

UVC-licht tegen pathogene schimmels van de champignon

Proof of principle

In opdracht van en gefinancierd door
Productschap Tuinbouw
Postbus 280
2700 AG Zoetermeer

Uitgevoerd door
Onderzoek DLV Plant
Jos Amsing
Leontiene van Genuchten
Postbus 7001
6700 CA Wageningen

Projectnummer

PT- Projectnummer: 13749

DLV Plant
Postbus 7001
6700 CA Wageningen

Agro Business Park 65
6708 PV Wageningen

T 0317 491 578
F 0317 460 400
E info@dlvplant.nl

www.dlvplant.nl

Dit document is auteursrechtelijk beschermd. Niets uit deze uitgave mag derhalve worden veelevoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch door fotokopieën, opnamen of op enige andere wijze, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van DLV Plant. De merkrechten op de benaming DLV komen toe aan DLV Plant B.V.. Alle rechten dienaangaande worden voorbehouden. DLV Plant B.V. is niet aansprakelijk voor schade bij toepassing of gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Inhoudsopgave

Samenvatting	3
1 Inleiding en doel	4
2 Materiaal en methode	5
2.1 Proefopzet	5
2.2 Protocol sporen	6
2.3 Protocol UV	6
2.4 Waarnemingen	7
2.5 Verwerking	7
3 Resultaten	8
3.1 Droge mol (<i>Verticillium fungicola</i> var. <i>fungicola</i>)	8
3.2 Natte mol (<i>Mycogone perniciosa</i>)	9
2.3 Spinnewebsschimmel (<i>Cladobotryum dendroides</i>)	10
2.4 Groene schimmel (<i>Trichoderma aggressivum</i>)	11
4 Conclusies en aanbevelingen	12
4.1 Discussie	12
4.2 Aanbevelingen	13
Literatuurlijst	14
Bijlage 1. Droge mol. Effect UVc.	15
Bijlage 2. Natte mol. Effect UVc.	16
Bijlage 3. Spinnewebsschimmel. Effect UVc.	17
Bijlage 4. Groene schimmel. Effect UVc.	18
Bijlage 5. Controle-schaaltjes	19

Samenvatting

De sector heeft de ambitie om een middelenvrije champignonteelt te realiseren. Er zijn 4 schimmels die, als er eenmaal een infectie in een teelt van champignons is ontstaan, met andere methoden dan het toepassen van gewasbeschermingsmiddelen bestreden moeten gaan worden.

In opdracht van Productschap Tuinbouw, is door DLV Plant onderzocht of UVc-licht een perspectiefvolle methode is. Onder laboratorium omstandigheden is van in de champignonteelt relevante schimmels bepaald of doding van sporen, geïnfecteerd op een petrischaaltje, door middel van UVc-licht mogelijk is.

Sporen van 4 schimmels, *Verticillium fungicola* var. *fungicola* (droge mol), *Mycogone perniciosus* (natte mol), *Cladobotryum dendroïde* (Spinnewebschimmel) en *Trichoderma aggressivum* (groene schimmel) zijn in suspensie gebracht en gegoten op petrischaaltjes. Onder laboratorium omstandigheden zijn deze schaaltes met 10 verschillende intensiteiten UVc-licht belicht uiteenlopend van 0 tot 300 mJ/cm² en is de mate van afdoding vastgesteld op 4, 10 en 28 dagen na de behandeling.

Uit dit onderzoek blijkt dat sporen van de onderzochte pathogene schimmels met UVc licht in een betrekkelijk lage dosering zijn afgedood. Dit geldt vooral voor sporen van *Mycogone perniciosus* (natte mol). Met 25 mJ/cm² zijn alle sporen van deze schimmel vernietigd.

Ook de sporen van *Verticillium fungicola* var. *fungicola* (droge mol) blijken met 25 mJ/cm² na 4 dagen kweek in een stoof afgedood. Maar na 10 dagen kweek blijkt toch nog in één van de vier herhalingen 6% van de sporen te zijn gekiemd. Na 28 dagen kweek is hierin geen verandering gekomen. Er is dus een dubbele dosering nodig van 50 mJ/cm² om 100% vernietiging van sporen te verkrijgen.

Sporen van *Cladobotryum dendroïde* (Spinnewebschimmel) moeten met 70 mJ/cm² belicht worden om garantie te hebben voor een 100% vernietiging.

Trichoderma aggressivum (groene schimmel) produceert de meest hardnekkige sporen van de in dit onderzoek betrokken pathogene schimmels. Er is een dosis van 100 mJ/cm² nodig om de sporen gedurende een teelt van champignons niet meer te laten kiemen. Bekend is dat voor bestrijding van donker gekleurde sporen over het algemeen een hogere UV dosis vereist is (Heijne *et al.* 2008). Mogelijk speelt dat bij de donkergroen gekleurde sporen van de groene schimmel ook een rol.

Doordat UVc-licht perspectief biedt om sporen van schimmels, die in de teelt van champignons veel schade veroorzaken, is het aan te bevelen deze methode verder te ontwikkelen voor toepassing op praktijkbedrijven.

1 Inleiding en doel

De ambities verwoord in het Masterplan gewasbescherming liegen er niet om: een middelen-vrije paddenstoelenteelt. Niet alleen uit oogpunt van voedselveiligheid, maar ook door een afnemende beschikbaarheid aan goed werkende middelen, zal de sector andere wegen moeten bewandelen om te komen tot een middelen-vrije teelt.

De ontwikkeling van schimmelziektes in de teelt van champignons is verontrustend. Door zowel droge en natte mol, als door spinnewebsschimmel ontstaan op sommige bedrijven grote problemen. Droge en natte mol maar ook spinnewebsschimmel zijn zeer besmettelijk. Groene schimmel duidt op onvoldoende selectieve compost. Met name door *Trichoderma aggressivum*, voorheen *T. harzianum* biotype 4 genoemd (Baars *et al* 2007), is de laatste jaren veel productieverlies in de teelt van champignons ontstaan.

Het kleiner worden van het chemisch middelenpakket tegen insecten en schimmels vormt een bedreiging voor de champignonsector. Ook voor ontsmetting van lege teeltruimtes en machines zal naar verwachting formaline binnen enkele jaren niet meer mogen worden toegepast. Het is niet te verwachten dat er op korte termijn methodieken zoals plantenextracten en kiemingsremmers van schimmels in de champignonteelt kunnen worden ingezet. Het is daarom van groot belang om naar duurzame bestrijdingsmethodes te zoeken die eenvoudig en dus snel kunnen worden toegepast.

Een bewezen werkend alternatief is de toepassing van UVC-licht als bestrijder van pathogenen als bacteriën, schimmels (beginnend mycelium) en schimmelsporen. Het wordt momenteel industrieel toegepast voor ontsmetting van ruimtes (ziekenhuizen e.d.) en bijvoorbeeld water in de glastuinbouw. Daarnaast is bewezen dat UVC plantpathogene schimmels en bacteriën kan afdoden, terwijl infectiehaarden door toepassing van UVC onderdrukt kunnen worden. De vraag is echter: kan deze methode praktisch worden toegepast in de paddenstoelenteelt en werkt het dan ook waarvoor het is bedoeld, namelijk het verlagen c.q. minimaliseren van de infectiedruk van schimmels in de teelt?

De werking berust op het feit dat deze organismen geen natuurlijke afweer hebben, of kunnen krijgen, tegen UVC-licht. UVC wordt door ozon in de dampkring gefilterd, dus het komt niet op aarde terecht. Omdat het licht betreft, zullen effecten alleen te zien zijn op het oppervlak dat wordt geraakt door het licht. Uit onderzoek van Philips Lighting blijkt dat pathogenen worden afgedood, afhankelijk van de dosering aan UVC-licht. Dosering is lichtsterkte (watt) en tijdsduur van de belichting op een oppervlak (J/cm^2). Beginnend mycelium wordt al afgedood met $6 \text{ mJ}/\text{cm}^2$, sporen van schimmels worden afgedood bij $100 \text{ mJ}/\text{cm}^2$. Zaak is om dus de juiste dosering op de pathogenen te krijgen, voor elke soort is dit bovendien anders.

Gekozen is voor een onderzoek waarin wordt vastgesteld bij welke dosering UVC-licht sporen worden afgedood. Dit zijn sporen van de vier hardnekkigste concurrentschimmels in de teelt van champignons. Het effect van UVC op mycelium van deze schimmels wordt niet onderzocht, omdat toepassing in de praktijk op teeltbedden niet of beperkt mogelijk is, vanwege het feit dat UVC ook champignonmycelium en knoppen afdoodt. Het onderzoek vindt plaats in het laboratorium. Onderzoek in de praktijk kan in een volgende fase plaatsvinden, mits de proof of principle aantoonbaar is dat UVC een perspectiefvolle fysische techniek is om pathogene schimmels te bestrijden.

2 Materiaal en methode

2.1 Proefopzet

Er zijn sporen van 4 schimmels die in de teelt van champignons tot ernstige aantasting kunnen leiden, in suspensie gebracht en gegoten op petrischaaltjes met een doorsnee van 8,5 cm en deksels met nok. Deze schaaltes zijn met 10 verschillende intensiteiten UVc belicht. Per schimmelsoort zijn 4 schaaltes (herhalingen) per UV-intensiteit gebruikt. Zie tabel 1. De behandeling met UVc-licht is uitgevoerd in week 30 en de laatste beoordeling is uitgevoerd in week 34.

Met uitzondering van Spinnewebsschimmel is dit experiment éénmaal uitgevoerd.

Tabel 1. Proeffactoren met bijbehorende niveaus

Proeffactor	Aantal niveaus	beschrijving
Schimmel	4	Droge mol (<i>Verticillium fungicola</i> var. <i>fungicola</i>)
		Natte mol (<i>Mycogone perniciosa</i>)
		Spinnewebsschimmel (<i>Cladobotryum dendroides</i>)
		Groene schimmel (<i>Trichoderma aggressivum</i>)
Dosering	11	0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300 mJ/cm ²
Herhalingen	4	

Omdat tijdens de waarnemingen van de effecten geconstateerd is dat er geen sporen van de Spinnewebsschimmel op de schaaltes aanwezig waren, is van deze schimmel opnieuw een opweek gemaakt, is nogmaals een sporensuspensie gemaakt, zijn er platen gegoten en voorzien van deze sporen. Wederom zijn 10 verschillende intensiteiten UVc licht toegepast en is het effect daarvan op de kieming vastgelegd. Omdat de resultaten van de overige drie schimmels aangaven dat de sporen reeds bij een lage dosering afgedood werden, is voor Spinnewebsschimmel gekozen voor meer stappen in het lage doseringstraject. Zie tabel 2. Aldus kan nog nauwkeuriger vastgesteld worden bij welke lichtintensiteit de sporen afgedood zijn. De tweede reeks met Spinnewebsschimmel is uitgevoerd in week 38 en de laatste beoordeling is uitgevoerd in week 42.

Tabel 2. Proeffactoren met bijbehorende niveaus voor Spinnewebsschimmel

Proeffactor	Aantal niveaus	beschrijving
Schimmel	1	Spinnewebsschimmel (<i>Cladobotryum dendroides</i>)
Dosering	11	0, 10, 20, 35, 50, 70, 90, 100, 150, 200, 300 mJ/cm ²
Herhalingen	4	

2.2 Protocol sporen

PRI Paddenstoelen beschikt over de collectie van de te onderzoeken schimmels. Van elke schimmelsoort heeft PRI Paddenstoelen een sporensuspensie gemaakt. Het aantal sporen is vastgesteld m.b.v een sporentelkamer (Bürker-Brightline). Tellingen van de sporen van de Spinnewebschimmel zijn gebaseerd op tweecellige conidiosporen. Vervolgens is de sporensuspensie uitverdund tot ongeveer 10^2 per petrischaal, waardoor de status van afzonderlijke sporen met een bi-oculair goed vastgesteld kan worden. Zie tabel 3.

Omdat er 10 doseringen UVc en een controle in 4-voud moesten worden uitgevoerd, zijn per schimmelsoort 44 petrischaaltjes gegoten. Type voedingsbodempotato dectrose agar (PDA); 20 ml voedingsbodemp per schaaljtje; 1 ml sporensuspensie per schaaljtje. Voor elke schimmelsoort zijn de schaaljtjes gereed gemaakt en meteen daarna met UVc behandeld zodat de sporen niet zijn gekiemd.

Na de belichting zijn de schaaljtjes in het donker geïncubeerd in een kweekstoof geplaatst bij 23°C en is het effect vastgelegd op 4 dagen, 10 dagen en 4 weken na de belichting.

Tabel 3. Aantal sporen in suspensie en in petrischaal voor behandeling met UVc

Schimmel	Aantal getelde sporen in de suspensie per ml	Aantal met UV-c behandelde sporen per petrischaal
Droge mol (<i>Verticillium fungicola</i> var. <i>fungicola</i>)	$1,70 \times 10^6$	106
Natte mol (<i>Mycogone perniciososa</i>)	$9,00 \times 10^3$	172
Spinneweb (<i>Cladobotryum dendroïde</i>)	$0,87 \times 10^3$	157
Groene schimmel (<i>Trichoderma aggressivum</i>)	$7,68 \times 10^7$	101

2.3 Protocol UV

Voor dit project heeft Vegatech in samenwerking met BioClimatic een UV-lamp, type TLD TUV 36W van Philips, in een armatuur geconstrueerd. Zie figuur 1. De lamp kan op verschillende hoogten gemonteerd worden. De kast bestaat uit geanodiseerd aluminium, heeft goede reflectie-eigenschappen voor de lamp en is goed te reinigen. Met een UV-sensor, type PCE UV36, is de intensiteit over de lengte van de UV-buis gemeten. Om een werkbare tijdreeks te verkrijgen is de UV-lamp op een vaste hoogte van 9 cm boven de petrischalen gemonteerd. In de belichtingskast bevinden zich twee schuiflades. Met de bovenste schuiflade wordt de belichting van de petrischaaltjes gestart en gestopt. In de onderste schuiflade bevinden zich uitsparingen waarin petrischaaltjes geplaatst worden. In deze rij is een extra uitsparing gemaakt voor de UV-sensor zodat tijdens de belichting de intensiteit gecontroleerd kan worden. Zie figuur 2.

Het geheel is na reiniging met een ontsmettingsmiddel in een flowkast geplaatst van PRI Paddenstoelen van het merk Clean Air. Zie figuur 1.

Vóór de eigenlijke behandeling van de sporen is de UV-lamp een uur aangezet zodat onder schone omstandigheden is gewerkt. De flowkast staat tijdens de belichting van de sporen ingeschakeld waardoor vanuit het laboratorium besmetting is voorkomen. Met een UV-meter is de lichtintensiteit gemeten. Om de geplande UV-doseringen te realiseren is hieruit de tijdreeks berekend volgens de formule:

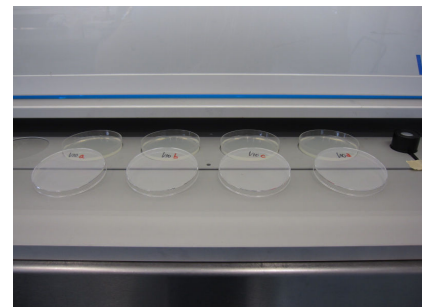
$$\text{belichtingstijd (seconden)} = \text{gewenste dosering (mJ/cm}^2\text{)} / \text{lichtintensiteit (mW/cm}^2\text{)}.$$

Per schimmel zijn aan het begin, halverwege en aan het eind van de belichting controlebehandelingen uitgevoerd. Dit betreft per keer 2 schaaltes met DPA, maar zonder sporen. Deze schaaltes zijn samen met de belichte schaaltes in een stoof gezet, zodat gecontroleerd is of zich een verontreiniging tijdens de belichting heeft voorgedaan.

Tijdens de belichting zijn de deksels eraf. In het laboratorium is de temperatuur tijdens de werkzaamheden 22°C tot 24°C en de relatieve luchtvochtigheid 62%.



Figuur 1. UV-belichtingsarmatuur in flowkast.



Figuur 2. Belichting zonder deksels en UV-sensor (rechts).

2.4 Waarnemingen

4 dagen, 10 dagen en 4 weken na de behandeling zijn de schaaltes gecontroleerd. Het aantal ontkiemde sporen, met het blote oog zichtbaar, is geteld en er is een inschatting gemaakt van het oppervlak van de afzonderlijke schimmelkolonies. Met een microscoop is vastgesteld of het om de schimmel gaat waarvan de sporen zijn aangebracht. Verder is gelet op bijzonderheden zoals kleur van de kolonies en infecties.

2.5 Verwerking

De behandelingseffecten zijn met behulp van variantie-analyse getoetst. Hierbij is gebruik gemaakt van het statistische programma ARM (Agricultural Research Manager). Er is getoetst met een onbetrouwbaarheid van 5% ($P \leq 0,05$).

3 Resultaten

In dit hoofdstuk zullen per schimmel de belangrijkste uitkomsten worden besproken. In bijlage 1 tot en met 4 zijn per schimmel de volledige resultaten weergegeven. Bijlage 5 geeft een overzicht van de controle schaaltes. Hierop waren geen sporen aangebracht.

3.1 Droge mol (*Verticillium fungicola* var. *fungicola*)

Op elk schaalte zijn gemiddeld 106 sporen aangebracht. Van de onbelichte behandeling zijn na vier dagen in een kweekstoof hiervan 24 tot 39 sporen uitgegroeid. Zie tabel 4. Dit is gemiddeld 29% van het aantal aangebrachte sporen. Hierin komt gedurende de weken daarna geen verandering meer in. Het oppervlak van alle kolonies in het schaalte omvat na vier dagen in totaal 3%. Vier weken na de behandeling is gemiddeld 75% van het schaalte oppervlak overwoekerd met ontkiemde sporen van de droge mol.

De laagste UV-dosering, 25 mJ/cm², is onvoldoende om alle sporen van de droge mol af te doden. In één van de vier schaaltes zijn nog 7 sporen (6%) ontkiemd. De volgende in de reeks van toegepaste doseringen, 50 mJ/cm², heeft alle sporen afgedood. Zie figuur 3.

Tabel 4. Effect van UVc-doseringen op sporen van Droge mol

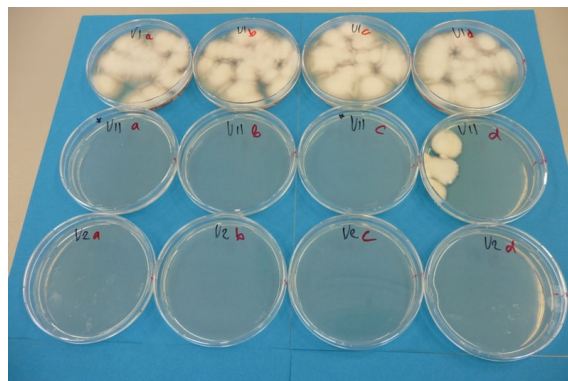
Dag	Dosering mJ/cm ²	Aantal gekiemde sporen				Kolonie-oppervlak %			
		herh a	herh b	herh c	herh d	herh a	herh b	herh c	herh d
4	0	26	39	26	24	2	3	2	2
4	25	0	0	0	0	0	0	0	0
4	50	0	0	0	0	0	0	0	0
4	75	0	0	0	0	0	0	0	0
4	100	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	29	39	26	24	75	80	70	75
10	25	0	0	0	7	0	0	0	2
10	50	0	0	0	0	0	0	0	0
10	75	0	0	0	0	0	0	0	0
10	100	0	0	0	0	0	0	0	0
28	0	29	39	26	24	85	90	90	92
28	25	0	0	0	7	0	0	0	2
28	50	0	0	0	0	0	0	0	0
28	75	0	0	0	0	0	0	0	0
28	100	0	0	0	0	0	0	0	0

Figuur 3. Effect van UVc-doseringen op sporen van Droge mol. Dag 28.

0 mJ/cm²

25 mJ/cm²

50 mJ/cm²



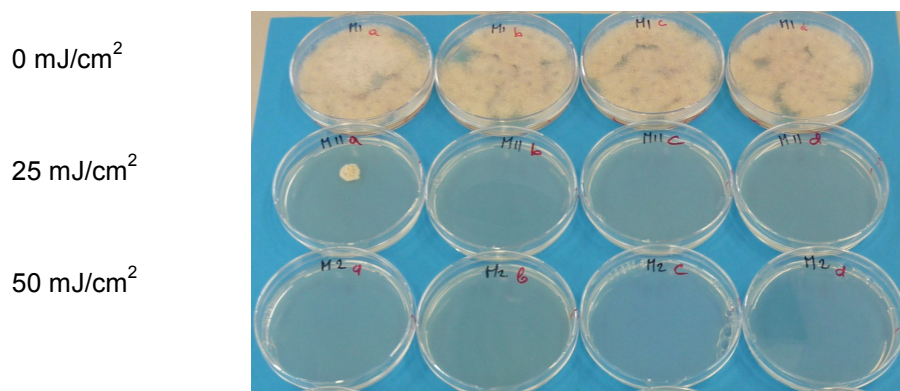
3.2 Natte mol (*Mycogone perniciososa*)

Op elk schaalpje zijn gemiddeld 172 sporen aangebracht. Na vier dagen in een kweekstoof te hebben gestaan zijn bij de onbelichte behandeling hiervan 24 sporen uitgegroeid. Zie tabel 5. Dit is 14% van het aantal aangebrachte sporen. Gedurende een week daarna zijn er in herhaling c nog 3 sporen ontkiemd. Daarna is het stabiel. Schimmel van de natte mol groeit snel. Binnen een week zijn de schaalpjes al voor 80% van het oppervlak volgegroeid. Dat neemt verder toe tot 95%. Zie figuur 4. De laagste UV-dosering, 25 mJ/cm², is voldoende om alle sporen van de natte mol af te doden. Het witte stipje in het schaalpje a bij 25 mJ/cm² is een infectie.

Tabel 5. Effect van UVc-doseringen op sporen van de Natte mol

Dag	Dosering mJ/cm ²	Aantal gekiemde sporen				Kolonie-oppervlak %			
		herh a	herh b	herh c	herh d	herh a	herh b	herh c	herh d
4	0	23	23	25	24	80	70	85	75
4	25	0	0	0	0	0	0	0	0
4	50	0	0	0	0	0	0	0	0
4	75	0	0	0	0	0	0	0	0
4	100	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	23	23	27	24	95	90	95	95
10	25	0	0	0	0	0	0	0	0
10	50	0	0	0	0	0	0	0	0
10	75	0	0	0	0	0	0	0	0
10	100	0	0	0	0	0	0	0	0
28	0	23	23	27	24	98	95	98	93
28	25	0	0	0	0	0	0	0	0
28	50	0	0	0	0	0	0	0	0
28	75	0	0	0	0	0	0	0	0
28	100	0	0	0	0	0	0	0	0

Figuur 4. Effect van UVc-doseringen op sporen van de Natte mol. Dag 28.



2.3 Spinnewebschimmel (*Cladobotryum dendroides*)

Op elk schaalpje zijn gemiddeld 157 sporen aangebracht. Na een kweek van vier dagen in een stoof zijn hiervan bij de onbelichte behandeling 27 sporen uitgegroeid. Zie tabel 6. Dit is 17% van het aantal aangebrachte sporen. Gedurende een week daarna zijn er in herhaling c nog 2 sporen ontkiemd. Daarna is het stabiel. Mycelium van de Spinnewebschimmel groeit zeer snel. Binnen een week is van de schaalpjes al 90 tot 95% van het oppervlak volgroeid. Na 10 dagen is alles overwoekerd. Zie figuur 5.

Veel sporen gaan met lage doseringen weliswaar ten gronde, maar met 30 mJ/cm² zijn nog altijd 1 tot 3 sporen (4 tot 11%) ontkiemd. Met 50 mJ/cm² nog 1 spore (4%). Pas met 70 mJ/cm² is er garantie op volledige afdoening van de sporen met UVc.

Tabel 6. Effect van UVc-doseringen op sporen van de Spinnewebschimmel

Dag	Dosering mJ/cm ²	Aantal gekiemde sporen				Kolonie-oppervlak %			
		herh a	herh b	herh c	herh d	herh a	herh b	herh c	herh d
4	0	27	26	28	26	95	90	90	95
4	10	6	8	8	9	20	25	30	30
4	20	0	1	1	1	0	0.5	2	1
4	30	3	1	0	1	5	2	0	2
4	50	0	1	0	0	0	0.5	0	0
4	70	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	27	26	30	26	100	100	100	100
10	10	6	8	10	9	100	100	100	100
10	20	0	2	2	3	0	90	100	90
10	30	3	2	0	1	100	100	0	100
10	50	0	1	0	1	0	25	0	80
10	70	0	0	0	0	0	0	0	0
28	0	27	26	30	26	100	100	100	100
28	10	6	8	10	9	100	100	100	100
28	20	1	2	2	3	20	100	100	100
28	30	3	2	0	1	100	100	0	100
28	50	0	1	0	1	0	90	0	80
28	70	0	0	0	0	0	0	0	0

Figuur 5. Effect van UVc-doseringen op sporen van de Spinnewebschimmel. Dag 28.

0 mJ/cm²

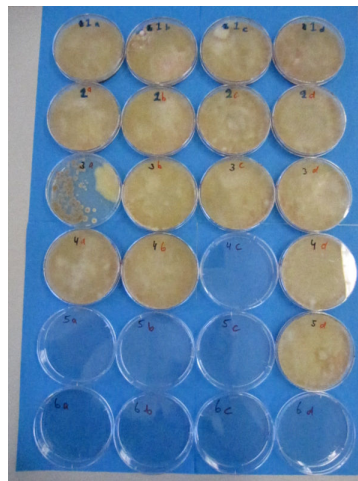
10 mJ/cm²

20 mJ/cm²

30 mJ/cm²

50 mJ/cm²

70 mJ/cm²



2.4 Groene schimmel (*Trichoderma aggressivum*)

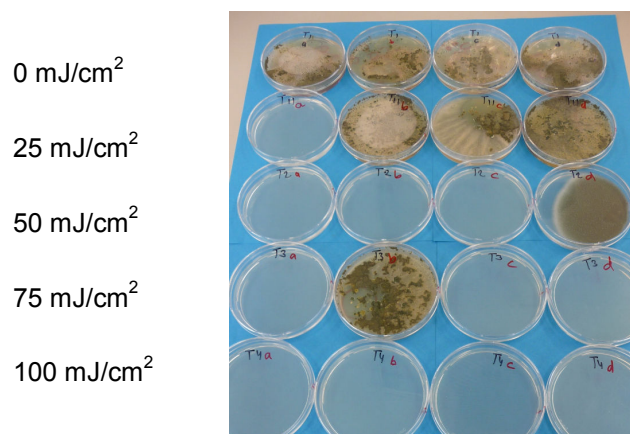
Op elk schaalpje zijn gemiddeld 101 sporen aangebracht. Na een kweek van vier dagen in een stoof zijn hiervan bij de onbelichte behandeling 7 tot 13 sporen uitgegroeid. Zie tabel 7. Dit is 7% tot 13% van het aantal aangebrachte sporen. Gedurende een week daarna is er in herhaling a nog 1 spore ontkiemd. Daarna is het stabiel. Mycelium van deze schimmel groeit snel. Binnen een week is van de schaalpjes al 75% van het oppervlak volgegroeid. Na 10 dagen is alles overwoekerd. Zie figuur 6.

Bij de laagste dosering van 25 mJ/cm² lijkt na 4 dagen alles afgedood. Echter na 10 dagen zijn toch nog enkele sporen ontkiemd, maximaal 12,5% van het aantal aangebrachte sporen. Na 4 weken is het beeld hetzelfde gebleven. Met 50 mJ/cm² is alles vernietigd. In herhaling d zit een infectie. Echter in schaalpje b is met 75 mJ/cm² toch nog één spore ontkiemd. Pas met 100 mJ/cm² is 100% garantie op afdoding van sporen van de *Trichoderma aggressivum* met UVc.

Tabel 7. Effect van UVc-doseringen op sporen van de Groene schimmel

Dag	Dosering mJ/cm ²	Aantal gekiemde sporen				Kolonie-oppervlak %			
		herh a	herh b	herh c	herh d	herh a	herh b	herh c	herh d
4	0	13	8	8	7	80	60	70	90
4	25	0	0	0	0	0	0	0	0
4	50	0	0	0	0	0	0	0	0
4	75	0	1	0	0	0	20	0	0
4	100	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	14	8	8	7	100	100	100	100
10	25	0	1	1	1	0	100	100	100
10	50	0	0	0	0	0	0	0	0
10	75	0	1	0	0	0	100	0	0
10	100	0	0	0	0	0	0	0	0
28	0	14	8	8	7	100	100	100	100
28	25	0	1	1	1	0	100	100	100
28	50	0	0	0	0	0	0	0	0
28	75	0	1	0	0	0	100	0	0
28	100	0	0	0	0	0	0	0	0

Figuur 6. Effect van UVc-doseringen op sporen van de Groene schimmel. Dag 28.



4 Conclusies en aanbevelingen

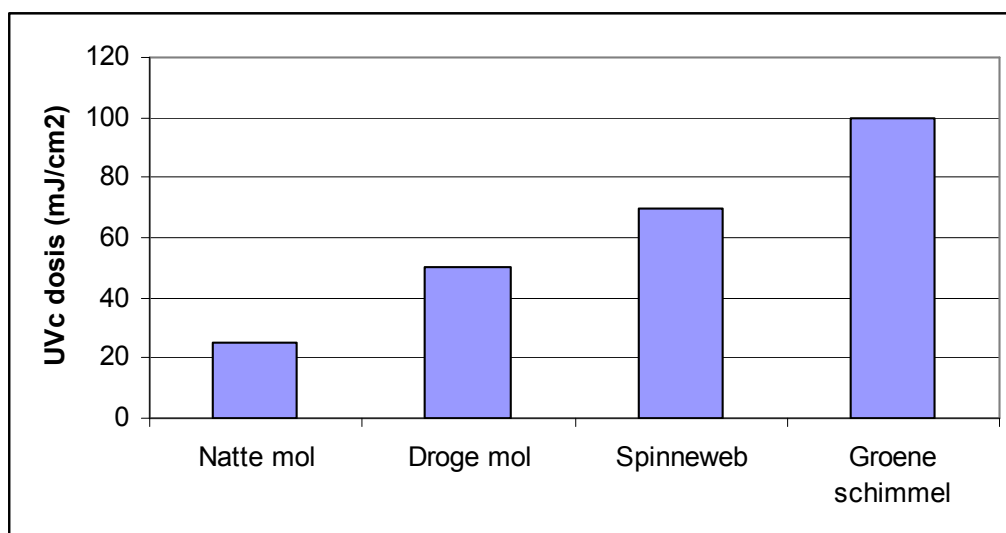
4.1 Discussie

UVc licht biedt perspectief. Uit dit onderzoek blijkt namelijk dat sporen van de onderzochte pathogene schimmels in de teelt van champignons met UVc licht in een betrekkelijk lage dosering zijn afgedood. Dit geldt vooral voor sporen van *Mycogone perniciososa* (natte mol). Met 25 mJ/cm² zijn alle sporen van deze schimmel vernietigd. Zie figuur 7. Gedurende een periode van 4 weken, de duur van een snelle champignonteelt, komt er geen enkele spore tot ontwikkeling.

Ook de sporen van *Verticillium fungicola var. fungicola* (droge mol) blijken met 25 mJ/cm² na 4 dagen kweek in een stoof afgedood. Maar na 10 dagen kweek blijkt toch nog in één van de vier herhalingen 6% van de sporen te zijn gekiemd. Na 28 dagen kweek is hierin geen verandering gekomen. Er is dus een dubbele dosering nodig van 50 mJ/cm² om 100% vernietiging van sporen te verkrijgen.

Sporen van *Cladobotryum dendroïde* (Spinneweb) moeten met 70 mJ/cm² belicht worden om garantie te hebben voor een 100% vernietiging.

Trichoderma aggressivum (groene schimmel) produceert de meest hardnekkige sporen van de in dit onderzoek betrokken pathogene schimmels. Er is een dosis van 100 mJ/cm² noodzakelijk om de sporen gedurende een teelt van champignons niet meer te laten kiemen. Bekend is dat voor bestrijding van donker gekleurde sporen over het algemeen een hogere UV dosis vereist is (Heijne *et al.* 2008). Mogelijk speelt dat bij de donkergroen gekleurde sporen van de groene schimmel ook een rol.



Figuur 7. UVc dosis om sporen van pathogene champignonschimmels 100% af te doden.

4.2 Aanbevelingen

Uit dit onderzoek (fase 1) blijkt dat met UVc-licht sporen van de droge en natte mol en van Spinnewebschimmel onder laboratorium omstandigheden eenvoudig te vernietigen zijn. Voor sporen van de groene schimmel is een hogere dosis UVc-licht vereist.

Insecten en stofdeeltjes zijn belangrijke vectoren voor de sporen. Ook kunnen deze schimmelziektes via de dekaarde (droge en natte mol en Spinnewebschimmel) en compost (groene schimmel) op het bedrijf worden gebracht. Aanbevolen wordt daarom om het vervolgonderzoek (fase 2) vooral te richten op bestrijding van sporen en hyfefragmenten van de droge en natte mol en van Spinnewebschimmel op dekaarde.

Aanbevolen wordt om:

1. het effect vast te stellen van UVc op de ontwikkeling van pathogene schimmels op de dekaarde.
2. het effect vast te stellen van UVc licht opgesteld in het recirculatie-ventilatiekanaal op het infectieniveau in de teeltcel. Doordat lucht met pathogene sporen steeds weer langs de UVc-lamp wordt geleid, zal naar verwachting een volledig schone lucht worden verkregen.

Literatuurlijst

Heijne, B., Wenneker, M., Joosten, N., Anbergen, R., 2008. UV tegen ziekten. Tussenrapportage – “proof of principle” UV-c tegen schurft, meeldauw en bewaarrot. PPO-Fruit, 2008-30, 70p.

Baars, J., Zijlstra, C., 2007. Masterplan gewasbescherming. Naar een gewasbeschermings-systeem en communicatieplan voor de paddestoelensector. PRI, 2007-7.

Bijlage 1. Droge mol. Effect UVc.

Verticillium fungicola var. fungicola

Beh	Dosering	aantal gekiemde (levende) sporen				kolonie-oppervlak			
	mJ/cm2	herh a	herh b	herh c	herh d	herh a	herh b	herh c	herh d
24-jul-09									
V1	0	26	39	26	24	2	3	2	2
V11	25	0	0	0	0	0	0	0	0
V2	50	0	0	0	0	0	0	0	0
V3	75	0	0	0	0	0	0	0	0
V4	100	0	0	0	0	0	0	0	0
V5	125	0	0	0	0	0	0	0	0
V6	150	0	0	0	0	0	0	0	0
V7	175	0	0	0	0	0	0	0	0
V8	200	0	0	0	0	0	0	0	0
V9	250	0	0	0	0	0	0	0	0
V10	300	0	0	0	0	0	0	0	0

30-jul-09									
V1	0	29	39	26	24	75	80	70	75
V11	25	0	0	0	7	0	0	0	2
V2	50	0	0	0	0	0	0	0	0
V3	75	0	0	0	0	0	0	0	0
V4	100	0	0	0	0	0	0	0	0
V5	125	0	0	0	0	0	0	0	0
V6	150	0	0	0	0	0	0	0	0
V7	175	0	0	0	0	0	0	0	0
V8	200	0	0	0	0	0	0	0	0
V9	250	0	0	0	0	0	0	0	0
V10	300	0	0	0	0	0	0	0	0

17-aug-09									
V1	0	29	39	26	24	85	90	90	92
V11	25	0	0	0	7	0	0	0	2
V2	50	0	0	0	0	0	0	0	0
V3	75	0	0	0	0	0	0	0	0
V4	100	0	0	0	0	0	0	0	0
V5	125	0	0	0	0	0	0	0	0
V6	150	0	0	0	0	0	0	0	0
V7	175	0	0	0	0	0	0	0	0
V8	200	0	0	0	0	0	0	0	0
V9	250	0	0	0	0	0	0	0	0
V10	300	0	0	0	0	0	0	0	0

Bijlage 2. Natte mol. Effect UVc.

Mycogone perniciosa

Beh	Dosering	aantal gekiemde (levende) sporen				kolonie-oppervlak %			
	mJ/cm2	herh a	herh b	herh c	herh d	herh a	herh b	herh c	herh d

24-jul-09

M1	0	23	23	25	24	80	70	85	75
M11	25	0	0	0	0	0	0	0	0
M2	50	0	0	0	0	0	0	0	0
M3	75	0	0	0	0	0	0	0	0
M4	100	0	0	0	0	0	0	0	0
M5	125	0	0	0	0	0	0	0	0
M6	150	0	0	0	0	0	0	0	0
M7	175	0	0	0	0	0	0	0	0
M8	200	0	0	0	0	0	0	0	0
M9	250	0	0	0	0	0	0	0	0
M10	300	0	0	0	0	0	0	0	0

30-jul-09

M1	0	23	23	27	24	95	90	95	95
M11	25	0	0	0	0	0	0	0	0
M2	50	0	0	0	0	0	0	0	0
M3	75	0	0	0	0	0	0	0	0
M4	100	0	0	0	0	0	0	0	0
M5	125	0	0	0	0	0	0	0	0
M6	150	0	0	0	0	0	0	0	0
M7	175	0	0	0	0	0	0	0	0
M8	200	0	0	0	0	0	0	0	0
M9	250	0	0	0	0	0	0	0	0
M10	300	0	0	0	0	0	0	0	0

17-aug-09

M1	0	23	23	27	24	98	95	98	93
M11	25	0	0	0	0	0	0	0	0
M2	50	0	0	0	0	0	0	0	0
M3	75	0	0	0	0	0	0	0	0
M4	100	0	0	0	0	0	0	0	0
M5	125	0	0	0	0	0	0	0	0
M6	150	0	0	0	0	0	0	0	0
M7	175	0	0	0	0	0	0	0	0
M8	200	0	0	0	0	0	0	0	0
M9	250	0	0	0	0	0	0	0	0
M10	300	0	0	0	0	0	0	0	0

Bijlage 3. Spinnewebschimmel. Effect UVc.

Cladobotryum (Spinnenweb)

Beh	Dosering mJ/cm2	aantal gekiemde (levende) sporen				kolonie-oppervlak %			
		herh a	herh b	herh c	herh d	herh a	herh b	herh c	herh d
22-sep-09									
C1	0	27	26	28	26	95	90	90	95
C2	10	6	8	8	9	20	25	30	30
C3	20	0	1	1	1	0	0.5	2	1
C4	30	3	1	0	1	5	2	0	2
C5	50	0	1	0	0	0	0.5	0	0
C6	70	0	0	0	0	0	0	0	0
C7	90	0	0	0	0	0	0	0	0
C8	100	0	0	0	0	0	0	0	0
C9	150	0	0	0	0	0	0	0	0
C10	200	0	0	0	0	0	0	0	0
C11	300	0	0	0	0	0	0	0	0

28-sep-09

C1	0	27	26	30	26	100	100	100	100
C2	10	6	8	10	9	100	100	100	100
C3	20	0	2	2	3	0	90	100	90
C4	30	3	2	0	1	100	100	0	100
C5	50	0	1	0	1	0	25	0	80
C6	70	0	0	0	0	0	0	0	0
C7	90	0	0	0	0	0	0	0	0
C8	100	0	0	0	0	0	0	0	0
C9	150	0	0	0	0	0	0	0	0
C10	200	0	0	0	0	0	0	0	0
C11	300	0	0	0	0	0	0	0	0

15-okt-09

C1	0	27	26	30	26	100	100	100	100
C2	10	6	8	10	9	100	100	100	100
C3	20	1	2	2	3	20	100	100	100
C4	30	3	2	0	1	100	100	0	100
C5	50	0	1	0	1	0	90	0	80
C6	70	0	0	0	0	0	0	0	0
C7	90	0	0	0	0	0	0	0	0
C8	100	0	0	0	0	0	0	0	0
C9	150	0	0	0	0	0	0	0	0
C10	200	0	0	0	0	0	0	0	0
C11	300	0	0	0	0	0	0	0	0

Bijlage 4. Groene schimmel. Effect UVc.

Trichoderma aggressivum

Beh	Dosering mJ/cm2	aantal gekiemde (levende) sporen				kolonie-oppervlak %			
		herh a	herh b	herh c	herh d	herh a	herh b	herh c	herh d
24-jul-09									
T1	0	13	8	8	7	80	60	70	90
T11	25	0	0	0	0	0	0	0	0
T2	50	0	0	0	0	0	0	0	0
T3	75	0	1	0	0	0	20	0	0
T4	100	0	0	0	0	0	0	0	0
T5	125	0	0	0	0	0	0	0	0
T6	150	0	0	0	0	0	0	0	0
T7	175	0	0	0	0	0	0	0	0
T8	200	0	0	0	0	0	0	0	0
T9	250	0	0	0	0	0	0	0	0
T10	300	0	0	0	0	0	0	0	0

30-jul-09

T1	0	14	8	8	7	100	100	100	100
T11	25	0	1	1	1	0	100	100	100
T2	50	0	0	0	0	0	0	0	0
T3	75	0	1	0	0	0	100	0	0
T4	100	0	0	0	0	0	0	0	0
T5	125	0	0	0	0	0	0	0	0
T6	150	0	0	0	0	0	0	0	0
T7	175	0	0	0	0	0	0	0	0
T8	200	0	0	0	0	0	0	0	0
T9	250	0	0	0	0	0	0	0	0
T10	300	0	0	0	0	0	0	0	0

17-aug-09

T1	0	14	8	8	7	100	100	100	100
T11	25	0	1	1	1	0	100	100	100
T2	50	0	0	0	0	0	0	0	0
T3	75	0	1	0	0	0	100	0	0
T4	100	0	0	0	0	0	0	0	0
T5	125	0	0	0	0	0	0	0	0
T6	150	0	0	0	0	0	0	0	0
T7	175	0	0	0	0	0	0	0	0
T8	200	0	0	0	0	0	0	0	0
T9	250	0	0	0	0	0	0	0	0
T10	300	0	0	0	0	0	0	0	0

Bijlage 5. Controle-schaaltjes

Code	Tijdstip	Dosering	aantal kolonies	kolonie doorsnee (mm)	Opmerking
------	----------	----------	-----------------	-----------------------	-----------

Serie 1

24-jul-09

B1	start	0	0		
B2	start	0	0		
B3	half	0	0		
B4	half	0	0		
B5	einde	0	1	1 - 2	bacterie
B6	einde	0	0		

30-jul-09

B1	start	0	0		
B2	start	0	0		
B3	half	0	0		
B4	half	0	0		
B5	einde	0	1	1 - 2	bacterie
B6	einde	0	0		

17-aug-09

B1	start	0	0		
B2	start	0	0		
B3	half	0	0		
B4	half	0	0		
B5	einde	0	1	3	bacterie
B6	einde	0	0		

Serie 2

22-sep-09

B1	start	0	0		
B2	start	0	0		
B3	half	0	0		
B4	half	0	0		
B5	einde	0	0		
B6	einde	0	0		

28-sep-09

B1	start	0	0		
B2	start	0	0		
B3	half	0	0		
B4	half	0	0		
B5	einde	0	0		
B6	einde	0	0		

15-okt-09

B1	start	0	0		
B2	start	0	0		
B3	half	0	10	20	Pennicilliumsoort
B4	half	0	0		
B5	einde	0	0		
B6	einde	0	0		