek en Birnbaumin A en B genoemd (Bartsch et al., 1995). De sporenprint is wit. Sporen zelf zijn ovaal, met een dikke wand en een kiempore. Oorspronkelijk komt deze schimmel uit de tropen, maar is inmiddels wereldwijd gedistribueerd samen met potplanten en potgronden (Vellinga, 2001).

## Basidiomycete Life Cycle

This handout illustrates the generalized features of a typical basidiomycete mushroom life cycle. Certain aspects of this life cycle may vary among genera and species, but the basic features hold true for most mushrooms. Explanations of the numbered diagrams follow on the second page.



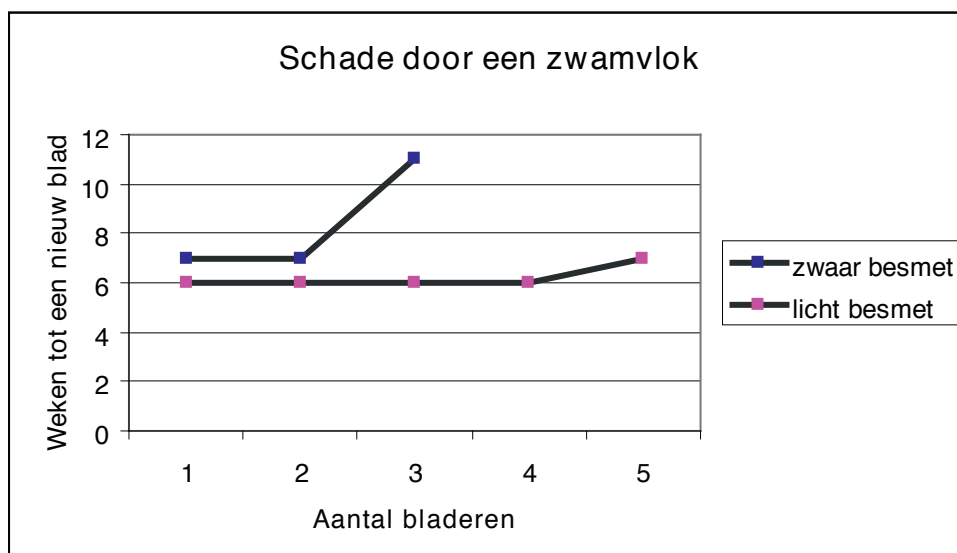
Figuur 4. Levenscyclus van Basidiomyceten (Volk, 1992).

## 2.2 Waardplanten

De problemen in de Nederlandse tuinbouw spitsen zich voornamelijk toe op de teelt van Phalaenopsis. Daarbij spelen de feiten dat het areaal Phalaenopsis groot is, Phalaenopsis in een doorzichtige pot wordt geteeld en dat bij de teelt van Phalaenopsis voor de schimmel mogelijk ideale klimaatsomstandigheden worden gehandhaafd ook een rol. Van een waardplant is in dit geval eigenlijk geen sprake; de schimmel heeft over het algemeen weinig interactie met de plant. Maar ook bij andere potplanten zoals *Zamia culcas*, Aloë en andere succulenten, *Ficus* worden de paddenstoelen regelmatig waargenomen.

## 2.3 Schade

Schade wordt vooral veroorzaakt door het cosmetische effect als gevolg de vorming van primordia (schimmelbolletjes). De bolletjes worden in de bark gevormd en zijn zichtbaar voor de consument. Planten worden daardoor onverkoopbaar. Een bijkomend effect is de vertraagde groei als gevolg van de schimmel. In de onderstaande figuur is zichtbaar wat het effect is op de afsplitsing van bladeren als gevolg van een zware infectie met *Leucocoprinus birnbaumii*. De afsplitsing van bladeren is een maat voor de groei en is bovendien een indicator voor het aantal te vormen bloemtakken. Hoe meer bladafplitsing hoe meer bloemtakken.



Figuur 5. Bladafplitsingsnelheid van *Phalaenopsis* bij infectie met *Leucocoprinus birnbaumii* (informatie J. Mulder, *Ter Laak Orchideeën*).

## 2.4 Bestrijding

Er worden in de literatuur over *L. birnbaumii* geen effectieve middelen genoemd om deze schimmel te bestrijden. Middelen zoals Topsin (thiofanaat methyl) en Daconil (Chloorthalonil) worden in de praktijk wel ingezet om de schimmelontwikkeling te beperken. Ook worden, als hygiënemaatregel, aangetaste partijen gemarkeerd en geruimd en worden tafels na de teelt ontsmet.

## **3 Beheersing van de groei en ontwikkeling van *Leucocoprinus birnbaumii***

### **3.1 Kweken van *Leucocoprinus birnbaumii* onder geconditioneerde omstandigheden**

Om inzicht te krijgen in de groei, ontwikkeling van de schimmel is het nodig om de schimmel *L. birnbaumii* onder geconditioneerde omstandigheden te laten groeien en primordia (gele bolletjes) te laten vormen. Daarnaast is een geconditioneerde kweek nodig om het effect van middelen te testen. In eerste instantie is getracht om de schimmel te laten groeien in de kas en klimaatcel, in potten en andere containers en op medium. In 2009 zijn in een aantal pilotproefjes ervaringen opgedaan, met wisselende resultaten. Er is geëxperimenteerd met verschillende inocula, verschillende teelt mediarecepten en klimaatcel instellingen. Soms na enkele weken totaal geen schimmelgroei soms na 2 maanden enige ontwikkeling van schimmel. Deze ervaringen zijn meegenomen in de onderstaande experimenten

#### **3.1.1 Kas**

In een potplantenkas is een tafel ingeruimd om de schimmel *L. birnbaumii* te kweken en primordia (gele bolletjes) te laten vormen. In de kas werd gestreefd naar een temperatuur tussen de 20-25 °C. De kas was belicht en er werd gestreefd naar een RV van 70-75%. Met behulp van inoculum uit de praktijk (Ammerlaan en Ter Laak) dat is doorgemengd met een vers barkmedium (Slingerland) getracht de schimmel te laten vermeerderen onder de gebruikelijke condities. De bark is vermengd met de geïnfecteerde bark uit de praktijk en in de standaard doorzichtige orchideeënpot in de kas geplaatst. De potten kregen wekelijks water.

Er is gekeken naar het effect van watergift met en zonder voeding. Ook is er gekeken of plantmateriaal een rol speelde bij de ontwikkeling van de schimmel door met de schimmel geïnoculeerde potten met en zonder planten in de kas te plaatsen. Deze behandelingen gaven niet het gewenste resultaat, de schimmel groeide onvoldoende of de schimmelgroei startte in eerste instantie, maar stagneerde waarbij de bolletjes (primordia) grijs en grauw werden.

Op basis van deze ervaringen is besloten om niet verder te gaan in de kas. De omgevingsfactoren in de kas bleken voor deze experimenten onvoldoende stuurbaar.

#### **3.1.2 Klimaatkast en laboratorium**

In de klimaatkast is een vergelijkbaar klimaat gekozen zoals in de kas. Bij een continue luchtstroom is een temperatuur van 28 °C en 12 uur licht aangehouden. Daarnaast zijn de zelfde behandelingen ook steeds onder labcondities ( 20-22 °C, een combinatie van kunst- en dag licht en een dag-nacht ritme (voorjaar 2010)) uitgevoerd.

Er is gekozen voor een "trial and error" aanpak. Om meer kennis te vergaren en gevoel te krijgen bij de ontwikkeling en groei van de schimmel is er volop gevarieerd met uiteenlopende parameters. Er is gevarieerd met diverse factoren zoals vocht, licht, fluorescentie, zuurgraad (pH), verstoring, temperatuur, bodemleven. In de volgende paragrafen worden de verschillende factoren met mogelijke invloed, opzet van de experimenten en de opgedane ervaringen beschreven.

### 3.1.2.1 Inoculum

Voor de pilotexperimenten is een barkmengsel gemaakt van vers medium en met de schimmel gekoloniseerde potten van twee praktijkbedrijven (Ter Laak Orchideeën en Ammerlaan Orchideeën). Het mengsel is samengesteld uit gekoloniseerd medium en het verse barkmedium (Slingeland (Ter Laak Mengsel)) in een verhouding van 1 op 3 (dus een deel met door de schimmel gekoloniseerde bark vermengd met 3 delen vers barkmedium). Het plantmateriaal is verwijderd uit de potten en de gekoloniseerde potten zijn uitgestort op een werkblad. De bark is losgemaakt en daarbij is het verse barkmedium gevoegd en zeer goed gemengd zodat een homogeen mengsel is verkregen. Het verse medium was vochtig en is niet extra bevochtigd.



*Figuur 6. Inoculum vermengd met vers Phalaenopsis-substraat.*

### 3.1.2.2 Potten en bamibakjes met deksel

De potten zijn gevuld met het inoculum en op een lek-schaaltje in de klimaatkast of op de labtafel gezet.

De bamibakjes (wit) zijn voor 60% gevuld met het inoculum. De bakjes geheel afgesloten met een passende transparante deksel. Er is steeds gebruik gemaakt van nieuwe bamibakjes.

De bakjes zijn op de zijkant weggezet. De bakjes zijn geplaatst op korte kant van het bakje. De bark in de bakjes kwam daardoor onder een hoek in de bakjes te liggen. Vervolgens zijn de bakjes in de klimaatkast of op de labtafel geplaatst. Er is geen direct verschil waarneembaar tussen de potten en de bami bakjes. Toch is er voorkeur voor de bamibakjes. De bamibakjes geven een constantere groei en een betere bedekking met primordia dan de potjes. Ook lijken de potten minder geschikt omdat de gevormde structuren na een korte periode minder vitaal lijken te worden. De primordia (bolletjes) worden dan grijs en grauw van kleur en de ontwikkeling stagneert. Mogelijk dat de watergift of de verstoring van de potten groei verstoort. Potten worden bij water gift beroerd en gedraaid. De bakjes zijn gemakkelijker in de zelfde positie terug te plaatsen. Een ander voordeel is dat de bakjes met een goed gesloten deksel niet bevochtigd te hoeven worden.



Figuur 7. Vorming van primordia in de potten.

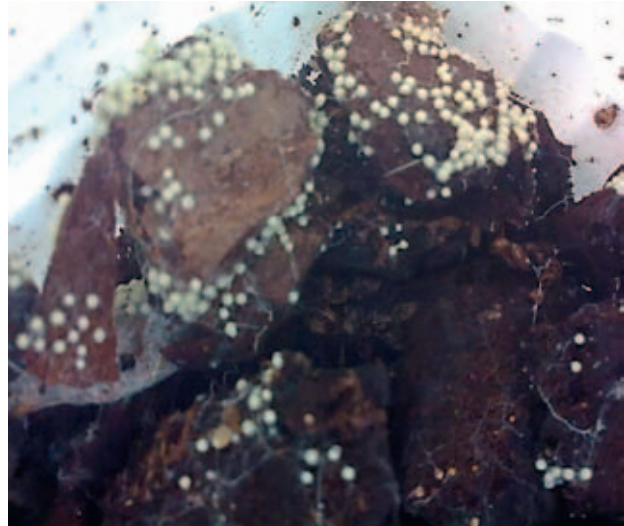
### 3.1.2.3 Vocht

Vocht is een belangrijke factor voor de meeste schimmels. Ook voor *L. birnbaumii* geldt dit. Dit komt duidelijk naar voren bij de kweek in de bamibakjes. Als de bakjes niet helemaal gesloten zijn zal de schimmel niet groeien. Door de luchtstroom in de klimaatkast drogen de bakjes uit en groeit er geen schimmel op het medium in het bamibakje. Er is dan ook geen condensvorming in de bakjes zoals waarneembaar op Figuur 8.

In het proeven met de potten lijkt de watergift een bepalende rol te spelen. Vaak ogen de gevormde gele bolletjes (primordia) veel minder vitaal enkele dagen na een gietbeurt of stagneert de groei geheel en sterven bolletjes en andere gevormde structuren af. Bij het gewasbeschermingsmiddelen experiment op bark is het opmerkelijk dat de bakjes die bereid zijn met het zelfde inoculum wel groeien als daar 20 ml water en middel aan toe is gevoegd, maar dat de bakjes waaraan geen extra vocht is toegevoegd geen groei vertonen.

Om de effecten van vocht te bekijken zijn een aantal kleine experimenten uitgevoerd. Er is in bamibakjes een afgewogen hoeveelheid inoculum gedaan. Daar bij is in een gradiënt van 10, 20, 40, 80, 100 en 150 ml water toegevoegd (leidingwater). Na 4 weken zijn geen overtuigende verschillen waar te nemen tussen de verschillende bamibakjes. Er lijkt wel een optimum in de hoeveelheid vocht te zitten. In dit experiment lijkt dit rond de 40 ml te liggen. Minder en meer lijken minder groei te geven.

Er is ook gekeken naar de ontwikkeling van primordia als water wordt gebruikt met en zonder bemesting. Er is gekozen voor een voedingsoplossing gebruikt bij de teelt van *Phalaenopsis*. Er is geen verschil waar te nemen in groei en de formatie van primordia tussen potten die water hebben gehad met en zonder *Phalaenopsis*voeding.



Figuur 8. en 9. Vorming van primordia in de bamibakjes.

#### 3.1.2.4 Licht en fluorescentie

In een eerste experiment in de klimaatkast waarbij in de klimaatkast 24 uur licht brandde, is zowel bij een temperatuur van 20 en 28 °C geen groei vastgesteld. In een volgend experiment waarbij een lichtregime van 12 uur licht en 12 uur donker was wel een goede ontwikkeling van de schimmel waar te nemen. Ook onder laboratoriumomstandigheden bij normaal dag/nachtritme en een temperatuur van 20-22 °C is schimmelgroei waar te nemen.

Er is ook op kleine schaal geëxperimenteerd met fluorescent licht. Vanwege het feit dat voor *L. birnbaumii* fluorescentie benodigd bleek voor een goede groei in de petrischalen op kunstmatig voedingsmedium. Er zijn bakjes op het lab bij daglicht en onder 12 uur fluorescentie geplaatst. Fluorescentie gaf geen extra groei van *L. birnbaumii* op het barkmedium in de bakjes.

#### 3.1.2.5 Zuurgraad (pH)

De zuurgraad is voor en na vorming van primordia gemeten. Er zijn geen verschillen waar te nemen in pH waarden tussen de bakjes voor de vorming van de bolletjes en als de bolletjes aanwezig zijn. Ook is er geen verschil waar te nemen tussen bakjes met en zonder primordia of vers onbehandeld medium.

#### 3.1.2.6 Verstoring

Bij het verstoren van het medium stagneert de groei. Er zijn bij bovenstaande experimenten aanknopingspunten om aan te nemen dat het draaien van een pot al voldoende is om de groei en ontwikkeling van primordia te stoppen. Ook als bamibakjes worden geopend of het barkmedium in het bakje wordt geschud zal de groei stagneren of zelfs helemaal stoppen.

#### 3.1.2.7 Temperatuur

De temperatuur lijkt binnen bandbreedtes van 20 en 28 °C geen verschil te maken. Er is geen verschil waarneembaar tussen groei op het laboratorium (ongeveer 20 °C) en de klimaatkast 28 °C. Bij een lagere temperatuur lijken meer primordia te worden gevormd, echter bij hogere temperaturen lijken de vruchtlichamen (paddenstoelen) gemakkelijker te worden gevormd.





Figuur 10. Jonge paddenstoel in bamibakje bij 28 °C in klimaatkast.



Figuur 11. Volgroeide paddenstoel in bamibakje bij 28 °C in klimaatkast.

### 3.1.2.8 Substraat en bodemleven

De beste en snelste groei en ontwikkeling van primordia is waar te nemen bij zowel een vers inoculum (direct uit de kas) en bij gebruik van vers substraat. Echter ook op oud inoculum en op oud/gebruikt substraat ontstaan gele bolletjes. De aanwezigheid van wortels of plantmateriaal speelde ogenschijnlijk geen rol bij de ontwikkeling van de schimmel. Bij een experiment waarbij voor inoculatie het verse barkmedium gesteriliseerd (geautoclaveerd 120 °C) werd, ontstaat geen groei en ontstaan geen primordia. Geen enkele vorming van gele bolletjes (primordia) is zichtbaar na 4 weken. Ook kan worden vastgesteld dat zodra de ontwikkeling van algen op het medium of in de pot op gang komt de schimmelgroei en ontwikkeling stopt.

### 3.1.2.9 Conclusies

Uit bovenstaande pilotexperimenten zijn de volgende conclusies te trekken:

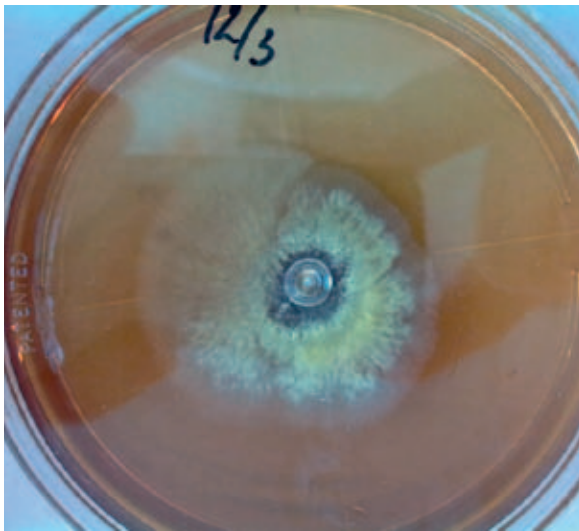
- Kweek in een bamibakje geeft betere resultaten dan de andere kweekmethoden.
- Vocht is nodig voor de ontwikkeling.
- De schimmel groeit niet op een gesteriliseerd medium (bark).
- Licht (-spectrum) is bepalend voor de ontwikkeling van primordia en vruchtlichamen.
- Versheid van inoculum lijkt bepalend voor snelle kolonisatie van het medium.
- Temperatuur lijkt nauwelijks invloed te hebben op de groei.
- Er is ongeveer een maand nodig om zichtbare kolonisatie van het substraat te krijgen.
- Verstoring belemmert de groei.
- pH lijkt geen effect te hebben.
- Paddenstoelen worden niet gevormd op het lab en komen niet tot wasdom in klimaatkast. De paddenstoeltjes komen tot 3 cm boven de grond en rotten dan weg. Meestal gebeurt dit al in een eerder stadium.

### 3.1.3 Reincultuur van *L. birnbaumii*

De schimmel is onder geconditioneerde omstandigheden te kweken op kunstmatig voedingsmedium in petrischalen. De schimmel is geïsoleerd van geïnfecteerde bark uit de praktijk. Er zijn primordia verzameld uit de planten uit de praktijk en deze zijn gespoeld met water en diverse ontsmettingsmiddelen. Er is daarnaast contact gezocht met een Amerikaanse expert (B. Waaland) van de universiteit van Berkeley. Zij heeft een aantal tips gegeven om de schimmel met relatief simpele middelen goed te kunnen kweken.

Omdat in een teeltmedium uit de praktijk vele schimmels aanwezig zijn, is de kans op contaminatie met kolonisten zoals de schimmels behorend tot de groep van de *Mucorales* (*Mucor*, *Rhizoopus*) en andere snelgroeiende schimmels zoals *Penicillium* en *Aspergilles*. Daarbij komt dat de schimmel langzaam groeit en deze snelle kolonisten de petrischaal snel kunnen overgroeien. Na een aantal testen met ontsmettende behandelingen is een behandeling van de bolletjes primordia in 70% alcohol voor 30 seconden, het meest effectief gebleken. Met deze isolaties zijn reinculturen gerealiseerd en is de kweek naar forse aantallen opgeschaald. Per petrischaal zijn een vijftal bolletjes uitgelegd. De schalen zijn weg gezet bij 17, 22 en 28 °C. De platen zijn naar 3, 7 en 14 dagen bekeken en overgeënt.

Bij 28 °C en onder fluorescent licht duurt het ongeveer 14 dagen om een kolonie met een diameter van 3 cm te krijgen. De koelere temperaturen lijken minder geschikt.



Figuur 12. *L. birnbaumii* in reincultuur in petrischaal.



Figuur 13. *L. birnbaumii* in reincultuur in filetkuipje.

## 3.2 Effect van middelen op reinculturen van *L. birnbaumii*

### 3.2.1 Doel

Vaststellen of er een direct effect is van gewasbeschermingsmiddelen op de groei en ontwikkeling van *Leucocoprinus birnbaumii* onder laboratorium condities in petrischalen.

## 3.2.2 Materiaal en methode

### 3.2.2.1 Materialen

- Fluorescentie stoof; 28 °C en fluorescente belichting (12-12)
- Middelen: Bicarbonaat (bicarbonaat), Captan (captan), Daconil (chloorthalonil), Ortiva (azoxystrobine), Switch (fludioxonil en cyprodinil) en Topsin M (thiofanaat methyl)
- Oxoid Malt agar (conform recept Oxoid)
- Reinculturen van *Leucocoprinus birnbaumii*

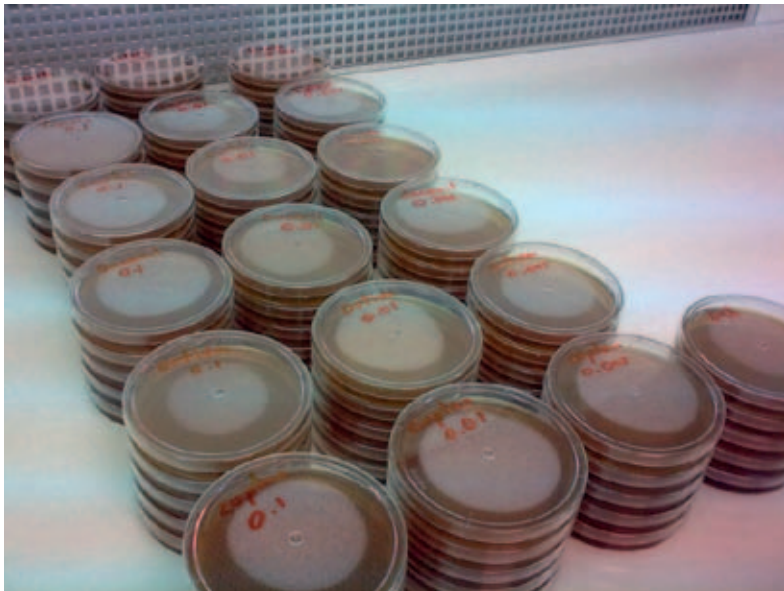
### 3.2.2.2 Behandelingen

Van de 6 middelen is een dosering van 0 (onbehandeld), 0,1, 0,01 en 0,001 ml per liter Malt agar gebruikt. De middelen zijn na het autoclaveren van het medium toegevoegd en daarna in petrischalen gegoten. Het medium was nog warm (40-50 °C) bij het toevoegen van de gewasbeschermingsmiddelen.

Van de reinculturen zijn ponsjes met vaste afmeting overgezet op de petrischalen waaraan een van de middelen is aan toegevoegd. Het experiment is in 5-voud uitgevoerd.

### 3.2.2.3 Metingen

- Na 4 dagen is de grens van de kolonie gemarkeerd.
- Na 10 dagen wordt de grens van de kolonie opnieuw gemarkeerd.
- De toename in oppervlak van de kolonie is bepaald (maat voor de vitaliteit van de schimmel)
- Ook is na twee weken de groei van de kolonie nogmaals gemeten en beoordeeld op kleur en eventuele andere visuele kenmerken.

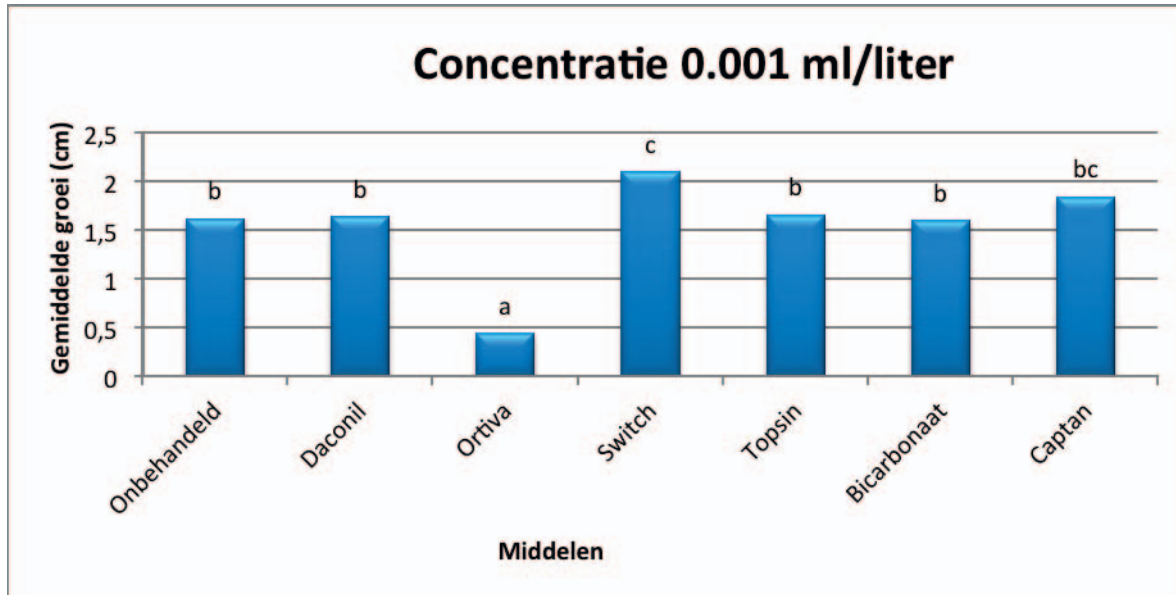


Figuur 14. Petrischalen met voedingsmedium met 3 concentraties van 6 gewasbeschermingsmiddelen en een onbehandeld medium (controle).

### 3.2.3 Resultaten

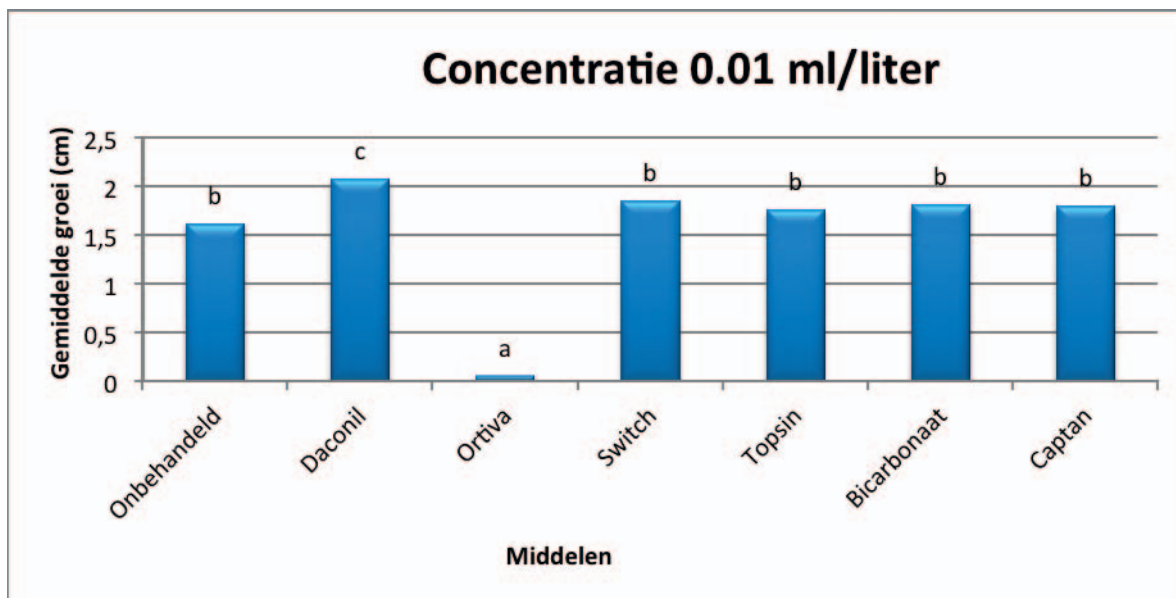
Aan de hand van het beschreven experiment zijn we gekomen tot de volgende resultaten.

Bij een concentratie van 0,001 ml gewasbeschermingsmiddel per liter medium is een duidelijk effect waarneembaar van het middel Ortiva. Het effect van het middel wijkt significant af van het effect van de andere toegepaste middelen.



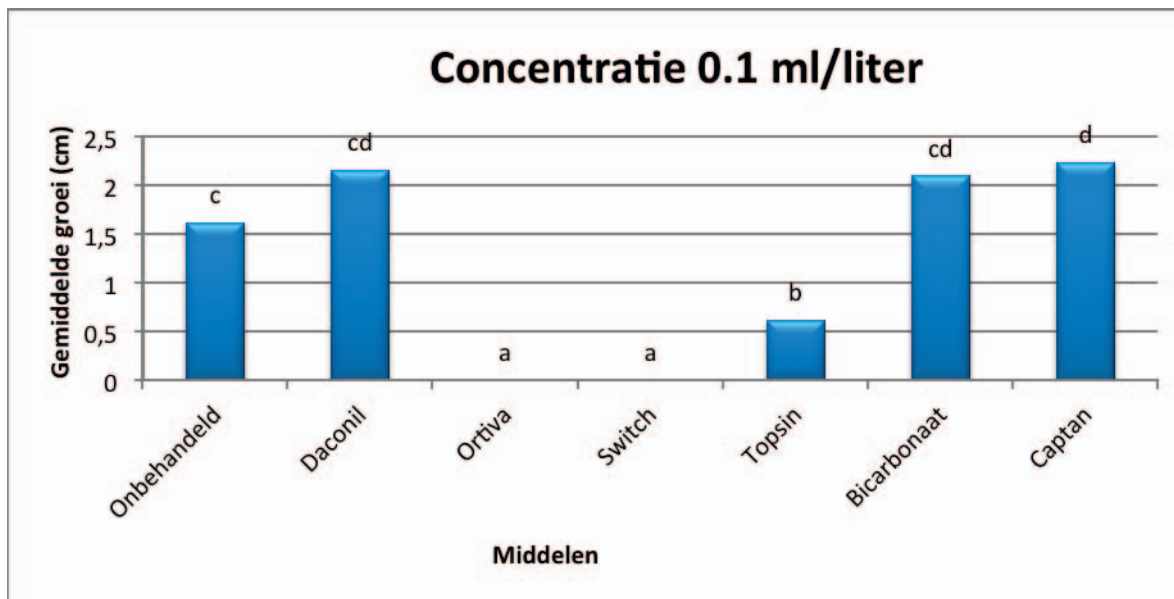
Figuur 15. Effect van gewasbeschermingsmiddelen op *L. birnbaumii*. Gelijke letters in de grafiek geven aan dat er geen significant verschil bestaat tussen de behandelingen. (Fisher's protected LSD (5%).

Bij een dosering van 0,01 ml gewasbeschermingsmiddel is de situatie niet veranderd ten opzicht van de lagere concentratie. Uitsluitend het effect van het middel Ortiva wijkt significant af van het effect van de andere toegepaste middelen.



Figuur 16. Effect van gewasbeschermingsmiddelen op *L. birnbaumii*. Gelijke letters in de grafiek geven aan dat er geen significant verschil bestaat tussen de behandelingen. (Fisher's protected LSD (5%).

Ook bij de hoogste concentratie is het middel Ortiva een goede kandidaat als bestrijder van de *Leucocoprinus birnbaumii*. Bij deze hoge concentratie is ook het middel Switch actief tegen de schimmel. Ook van Topsin M is een effect waarneembaar.



Figuur 17. Effect van gewasbeschermingsmiddelen op *L. birnbaumii*. Gelijke letters in de grafiek geven aan dat er geen significant verschil bestaat tussen de behandelingen. (Fisher's protected LSD (5%).

### 3.2.4 Conclusie

Uit deze gegevens komt duidelijk naar voren dat het effect van het middel Ortiva zowel bij de laagste als bij beide andere concentraties die in de voedingsbodem zijn doorgemengd significant verschilt van de andere middelen. Bij de hoogste concentratie is Switch ook effectief in het beperken van de groei van *Leucocoprinus birnbaumii* en verschilt deze behandeling ook significant van de andere behandelingen. Topsin M geeft minder groeireductie, die significant verschilt van de onbehandelde controle, maar ook van die Ortiva en Switch.

Op basis van dit screeningsonderzoek kunnen we concluderen dat Ortiva het middel is met de meeste potentie voor de praktijk. Echter het middel is alleen getoetst op labschaal en er kunnen dus geen conclusies getrokken worden over de effectiviteit bij een praktijktoepassing.

## 3.3 Gewasbeschermingsmiddelenexperiment tegen *L. birnbaumii* op teeltsubstraat

### 3.3.1 Preventieve gewasbeschermingsmiddelentoets tegen *Leucocoprinus birnbaumii*

#### 3.3.1.1 Doel

Vaststellen of praktijk-inoculum van *Leucocoprinus birnbaumii* zich kan ontwikkelen op een substraat waar gewasbeschermingsmiddelen aan toegevoegd zijn. Deze proef is opgezet om een mogelijk beeld van de preventieve werking van de middelen op *Leucocoprinus birnbaumii* te geven.

### 3.3.1.2 Materiaal en methode

#### 3.3.1.2.1 Materiaal

- Bamibakjes met deksel.
- Labtafel (20 °C en dag/nacht) en klimaatkast (28 °C en 12 uur licht/12 donker).
- Middelen: Bicarbonaat (bicarbonaat), Captan (captan), Daconil (chloorthalonil), Ortiva (azoxystrobine), Switch (fludioxonil en cyprodinil) en Topsin M (thiofanaat methyl).
- Praktijkinoculum en eigen gekoloniseerd substraat.

#### 3.3.1.2.2 Behandelingen

Van de 6 middelen is een dosering van 0 (onbehandeld, steriel water), halve dosering, dosering volgens etiket en dubbele dosering genomen.

Tabel 1. Middelen en doseringen.

	controle	Halve dosering	Dosering	Dubbele dosering
Bicarbonaat	0	1 gram per liter	2 gram per liter	4 gram per liter
Captan	0	1 gram per liter	2 gram per liter	4 gram per liter
Daconil	0	1,5 ml per liter	3 ml per liter	6 ml per liter
Ortiva	0	0,4 ml per liter	0,8 ml per liter	1,6 ml per liter
Switch	0	0,4 ml per liter	0,8 ml per liter	1,6 ml per liter
Topsin M	0	1,5 ml per liter	3 ml per liter	6 ml per liter

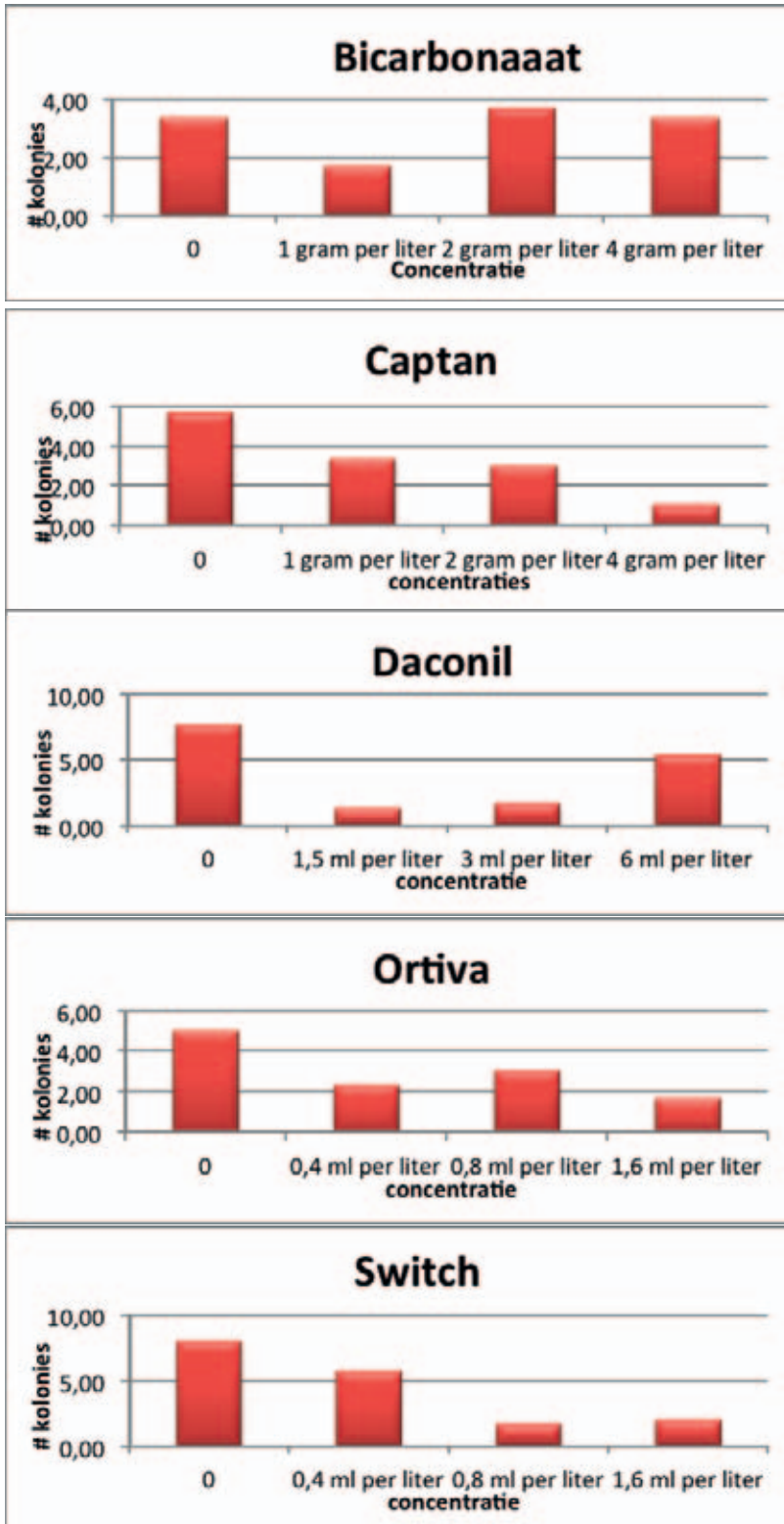
- De middelen zijn preventief toegevoegd.
- Het inoculum is 1 op 3 gemengd.
- Per bakje zal 20 ml vocht met de gewenste concentratie worden toegevoegd.
- Dit zal in zijn geheel in drievoud worden ingezet (3 herhalingen).

#### 3.3.1.2.3 Metingen

- Na twee en vier weken wordt het oppervlak van de zichtbare kolonies bepaald
- Ook wordt na twee en vier weken de kolonie beoordeeld op kleur en eventuele andere visuele kenmerken.

### 3.3.1.3 Resultaat

De resultaten en waarnemingen in dit experiment hebben geen eenduidige resultaten opgeleverd een eerste beoordeling na 3 weken levert de resultaten in de onderstaande grafieken. Op basis van deze eerste telling lijkt er wel een effect te zijn. Dit effect is indicatief en niet statistisch te onderbouwen. De resultaten waren niet eenduidig, de eerste primordia werden net gevormd. Onbehandelde controles waren nog nauwelijks begroeid met *L. birnbaumii* (maximaal 8 kolonies).



Figuur 18-23: Het effect van preventieve toepassing van gewasbeschermingsmiddelen, 3 weken na behandeling.

De eindbeoordeling heeft 2 maanden na inoculatie plaatsgevonden. Er zijn geen waardevolle resultaten gehaald uit deze laatste waarneming.

### 3.3.1.4 Conclusie

Conclusies kunnen niet worden getrokken uit de eindresultaten bij de preventieve toediening van de middelen.

- Geen van de middelen belemmert overtuigend de groei op bark in kweekbakjes.
- Soms geen groei waarneembaar bij de controle (toediening water) of minder groei bij controle dan bij de hoogste concentratie.
- Ook bij de eerste resultaten (3 weken na inoculatie) zijn soms bij de hoogste dosering net zo veel primordia waarneembaar als bij de controle, terwijl lagere doseringen wel een effect lijken te genereren. Ook op basis van deze resultaten zijn geen conclusies te trekken. De bovenstaande resultaten in grafieken spreken elkaar tegen.
- De kweek voor curatieve proef, die gelijktijdig en met het zelfde inoculum is geënt als het preventieve experiment, groeit niet.
- Op basis van deze proef kan geconcludeerd worden dat de groei van *Leucocoprinus birnbaumii* nog onvoldoende controleerbaar en stuurbaar is om een consistent en herhaalbaar resultaat te genereren.
- Onderstaande Figuur 24. illustreert het grote contrast. Beide kweekbakjes hebben een gelijke behandeling ondergaan het linker bakje toont geen primordia terwijl het rechter bakjes vol zit met kleine gele bolletjes.



Figuur 24. Gelijke behandeling van de kweekbakjes levert een uiteenlopend resultaat.

## 3.3.2 Curatieve gewasbeschermingsmiddelentoets tegen *Leucocoprinus birnbaumii*

### 3.3.2.1 Doel

Vaststellen of bakjes met substraat gekoloniseerd door een praktijk-inoculum van *Leucocoprinus birnbaumii* zo behandeld kunnen worden dat de groei stopt of de schimmel geheel wordt afgedood.

Deze proef is opgezet om de curatieve werking van middelen op *Leucocoprinus birnbaumii* aan te tonen.



### 3.3.2.2 Materiaal en methode

#### 3.3.2.2.1 Materiaal

- Bamibakjes met deksel.
- Labtafel (20 °C en dag/nacht) en klimaatkast (28 °C en 12 uur licht/12 donker).
- Middelen: Bicarbonaat (bicarbonaat), Captan (captan), Daconil (chloorthalonil), Ortiva (azoxystrobine), Switch (fludioxonil en cyprodinil) en Topsin M (thiofanaat methyl).
- Praktijkinoculum en eigen gekoloniseerd substraat.

#### 3.3.2.2.2 Behandelingen

Van de 6 middelen is een dosering van 0 (onbehandeld, steriel water), halve dosering, dosering volgens etiket en dubbele dosering genomen.

Tabel 2. Middelen en doseringen.

	controle	Halve dosering	Dosering	Dubbele dosering
Bicarbonaat	0	1 gram per liter	2 gram per liter	4 gram per liter
Captan	0	1 gram per liter	2 gram per liter	4 gram per liter
Daconil	0	1,5 ml per liter	3 ml per liter	6 ml per liter
Ortiva	0	0,4 ml per liter	0,8 ml per liter	1,6 ml per liter
Switch	0	0,4 ml per liter	0,8 ml per liter	1,6 ml per liter
Topsin M	0	1,5 ml per liter	3 ml per liter	6 ml per liter

- De middelen worden curatief toegevoegd, er worden dus eerst bakjes met door *Leucocoprinus* gekoloniseerd substraat gekweekt.
- Het inoculum is 1 op 3 gemengd.
- Na kolonisatie door *Leucocoprinus birnbaumii* (na ongeveer 4 weken) wordt per bakje 20 ml water met de gewenste gewasbeschermingsmiddelconcentratie toegevoegd.
- Experiment zal in drievoud worden ingezet (3 herhalingen).

#### 3.3.2.2.3 Metingen

- Na toediening, één en twee weken wordt het oppervlak van de zichtbare kolonies bepaald
- Ook wordt de kolonisatie beoordeeld op kleur, vitaliteit en eventuele andere visuele kenmerken.

### 3.3.2.3 Resultaten

De kweek bij dit experiment zodat middelen toegevoegd konden worden, is door onvoorziene omstandigheden niet op gang gekomen. Er zijn daarom ook geen middelen aan de kweekbakjes toegevoegd.

Dit experiment heeft geen resultaten opgeleverd.

#### **3.3.2.4 Conclusie**

- De kweek voor curatieve proef, die gelijktijdig en met het zelfde inoculum is geënt als het preventieve experiment, groeit niet. Er is geen extra vocht toegevoegd aan het medium. De kweekbakjes die wel groeiden hebben 20 ml en water en gewasbeschermingsmiddel gekregen.
- Op basis van deze proef kan geconcludeerd worden dat de groei van *Leucocoprinus birnbaumii* nog onvoldoende controleerbaar en stuurbaar is om een consistent en herhaalbaar resultaat te genereren.

## **4 Inventarisatie naar de ervaring met *Leucocoprinus birnbaumii* onder telers**

### **4.1 Aanleiding**

De teleurstellende resultaten geven extra aanleiding om verder te zoeken naar de omstandigheden waaronder deze ongreepbare schimmel goed groeit. Tot nu toe is gebleken dat de grootste vraag die beantwoord dient te worden is hoe we de schimmel beheerst kunnen laten groeien. Daarom is er veel tijd gestoken om te kijken naar de levenswijze (cyclus) van de schimmel op substraat. Ook kan het beheersen en beïnvloeden van de schimmel niet alleen tijdens onderzoek en bij het testen van gewasbeschermingsmiddelen van pas komen, maar deze informatie kan ook een hulpmiddel zijn om de groei van de schimmel tijdens de teelt te remmen of zelfs te stoppen. Echter er zijn vele factoren die een rol spelen bij de optimale groei (en het gepland laten groeien van de schimmel).

### **4.2 Doel**

Om meer te weten te komen over hoe de schimmel zich onder praktijkomstandigheden ontwikkelt en daar lering uit te trekken en aanknopingspunten te vinden voor het kweken en de beheersing van *Leucocoprinus birnbaumii* is in dit project gevraagd naar de ervaringen van telers. De praktijkinformatie kan een aanleiding of sleutel zijn voor de ontbrekende kennis over het “gedrag” van schimmel.

### **4.3 Materiaal en methode**

Aan de telers die lid zijn van de landelijke commissie Phalaenopsis zijn een twaalfal vragen gesteld. De telers zijn persoonlijk door Robert Ammerlaan (lid BCO en LC Phalaenopsis) mondeling gevraagd naar hun ervaringen en mening over dit schimmelprobleem.

1. Wanneer ontwikkelt de paddenstoel zich in uw teelt (jaargetijde, maand, teeltstadium (ook aantal dagen/weken na oppotten aangeven), daglengte)?
2. Koopt u jong plantmateriaal in of vermeerdert u zelf (verspenen uit de fles)?
3. Wat is de temperatuur in de kas in die periode (dag, nacht, etmaal)?
4. Hoe vaak geeft u dan water per week en hoeveel water komt er bij een gietbeurt bij benadering in een pot?
5. Wat is uw streef EC in de pot? En wat is uw streef pH in de pot?
6. Wat is de samenstelling van uw substraat (geef daarbij aan welke bestanddelen er naast bark aanwezig zijn)?
7. Hebt u ervaring met een verschil tussen substraten in relatie tot het voorkomen van de schimmel?
8. Is het scherm veelal dicht bij het optreden van de schimmel?
9. Heeft u groeilampen? En zijn deze aan of juist uit bij het ontwikkelen van de paddenstoelen?
10. Krijgen alle planten een gelijke behandeling (dompelen in een oplossing met gewasbeschermingsmiddelen? Recirculeert u gietwater van de teelttafels?
11. Welke maatregelen (bijvoorbeeld: middelen, klimaatsaanpassingen, teeltaanpassingen of uitselcteren en weggoeien) treft u als de schimmel zich openbaart (bijvoorbeeld: bolletjes in de pot of paddenstoelen)?
12. Suggesties?

## 4.4 Resultaten

Niet alle ondervraagden konden een antwoord formuleren op de gestelde vragen of hadden er geen kennis over het gevraagde. De antwoorden zijn anoniem weergegeven.

Uit de inventarisatie is naar voren gekomen dat:

- De schimmel zich zichtbaar openbaart gedurende de opkweek of zelfs al gedurende de eerste week van de teelt. Het teeltstadium lijkt dus belangrijker voor de ontwikkeling van de schimmel dan het jaargetijde.
- De problemen komen voor bij telers die jong plantmateriaal kopen als bij telers die zelf planten uit verspenen uit cultures.
- De gemiddelde temperatuur bij de teelt ligt tussen de 28 en 29 °C.
- De frequentie van de watergift ligt tussen de 1 maal in de 4 dagen en 1 maal in de 5 dagen.
- De pH in de pot ligt rond de 6, de EC start op 1,2 en komt niet boven de 2.
- De telers gebruiken verschillende mengsels met daar in de bestanddelen bark (boomschors), veen, kokos, foam en sphagnum.
- Er is geen relatie tussen het voorkomen van de schimmel en bestanddelen van het substraat te benoemen.
- Schermen wordt niet genoemd als een mogelijke oorzaak. Wel dat er vooral in het voorjaar en najaar meer problemen zijn rond de periode als het krijt op of van het dak gaat.
- Er wordt geen preventieve behandeling uitgevoerd tegen schimmels. Wel wordt er getracht een goede hygiëne te handhaven, ingangscntrole te doen en probeert men jong plantmateriaal en bark van de plantenkweker zo veel mogelijk te scheiden van de teelt.
- Bij zware aantasting worden de planten uit de kas verwijderd. Als de bakjes van de plantenkweker komen en de schimmel wordt waargenomen in de bakjes gaan deze terug naar de plantenkweker. Gebruik van gewasbeschermingsmiddelen op geïnfecteerde tafels.
- Als suggestie voor een oplossing van dit probleem wordt schoon uitgangsmateriaal genoemd.

## 4.5 Conclusie

Op basis van de resultaten van de inventarisatie kan worden gezegd dat niet alleen de telers die door een plantenkweker worden beleverd, last hebben van de schimmel. Toch wijzen de telers vooral naar de plantenkweker als bron voor de schimmelproblematiek. De schimmel wordt waargenomen in het materiaal van de plantenkweker en niet in het deel van de planten dat zelf is opgepot uit flessen. Andere hebben ook last bij planten die oorspronkelijk uit flessen komen. Mogelijk speelt het substraat ook een rol bij de introductie en verspreiding van de schimmel. Verder wordt door de telers aangegeven dat vocht en licht een belangrijke rol spelen bij de formatie van de gele bolletjes (primordia). Alle telers gebruiken boomschors als hoofdbestanddeel, daar worden allerlei bestanddelen in bedrijfseigen receptuur aan toegevoegd. De telers geven aan dat met behulp van een strikt hygiëne protocol, selectie van plantmateriaal, fysieke scheiding van teeltfasen (oppotten en teelt) en een heel incidentele bespuiting de symptomen kunnen worden beperkt.

## 5 Conclusie en discussie

Dit project heeft veel bijgedragen aan kennis over het gedrag van de schimmel *Leucocoprinus birnbaumii*. Echter een oplossing voor de problematiek met deze schimmel is niet gevonden. Bij de teelt van Phalaenopsis lijken de problemen in de praktijk zich te stabiliseren en kunnen door het gebruik van hygiënemaatregelen uitbraken met de schimmel worden verminderd. Bij andere teelten zoals de teelt van succulenten en potplanten worden paddenstoelen van deze schimmelsoort steeds vaker aangetroffen in onvoorspelbare “vluchten”. Ook bij deze teelten zijn groeivertraging en klachten vanuit de markt de grootste zorg.

Met de opgedane kennis kan de schimmel worden gekweekt op substraat en in reïnculturen. Echter de mate van groei en de formatie van primordia is slecht te voorspellen en ook de formatie van paddenstoelen is slechts incidenteel gelukt. Er zijn dus nog veel onduidelijkheden over de levenswijze van de schimmel en onder welke condities de schimmel structuren vormt. Het is belangrijk voor vervolgonderzoek om dieper op de biologie van de schimmel in te gaan en de levenswijze van de schimmel te doorgronden. Afgezien van de noodzaak om deze kennis te ontwikkelen voor het experimenteren met deze schimmel, zijn er ook kansen om bepaalde omgevingsfactoren aan te passen om de ontwikkeling van primordia of andere structuren te stoppen of te voorkomen gedurende de teelt. Hierdoor kan de schimmel dan mogelijk met behulp van teeltmaatregelen worden beheerst in plaats van met gewasbeschermingsmiddelen of andere ingrijpende maatregelen. Gezien de nog steeds geldende problemen bij de teelt van potorchidee, maar ook bij de teelt van andere potplanten bestaat de noodzaak om verder te zoeken naar de oplossing voor overmatige schimmelgroei.

Enkele telers hebben, met een zeer gedegen hygiëne protocol, de infectiedruk van de schimmel in de praktijk weten te reduceren. Strenge ingangscntrole van jong plantmateriaal zowel visueel en op basis van geur (er wordt geselecteerd op kenmerkende schimmelgeur) zorgen voor een verminderde uiting van de schimmel in het eindproduct. Ook worden op enkele bedrijven de jonge planten van het originele opkweekmedium gescheiden. De felamen worden schoon gemaakt alvorens ze te planten in de bekende doorzichtige pot met een vers barkmedium. Planten die visueel niet in orde zijn of die verdacht worden van de aanwezigheid van *Leucocoprinus birnbaumii* worden niet geplant en vernietigd. Het planten van de jonge planten gebeurt in een andere (fysiek gescheiden) ruimte. Incidenteel worden gewasbeschermingsmiddelen gebruikt. Aantastingen in de teelt worden direct verwijderd. Planten worden daarbij weggegooid en tafels ontsmet.

Buiten dit project is, in opdracht van de stichting RHP, in de achterliggende periode een toets ontwikkeld waarmee *Leucocoprinus* in uiteenlopende substraten met behulp van DNA technieken kan worden gedetecteerd. Deze ontwikkelde analyse methode kan in de praktijk, maar ook bij vervolgonderzoek, bijdragen aan het detecteren en traceren van de schimmel in bark, ook als er visueel geen groei waarneembaar is. De analysemethode is door Groen Agro Control ontwikkeld.

Op basis van de middelentoets kan worden gezegd dat de schimmel direct beïnvloed wordt door gewasbeschermingsmiddelen. Middelen uit de groep van strobilurinen laten goede effecten zien tegen de groei van *Leucocoprinus* op petrischaal niveau. Vooral Ortiva (azoxystrobine) lijkt goede mogelijkheden te bezitten om de uitgroei van de schimmel te beperken. Echter het experiment op teeltsubstraat heeft onvoldoende opgeleverd om de conclusie door te trekken naar praktijkomstandigheden. Daarom is het nog niet aan te raden de strobilurinen veelvuldig en zonder visie in te zetten tegen *Leucocoprinus birnbaumii*. De producenten van strobilurinen geven aan dat de stof gevoelig is voor resistentieopbouw door schimmels. De oorsprong van dit product ligt bij de Bittere Dennekegelzwam (*Strobilurus tenacellus*). Daar waar deze zeldzame paddenstoel groeit, krijgen andere schimmels geen kans. Van het natuurlijke product met schimmelwerende eigenschappen dat rond 1980 uit deze paddenstoelen is geëxtraheerd is een UV resistente variant gemaakt. De werkzame stoffen uit deze groep van fungiciden blokkeren de cel processen van andere schimmels. (Barlett *et al.* 2001)

De schimmels lijken op basis van de pilot(kweek)experimenten en de inventarisatie in de praktijk voornamelijk te worden beïnvloed door licht en vocht. Ook in de literatuur zijn aanwijzingen gevonden dat schimmels uit de groep van de Basidiomyceten gevoelig zijn voor licht, vocht, C/N ratio's in het medium bij de formatie van vruchtlichamen. Er zijn aanwijzingen in de richting van licht als de primaire factor voor de inductie van primordia. Fotoreceptor pigmenten hebben bij deze schimmels een triggerende rol voor de aanmaak van primordia. De kleur of golflengte van het licht lijkt daarbij van belang. (Kitano et al., 1972, Kues, 2000)

Ook vocht lijkt bij te dragen aan de ontwikkeling van primordia. De in dit project uitgevoerde experimenten wijzen in die richting. Echter de resultaten uit de eerder genoemde experimenten spreken elkaar tegen en ook geluiden uit de praktijk zijn niet altijd eenduidig. Zo komen *Leucocoprinus* soorten voor bij succulenten die over het algemeen zeer droog worden opgekweekt. Mogelijk dat een combinatie van factoren, zoals watergift én licht, uiteindelijk bepaald of de formatie van primordia en paddenstoelen plaats vindt.

In dit project is kennis vergaard die waardevol is, maar nog niet direct toepasbaar is voor de praktijk. Aanwijzingen zijn er dat gewasbeschermingsmiddelen en preventieve werking kunnen hebben op de groei en de ontwikkeling van *Leucocoprinus birnbaumii*. Deze informatie dient bevestigd te worden in de praktijk. Ook zijn er aanleidingen om te veronderstellen dat de schimmel met behulp van cultuurmaatregelen onderdrukt kan worden gedurende de teelt. De uitkomsten, hypothesen en ervaringen uit dit project vragen om een vervolg.

## 6 Literatuur

Babos M., 1980.

Studies on Hungarian *Lepiota* s. l. Species. Ann. Hist.-nat Mus. Nat. Hung. 72, 1980. P.81-90.

Barlett D.W., Clough J.M., Godfrey C.R.A., Godwin J.R., Hall A.A., Heaney S.P. & Maund S.J., 2001.

Understanding The Strobilurin Fungicides. Pesticide Outlook, p. 143-148.

Bartsch A., Bross M., Spiteller P., Spiteller M. & Steglich W., 2005.

Birnbaumin A and B: Two Unusual 1-Hydroxyindole Pigment from the "Flower Pot Parasol" *Leucocoprinus birnbaumii*. Angewandte Chemie, 44, 2957-2959.

Ellis R.J., Bragdon G.A. & Schlosser B.J., 1999.

Properties of the blue light requirements for primordia initiation and basidiocarp maturation in *Coprinus stercorarius*. Mycol. Res. 103(6): 779-784.

Kitamoto Y., Suzuki A. & Furukawa S., 1972.

An Action Spectrum for Light-induced Primordium Formation in a Basidiomycete, *Favolus arcularius* (FR) AMES. Plant Physiol. (1972) 49, 338-340.

Kuës U., 2000.

Life History and Developmental Processes in the Basidiomycete *Coprinus cinereus*. Microbiology and Molecular Biology Reviews, June 2000, p. 316–353.

Sheridan W.L., 1956.

Note on the Ecology of *Lepiota lutea*. Ecology, Vol. 37 (3), p. 602-603.

Vellinga E.C., 2001.

Leucocoprinus, Flora Agaricina Neerlandica. Volume 5. *Agaricaceae*. p. 76-84.

Vellinga E.C., 2003.

Phylogeny of *Lepiota* (*Agaricaceae*) – Evidence from nrITS and nrLSU sequences. Mycological Progress 2 (4): 305-322.

Vellinga E.C., 2004.

Ecology and distribution of *Lepiotaceous* Fungi (*Agaricaceae*); A Review. Nova Hedwigia 78, 3-4, p. 273-299.

Volk T., 1992.

[http://botit.botany.wisc.edu/toms\\_fungi](http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi)

<http://www.hiddenforest.co.nz>

<http://www.latvijasdaba.lv>

<http://www.mushroomexpert.com>











