



## Geïntegreerde beheersing van ziekten en plagen in teelten van kroosvaren (*Azolla*)

Beniers, J.E. (Annelies), Elderson, J. (Janneke) en van der Werf, A. K. (Adrie)





---

# Geïntegreerde beheersing van ziekten en plagen in teelten van kroosvaren (*Azolla*)

Beniers, J.E. (Annelies), Elderson, J. (Janneke) en van der Werf, A. K. (Adrie)

Wageningen University & Research

Dit onderzoek is gefinancierd door NWO-domein Toegepaste en Technische Wetenschappen (TTW), Landschap Noord-Holland, Water, Land en Dijken en STOWA.

Dit onderzoek is uitgevoerd door de Stichting Wageningen Research (WR), Business unit Agrosysteemkunde in opdracht van TTW project AzoPro in samenwerking met Radboud Universiteit, Universiteit Utrecht en Onderzoekcentrum B-WARE, in het kader van sleutelprocessen voor *Azolla*-teelt (NWO-TTW-project AZOPRO); *Azolla* farming on rewetted agricultural lands: a novel application combining phosphorus mining with the development of high-grade Products.

WR is een onderdeel van Wageningen University & Research, samenwerkingsverband tussen Wageningen University en de Stichting Wageningen Research.

Wageningen, oktober 2023

---

Rapport WPR-1270



---

Beniers, J.E., Elderson, J. en van der Werf, A. K. 2023. *Geïntegreerde beheersing van ziekten en plagen in teelten van kroosvaren (Azolla)*. Wageningen , Rapport WPR-1270.

Dit rapport is gratis te downloaden op <https://doi.org/10.18174/634284>

Dit rapport geeft een overzicht van de geïntegreerde bestrijding van verschillende plagen in kroosvaren (*Azolla*) volgens IPM regels. Naast literatuuronderzoek en deskstudie zijn de resultaten gepresenteerd van WUR-experimenten op *Lemna*. Deze plagen (waterleliebladluis en kroosmot) komen ook voor op *Azolla*.

Trefwoorden: biologische bestrijding, plaagbeheersing, schadedrempels, watercultures, waterleliebladluis, *Rhopalosiphum nymphaeae*, Azollakever, *Stenopelmus rufinasus*, Kroosmot, *Cataclysta lemnata*, micro-organismes, *Pythium*

Contactpersoon Wageningen University & Research: Annelies Beniers – [annelies.beniers@wur.nl](mailto:annelies.beniers@wur.nl)  
Contactpersoon AZOPRO: Bas van de Riet - [b.vanderiet@b-ware.eu](mailto:b.vanderiet@b-ware.eu)

© 2023 Wageningen, Stichting Wageningen Research, Wageningen Plant Research (WPR), Business Unit Agrosysteemkunde, Postbus 16, 6700 AA Wageningen; T 0317 48 07 00;  
[www.wur.nl/plant-research](http://www.wur.nl/plant-research)

KvK: 09098104 te Arnhem  
VAT NL no. 8113.83.696.B07

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

Stichting Wageningen Research is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Rapport WPR-1270

Afbeelding voorkant *Stenopelmus rufinasus*, volwassen Azollakever op *Azolla* foto: Rob Reeder©, CABI



---

# Inhoud

<b>Inhoud</b>	<b>4</b>
<b>Samenvatting</b>	<b>6</b>
<b>1 Inleiding</b>	<b>8</b>
1.1 Ziekten en plagen in kroosvaren ( <i>Azolla</i> )	8
1.2 Geïntegreerde gewasbescherming (IPM)	9
1.3 Doelstellingen en aanpak	9
<b>2 Plaaginsecten in kroosvaren</b>	<b>11</b>
2.1 Waterleliebladluis, waterlily aphid, reddish-brown plum aphid: <i>Rhopalosiphum nymphaeae</i> (Linnaeus, 1761) - een plaaginsect in o.a. <i>Lemna</i> en <i>Azolla</i>	11
2.2 Azollakever (Kroosvarensnuittorretje), <i>Azolla</i> weevil: <i>Stenopelmus rufinasus</i> Gyllenhal, 1835 -een plaaginsect van kroosvaren ( <i>Azolla</i> )	14
2.3 Kroosmot, kroosvlinder, Small China-mark Moth: <i>Cataclysta lemnata</i> (Linnaeus, 1758)(Lepidoptera)- een plaaginsect van <i>Lemna</i> en <i>Azolla</i>	15
2.4 Overige insecten die op kroosvaren ( <i>Azolla</i> ) kunnen voorkomen	16
<b>3 Potentieel schadelijke micro-organismen in kroosvaren</b>	<b>17</b>
3.1 Micro-organismen in kroosvaren ( <i>Azolla</i> )	17
3.1.1 Bacteriën in kroosvaren ( <i>Azolla</i> )	17
3.1.2 Schimmels en oömyceten in kroosvaren ( <i>Azolla</i> )	17
3.1.3 Bestrijding schimmels in <i>Azolla</i> -teelt	18
<b>4 Geïntegreerde gewasbescherming</b>	<b>21</b>
4.1 IPM van waterleliebladluis, <i>Rhopalosiphum nymphaeae</i>	21
4.1.1 preventie en onderdrukking	21
4.1.2 monitoren	22
4.1.3 besluitvorming, drempelwaardes	22
4.1.4 biologische, mechanische en andere niet-chemische bestrijding	23
4.1.5 IPM-Principe 5 t/m 8	26
4.1.6 IPM-Principe 6 Pesticiden (chemische bestrijding)	26
4.2 IPM van Azollakever, <i>Stenopelmus rufinasus</i>	27
4.2.1 preventie en onderdrukking	27
4.2.2 monitoren	27
4.2.3 besluitvorming, drempelwaardes	27
4.2.4 biologische, mechanische en andere niet-chemische bestrijding	28
4.2.5 IPM-Principe 5 t/m 8	29
4.2.6 IPM-Principe 6 Pesticiden (chemische bestrijding)	29
4.3 IPM van Kroosmot/vlinder, <i>Cataclysta lemnata</i>	30
4.3.1 preventie en onderdrukking	30
4.3.2 monitoren	30
4.3.3 besluitvorming, drempelwaardes	31
4.3.4 biologische, mechanische en andere niet-chemische bestrijding	31
4.3.5 IPM-Principe 5 t/m 8	32
4.3.6 IPM-Principe 6 Pesticiden (chemische bestrijding)	32

<b>5</b>	<b>Experimenten Wageningen University &amp; Research (WUR)</b>	<b>33</b>
5.1	Experiment: Biologische bestrijding van <i>Rhopalosiphum nymphaeae</i> (waterleliebladluis) op <i>Lemna</i> met twee parasitoïden <i>Aphidius colimani</i> en <i>Aphidius matricariae</i>	33
5.1.1	Doel geïntegreerde gewasbescherming	33
5.1.2	Uitgangsmateriaal	33
5.1.3	Materiaal en Methode	34
5.1.4	Resultaten	35
5.1.5	Discussie en Conclusies	35
5.2	Experiment: Biologische bestrijding van <i>Rhopalosiphum nymphaeae</i> (waterleliebladluis) op <i>Lemna</i> met Raptol	36
5.2.1	Doel geïntegreerde gewasbescherming en uitgangsmateriaal	36
5.2.2	Materiaal en Methode	36
5.2.3	Resultaten	36
5.2.4	Discussie en Conclusies	37
5.3	Experiment: Biologische bestrijding van <i>Rhopalosiphum nymphaeae</i> (waterleliebladluis) op <i>Lemna</i> met LuisVrij	38
5.3.1	Doel geïntegreerde gewasbescherming en uitgangsmateriaal	38
5.3.2	Materiaal en Methode	38
5.3.3	Resultaten	38
5.3.4	Discussie en Conclusies	39
5.4	Experiment: Biologische bestrijding van de rupsen van de kroosmot <i>C. lemnata</i> met <i>Bacillus thuringiensis</i>	40
5.4.1	Doel geïntegreerde gewasbescherming	40
5.4.2	Uitgangsmateriaal	40
5.4.3	Materiaal en Methode	40
5.4.4	Resultaten	41
5.4.5	Discussie en Conclusies	41
5.5	Experiment: Monitoren van de motten van de kroosmot <i>C. lemnata</i>	42
5.5.1	Doel geïntegreerde gewasbescherming	42
5.5.2	Uitgangsmateriaal	42
5.5.3	Materiaal & Methode	42
5.5.4	Resultaten	43
5.5.5	Discussie en Conclusies	44
5.6	Experiment: Vraat <i>Lemna</i> door rupsen van de kroosmot <i>C. lemnata</i>	45
5.6.1	Doel geïntegreerde gewasbescherming	45
5.6.2	Uitgangsmateriaal	45
5.6.3	Materiaal & Methode	45
5.6.4	Resultaten	46
5.6.5	Discussie en Conclusies	47
<b>6</b>	<b>Bespreking drie vraagstellingen Azolla-teelt vanuit project AzoPro</b>	<b>49</b>
6.1	Vraagstelling (1) opties biologische en chemische bestrijding	49
6.2	Vraagstelling (2) potentiële effecten op het (aquatisch) milieu?	50
6.3	Vraagstelling (3) praktische adviezen t.a.v. voorkomen en bestrijden van ziekten en plagen	50
<b>7</b>	<b>Conclusies en aanbevelingen</b>	<b>51</b>
<b>8</b>	<b>Dankwoord</b>	<b>52</b>
<b>9</b>	<b>Literatuur</b>	<b>53</b>
<b>10</b>	<b>Bijlage Milieumeetlat</b>	<b>60</b>

---

# Samenvatting

Dit rapport is in opdracht uitgevoerd in het kader van het TTW-project AzoPro (16294). In het TTW-project AzoPro wordt getracht kroosvaren (*Azolla*) te telen op vernatte landbouwbodems. De doelstelling daarbij is tweeledig. Enerzijds wordt getracht een productief teeltsysteem op te zetten waarbij biomassa wordt geoogst en gebruikt voor diverse nuttige toepassingen (bijv. als veevoeder, eiwitconcentraat, koolstofvastlegging of groenbemester). Anderzijds wordt gekeken naar de mogelijkheden om *Azolla* te gebruiken om fosfor 'uit te mijnen' uit voormalige landbouwbodems met het idee dat na uitmijnen de bodems geschikt(er) zijn voor natuurontwikkeling.

Tijdens de uitvoering van diverse veldproeven en experimenten in het project AzoPro is gebleken dat ziekten en plagen de *Azolla*-planten fors kunnen aantasten en de teelt zelfs helemaal kunnen vernietigen. Het gaat dan onder meer om de *Azolla*-snuitkever (*Stenopelmus rufinasus*), de kroosmot (*Cataglyphis lemnae*), bladluizen (waterleliebladluis *Rhopalosiphum nymphaeae*), en diverse soorten schimmels (zoals *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Cladosporium* en *Penicillium*). Ziekten en plagen zijn één van de grote knelpunten voor de (grootschalige) productie van *Azolla*-biomassa. Voor de doorontwikkeling van de *Azolla*-teelt naar een productief, duurzaam en financieel rendabele nieuwe teelt is het van belang om deze ziekten en plagen te kunnen voorkomen en/of te bestrijden.

In dit rapport is beschreven hoe de bestrijding van verschillende plagen van *Azolla* volgens geïntegreerde gewasbescherming (IPM) regels kunnen worden uitgevoerd. In het kort zijn de levenscyclussen beschreven van de waterleliebladluis (*Rhopalosiphum nymphaeae*), de *Azolla*-snuitkever (*Stenopelmus rufinasus*) en de kroosmot (*Cataglyphis lemnae*). Verder zijn overige insecten die op *Azolla* kunnen voorkomen genoemd en een aantal potentieel schadelijke micro-organismen in *Azolla* beschreven.

Volgens het IPM principe zijn de stappen 1 t/m 4 voor de bestrijding van de waterleliebladluis, de *Azolla*-snuitkever en de kroosmot beschreven. IPM-stappen 5 t/m 8 worden in dit rapport niet behandeld. Wel worden een aantal pesticiden (chemische gewasbeschermingsmiddelen) genoemd die effectief zijn tegen bovengenoemde plagen. Voor genoemde gewasbeschermingsmiddelen in dit rapport is de impact op het milieu genoemd m.b.v. de milieumeetlat (voor de middelen die hierin staan).

De teelt van *Azolla* is nieuw. Voor het toepassen van gewasbeschermingsmiddelen zijn wetten opgesteld die worden gecontroleerd door de Nationale Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) van het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselveiligheid. Het is zonder toestemming niet mogelijk om gewasbeschermingsmiddelen toe te passen in een nieuwe teelt. In dit rapport staat informatie over de procedure bij de NVWA voor het verkrijgen van vrijstelling in kleine teelten.

Binnen de Business Unit Agrosysteemkunde van de Wageningen University & Research (WUR) zijn tussen 2016 en 2018 plaag-experimenten op eendenkroos (*Lemna*) uitgevoerd. De opzet en uitvoering van de experimenten aan *Lemna* kunnen bijdragen aan een verdere kennisontwikkeling aan *Azolla*. Omdat de waterleliebladluis en de kroosmot ook voorkomen op *Azolla* is de kennis die is opgedaan in de experimenten goed bruikbaar voor de *Azolla*-teelt.

Vijf experimenten zijn uitgevoerd met de waterleliebladluis (*Rhopalosiphum nymphaeae*) met als doel de effectiviteit van drie verschillende biologische bestrijdingen te testen. Namelijk 1) met twee parasitoiden (*Aphidius colimani* en *Aphidius matricariae*), 2) met 1% Raptol-oplossing en 3) met LuisVrij-oplossing. Verder zijn zeven experimenten uitgevoerd met de kroosmot (*Cataglyphis lemnae*) met drie verschillende doelen. Namelijk 1) biologisch bestrijding van de rupsen, 2) monitoring van de motten en 3) de bestudering van het vraatgedrag van de rupsen. De experimenten voor de biologische bestrijding van de rupsen zijn verricht met *Bacillus thuringiensis* (XenTari®).



---

In dit rapport zijn naast literatuuronderzoek en deskstudie de resultaten gepresenteerd van de WUR-experimenten op *Lemna*.

---

# 1 Inleiding

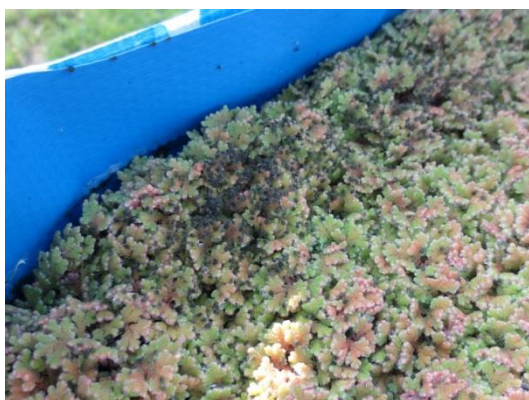
## 1.1 Ziekten en plagen in kroosvaren (*Azolla*)

Wereldwijd komt kroosvaren (*Azolla* spp.) voor in de natuur (McConnachie et. al, 2004, Pinero-Rodríguez et. al., 2021) en vormt vaak een bedreiging voor de water-ecosystemen. In Nederland komt de grote kroosvaren (*Azolla filiculoides*) vrij algemeen voor met name in het westen en het rivierengebied. Elders is de plant in Nederland zeldzaam tot zeer zeldzaam (NVWA, 2019). De eerste waarneming in de Nederlandse natuur dateert uit 1900. Ook in Nederland vormt kroosvaren een bedreiging voor water-ecosystemen. Brouwer et al., 2018 concluderen dat de *Azolla*-teelt als nieuw eiwitgewas potentie heeft. Door continu te oogsten is het mogelijk om hoge eiwitopbrengsten te verkrijgen zonder de noodzaak van een stikstofbemesting.

De teelt van *Azolla* heeft een aantal plagen. Belangrijke plaagorganismen zijn de snuitkever, de Azollakever (*Stenopelmus rufinasus*) en de waterleliebladluis (*Rhopalosiphum nymphaeae*). Een groei-experiment buiten in 2014 (WUR, mondeling Werf/Elderson) met *Azolla filiculoides* werd eerst getroffen door een bladluisplaag (waterleliebladluis), later gevolgd door een invasie van snuitkevers (Azollakevers). Niet alleen insecten, maar ook andere ziekteverwekkende organismen speelden in de experimenten in klimaatcellen een rol.

Een duurzame en efficiënte methode om deze plagen te beheersen is volgens het principe van IPM (Barzman et al., 2015). Het voordeel is dat de lange-termijn strategie gebaseerd is op het ecosysteem en combineert meerdere technieken, waardoor dit systeem goed gebruikt kan worden voor aquateelt (zie § 1.2).

Nader literatuuronderzoek geeft meer inzicht in deze problematiek. Nuttige informatie is beschikbaar van een aantal plaaginsecten (natuurlijke vijanden), die als basis kunnen dienen voor het onder controle houden van o.a. bovenstaande plagen. Denk bijvoorbeeld aan sluipwespen, roofwantsen, zweefvliegen, lieveheersbeestjes maar ook een bacteriepreparaat tegen kevers. Van ziekteverwekkende/ongewenste micro-organismen zoals schimmel- bacterie- en virus- ziekten in *Azolla* is nagenoeg geen literatuur te vinden.



**Fig. 1.1** Grote aantallen waterleliebladluizen (*Rhopalosiphum nymphaeae*) op kroosvaren (ong. 50 x 50 cm). foto: Janneke Elderson ©

---

## 1.2 Geïntegreerde gewasbescherming (IPM)

Geïntegreerde gewasbescherming (IPM) is een methode om ziekten en plagen te beheersen. De lange-termijn strategie is gebaseerd op het ecosysteem en combineert meerdere technieken.

De acht basis-stappen zijn (Barzman *et al.*, 2015):

1. Preventie en onderdrukking van schadelijke organismen.
2. De schadelijke organismen op een efficiënte manier monitoren.
3. Toepassen van een beslisstrategie, die, op basis van de uitkomsten van monitoring, bepaalt of er ingegrepen moet worden en met welke middelen. Essentieel hierbij zijn goed hanteerbare en wetenschappelijk onderbouwde drempelwaarden.
4. Chemische bestrijdingsmiddelen moeten zo veel mogelijk vermeden worden. Duurzame biologische, mechanische en andere niet-chemische methodes hebben de voorkeur, zo lang ze tot een bevredigend resultaat leiden.
5. De toegepaste methode moet zo specifiek mogelijk tegen alleen het te bestrijden organisme werken, en zo min mogelijk gevaar opleveren voor de volksgezondheid, non-target organismen en milieu.
6. Als er ingegrepen moet worden met chemische of andere middelen, moet dit zo subtiel mogelijk gebeuren.
7. Soms zal bestrijding van het plaagorganisme een herhaalde inzet van (chemische) middelen vergen. In dat geval moeten, indien voor handen, bestaande anti-resistentie strategieën toegepast worden om resistentieproblemen te voorkomen.
8. Evaluatie van het resultaat van de toegepaste gewasbeschermingsmaatregelen.

Tot nu toe is IPM vooral toegepast in de glastuinbouw en in mindere mate in de vollegronds akker- en tuinbouw. De teelt van waterplanten verschilt in een aantal opzichten van deze teelten. De belangrijkste verschillen zijn:

- i. Er is geen grond aanwezig, de planten drijven vrij op het water. De vaste fase ontbreekt voor de planten. Alleen voor plagen/ziekten in/onder water (bv. kroosmot) is er qua bestrijding een verschil met de bodem gebonden teelten.
- ii. Er wordt bij een aantal gewassen zeer frequent een groot deel van het gewas geoogst. Vergeleken met akker en tuinbouwgewassen, zal een groter deel van de populatie van plaagorganismen en van natuurlijke vijanden aan de teelt onttrokken worden.

De commerciële teelt van kroosvaren vindt nu zowel buiten als overdekt/binnen plaats. In beide teelt situaties zal het optreden van ziekten en plagen verschillend verlopen. In de open teelt zie je voornamelijk dat er veel meer plaagorganismen, natuurlijke vijanden en antagonisten van buitenaf in de teelt kunnen komen, waarbij in de overdekte/binnen teelt dit in veel mindere mate gebeurt. De bestrijding van de plaagorganismen zal daarom moeten worden afgestemd op de teeltsituatie.

## 1.3 Doelstellingen en aanpak

Voor de ontwikkeling van de Azollateelt (*Azolla* spp.) naar een productief, duurzaam en financieel rendabele nieuwe teelt is het van belang ziekten en plagen te kunnen voorkomen en/of te bestrijden. Tijdens de uitvoering van diverse veldproeven en experimenten in het AzoPro-project is gebleken dat ziekten en plagen de *Azolla*-planten fors kunnen aantasten en de teelt zelfs helemaal kunnen vernietigen.

Dit rapport geeft een aanzet tot gericht onderzoek naar duurzame en efficiënte plaagbeheersing in de teelt van kroosvarens volgens een geïntegreerde aanpak (IPM) (§ 1.2), van een drietal bijbehorende plaagorganismen die (grote) problemen geven in kroosvarens. Dit zijn; de waterleliebladluisc ( *Rhopalosiphum nymphaeae* ), de Azollakever ( *Stenopelmus rufinus* ) en de kroosmot ( *Cataglyphis lemnae* ) (Hoofdstuk 2 en 4). Verder worden een aantal potentieel schadelijke

---

micro-organismen in kroosvarens beschreven met een mogelijke bijbehorende bestrijding (Hoofdstuk 3).

Binnen de Business Unit Agrosysteemkunde van de Wageningen University & Research (WUR) zijn tussen 2016 en 2018 plaag-experimenten op eendenkroos (*Lemna*) uitgevoerd. De opzet en uitvoering van de experimenten aan *Lemna* kunnen bijdragen aan een verdere kennisontwikkeling van *Azolla*. Omdat de waterleliebladluis en de kroosmot ook voorkomen op *Azolla* zijn de resultaten uit de experimenten goed bruikbaar voor de *Azolla*-teelt en geven inzichten in een aantal verschillende stappen van de geïntegreerde gewasbescherming (IPM) (Hoofdstuk 5).

Een drietal vragen kwamen vanuit het AzoPro-project kwamen naar voren: 1) Welke opties zijn er voor biologische en chemische bestrijding van de verschillende ziekten en plagen in *Azolla*? Wat zijn de voor- en nadelen van deze opties? (graag een beknopt overzicht kosten en praktische uitvoerbaarheid), 2) Wat zijn de potentiële effecten op het (aquatisch) milieu. En zijn er methoden om die impact te voorkomen of te beperken en 3) Welke bestaande ervaringen en praktische adviezen t.a.v. voorkomen en bestrijden van ziekten en plagen zijn reeds beproefd in de teelt van *Azolla* (of andere watergewassen). In hoofdstuk 6 worden deze vragen beantwoord.

Een aantal conclusies en aanbevelingen worden gedaan in hoofdstuk 7 voor de doorontwikkeling van de Azollateelt t.a.v. het voorkomen en/of te bestrijden van ziekten en plagen.

## 2 Plaaginsecten in kroosvaren

### 2.1 Waterleliebladluis, waterlily aphid, reddish-brown plum aphid: *Rhopalosiphum nymphaeae* (Linnaeus, 1761) - een plaaginsect in o.a. *Lemna* en *Azolla*

Bladluizen (*Aphididae*) zijn insecten die behoren tot de familie van de halfvleugeligen (*Hemiptera*). Ze voeden zich door met hun aangepaste snuit planten aan te prikken en floëmsappen op te zuigen. Veel bladluissoorten zijn daardoor bekend als plaaginsect van gewassen, bomen en struiken. De schade die bladluizen aanrichten aan planten door het aftappen van de sapstroom is in eerste instantie verzwakking en groeiremming of misvorming. Daarnaast brengen ze ook plantenziektes over, in het bijzonder virusziektes.

Bladluizen kunnen in korte tijd een grote populatie vormen. Dit komt door hun efficiënte reproductie. Een groot deel van het seizoen ontwikkelen bladluizen zich parthenogenetisch (zonder bevruchting). Er gaat geen energie verloren aan bevruchting, en 100% van de jongen zijn vrouwtjes die ook allen jongen kunnen produceren. Bovendien zijn deze experts in klonen levendbarend, er gaat geen tijd verloren aan de ontwikkeling van eitjes.

De waterleliebladluis is vrijwel de enige bladluissoort die op drijvende waterplanten leeft. Hij is zeer algemeen, komt voor over de hele wereld en is op haast alle drijvende waterplanten, zoals waterlelie (*Nymphaeae*), kroosvaren (*Azolla*) en kroos (*Lemna*, *Spirodela*), maar bijvoorbeeld ook op waterweegbree (*Alisma*), gele plomp (*Nuphar*), pijlkruid (*Sagittaria*), fonteinkruid (*Potamogeton*), watersla (*Pistia*) en vlotvaren (*Salvinia*) te vinden.

De bladluizen zijn middelgroot, 1,6-2,6 mm lang. De kleur van de ongevleugelde luizen is bruinig tot grijs-olijfgroen, soms licht bepoederd met grijze was, zie fig. 2.1.



**Fig. 2.1** *Rhopalosiphum nymphaeae* (Waterleliebladluis) op *Azolla filiculoides*, ongevleugeld en gevleugeld.

foto's: Paul Piron ©

*R. nymphaeae* kent een waardwisseling. In de zomer komt deze bladluis op waterplanten voor, de secundaire waardplanten. In de winter is hij aangewezen op de primaire waardplanten, Prunus-soorten zoals pruim, sleedoorn en vogelkers. Voor een volledig overzicht van alle Nederlandse Prunussoorten (zie tabel 2.1)(Blackman & Eastop, 1994).

**Tabel 2.1** In Nederland voorkomende Prunussoorten, en hun status als primaire (winter)waardplant voor *R. nymphaeae*, overgenomen uit Blackman & Eastop, 1994.

soort		waard?
<i>Prunus armeniaca</i>	Abrikoos	wel
<i>Prunus avium</i> (L.) L.	Zoete kers	wel
<i>Prunus cerasifera</i> Ehrh.	Kerspruim	wel
<i>Prunus cerasus</i> L.	Zure kers	wel
<i>Prunus domestica</i> L.	Pruim	wel
<i>Prunus dulcis</i>	Amandelboom	wel
<i>Prunus laurocerasus</i> L.	Laurierkers	niet
<i>Prunus mahaleb</i> L.	Weichselboom	wel
<i>Prunus padus</i> L.	Gewone vogelkers	niet
<i>Prunus persica</i>	Perzik	wel
<i>Prunus serotina</i> Ehrh.	Amerikaanse vogelkers	wel
<i>Prunus spinosa</i> L.	Sleedoorn	wel

In de herfst worden gevleugelde vrouwtjes en mannetjes gevormd. Na bevruchting zetten de vrouwtjes eitjes af op Prunus; deze eitjes overwinteren. In het voorjaar komt de vleugelloze stammoeder (fundatrix) uit het eitje. Zij is levendbarend en produceert ongeveugelde, levendbarende dochters. In dit stadium voeden de bladluizen zich op de steeltjes van bladeren en bloemen van de Prunus. (Blackmann & Eastop, 1994). Na enkele vleugelloze generaties op Prunus wordt een gevleugelde generatie gevormd. Deze gevleugelde vrouwtjes zoeken de waterplanten op, en produceren daar ongeveugelde vrouwtjes; het begin van de populatie die, afhankelijk van de temperatuur, vele generaties doorgaat. Als de kolonies te dicht worden, gaan de vrouwtjes gevleugelde vrouwtjes produceren. Voornamelijk de gevleugelde vrouwtjes spelen een rol bij de verdere verspreiding van de plaag.

Het effect van een dichte populatie *R. nymphaeae* op de waterplanten kan desastreus zijn; dit is dan ook de reden dat deze bladluis wordt gebruikt als natuurlijke bestrijder van invasieve waterplanten zoals *Salvinia* (John & Nair, 1982) en een onkruid, *Heteranthera limosa*, in rijstvelden (Oraze & Grigarick 1992). Dong *et. al.*, 2008 beschrijft groeiremming van waterhyacint (*Eichhornia crassipes*) bij diverse dichtheden van *R. nymphaeae*. Bij meer dan 20 bladluizen per plant zijn de effecten significant.

Groeisnelheid, ontwikkeling en voortplantingssucces van bladluizen zijn onder andere afhankelijk van waardplant en temperatuur. Over groeisnelheid, ontwikkeling en voortplantingssucces van *R. nymphaeae* onder Nederlandse omstandigheden is weinig bekend. Tabel 2.2 geeft een overzicht van wat bekend is over de waterleliebladluis.

*R. nymphaeae* heeft 5 nimfenstadia, onder koudere omstandigheden soms één meer. De ontwikkelingsduur van *R. nymphaeae* van geboorte (eerste nimfenstadium) tot volwassen bladluis is 10,3 dagen bij een temperatuur van 18,3 °C, en 6,8 dagen bij 30,6 °C. Bij een temperatuur van 21,1 – 26,7 °C ontwikkelt *R. nymphaeae* zich het beste, onder de 10 en boven de 32,2 °C vindt geen ontwikkeling plaats (Ballou *et al.*, 1986, Hance *et al.*, 1994, tabel 2.2).

**Tabel 2.2** Ontwikkeling van de waterleliebladluis (*Rhopalosiphum nymphaeae*), overgenomen uit Hance, 1994.

auteur	Ballou <i>et al.</i> (1986)	Hance <i>et al.</i> (1994)
Host plant	<i>Pistia stratiotes</i>	<i>Azolla microphylla</i>
Temperatuur ( °C)	26,7 C ± 0,5	30 ± 0,5/ 24 ± 0,5
Eerste nymf gelegd	dag 5	dag 6
Laatste nymf gelegd	dag 27	dag 24
Max. lengte van de 'larviposition' periode (dagen)	21	18
Gemiddelde fertiliteit (nymfen/vrouwtjes)	44,2	36,8
Dagelijkse fertiliteit (nymphs/vrouwtjes)	3,6	3,7
Gemiddelde levensduur (dagen)	17,9	11,8
Max. levensduur (dagen)	31	24

In keuze-experimenten gaf *R. nymphaeae* de voorkeur aan veel-wortelig kroos, *Spirodela polyrhiza* en smal kroos, *Landoltia punctata* boven *Lemna minor*. Verder bleek dat de bladluizen in eerste instantie de voorkeur hadden voor de plant waarop ze opgroeiden (Storey, 2007).

## 2.2 Azollakever (Kroosvarensnuittorretje), *Azolla* weevil: *Stenopelmus rufinasus* Gyllenhal, 1835 -een plaaginsect van kroosvaren (*Azolla*)

De Azollakever, *Stenopelmus rufinasus*, is een klein kevertje, en behoort tot de snuitkevers (*Curculionidae*). De volwassen kever is nog geen 2 mm lang, grijsig of bruinig, met lichtere en donkere vlekjes. Zijn "snuif" is kort en breed. Zowel de volwassen kevers als de larven eten van de *Azolla* planten. Azollakevers leven ongeveer 55 dagen op *Azolla filiculoides* en vrouwtjes kunnen dan gemiddeld



**Figuur 2.2** *Stenopelmus rufinasus*, volwassen kever en larve foto's: Rob Reeder, CABI

325 nakomelingen produceren. De oranje-gele eitjes zijn ongeveer 0.2 mm lang. Bij een constante temperatuur van 25 °C komen ze na 4,2 dagen uit (Hill, 1998). De ontwikkelingsduur van de 3 larvestadia, pop en adult bij een dag/nacht temperatuur van 27 °C/21 °C staat samengevat in tabel 2.3.

De Azollakever komt van oorsprong uit Noord-Amerika. In het westen en zuiden van de Verenigde Staten komt hij van oudsher voor op *Azolla caroliniana*, de enige kroosvaren soort die daar inheems is. Ook op *Azolla filiculoides* en *A. pinnata*, die al geruime tijd als invasieve soort in de VS voorkomen, doet de Azollakever het goed. Het verspreidingsgebied van *Stenopelmus rufinasus* is tegenwoordig wereldwijd. Al in het begin van de vorige eeuw heeft het kevertje zich ook in Europa gevestigd, de introductie van kroosvaren als exoot volgend. In Nederland stamt de eerste waarneming van de Azollakever uit 1919 (Everts, 1921). In meerdere Europese landen is het opvallende snuitkevertje inmiddels officieel als een gevestigde soort beschreven: In Spanje (Mor et. al., 2010), Portugal (Carrapico et. al., 2011) en Servië (Pestic, 2012).

De verspreiding van de Azollakever is de laatste 2 decennia niet alleen te wijten aan toevallige introducties, bijvoorbeeld met geïmporteerde waterplanten, maar doordat de kever tegenwoordig bewust wordt ingezet als bestrijder van invasieve exoten. Niet alleen in de VS is *A. filiculoides* een groot probleem als invasieve waterplant, ook in Zuid-Afrika waren grote wateroppervlakken met deze kroosvaren bedekt. Dit leidde tot een grootschalig onderzoek naar een methode om de kroosvaren biologische te bestrijden. Op grote schaal zijn Azollakevers gekweekt en losgelaten (Hill, 1998, 1999 en McConnachie et al., 2003, 2004 a,b). De kroosvaren *A. filiculoides* is nu in Zuid-Afrika onder controle. Belangrijke eigenschappen van de Azollakever (*S. rufinasus*) zijn; zijn vermogen tot snelle vermeerdering, zijn enorme vraatzucht, van zowel larve als adult en zijn goede vermogen om zich te verspreiden. Bovendien heeft hij weinig last van predatoren en parasieten (Hill, 2008).

Inmiddels is in meerdere landen (o.a. Groot-Brittannië, Ierland) bovenstaande methode toegepast om *A. filiculoides* te bestrijden. In Groot-Brittannië heeft het CABI (Centre for Agriculture and Biosciences International) het initiatief genomen om een massaweek van de kevertjes op te zetten en deze los te laten in gebieden met overlast van *Azolla* (zie de website [www.azollacontrol.com](http://www.azollacontrol.com)). In Nederland is enkele jaren geleden door de Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer (STOWA), in samenwerking met het CABI, een pilot uitgevoerd om deze methode ook in Nederland toe te gaan passen (Pratt, et al., 2013).



Azollakevers werden verondersteld alleen de kroosvaren (*Azolla*) als waardplant te gebruiken. De laatste tijd zijn echter meerdere waarnemingen gedaan van het overleven en foerageren op andere waterplanten. (Florencio et al., 2015; Parys et al., 2015).

**Tabel 2.3** Ontwikkeling van *Stenopelmus rufinasus* op *Azolla filiculoides* bij een dag/nacht temperatuur van 27°C/21°C, overgenomen uit Hill, 1998.

Stadium	levensduur (dagen)		
	minimum	gemiddelde	maximum
Larve I	0,8	2,1	3,4
Larve II	1,2	2,2	3,2
Larve III	1,5	2,9	4,3
Pop	3,1	4,8	6,5
Adult M	46,7	56,9	67,1
Adult V	50,4	59,2	68
<b>totaal</b>	<b>103,7</b>	<b>128,1</b>	<b>152,5</b>

## 2.3 Kroosmot, kroosvlinder, Small China-mark Moth: *Cataglyphis lemnae* (Linnaeus, 1758)(Lepidoptera)- een plaaginsect van *Lemna* en *Azolla*

Kroosvlinders behoren tot de grasmotten (*Crambidae*). De mannetjes hebben ca 18-20 mm spanwijdte, en hebben lichte, bijna witte voorvleugels. De vrouwtjes zijn iets groter, ca 22-24 mm, en hebben fijne goudkleurige lijntjes op hun voorvleugels, waardoor die er donkerder uitzien. Beide seksen hebben een donkere band langs de achterzijde van de achtervleugels waarin een rand van blauwe blokjes te zien is. Verder zijn de lange, witte poten een opvallend kenmerk.

De motten zwermen vanaf de late middag tot soms laat in de avond boven het kroos (Svensson



et al., 2003).

**Figuur 2.2** *Cataglyphis lemnae* links: adult ♀, een dag eerder uitgekomen uit een pop in *Lemna minor*, rechts een adult ♂. foto's: Janneke Elderson ©

In Duitsland heeft de kroosvlinder twee overlappende generaties tussen mei en september (Petrishchak, 2000), in Polen is in september ook een gedeeltelijke derde generatie waargenomen in de het popstadium (Pabis, 2014).

Eitjes worden aan de onderkant van de drijvende planten afgezet. Na ongeveer een week komen ze uit. De rupsjes gebruiken de (kroos)planten niet alleen om van te eten, maar ook om beschermende kokertjes van te maken. Zo kunnen ze onder water leven. In het eerste larvenstadium zijn de rupsen

---

hydrofiel, bevat het kokertje water en neemt de rups via de huid zuurstof op. Na vervelling naar het tweede stadium maakt de rups een kokertje waar ook lucht in zit, en ademt hij via tracheeën. Vanaf het derde stadium heeft de rups een zodanige huidstructuur dat hij hydrofoob wordt, omgeven door een luchtlagje wat zijn zuurstofvoorraad vormt. De grote intercellulaire ruimtes van kroosblaadjes bevatten zuurstof. Deze zuurstof wordt door de rupsen gebruikt om de eigen zuurstofvoorraad tijdens het vreten aan te vullen. In totaal zijn er 4 larvenstadia. Bij elke vervelling maakt de rups een nieuw, groter kokertje. Daarna vervelt de larve in zijn laatste kokertje tot een pop. (Petrishak, 2000)

Pabis (2014) observeerde kroosvinders in een vijver in Polen: Twee vrouwtjes legden resp. 257 en 187 eitjes. De eitjes kwamen na 7 dagen uit, de semitransparante rupsjes aten eerst van het parenchym, later van het hele kroosblad. Na 5 dagen begon de bouw van het eerste kokertje. Weer 9 dagen later werden de rupsen donkerbruin en hydrofoob.

Vroeger werd de kroosvinder beschreven als een vlinder die uitsluitend op kroos voorkomt, zoals de favoriete waardplanten bultkroos (*Lemna gibba*), klein kroos (*L. minor*) en veelwortelig kroos (*Spirodela polyrhiza*). Later werd duidelijk dat de kroosvinder ook wel op andere waterplanten voorkomen. Van der Velde (1988) beschreef de vraat van rupsen van kroosvinders op witte waterlelie (*Nymphaea alba*), watergentiaan (*Nymphoides peltata*) en glanzend fonteinkruid (*Potamogeton lucens*). Hij vermeldt dat de kroosvinderpopulatie meerdere jaren in stand kan blijven in de afwezigheid van kroos. In Italië werden larven van de kroosvinder gesignaleerd op de grote vlotvaren (*Salvinia molesta*), een invasieve waterplant. (Giardini, 2003). Soms wordt ook grof hoornblad (*Ceratophyllum demersum*) en krabbenscheer (*Stratiotes aloides*) gebruikt als waardplant (Pabis, 2014). Verder worden wortelloos kroos (*Wolffia arrhiza*), aarvederkruid, (*Myriophyllum spicatum*) en blaasjeskruid (*Utricularia vulgaris*) niet geaccepteerd als voedsel en bouw materiaal (Pabis, 2014).

In een groot deel van Europa komt de kroosvinder algemeen voor, buiten Europa zijn geen waarnemingen bekend.

Farahpour-Haghani *et. al.*, 2017 en Farahpour-Haghani *et. al.*, 2019 heeft in experimenten aangetoond dat de kroosmot ook de kroosvaren (*Azolla*) als waardplant kan gebruiken en zich hierop kan vermeerderen. De kroosmot is dus ook een plaag voor de commerciële *Azolla*-teelt.

## 2.4 Overige insecten die op kroosvaren (*Azolla*) kunnen voorkomen

Uit waarnemingen (van J. Elderson, WUR) in 2014 en 2015 hebben diverse Diptera soorten, muggen en vliegen van diverse groottes, de *Azolla* kweken bevolkt, vooral in de bassins buiten. Hoewel hun larven mogelijk van de planten (wortels) vreten, leverden ze geen grote problemen op. Een uitzondering is mogelijk de oevervlieg, *Scatella* sp., zo groot als een fruitvliegje, die vaak in kassen voorkomt en daar schade kan veroorzaken. Hij kan o.a. *Pythium aphanidermatum* overbrengen, een micro-organisme dat ook op kroos (*Lemna*) is aangetroffen (Goldberg & Stanghellini, 1990).

De larven van deze oevervlieg *Scatella stagnalis* leven vooral van algen, maar kunnen soms ook plantenwortels aantasten. Met het vreten van aangetaste planten kunnen ze de oösporen van *Pythium aphanidermatum* binnenkrijgen. Rijpe sporen zijn terug te vinden in de darm van 97% van de larven, 20% van de poppen en 10% van de volwassen vliegjes. Oösporen in de uitwerpselen van alle stadia van de oevervlieg zijn kiemkrachtig (Goldberg & Stanghellini, 1990). De volwassen vliegjes kunnen de schimmel over grotere afstand verspreiden. Het bovengenoemde onderzoek van Goldberg en Stanghellini werd in een hydrocultuur van komkommer uitgevoerd, maar is interessant omdat de vector door onszelf is waargenomen. *Pythium* wordt genoemd in relatie tot *Lemna*.

---

## 3 Potentieel schadelijke micro-organismen in kroosvaren

### 3.1 Micro-organismen in kroosvaren (*Azolla*)

#### 3.1.1 Bacteriën in kroosvaren (*Azolla*)

In de *Azolla*-cultures van 2014 en 2015 kwamen soms zwart-groenige infecties voor die langzaam steeds dichter werden. Het is vooralsnog onduidelijk of het hier schimmels, bacteriën of algen betreft. Bij het kweken van kroos (*Lemna*) kwamen vergelijkbare infecties voor die microscopisch bekeken zijn. Waarschijnlijk gaat het hier om cyanobacteriën (blauwalgen) die bekend zijn vanwege hun 'algen'-bloei in aquatische milieus. De naam blauwalgen is misleidend omdat de blauwalgen niet behoren tot de 'echte' eukaryotische algen, maar tot de bacteriën (wikipedia, <https://nl.wikipedia.org/wiki/Blauwalgen>). De cyanobacteriën die deze 'algen'-bloei kunnen veroorzaken behoren vooral tot het geslacht *Anabaena* (Smith *et. al.*, 2008), maar zijn recentelijk taxonomisch opnieuw ingedeeld en benoemd (Li *et. al.*, 2016).

De kroosvaren *Azolla* leeft in symbiose met de cyanobacterie *Anabaena azollae*. Deze bacteriën leven in de holtes van de blaadjes en zijn in staat atmosferische stikstof te binden (stikstoffixatie), wat de plant onbeperkte toegang geeft tot een essentiële voedingsbron. Ook de taxonomische indeling van *A. azollae* staat ter discussie (Pereira & Vasconcelos, 2014).

Het is onduidelijk of de cyanobacteriën die 'algen'-bloei veroorzaken schadelijk zijn voor de teelt van kroosvaren. Verschillende soorten zijn in staat om toxische stoffen uit te scheiden (Smith *et. al.*, 2008, Li *et. al.*, 2016). Of deze stoffen de activiteit van de stikstofbindende *A. azollae* kunnen remmen is niet duidelijk.

In 2015 zijn monsters van de zwart-groenige massa ingevroren. Met sequentieanalyse kan onderzocht worden om welke taxonomische groep het gaat. Met deze kennis kan dan meer gericht in de literatuur gezocht worden wat het effect van dergelijke micro-organismen zouden kunnen zijn.

#### 3.1.2 Schimmels en oömyceten in kroosvaren (*Azolla*)

In experimenten (2014, 2015) bij Wageningen University & Research met watercultures van *Azolla filiculoides* en *A. pinnata* is in de afgelopen jaren op meerdere momenten een schimmelaantasting opgetreden. Soms leidde dit uiteindelijk tot het totaal afsterven van een cultuur. Onduidelijk was of het een primaire infectie was, of dat het een secundaire schimmelinfectie betrof die toesloeg op het moment dat door een andere reden de planten al ziek of verzwakt waren. Identificatie van deze schimmels heeft niet plaatsgevonden.

In de klimaatkamerexperimenten in 2013/2014 heerste een plaag van minieme mugjes (fungus gnats). De larven van dit mugje zijn in de wortels van *Azolla* aangetroffen, mogelijk konden schimmels via de beschadigingen toeslaan. Gillespie & Menzies, 1993 vonden in hun onderzoek dat volwassen muggenlarven (gnats) een vector zijn van *Fusarium oxysporum f.sp. radicle-lycopersici* en ze *Fusarium* transporteerden en zo verspreidden naar gezonde planten.

Zo'n schimmelaantasting lijkt vaak te starten vanuit de hoofdstengel. Daardoor valt het plantje in kleinere plantjes uiteen. Daarmee wordt ook het aanzien van de 'Azolla mat' anders. In plaats van een stevige dikke "crispy" mat veranderde deze in een dunne laag kleine plantjes, die los van elkaar in het water lagen. In experimenten in 2015 en 2016 in bassins in de buitenlucht hebben we hetzelfde verschijnsel waargenomen.



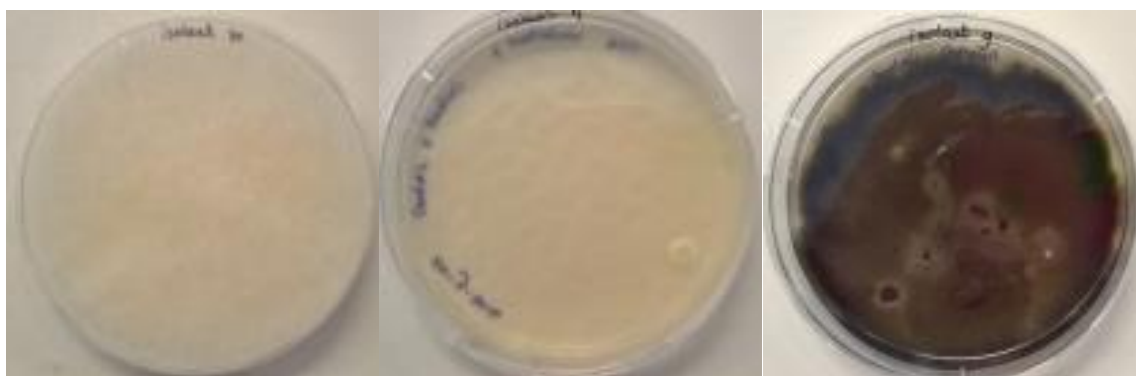
**Fig. 3.1** *Azolla filiculoides* met mogelijk schimmelaantasting. foto: Janneke Elderson ©

Garcia (1986) vond op de Filippijnen in *Azolla*-cultures in de kas en in een vijver 16 schimmelgeslachten: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cephalosporium*, *Chaltomium*, *Conoplea*, *Curvularia*, *Diplodia*, *Drechslera*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phaeotrichoconis*, *Rhizoctonia*, een *Rhizoctonia*-achtige, *Sclerotium* and *Trichoderma*. In de kas waren vooral *Penicillium* soorten van belang, in een vijver waren het vooral de *Rhizoctonia*-achtige, *Curvularia* sp. en *Phaeotrichoconis* sp. Balou & Iboton (1985) isoleerden *Rhizoctonia solani* en *Sclerotinia sclerotiorum* van *Azolla pinnata* in India. Of al deze soorten in Nederland een rol zullen spelen is niet bekend. De lijst geeft echter wel een houvast voor toekomstig onderzoek. Opmerkelijk is dat in bovenstaande onderzoeken geen oömyceten, zoals *Pythium* soorten, genoemd worden. Dit kan het gevolg zijn van de gebruikte isolatie methode.

Het effect van *S. sclerotiorum* op *Azolla* werd getest in een onderzoek naar biologische bestrijding van verschillende waterplanten met schimmels (Waipara et. al., 2006). Het gebruikte schimmelisolaat van *S. sclerotiorum* bleek *Azolla* wel te kunnen aantasten (5,5% necrotische planten) maar niet volledig te vernietigen.

Er zijn ook meldingen dat de aantasting van waterplanten door schimmels geïnduceerd of versterkt wordt bij vraat door insecten of slakken.

In 2016 zijn aangetaste Azollaplantjes uit een waterbassin (buiten) van Wageningen Plant Research uitgelegd op een kweekmedium. Er groeiden verschillende schimmels e/of oömyceten uit het aangetaste plantmateriaal (zie figuur 3.2).



**Figuur 3.2** Verschillende typen schimmels en/of oömyceten uit aangetaste *Azolla* plantjes. foto: Mirjam Schilder ©

### 3.1.3 Bestrijding schimmels in *Azolla*-teelt

Tijdens de uitvoering van diverse veldproeven en experimenten in het TTW-project AzoPro (16294) is gebleken dat ziekten en plagen de *Azolla*-planten fors kunnen aantasten en de teelt zelfs

---

helemaal kunnen vernietigen. Diverse soorten pathogene schimmels (zoals *Cladosporium* (roetdauwschimmel), *Botrytis*, *Rhizoctonia*, en *Penicillium*) werden aangetroffen.

Hieronder volgen een paar suggesties van biologische of chemische bestrijdingsmiddelen die op de markt zijn voor de genoemde pathogene schimmels, de bestrijdingsmiddelen zijn nog niet getest op *Azolla*. Voor de wijze van toelating van de bestrijdingsmiddelen in de *Azolla*-teelt zie §6.1.

De aanwezigheid van roetdauwschimmels wijst er meestal op dat een plant is aangetast door een sapzuigend insect. Roetschimmels tasten de plant niet rechtstreeks aan, maar hun groei is ontsierend en kan de groeikracht van de plant verminderen doordat ze de fotosynthese verhinderen. Roetschimmels bestaan uit een groot aantal verschillende schimmels die donkere groei en sporen produceren. Binnen de roetschimmelgroei worden vaak soorten *Cladosporium* en *Alternaria* aangetroffen, maar er zijn er nog veel meer. Ze groeien op suikerrijke honingdauw die wordt geproduceerd door sapzuigende insecten als gevolg van hun voedingsactiviteiten, of soms op suikerhoudende exudaten die door de plant zelf worden geproduceerd (Halder et al., 2020). Het voorkomen of bestrijden van een luizeninfectie kan de groei van *Cladosporium* in de *Azolla*-teelt voorkomen.

Voor de bestrijding van *Botrytis* is een biologische fungicide genaamd Prestop® op de markt van de firma Biobest Group NV. Prestop® is een biofungicide op basis van de nuttige bodemschimmel *Gliocladium catenulatum* J1446G, een antagonistische schimmel die op boven- en ondergrondse plantdelen groeit. De plant wordt boven en onder de grond beschermd tegen schadelijke schimmels volgens de firma Biobest. Van lenteren et al., 2018 noemt naast *Gliocladium catenulatum* J1446 ook *Bacillus amyloliquefaciens* AT-332 en *Trichoderma polysporum* IMI 206039 voor de bestrijding van *Botrytis*.

Collis® (zie bijlage 9 milieumeetlat) is een chemisch gewasbeschermingsmiddel voor de bestrijding van *Botrytis* dat op de markt is, een suspensie concentraat met een combinatie van twee werkzame stoffen, 100 g/l Kresoxim-methyl en 200 g/l Boscalid. Collis® wordt gebruikt voor bladbespuiting in bloembollen tegen *Botrytis*. "Boscalid komt uit de groep van de carboxyanilide-verbindingen (SDHI's). Het bindt zich in de schimmel aan een enzym, waardoor de *Botrytis*-schimmel niet in staat is om essentiële celcomponenten, zoals proteïnen en membranen aan te maken. Verder verspreidt boscalid zich translaminair, dat wil zeggen dóór het blad heen en lokaal systemisch. Kresoxim-methyl behoort tot de chemische groep van strobilurines. Na een bespuiting blijft deze stof in kleine depots op het gewas achter. Vanuit deze kleine werkstofdepots vindt verspreiding over het blad plaats via diffusie en komt zo in het blad via huidmondjes en de intercellulaire ruimten." geciteerd uit de website van firma BASF.

Uit een praktijkproef van Hofland-Zijlstra et al., 2017 blijkt dat het plantversterkende product, Fado (synthetische elicitor, beschikbaar op de markt, zie bijlage 9 milieumeetlat) effectief ingezet kan worden tegen meeldauw en daarbij een gunstige nevenwerking heeft op het verminderen van een *Botrytis* infectie. Fado verhoogd specifiek de activiteit van de salicylzuurroute. De plant produceert daardoor meer eiwitten die het binnendringen van biotrofe schimmels vertraagd, zoals meeldauw. Hofland-Zijlstra et al., 2017 toonde verder aan dat uit analyses met bladgroen en plantensappen, de plant sterk reageert op de hoeveelheid licht en dat dit een relatie vertoont met de gevoeligheid voor *Botrytis*.

Voor de bestrijding van *Rhizoctonia solani* hebben Bulle & Breeuwsma 2012 twee alternatieve middelen gevonden met een even goede bestrijding als Rizolex. Rizolex is sinds 2009 verboden. Met fabrikanten is in gang gezet om een toelating van deze middelen te realiseren.

Een commercieel gewasbeschermingsmiddel is Serenade SC (zie bijlage 9 milieumeetlat) van Bayer (een fungicide). "Serenade SC is gebaseerd op een unieke, van nature in de bodem voorkomende bacteriestam, *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713. Serenade SC (een contact middel) heeft een brede werking tegen schimmels kan worden toegepast als gewasbehandeling en bodemtoepassing. Het is belangrijk dat Serenade SC preventief wordt ingezet. Dus spuiten voordat de schimmel aanwezig is of nadat de schimmels eerst door curatieve middelen zijn bestreden. Tijdens het fermentatieproces worden lipopeptiden gevormd. Deze zogenaamde lipopeptiden (verbindingen tussen aminozuren en vetten) maken de celmembranen van schimmels lek waardoor deze afsterven. De drie

---

types lipopeptiden die verantwoordelijk zijn voor de werking tegen schimmels zijn iturin, agrastatin en surfactin. De fungicidewerking komt tot stand door een synergetisch effect van deze drie typen lipopeptiden.” Citaat uit de website van Royal Brinkman.

Voor de bestrijding van *Penicillium* wordt door Wageningen University & Research 2023 onderzocht of *Penicillium* te bestrijden is met antagonisten. Uit de eerste resultaten blijkt dat antagonisten *Penicillium* niet volledig weten te bestrijden, maar wél zorgen voor een reductie (zie website WUR).

---

## 4 Geïntegreerde gewasbescherming

### 4.1 IPM van waterleliebladluis, *Rhopalosiphum nymphaeae*

#### 4.1.1 preventie en onderdrukking

##### 4.1.1.1 keuze resistente soorten kroosvaren (*Azolla*)

Er zijn verschillen in resistentie van kroosvaren voor de waterleliebladluis vastgesteld. *Azolla filiculoides* is gevoelig voor *R. nymphaeae*. Hance (1994, a) testte een aantal accessies van meerdere *Azolla* soorten op hun gevoeligheid. Op drie accessies van, *Azolla pinnata* var. *pinnata*, één van *Azolla pinnata* var. *Imbricata*, één van *Azolla nilotica* en één van *Azolla rubra*, gingen binnen 3 à 4 dagen alle nymfen dood. Deze accessies zijn resistent. Gevoeliger bleek de accessie van *Azolla filiculoides*, een deel van de nymphen ontwikkelde zich tot adult en brachten nakomelingen voort. Zeer gevoelig bleken drie accessies van *Azolla microphylla* en één van *Azolla coroliniana*.

Storey (2007) stelde een voorkeur vast van *R. nymphaeae* voor veel-wortelig kroos (*Spirodela polyrrhiza*) boven smal kroos (*Landoltia punctata*) en klein kroos (*Lemna minor*). Op *Lemna minor* was de ontwikkeling en reproductie van de bladluis het slechtst.

##### 4.1.1.2 gezonde start

Gezond uitgangsmateriaal, zonder bladluis is in ieder geval van belang, evt. bestrijding vooraf met insecticide/biologische (niet fytotoxische) zeep of mechanische bestrijding d.m.v. beregening.

##### 4.1.1.3 gezonde omgeving en teelt

Bij de keuze, en/of inrichting van de teelt-omgeving zou met de volgende aspecten rekening gehouden kunnen worden:

- i. potentiële bronnen in de omgeving, zoals winterwaardplanten (*Prunus* soorten, zie tabel 1) en zomerwaardplanten (alle waterplanten) moeten, indien mogelijk, zo veel mogelijk vermeden worden.
- ii. een omgeving met veel natuurlijke vijanden (o.a. lieveheersbeestjes en sluipwespjes) kan een vroege opbouw van de bladluizenpopulatie onderdrukken. Ook kan men de omgeving zo inrichten dat die natuurlijke vijanden faciliteren.
- iii. Bestrijding van bladluizen op winterwaarden in de omgeving.
- iv. Gezonde teelt; juiste voeding geeft sterkere planten.

**Tabel 4.1** In Nederland voorkomende Prunussoorten, en hun status als primaire (winter)waardplant voor *R. nymphaeae*, overgenomen uit Blackman & Eastop, 1994

soort		waard?
<i>Prunus armeniaca</i>	Abrikoos	wel
<i>Prunus avium</i> (L.) L.	Zoete kers	wel
<i>Prunus cerasifera</i> Ehrh.	Kerspruim	wel
<i>Prunus cerasus</i> L.	Zure kers	wel
<i>Prunus domestica</i> L.	Pruim	wel
<i>Prunus dulcis</i>	Amandelboom	wel
<i>Prunus laurocerasus</i> L.	Laurierkers	niet
<i>Prunus mahaleb</i> L.	Weichselboom	wel
<i>Prunus padus</i> L.	Gewone vogelkers	niet
<i>Prunus persica</i>	Perzik	wel
<i>Prunus serotina</i> Ehrh.	Amerikaanse vogelkers	wel
<i>Prunus spinosa</i> L.	Sleedoorn	wel

## 4.1.2 monitoren

### 4.1.2.1 monitoren van de waterleliebladluis

Allereerst is het van belang om de aanvang van de populatie op kroosvaren (*Azolla*) vast te stellen. Deze vindt plaats als er gevleugelde vrouwtjes vanaf de Prunus naar het gewas komen. Dit kan met gele platen, die in de buurt van het gewas geplaatst worden. In de buurt van Prunus is niet goed, omdat er veel andere bladluissoorten zijn die ook op Prunus overwinteren. Met het regelmatig controleren en vervangen van de platen is de start van de infectie goed te voorspellen. Hiervoor is wel deskundigheid in het herkennen van de bladluissoorten nodig, omdat er ook andere bladluissoorten zullen worden gevangen.

De volgende stap is het regelmatig bepalen hoe hoog de infectie in het gewas is. "Scouten in het gewas" zoals bij veldgewassen gebruikelijk is, zal bij grote oppervlakken aan waterteelt moeilijk zijn, lopen zonder problemen door het gewas is niet mogelijk. Het idee is om in geoogst materiaal de aantallen insecten te bepalen, waarbij een methode van steekproef-name en kwantificatie zal moeten worden uitgedacht, bijvoorbeeld per volume vers kroosvaren, of per oppervlak, (zie hoofdstuk 4.1.3.). Bijvoorbeeld het aantal luizen per plant of een bepaald oppervlakte/volume plantmonster te schudden met biologische zeep en de luizen eruit filteren, waarna het aantal luizen geteld kan worden. Deze uitspoel-methode zal nog moeten worden gevalideerd op waarde. Alle bladluizen in het gewas zijn waterleliebladluizen omdat er geen andere bladluizen bekend zijn die kroos (*Lemna*) en kroosvaren (*Azolla*) ook infecteren (Blackmann & Eastop, 1994). Er is dus geen verdere identificatie nodig van het uitspoelmonster en het lijkt daarmee een snelle en selectieve methode om de plaagdruk in het gewas te bepalen.

### 4.1.2.2 monitoren relevante natuurlijke vijanden van bladluizen

Om het zelfregulerend vermogen in te schatten, is het van belang om een beeld te hebben van het niveau aan de natuurlijke vijanden. Een mogelijke manier kan zijn: Het bepalen van het aantal bladluismummies, dit geeft een indicatie van de mate van parasiteren door sluipwespjes. Een methode is bijvoorbeeld: Een bepaald oppervlakte/volume te monstren, het monster te schudden met biologische zeep en de luizen/mummies eruit te filteren en/of het monster in een luizenval plaatsen, waarna microscopisch het aantal luizen/mummies kan worden bepaald. Deze uitspoel-/luizenval-methode zal nog moeten worden uitgetest.

## 4.1.3 besluitvorming, drempelwaardes

De actiedrempelwaarde, kan bijvoorbeeld worden uitgedrukt als x aantal luizen per plantje of per 10x10 cm<sup>2</sup>. Bij waterhyacint blijkt dat vanaf 20 luizen per plant een significante groeiremming



optreedt (Dong *et al.*, 2008). Dit zou kunnen worden omgerekend via bladoppervlakte naar *Azolla*. Verder zal voor het ontwikkelen van schadedrempels bovenstaande uitspoel-methode moeten worden getest. In de besluitvorming, of en wanneer plant protectie maatregelen worden genomen, wordt meegenomen:

- i. Wat is de temperatuur(verwachting) en regen(verwachting).
- ii. Welke en hoeveel bladluizen/natuurlijke vijanden zijn aanwezig.
- iii. Wat is het oogstregime.

#### 4.1.4 biologische, mechanische en andere niet-chemische bestrijding

##### 4.1.4.1 mechanische bestrijding

Door sommige kroostelers wordt beregening als een bestrijdingsstrategie van bladluis genoemd. In hoeverre deze methode toepasbaar en afdoende is zal onderzocht moeten worden. Een andere bestrijdingsstrategie kan zijn als *Azolla* vaker gespoeld/gefilterd en teruggepompt wordt in het systeem. Door het regelmatig wassen kan *Azolla* van een substantieel aantal plagen worden bevrijdt. De methoden lijkt vooral geschikt voor kroos (*Lemna*), en minder voor kroosvaren (*Azolla*). *Lemna* heeft gladde, enkelvoudige blaadjes. Wel heeft de bladluis de eigenschap om zich tijdens het zuigen zich als het ware vast te zetten aan het kroosblaadje. Kroosvaren (*Azolla*) daarentegen heeft samengestelde blaadjes die gekroesde rozetten vormen. Die bieden waarschijnlijk de bladluizen meer houvast en bescherming bij beregening. In experimenten zal dit verder moeten worden onderzocht.

De teelt van kroos (*Lemna*) en kroosvaren (*Azolla*) onderscheidt zich van veel andere teelten door de hoge groeisnelheid van het gewas. Frequent wordt een groot deel van het gewas afge oogst. Hierbij zal een deel van de bladluispopulatie verwijderd worden. Een idee is om het oogst-regime (hoe vaak wordt afge oogst, welk percentage van de standing crop) zodanig aan te passen dat de bladluizen onder controle blijven.

##### 4.1.4.2 biologische bestrijding, natuurlijke vijanden

Natuurlijke vijanden van bladluizen die wij zelf op *Azolla* hebben aangetroffen zijn: 11-stippelig lieveheersbeestjes *Coccinella undecimpunctata* (larve en adult, zie figuur 4.1a, b), zweefvlieg (larve), gaasvlieg (larve). Op *Lemna* troffen we door sluipwespjes geparasiteerde bladluizen aan.

Algemeen gangbare biologische bestrijding in voedselgewassen zijn: Sluipwesp, lieveheersbeestje (adult en larve), galmug (larve), zweefvlieg (larve), gaasvlieg (larve) en schimmels (zie o.a. website Koppert Biological Systems, Biobest Nederland B.V., en Entocare C.V. Wageningen), waarvan al een groot aantal commercieel verkrijgbaar zijn. Zeker in kasteelten is de inzet van die producten te overwegen, maar ook voor buitenteelten kan dit succesvol zijn. Wel zijn er verschillen bij de aquatische teelt t.o.v. de bodem-gebonden teelt.

Ten eerste is het bij waterplanten niet mogelijk om bijvoorbeeld bodemmijten te gebruiken, sommige natuurlijke vijanden kunnen namelijk verdrinken (m.n. predatoren zijn daardoor minder geschikt). De kans op een succesvolle biologische bestrijding is waarschijnlijk vooral mogelijk met sluipwespen (Barahoei *et al.*, 2014); dit eventueel in combinatie met bankerplanten.

Bankerplanten zijn planten waarop een populatie van nuttige natuurlijke vijanden voldoende alternatief voedsel (= voor te telen gewas niet-schadelijke insecten) vindt om periodes met weinig plaaginsecten te overleven. Bankerplanten kunnen extra voedsel voor nuttige insecten leveren, die hen helpt een stabiele populatie te behouden (Huang *et al.*, 2011, Allema *et al.*, 2020). Servaplant heeft in Nederland een bankerplant-concept ontwikkeld met *Artemisia vulgaris* (Bijvoet) onder de (productnaam PREDAT). Een monofage bladluis, Macrosiphoniella artemisiae, die onschuldig is voor landbouwgewassen wordt op bijvoet gekweekt en zorgt er voor dat een populatie natuurlijke vijanden in stand worden gehouden (Allema *et al.*, 2020).

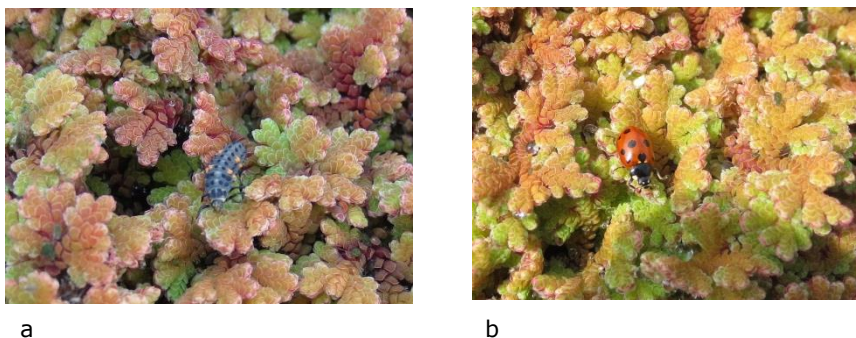
In het algemeen is er waarschijnlijk op *Lemna* minder houvast dan op *Azolla* voor de overleving van meerdere natuurlijke vijanden. In proeven op de Wageningen University & Research (2016) zijn twee verschillende commercieel leverbare sluipwespen (*Aphidius colimani* en *Aphidius matricariae*) uitgetest op de effectiviteit van bladluis parasitering op *Lemna*. De parasitoïde *A. colimani* gaf het beste resultaat, de reductie van de luizenpopulatie was 51 tot 98%. De reductie van de luizen was bij *A. matricariae* 13 tot 70% (zie §5.1).

*A. colemani* is vaak zeer effectief in de bestrijding van bladluizen. Uit de literatuur blijkt dat de doeltreffendheid in productiesystemen in kassen vaak wordt verminderd door vele stressfactoren, zowel biotische (planten, gastheren van bladluizen, andere natuurlijke vijanden) als abiotische (klimaat

en belichting) factoren. Om de doeltreffendheid van *A. colemani* in de biologische bestrijding van bladluizen in de toekomst te verbeteren, is een interdisciplinaire systeembenadering nodig die rekening houdt met de effecten van de plantaardige productie en het klimaat op alle trofische niveaus (Prado et al., 2015).

Ten tweede maakt het door de hoge frequentie van het oogsten, waardoor niet alleen bladluizen maar ook helaas natuurlijke vijanden afgevoerd, het moeilijker om de biologische bestrijding optimaal te houden.

Ook is het van belang dat de omgeving zodanig wordt ingericht, waarbij natuurlijke vijanden worden gefaciliteerd (Vattala et al., 2006, Wäckers, 2004, Wäckers et al., 2008). Natte natuurgebieden zoals uiterwaarden en laagveenmoerassen (wetlands) spelen een belangrijke rol voor economische reservoirs van belangrijke parasitaire sluipwespen (parasitoids) van (waterlelie)bladluizen (Tomanovic, Ž. et al., 2012).



**Fig. 4.1 a en b.** a: Larve van 11-stippelig lieveheersbeestje *C. Undecimpunctata* op *Azolla filiculoides*, b: Adult 11-stippelig lieveheersbeestje op *A. filiculoides* . foto's van Janneke Elderson ©

#### 4.1.4.3 Biologische middelen

Allema, et al. 2020 benoemt de minst belastende commerciële middelen voor de natuur met toelating voor de bladluisbestrijding in open teelten. Dit zijn producten op basis van azadirachtin (NeemAzal-T/S), flonicamid (Hinode, Teppeki), vetzuren, kaliumzouten (Flipper) en brandnetelextract (*Urtica* spp.) De effectiviteit van brandnetelextract is laag. De op korte termijn beschikbare natuurlijke middelen tegen bladluizen zijn volgens Allema, et al., 2020 kieselhoer, sinaasappel-, uien-, munt en lavendelolie. Deze middelen zijn commercieel beschikbaar, maar hebben nu een toelating voor andere toepassingen dan bladluisbestrijding. Munt-olie heeft de sterkste werking tegen bladluizen. De eventuele fytoxische effecten en nevenwerking van deze middelen op natuurlijke vijanden en bestuivers zal nog moeten worden uitgetest. Een mogelijkheid is om deze middelen toe te voegen aan bestaande middelen om de effectiviteit te vergroten. Dit wordt al gedaan met kieselhoer in combinatie met azadirachtin. Als de plantextracten en etherische oliën nog niet op de Europese lijst (Regulation 540/2011/EU) van toegelaten stoffen staan zal de toelating voor bladluisbestrijding niet op korte termijn gaan gebeuren.

Het natuurlijke middel NeemAzal-T/S bevat de werkzame stof azadirachtine-A 10g/l en grijpt in op de fysiologie van insecten waardoor de vervelling verstoord wordt en vrouwtjes onvruchtbaar worden en wordt gewonnen uit de zaden van de neem-boom *Azadirachta indica*. Net als pyrethrine wordt azadirachtin snel door zonlicht afgebroken, daarom is het het beste om het middel 's avonds toe te passen (Allema, et al. 2020).

Met het natuurlijke middel Raptol, een insecticide op basis van een natuurlijk pyrethrum 4.59g/l en koolzaadolie 825.3g/l is bij de Wageningen University & Research in 2018 een experiment gedaan voor de bestrijding van de waterleliebladluis in *Lemna*. De populatie reductie van de luizen was 99,9 %. De werkzame stof pyrethrine grijpt aan op het zenuwstelsel van met name vliegende insecten en wordt gewonnen uit gedroogde bloemen van *Tanacetum cinerariifolium*. Koolzaadolie maakt de cuticula van het insect weker, waardoor de pyrethrine beter in het insect kunnen dringen. Ook zorgt koolzaadolie voor een betere uitvloeiing van de pyrethrine (zie §5.2).

Het natuurlijke bestrijdingsmiddel Luisvrij, werkt op basis van natuurlijke vetzuren, de werkzame stoffen zijn kaliumzouten van vetzuren 1,02 w/w (10,2 g/l) (een zeep). Zepen zijn contactinsecticiden en zijn het meest effectief tegen insecten met een teer lichaam zoals bladluizen.

Helaas kunnen ook lieveheersbeestjes, gaasvliegen en andere natuurlijke vijanden worden gedood (Allema, et al. 2020). Bij de Wageningen University & Research is in 2018 een experiment gedaan met Luisvrij om de waterleliebladluis in *Lemna* te bestrijden. De populatie reductie van de luizen was 99,1 % (zie §5.3).

In tabel 4.1.1 staat een overzicht van alle middelen die toegelaten zijn voor bladluisbestrijding in open teelten met de bijbehorende milieueffecten (Allema, et al. 2020). Voor de wijze van toelating van bestrijdingsmiddelen in de *Azolla*-teelt zie §6.1.

**Tabel 4.1.1** Toegelaten middelen voor bladluis bestrijding in de aangegeven teelten (<https://toelatingen.ctgb.nl/nl/authorisations>) aangevuld met de bijbehorende milieueffecten uitgaande van 3-6% organische stof en toediening in maart-augustus (CLM-Milieumeetlat, milieumeetlat.nl), tabel overgenomen uit Allema et al., 2020.

Middelnaam	Werkzame stof(fen)	Expiratie-datum	Aardappel	Biet	Graan	Wortelen	Peulvruchten	Kool	Sla	Spinazie	Tulp	Lelie	Appel	Peer	Waterleven	Bodemleven	Grondwater	Bestuivers	Bestrijders
NeemAzal-T/S	azadirachtin	31-05-2022	x					x			x		x	x				A	A
Oikos	azadirachtin	31-05-2025							x	x								A	A
Hinode	fonicamid	01-05-2024	x	x	x		x	x			x	x	x	x				B	A
Teppeki	fonicamid	01-05-2024	x	x	x		x	x			x	x	x	x				B	A
Batavia	spirotetramat	30-04-2025	x			x		x	x		x	x	x	x				B	B
Movento	spirotetramat	30-04-2025	x			x		x	x	x	x	x	x	x				B	B
VSM spirotetramat 100 SC	spirotetramat	30-04-2025	x						x	x	x	x	x	x				B	B
Kompaan	paraffineolie	31-12-2021	x								x	x						B	B
Olie-H	paraffineolie	31-12-2021	x								x	x						B	B
Flipper	vetzuren, kaliumzouten		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x				?	?
Promanal-R concentraat	koolzaadolie, pyrethrinen	31-08-2021										x	x					?	B
Pyrethrum-biol spray	koolzaadolie, pyrethrinen	31-08-2021										x	x					?	B
Raptol	koolzaadolie, pyrethrinen	31-08-2021										x	x					?	B
Solabiol Insectenmiddel conc.	koolzaadolie, pyrethrinen	31-08-2021										x	x					?	B
Spruzit-R concentraat	koolzaadolie, pyrethrinen	31-08-2021										x	x					?	B
Primor	pirimicarb	01-12-2024	x	x	x	x	x	x	x	x				x				B	A
Sivanto Prime	flupyradifuron	09-12-2026							x			x	x	x				B	?
Antilop	acetamiprid	01-01-2021	x									x	x					B	C
Gazelle	acetamiprid	01-01-2021	x					x				x	x	x				B	C
VSM acetamiprid 20 WG	acetamiprid	01-01-2021	x					x				x	x	x					
Cyperkill 250 EC	cypermethrin	31-10-2020			x													C	C
Decis	deltamethrin	01-01-2023	x		x							x	x					B	C
Decis Protech	deltamethrin	31-10-2020	x		x							x	x					B	C
Imex-Deltamethrin E.C. 25	deltamethrin	01-01-2023	x		x							x	x					B	C
WOPRO deltamethrin	deltamethrin	01-01-2023	x		x							x	x					B	C
Sumi-Alpha 2.5 EC	esfenvaleraat	01-12-2020	x		x							x	x					C	C
Sumicidin Super	esfenvaleraat	01-12-2020	x		x							x	x					C	C
Barliard	thiacloprid	03-08-2020	x	x								x	x					B	C
Calypto	thiacloprid	03-08-2020	x	x		x	x	x				x	x	x				B	C
Dadian	thiacloprid	17-01-2020	x	x								x	x	x					
Vydate 10G 2)	oxamyl	31-01-2022	x	x														C	C
Nemathorin2)	fosthiazaat	31-10-2020	x															C	?
Force3)	tefluthrin	01-05-2021		x														C	C
Goldorak	lambda-cyhalothrin	01-10-2021	x		x						x	x	x					C	C
Karate Zeon	lambda-cyhalothrin	01-10-2021	x		x						x	x	x					C	C
Ninja	lambda-cyhalothrin	01-10-2021	x		x						x	x	x					C	C
Closer	Sulfoxaflor	18-08-2026	x	x				x				x	x					C	C
Sequoia	Sulfoxaflor	18-08-2026	x					x				x	x						

Uitleg uit CLM-Milieumeetlat, milieumeetlat.nl

Nuttige organismen

- A Bruikbaar in geïntergr. Teelt
- B Beperkt bruikbaar
- C Niet bruikbaar
- ? Onbekend

Waterleven, bodemleven en grondwater

- 0-100 MBP (groen)
- 100-1000 MBP (geel)
- >1000 MBP (rood)

MBP=Milieubelastingpunten

Entomopathogene schimmels (EPF) (*Metarhizium*, *Beauveria*, *Verticillium*) zouden kunnen worden ingezet voor de biologische bestrijding van de waterleliebladluis of in combinatie (1:1) met Neemolie (1%) (Halder et al., 2020). Neemolie bevat van nature ca. 35 biologisch actieve bestanddelen, zoals Quercetine, Nimbosterol en Azadirachtine. Daarnaast zitten er in Neemolie verschillende vetzuren zoals stearinezuur, linoleenzuur en palmitinezuur. Halder et al., 2020 hadden het beste resultaat met *Lecanicillium lecanii* (*Verticillium*), 31 uur LT50 en bij de drie genoemde EPF in combinatie met 1:1 Neemolie, 23 tot 36 uur LT50 (zie Tabel 4.1.2). Neemolie (als natuurlijke stof) is niet toegelaten als gewasbeschermingsmiddel in Nederland (Allema et al., 2020).

Van Lenteren et al., 2018 hebben een overzichtstabel gemaakt van geregistreerde microbiële biologische bestrijdingsmiddelen met waar ze zijn toegelaten (in Australië, Brazilië, Canada, Europese Unie, Japan, Nieuw-Zeeland en/of de Verenigde Staten van Amerika). In Nederland is het middel BotaniGard WP (zie bijlage 9 milieumeetlat) verkrijgbaar. BotaniGard WP is een biologisch insecticide op basis van de schimmel *Beauveria bassiana* stam GHA voor de bestrijding van een breed scala aan insecten, onder andere trips, wittevlieg en luizen in bedekte en onbedekte teelten. De productie van BIO1020 (strain Met52, *Metarhizium brunneum*) is in april 2020 stopgezet.

Voor de wijze van toelating van bestrijdingsmiddelen in de *Azolla*-teelt zie §6.1.

**Tabel 4.1.2** Bio-efficiëntie van verschillende Entomopathogene schimmels (EPF) alleen en in combinatie met neemolie (1:1) tegen *R. nymphaeae*, tabel overgenomen uit Halder et al., 2020.

Biopesticides	Heterogeneity		Regression equation (Y=)	LT <sub>50</sub> (hr)	Fiducial limit
	df	$\chi^2$			
<i>Metarhizium anisopliae</i>	6	0.524	2.570X – 0.777	43.95	53.69 – 35.98
<i>Beauveria bassiana</i>	7	0.512	2.792X – 0.212	51.90	64.81 – 41.56
<i>Lecanicillium lecanii</i>	5	2.408	2.210X – 1.701	31.09	39.27 – 24.62
Neem oil (1%)	6	2.499	2.519X – 0.922	41.59	50.71 – 34.10
<i>Metarhizium anisopliae</i> + Neem oil	5	0.402	2.438X – 1.509	27.03	34.45 – 21.22
<i>Beauveria bassiana</i> + Neem oil	5	0.676	1.990X – 0.932	36.04	45.81 – 28.36
<i>Lecanicillium lecanii</i> + Neem oil	5	0.903	3.189X – 0.622	23.60	29.40 – 18.94

#### 4.1.5 IPM-Principe 5 t/m 8

IPM-Principe 5: Specifiek, zo min mogelijk bijeffecten op mens, non-target organisme en milieu, Principe 6: Pesticiden gebruik zo laag mogelijk, Principe 7: Anti-resistentie maatregelen indien pesticiden worden gebruikt en Principe 8: Evaluatie van gebruikte methodes, hangen af van het welslagen van Principe 1 t/m 4. Na het welslagen van Principe 1 t/m 4 zal verder onderzoek moeten worden gedaan naar Principe 5 t/m 8.

#### 4.1.6 IPM-Principe 6 Pesticiden (chemische bestrijding)

Een chemisch middel dat gebruikt wordt in de open teelt tegen bladluizen is bijvoorbeeld Vydate 10G, een granulaat tegen schadelijk aaltjes met nevenwerking tegen schadelijke insecten zoals ritnaalden, luizen en coloradokevers. De werkzame stof is oxamyl 10%. In het veiligheidsinformatieblad volgens verordening (EG) Nr. 1907/2006 VYDATE™ 10 staat vermeld "Acute toxiciteit, Categorie 2 H300: Dodelijk bij inslikken. Acute toxiciteit, Categorie 3 H331: Giftig bij inademing. (Chronisch) Aquatisch gevaar op lange termijn, Categorie 3 H412: Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. De vraag of dit middel wordt toegelaten in de *Azolla*-teelt is twijfelachtig (Voor de wijze van toelating van bestrijdingsmiddelen in de *Azolla*-teelt zie §6.1.).

In tabel 4.1.1 staan meerdere chemische middelen die toegelaten zijn voor bladluisbestrijding in open teelten met de bijbehorende milieueffecten (Allema, et al., 2020).

---

## 4.2 IPM van Azollakever, *Stenopelmus rufinasus*

### 4.2.1 preventie en onderdrukking

Het is belangrijk om van gezond uitgangsmateriaal uit te gaan. In de literatuur is geen informatie bekend over resistente soorten kroosvaren (*Azolla*) tegen de Azollakever. Een preventieve optie kan zijn om *Azolla* aan het begin van de teelt te behandelen met een biologisch bestrijdingsmiddel, bijvoorbeeld producten op basis van Bt, *Bacillus thuringiensis* met effectieve stammen tegen larven van kevers en kevers zoals, Green of Cry3A (Gerritsen, 2003) of Cry1Ia-type; toxine afkomstig van een Braziliaanse Bt-stam (Grossi-de-Sa *et al.*, 2007, Lazarte *et al.*, 2021)

Het is verder van belang om de buitenteelt niet in de buurt van gebieden te plaatsen waar *Azolla* in de natuur aanwezig is en daar problemen oplevert. De kans bestaat dat overheden, bv. waterschappen, de *Azolla* zullen gaan bestrijden met de Azollakever (*S. rufinasus*) (Hill, 1999). Door zo'n maatregel zal de ziektedruk van de Azollakever op de kroosvaren-teelt in de nabije omgeving heel groot worden.

### 4.2.2 monitoren

De aanvang van de populatie vast stellen is de eerste stap bij monitoring. De opties zijn: 1) Het idee is om in geogost materiaal de aantallen larven en adults (volwassen kevers) te bepalen, waarbij een methode van steekproef-name en kwantificatie zal moeten worden uitgedacht, bijvoorbeeld per volume vers kroosvaren, of per oppervlakte, bijvoorbeeld het aantal larven/adults per plant bepalen. 2) Een ander idee is een bepaald oppervlakte/volume te bemonsteren, te schudden met biologische zeep en de larven/adults eruit filteren, waarna het aantal larven/adults microscopisch kan worden bepaald. Deze uitspoel-methode zal nog moeten worden uitgetest. 3) De volgende stap is dan tijdens het seizoen regelmatig bepalen hoe hoog de infectie in het gewas is: "Scouten in het gewas", zoals bij veldgewassen gebruikelijk is, waarbij steeds bovengenoemde uitspoelmethode kan worden gebruikt.

### 4.2.3 besluitvorming, drempelwaardes

Voor het bepalen van de drempelwaarden (actie/schade) zal uitgezocht moeten worden hoeveel schade één larve/adult kever door vraat aanricht; wat is nog acceptabel en wanneer treedt er schade op. Daarvoor is het nodig het aantal larven/adults per plantje of per oppervlakte tijdens de teelt van kroosvaren te bepalen, gekoppeld aan de hoeveelheid vraat (gram droge stof) per plantje/oppervlakte.

In McConnachie *et al.* (2004) wordt beschreven hoe succesvol de Azollakever is in de biologische bestrijding van kroosvaren (*A. filiculoides*). De oppervlakte van het gebied met kroosvaren (*Azolla*) in Zuid-Afrika dat moest worden bestreden bedroeg 203,5 ha. Gemiddeld waren de gebieden met kroosvaren onder controle in 6.9 ( $\pm 4.3$ ) maanden, waarbij 24.700 snuitkevers waren vrijgelaten. Dit heeft geresulteerd in het lokaal uitsterven van kroosvaren in 81% van de 112 gebieden. Vijf jaar na het uitzetten van de Azollakever is kroosvaren niet langer een bedreiging meer voor watersystemen in Zuid-Afrika. In vergelijking met andere biologische bestrijdingsprogramma's van waterplanten, behoort het programma tegen *A. filiculoides* in Zuid Afrika tot de meest succesvolle gevallen waar ook ter wereld. Dit zegt iets over de vraatzucht van de Azollakever. Er is in de literatuur verder geen gedetailleerde informatie te vinden over de vraat van één larve of adult per gram Droge stof dag<sup>-1</sup>. D.m.v. bovenstaande informatie en experimenteel onderzoek zal kunnen worden berekend wat de actie- en schadedrempels zijn.

In de besluitvorming zal ook worden meegenomen:

- i. Temperatuur(verwachting), regen(verwachting).
- ii. De potentiële weerbaarheid van de omgeving van de aanwezige natuurlijke vijanden voor zover deze bestaan.

- iii. Het oogstregime; deze zal zodanig worden ingericht dat de ziektedruk minimaal is. D.m.v. experimenten en berekeningen zal tot een optimaal economisch haalbaar oogstregime moeten worden gekomen.

#### 4.2.4 biologische, mechanische en andere niet-chemische bestrijding

Voor de biologische bestrijding wordt gekeken naar methoden die momenteel gebruikt worden bij de succesvolle bestrijding van andere snuitkevers, zoals:

- i. Bestrijding met Bt zie §4.3.1. (Gerritsen, 2003 en Grossi-de-Sa *et al.*, 2007). In (lab)experimenten kunnen de Bt-stammen die werkzaam zijn tegen *Coleoptera* worden getest. Als het product met deze stam nog niet in Nederland is toegelaten, zal het product uit een ander land moeten worden gehaald en in het lab moeten worden getest. Van belang is dat er een redelijke kans is op registratie in Nederland.
- ii. Entomopathogene nematoden: Georgis *et al.*, (2006) hebben aangetoond dat entomopathogene nematoden, *Heterorhabditis* en *Steinernema* soorten werkzaam zijn tegen de taxuskever, *Otiorhynchus sulcatus* (*Coleoptera: Curculionidae*). Van Tol & Raupp (2006) en Van Tol *et al.* (2004) vonden dat in het algemeen in veldproeven *Heterorhabditis* soorten beter werkten dan *Steinernema* soorten in het bestrijden van de larven. Ze toonden verder aan dat niet alle *Heterorhabditis* soorten even effectief zijn in de toepassingen in het voorjaar vergeleken met het najaar. Een bestrijding in de zomer was helaas niet effectief tegen de pas uitgekomen larven. Ook de toepassing in de herfst had maar een beperkt succes als gevolg van lagere bodemtemperaturen. De bodemtemperatuur wordt beschouwd als de meest beperkende factor voor een succesvolle bestrijding van de plaag. De laatste jaren zijn er wel nieuwe producten beschikbaar die ook effectief zijn bij temperaturen tot 12 °C. Al met al is de bestrijding met entomopathogene nematoden niet de meest succesvolle methode. Bij een andere benadering d.m.v. het zogenaamde Lure & Infect systeem is het mogelijk de bestrijding met entomopathogene nematoden te verbeteren (Van Tol *et al.* (niet gepubliceerd)).

Dit betekent voor de *Azolla*-teelt dat voor de biologische bestrijding van de Azollakever alleen experimenteel onderzoek zal worden verricht met entomopathogene nematoden als 2<sup>e</sup> optie, wanneer er geen betere optie voor handen is. De structuur van *Azolla* zorgt er wel voor dat de nematoden niet direct zullen wegspoelen, i.t.t. de gladde structuur van kroos (*Lemna*) waar de nematoden direct van af zouden kunnen spoelen.

- iii. Entomopathogene schimmels (EPF) (*Verticillium*, *Metarhizium*, *Beauveria*) zouden kunnen worden ingezet voor de biologische bestrijding van de larven van de Azollakever door ze eerst te lokken en vervolgens te infecteren. Teulon, *et al.* (2008) ontwikkelden het Lure & Infect systeem, waarbij de producten BIO1020 (*Metarhizium brunneum*) (zie bijlage 9 milieumeetlat) en Botanigard (*Beauveria bassiana*) (zie bijlage 9 milieumeetlat) zijn getest bij de bestrijding van trips.

Van Tol *et al.* (niet gepubliceerd) ontwikkelden een nieuwe taxuskeverval/schuilplaats waarmee in combinatie met het EPF product BIO 1020 bestrijding van de taxuskever (*Otiorhynchus sulcatus*) mogelijk zou kunnen zijn. Na een blootstelling van 8 dagen was de mortaliteit 45% en van 15 of 22 dagen was de mortaliteit 50%.

Looman & Polmans, 1988 zagen dat granulaat minder effect heeft dan de sporensuspensie van *Metarhizium anisopliae*. Ishak *et al.* 2019 vond goede resultaten met een nieuw isolaat van *Metarhizium anisopliae* (MET-GRA4 Strain) "as a potential" tegen de Red Palm Weevil (*Coleoptera: Dryophthoridae*). Güerri-agulló *et al.* 2011 gebruiken een bepaalde ontwikkelde "solid formulation" van *Beauveria bassiana* met ook goede resultaten voor de biologische bestrijding van de Red Palm Weevil.

In eerste instantie zullen in lab-experimenten deze producten en systemen moeten worden getest op de larven- en keverbestrijding van de Azollakever.

- iv. Commerciële biologische middelen die op de markt zijn gebracht voor andere (kever)soorten kunnen ook werkzaam zijn tegen de Azollakever. Van Lenteren *et al.* 2018 geven een overzicht van natuurlijke vijanden en microbiologische en biologische bestrijdingsmiddelen tegen welke plagen ze werkzaam zijn en commercieel beschikbaar zijn in verschillende landen van de wereld. Commerciële interessante producten die in Nederland op de markt zijn o.a. Preferal WG-*Isaria fumosorosea*; biologisch insecticide tegen alle stadia van de kaswittevlug, XenTari®WG; *Bacillus thuringiensis* var. Aizawati (zie bijlage 9 milieumeetlat), B-Green (*Heterorhabditis*

---

*bacteriophora*); bestrijdt keverlarven in de grond, Spyro® (België); contactinsecticide gebaseerd op natuurlijke pyrethrinen, Addit; emulgeerbare plantaardige olie, welke verbetert en verlengt gewasbeschermingsmiddelen, Entonem (*Steinernema feltiae*), Larvanem (*Heterorhabditis bacteriophora*), Capsanem (*Steinernema*); 14-33°C in de grond werkzaam, Botanigard; biologisch insecticide op basis van *Beauveria bassiana* GHA, Raptol, BIO1020 (strain Met52, *Metarhizium brunneum*).

Of genoemde middelen zijn toegelaten in een waterige omgeving voor de commerciële teelt zal moeten worden onderzocht (zie §6.1).

#### 4.2.5 IPM-Principe 5 t/m 8

IPM-Principe 5: Specifiek, zo min mogelijk bijeffecten op mens, non-target organisme en milieu, Principe 6: Pesticiden gebruik zo laag mogelijk, Principe 7: Anti-resistentie maatregelen indien pesticiden worden gebruikt en Principe 8: Evaluatie van gebruikte methodes, hangen af van het welslagen van Principe 1 t/m 4. Na het welslagen van Principe 1 t/m 4 zal verder onderzoek moeten worden gedaan naar Principe 5 t/m 8.

#### 4.2.6 IPM-Principe 6 Pesticiden (chemische bestrijding)

Een combinatie van een chemisch bestrijdingsmiddel met biologische bestrijdingsmiddelen kan worden ingezet, als de biologische middelen alleen niet afdoende werken. Hellwege & Hungenberg, 2016 hebben een patent op A) fluopyram met B) *Bacillus firmus* en C) met minstens één biologisch bestrijdingsmiddel geselecteerd uit de groep van *Bacillus thuringiensis* en *Metarhizium anisopliae*, waarbij A,B en C samen zorgen voor een synergistisch effect. De vraag of dit middel wordt toegelaten in de *Azolla*-teelt zie daarvoor §6.1 voor de wijze van toelating van bestrijdingsmiddelen in kleine teelten via een procedure van het NVWA.

---

## 4.3 IPM van Kroosmot/vlinder, *Cataclysta lemnata*

### 4.3.1 preventie en onderdrukking

Het is belangrijk om van gezond uitgangsmateriaal uit te gaan. In de literatuur is geen informatie bekend over resistente soorten kroos. Een preventieve optie kan zijn om het kroos aan het begin van de teelt te behandelen met een biologische bestrijdingsmiddel bijvoorbeeld XenTari® (zie bijlage 9 milieumeetlat), waarbij de werking is gebaseerd op eiwitkristallen van *Bacillus thuringiensis* ssp. *Aizawai* (Bt). Deze eiwitkristallen worden door de rupsen samen met het kroos opgegeten. Na inname komt in het spijsverteringskanaal via enzymatische afbraak toxines vrij, waarna de rupsen binnen één uur na inname verlamd raken en de dood volgt. Van Tol, (1995) heeft reeds aangetoond dat deze bestrijdingsmethode werkt voor de kroosvlinder. D.m.v. experimenteel onderzoek zal nog moeten worden uitgezocht wanneer/hoe vaak en met welke concentratie de bestrijding met Bt het beste kan worden uitgevoerd in de Azollateelt.

Verder is het van belang na te gaan wat de potentiële bronnen (waardplanten) in de omgeving zijn van de kroosvlinder en indien mogelijk deze zoveel mogelijk vermijden. In afwezigheid van kroos kan namelijk een kroospopulatie meerdere jaren in stand blijven (Van der Velde, 1988).

### 4.3.2 monitoren

De aanvang van de kroosvlinderpopulatie op *Azolla* vast stellen is de eerste stap in monitoring. Dit kan op verschillende manieren worden gedaan:

- i. Waarnemen en eventueel het aantal witte (mannetjes)vlinders bepalen, op/boven het kroos zijn ze duidelijk te zien. Het tijdstip van de dag is wel van belang vanwege het dagritme, de motten zwermen vanaf de late middag tot soms laat in de avond boven het kroos (Svensson, 2003)
- ii. Vlinders kunnen worden gevangen m.b.v. vangplaten, waarbij elke dag bijvoorbeeld wordt gemonitord hoeveel kroosvlinders er zijn gevangen. Welke kleur vangplaat hiervoor het meest geschikt is wordt nog uitgetest. In 2017 zijn bij de Wageningen University & Research een monitorings experiment uitgevoerd met 8 runs. De meeste motten (76%) werden gevangen bij Uv violet 365 nm, waarbij 2 keer zoveel vrouwtjes als mannetjes worden gevangen. Bij de blauw-licht 460 nm werden 24% van de motten gevangen. Met de sticky-plates (groen, geel, kobalt blauw en lichtblauw) zijn geen mannetjes motten gevangen. Met de sticky-plates (kobalt blauw en lichtblauw) zijn geen vrouwtjes motten gevangen. Monitoren met Uv violet 365 nm geeft het meeste perspectief. Dit was een eerste pilot experiment.  
Bjerge et al., 2021 ontwikkelden een geautomatiseerde lichtval om motten (*Lepidoptera*) te monitoren. Een computerprogramma genaamd Moth Classification (MCC) is gebaseerd op een vision-based tracking algoritme, waarbij met deep learning-analyse van de opgenomen beelden het aantal insecten worden gevolgd, geteld en de mottensoorten worden geïdentificeerd.
- iii. Een andere mogelijkheid is vlinders te vangen m.b.v. feromoonvalletjes, waarbij het aantal kan worden bepaald. Het feromoon is echter nog niet geïdentificeerd en kan dus nog niet gebruikt worden voor monitoring. Feromoonvallen kunnen ook worden geplaatst om inzicht te krijgen in de populatiedynamica van de vlinderpopulatie (Nwanze et al., 2021). Zij vonden dat de infectie hoger werd van de Fall Army Worm (*Lepidoptera: Nuctuidae*) door intercropping management in de teelt van mais met cassave.
- iv. Verder kan ook het aantal rupsen (in (blad)kokers) worden bepaald. Een methode, die nog verder zal moeten worden uitgetest, is het uitspoelen van een oogstmonster (uitspoelmonitoring). Wagner & Hoyt, 2022, noemen dat rupsen gewoon het vermijden om gedetecteerd te worden de meest gebruikte verdedigingsstrategie is. De strategie van rupsen is om zich te vermommen als onverteerbare objecten, of schuilplaatsbouw (bv. bladkokers) en talloze andere gedragsvormen. Dit is een bewijs van de opmerkelijke power van de natuurlijke selectie om deze fenotypes te vormen mede onder de invloed van visuele predatoren evolueren deze en andere insecten.



#### 4.3.3 besluitvorming, drempelwaardes

Drempelwaarden zullen worden gebaseerd op vraat per dag. Hoeveel vraat is acceptabel in een gewas (schadedrempel). Van der Heide *et al.*, 2006 heeft onderzoek gedaan naar o.a. vraat per dag van het 3<sup>de</sup> larvale stadium bij verschillende temperaturen uitgedrukt in gram Droge stof dag<sup>-1</sup>. Aan de hand van deze studie kan mogelijk worden berekend wat de actiedrempel- en schadedrempelwaarden zijn, eventueel aangevuld met experimenteel werk. Een methode om te bepalen in welk larvale stadium de rupsen zijn kan bovengenoemde uitspoelmonitoring een optie zijn.

In de besluitvorming zal ook worden meegenomen:

- i. Temperatuur(verwachting), regen(verwachting).
- ii. De potentiële weerbaarheid van de omgeving van de aanwezige natuurlijke vijanden, met als kanttekening dat door de onderwaterstadia van de rupsen de bereikbaarheid moeilijker is voor de natuurlijke vijanden.
- iii. Het oogstregime; deze zal zodanig worden ingericht dat de ziektedruk minimaal is. D.m.v. experimenten en berekeningen zal tot een optimaal economisch haalbaar oogstregime worden gekomen.

#### 4.3.4 biologische, mechanische en andere niet-chemische bestrijding

Biologisch bestrijding in buitenteelten:

- i. Predatie van de vlinders door vogels en vleermuizen. Svensson *et al.*, (2003) meldt dat in het zuiden van Zweden kwikstaarten (*Motacilla alba*) overdag en vleermuizen (*Myotis daubenton*) 's avonds boven wateroppervlakken met kroos vliegen. Omdat beide op insecten jagen zijn ze een potentiële predator. In Nederland zijn zwaluwen vaak jagend boven wateroppervlaktes te zien, mogelijk staan kroosvlinders op het menu.
- ii. Predatie van larven en poppen door amfibieën: Romano *et al.*, (2012) meldt dat in een karstmeer in Italië de Italiaanse kamsalamander (*Triturus Carnifex*) is gespecialiseerd in het eten van de juveniele stadia van de kroosvlinder.
- iii. Predatie juveniele stadia door vissen kan een mogelijkheid zijn, hierbij geen vissen uitzetten die ook kroos eten.
- iv. Bestrijding van de rupsen met Bt (*Bacillus thuringiensis*), zie §4.2.1. (van Tol, 1995). In WUR-experimenten is in 2016 en 2017 het middel Xentari® (zie bijlage 9 milieumeetlat) getest. De biologische bestrijding met *Bacillus thuringiensis* (XenTari®) van de kroosmot op *Lemna* werkte uitstekend in de kas en ook buiten in de semi-praktijkproef. Na de behandelingen met XenTari® werd bij alle behandelde bakken in de experimenten maar één levende rups gevonden (zie §5.4).

Plata-Rueda *et al.*, 2020 vond ook goede resultaten met Bt bij de bestrijding van de Nettle Caterpillar, *Euprosteria elaeasa* (Lepidoptera: Limacodidae) in de palmoliecultuur. De insecten dodende werking van vier Bt-stammen voor de bestrijding van *E. elaeasa* werd bestudeerd. De Bt-stammen HD-1 var. *kurstaki*, SA-12 var. *kurstaki*, ABTS-1857 var. *aizawai*, en GC-91 var. *aizawai* veroorzaakten sterfte, verminderde de overleving en had een anti-voedings effect op dit insect, met het potentieel om de veldpopulaties te controleren. De rupsoverleving bedroeg 99% zonder blootstelling aan de Bt-stammen, en daalde tot 52-23% LC50 en 10-1% LC90 na 48 uur.

Biologische bestrijding in kasteelten:

- i. Bestrijding met Bt zie §4.2.1. (van Tol, 1995). In WUR-experimenten is in 2016 en 2017 het middel Xentari® (zie bijlage 9 milieumeetlat) getest (zie §4.3.4 Biologisch bestrijding in buitenteelten punt iv. en §5.4)
- ii. Entomopathogene nematoden: Georgis *et al.*, (2006) hebben aangetoond dat entomopathogene nematoden, *Steinernema carpocapsae* en andere aaltjessoorten, werkzaam zijn tegen cocon-fruitmot rupsen *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) in natuurlijke en kunstmatige substraten. In boomgaarden zijn de belangrijkste beperkende factoren de lage temperatuur (<15 ° C) en verdroging. De nematoden zijn ook doeltreffend bij het beheersen van de cocon-fruitmot rupsen in groentenbakken, waarbij ze worden ondergedompeld bij een temperatuur van 15-25 ° C gedurende 24 uur. Voor de bestrijding van kroosmot rupsen zijn

---

entomopathogene nematoden waarschijnlijk geen optie. Het is waarschijnlijk dat de nematoden meteen naar de bodem zinken, omdat ze op *Azolla* weinig houvast hebben. Indien geen ander goede biologische bestrijdingsmethode wordt gevonden zal hier naar worden gekeken.

#### 4.3.5 IPM-Principe 5 t/m 8

IPM-Principe 5: Specifiek, zo min mogelijk bijeffecten op mens, non-target organisme en milieu, Principe 6: Pesticiden gebruik zo laag mogelijk, Principe 7: Anti-resistentie maatregelen indien pesticiden worden gebruikt en Principe 8: Evaluatie van gebruikte methodes, hangen af van het welslagen van Principe 1 t/m 4 en is op dit moment niet relevant in dit stadium. Na het welslagen van Principe 1 t/m 4 zal verder onderzoek moeten worden gedaan naar Principe 5 t/m 8.

#### 4.3.6 IPM-Principe 6 Pesticiden (chemische bestrijding)

Een nieuw chemisch middel bijvoorbeeld dat gebruikt wordt tegen rupsen is Verismo®. Citaat uit website BASF "Met Verismo is er een nieuw sterk middel tegen rupsen voor sier- en groentegewassen onder glas. De actieve stof is metaflumizone (240 g/), welke behoort tot de chemische groep van semicarbazones. Verismo® beschikt over een uniek werkingsmechanisme. Het middel zit in een aparte subgroep IRAC 22B, waarin geen andere middelen ingedeeld zijn. Verismo® heeft zowel een contact- als maagwerking en grijpt in op het zenuwstelsel van het insect. Na opname 'verlamt' het insect en stopt het snel met vreten, hierdoor zal de rups verhongeren en na enkele dagen sterven. Verismo® is niet systemisch en beperkt translaminair. Verismo® heeft een toelating gekregen voor de bestrijding van rupsen van de Turkse mot. Daarnaast heeft het ook een effect op onder andere voorkomende rupsen, op *Duponchelia*, op *Tuta absoluta*, op Wantsen en op de Taxuskever". De vraag of dit middel wordt toegelaten in de *Azolla*-teelt zie daarvoor §6.1 voor de wijze van toelating van bestrijdingsmiddelen in kleine teelten via een procedure van het NVWA.

---

# 5 Experimenten Wageningen University & Research (WUR)

## 5.1 Experiment: Biologische bestrijding van *Rhopalosiphum nymphaeae* (waterleliebladluis) op *Lemna* met twee parasitoïden *Aphidius colimani* en *Aphidius matricariae*

### 5.1.1 Doel geïntegreerde gewasbescherming

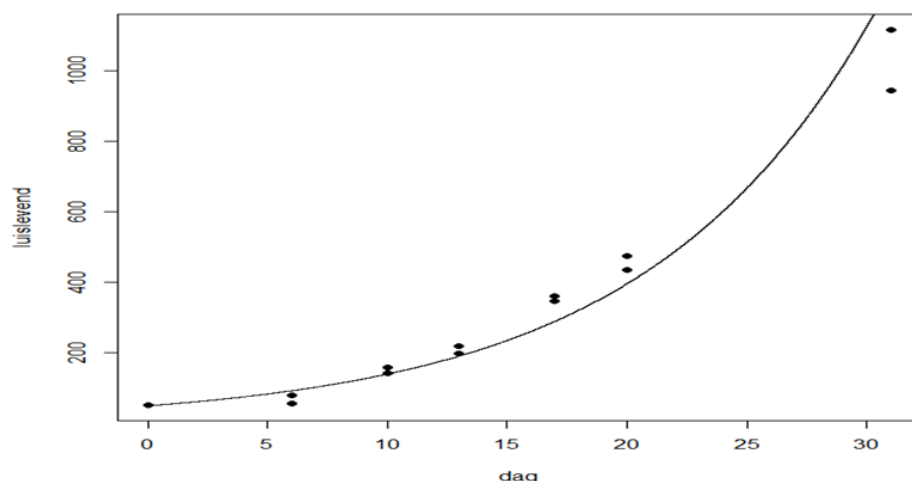
Uittesten van een biologische bestrijdingsmethode voor IPM stap 4. Chemische bestrijdingsmiddelen moeten zo veel mogelijk vermeden worden. Duurzame biologische, mechanische en andere niet-chemische methodes hebben de voorkeur, zo lang ze tot een bevredigend resultaat leiden.

### 5.1.2 Uitgangsmateriaal

De experimenten werden uitgevoerd in de kas en onder veldomstandigheden aan de Wageningen University & Research, Nederland. De statistische analyses van de studies werden uitgevoerd in Genstat 64-bit Release 20.1 (PC/Windows 8-10) ANOVA, Fisher's unprotected least significant difference test (5% niveau), Pairwise testing: homogene groepen in tprob, P=0.05. In het voorjaar van 2016, 2017 en 2018 werd *Lemna minor* (accessie *L. minor* 8627) in zes buitenbaden (2mx3m) gekweekt, voedingsstoffen werden toegevoegd,.

Een populatie van adulten en nimfen van *Rhopalosiphum nymphaeae* zijn verzameld in juli 2016 buiten in de *L. minor*-experimenten en in de kas vermeerderd op *L. minor* bij 18-20°C overdag en 15-16°C 's nachts met een fotoperiode van 16:8 (L:D) in 5-10-L bakken. In 2017 werd de reproductie van de luizen overgebracht naar het laboratorium onder niet gecontroleerde laboratoriumomstandigheden (temperatuur 15-30°C, dag-nacht cyclus 16-8 h).

De populatieontwikkeling van de waterleliebladluis (*Rhopalosiphum nymphaeae*) (zonder bestrijding) is gemeten ter voorbereiding op de experimenten met de biologische bestrijding met twee bladluis-parasitoïden *Aphidius colimani* en *Aphidius matricariae* en biologische middelen Raptol en LuisVrij . De opzet was n=2, met een beginpopulatie van 50 luizen op verse *L. minor* (geoogst op 20/10/2016 uit 3 kroos-baden buiten) in plastic bakjes (176 cm<sup>2</sup>). De luizen zijn op 20/10/2016 aan het eind van de dag op kroos gezet in de plastic bakjes en geplaatst in een net-kooi (30x30x30 cm) in een kas (18-20 °C 16 uur licht, 16°C 8 uur donker, dag 0 = 21/10/2016). Het aantal luizen is bepaald m.b.v. een binoculair bij 8x vergroting op 27/10/2016 (dag 6), op 31/10/2016 (dag 10), op 3/11/2016 (dag 13), op 7/11/2016 (dag 17), op 10/11/2016 (dag 20) en de laatste beoordeling was op 21/11/2016 (dag 31) (zie Fig. 5.1).



**Fig. 5.1** Populatieontwikkeling van de waterleliebladluis (*Rhopalosiphum nymphaea*) zonder bestrijding (18-20 °C 16 uur licht, 16°C 8 uur donker) n=2, beginpopulatie 50 luizen, in plastic bakjes (176 cm<sup>2</sup>) op verse *L. minor* (geoogst op 20/10/2016). De plastic bakjes waren geplaatst in een net-kooi (30x30x30 cm) in een kas. Dag 0 = 21/10/2016.

Lijn: A two-parameter model of exponential increase of aphids ( $y$ ) is a function of time ( $t$ ), fit:  $Y=Y_0e^{bt}$  ( $b$  is the multiplication rate =0.104631,  $Y_0=EXP(3.887775)=48.802$ , thus model is  $Y=48.802e^{0.104631t}$ ).

### 5.1.3 Materiaal en Methode

Twee bladluis-parasitoïden, *Aphidius colemani* (Viereck) en *Aphidius matricariae* (Haliday) (Hymenoptera: Aphidiidae) zijn gebruikt in de experimenten.

Werkings; volwassen vrouwelijke parasitoïden parasiteren de bladluizen.

productnamen; APHIPAR-M, APHIPAR A., flesjes met respectievelijk 5.000 en 1.000 mummies, firma Koppert Biological Systems, Nederland.

Experiment 1 werd uitgevoerd in de kas bij 18-20°C overdag en 15-16°C 's nachts met een fotoperiode van 16:8 (L:D) in plastic bakjes (176 cm<sup>2</sup>) gevuld met water en verse *L. minor* verzameld op 14 november 2016. Opzet experiment (n=4, behandeling *A.col*, behandeling *A.mat*, controle met bladluizen); twaalf bakjes met *Lemna* in leidingwater en toegevoegd 50 willekeurig geselecteerde bladluizen per bakje, geplaatst in een insectenkooi (30 cmx30cmx30cm), één bakje per kooi, op 16 en 17 november 2016. Op 22 november (dag 0) werden 50 mummies in een petrischaal tussen houtsnippers per kooi toegevoegd voor de behandelingen *A.col* en *A. mat*. Op dag 16 en dag 23 werden het aantal bladluizen per kooi en het aantal nieuw gevormde mummies per kooi bepaald (Tabel 5.1).

Experiment 2 werd buiten onder veldomstandigheden uitgevoerd in insectenkooien (1m x 1m x 1m), in pvc containers (2400 cm<sup>2</sup>) gevuld met 40 L water, voedingsstoffen toegevoegd. *L. minor* werd verzameld op 4 juni 2018, 200 gram verse *Lemna* per container. Opzet experiment (n=2, behandeling *A.col*, behandeling *A.mat*, controle met bladluizen); zes containers met *Lemna* in leidingwater en 50 willekeurig geselecteerde bladluizen per container toegevoegd, geplaatst in een insectenkooi, één container per kooi, op 11 juni 2018. Van twee deelmonsters van 176 cm<sup>2</sup> per container werden op dag 20 het aantal bladluizen en nieuw gevormde mummies bepaald (Zie Tabel 5.1).

Experiment 3 werd uitgevoerd in de kas bij 18-20°C overdag en 15-16°C 's nachts met een fotoperiode van 16:8 (L:D) in pvc containers (2400 cm<sup>2</sup>) gevuld met water en verse *L. minor* verzameld op 15 oktober 2018. Opzet experiment (n=2, behandeling *A.col*, behandeling *A.mat*, controle met bladluizen); zes bakken met *Lemna* in leidingwater, voedingsstoffen toegevoegd, en in totaal 100 willekeurig geselecteerde bladluizen per container toegevoegd, geplaatst in een

insectenkooi (1mx1mx1m), één container per kooi, op 18 en 23 oktober 2018. Op 22 oktober 2018 werden nieuwe voedingsstoffen toegevoegd en werden per kooi 3 potjes met bonen geplaatst, plus een 50 ml Duran flesje met Biogluc en een flesje met D-Glucose, waarbij in het flesje een tabletbuisje (ø1,5cm, hoogte 5,5cm) opgerold rond wit filtreerpapier (12 cm x 14 cm), voor het voeren van de parasitoïden. Op 23 oktober (dag 0) werden per kooi 100 mummies in een petrischaal tussen houtsnippers toegevoegd voor de behandelingen *A.col* en *A. mat*. Van twee deelmonsters van 176 cm<sup>2</sup> per container werden het aantal bladluizen en nieuw gevormde mummies op dag 20 bepaald (zie Tabel 5.1).

#### 5.1.4 Resultaten

In tabel 5.1 zijn de resultaten van de bestrijding met twee bladluis-parasitoïden, *Aphidius colemani* en *Aphidius matricariae* van de waterleliebladluis weergegeven.

**Tabel 5.1** Gemiddelde aantal waterleliebladluizen (*Rhopalosiphum nymphaea*) op *Lemna* na 3 weken met en zonder bestrijding met de parasitoïden, *Aphidius colemani* en *Aphidius matricaria*, de beginpopulatie was 50 luizen (exp. 1 en 2) en 100 luizen (exp. 3), DS= droge stof *Lemna* na 3 weken bepaald.

Exp.	Locatie	Container(cm <sup>2</sup> )	n=	Behandeling	Gem # luizen per container	Lsd <sup>1</sup>	Gem. DS per container (gram)	Lsd <sup>1</sup>
1	kas	176	4	<i>A.col</i>	18,8	a	NA	NA
1	kas	176	4	<i>A.mat</i>	266,2	b	NA	NA
1	kas	176	4	Controle met Luis geen Wesp	900,2	c	NA	NA
2	buiten	2400	2	<i>A.col</i>	6389	a	NA	NA
2	buiten	2400	2	<i>A.mat</i>	11373	a	NA	NA
2	buiten	2400	2	Controle met Luis geen Wesp	13145	a	NA	NA
3	kas	2400	2	<i>A.col</i>	3723	ab	23,5	ab
3	kas	2400	2	<i>A.mat</i>	9941	bc	23,7	ab
3	kas	2400	2	Controle met Luis geen Wesp	15109	c	22,0	a
3	kas	2400	2	Controle start geen luis geen Wesp	900	a	24,6	b

<sup>1</sup> Fisher's unprotected least significant difference test (5% level)

#### 5.1.5 Discussie en Conclusies

Bij de drie experimenten werkte de parasitoïd *Aphidius colemani* het beste (resp. 98% en 75% luispopulatie reductie bij de experimenten in de kas, significant  $p=0,95$  exp. 1 en 3). Buiten was de luizenbestrijding door de parasitoïd *Aphidius colemani* minder goed (51% luispopulatie reductie).

De parasitoïd *Aphidius matricaria* bestreed de luizenpopulatie matig (resp. 70% en 34% luispopulatie reductie in de kas, één keer significant  $p=0,95$  exp. 1). Buiten was de bestrijding door de parasitoïd *Aphidius matricaria* het minst goed (13% luispopulatie reductie).

Dat de beide parasitoïden het buiten minder goed deden komt mogelijk door de temperatuurextremen buiten. De temperatuur in de geconditioneerde kas was overdag 20 °C (16 uur licht) en 's nachts 15 °C (8 uur donker). Buiten varieerde de temperatuur gedurende de dag en nacht tussen de 10 en 36 °C gedurende de 3 weken tijdens het experiment. Prado et al., 2015 komt tot de conclusie dat *Aphidius colemani* wereldwijd vaak zeer effectief is in de bestrijding van bladluizen, maar door vele stressfactoren, zowel biotische (planten, gastheren van bladluizen, andere natuurlijke vijanden) als abiotische (klimaat en belichting) factoren de doeltreffendheid wordt verminderd.

Zie ook §4.1.4 biologische, mechanische en andere niet-chemische bestrijding en §4.1.6 chemische bestrijding voor meer informatie over bestrijdingsmogelijkheden van de waterleliebladluis.

## 5.2 Experiment: Biologische bestrijding van *Rhopalosiphum nymphaeae* (waterleliebladluiz) op *Lemna* met Raptol

### 5.2.1 Doel geïntegreerde gewasbescherming en uitgangsmateriaal

Zie paragraaf 5.1.1 en 5.1.2

### 5.2.2 Materiaal en Methode

Productomschrijving Raptol: Geciteerd van firma Royal Brinkman: "Raptol van ECOstyle is een insecticide op basis van een natuurlijk pyrethrum 4.59g/l en koolzaadolie 825.3g/l.

Producteigenschappen Raptol; snelle en directe werking, geen residu, breed inzetbaar, volledig plantaardige insecticide, contactmiddel, goede uitvloeiende werking, nagenoeg geen resistentie mogelijk. Werkingswijze Raptol; de koolzaadolie maakt de bescherm laag (wol, schild of dop) van diverse insecten weker, waardoor er meer natuurlijk pyrethrum binnendringt, het natuurlijke pyrethrum komt hierdoor gemakkelijker in de huidopeningen van het te bestrijden insect terecht, in het lichaam van het insect wordt het zenuwstelsel aangetast en sterft het insect, koolzaadolie heeft een verstikkende werking op insecten eitjes en op het ademhalingsorgaan van volwassen insecten, effectief tegen spint, trips, witte vlieg en wol-, dop-, schild- en bladluizen."

Experiment 4 werd uitgevoerd in de kas met temperatuur tussen de 18 en 28 °C met een fotoperiode van 16:8 (L:D), lichtintensiteit van  $130 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , in plastic bakjes (176 cm<sup>2</sup>) gevuld met leidingwater en verse *Lemna minor* verzameld op 19 februari 2018. Opzet experiment (n=4, behandeling bespuiting met 1% Raptol oplossing (1 ml Raptol in 99 ml kraanwater), controle geen Raptol, bespuiting met leidingwater); acht bakjes met *Lemna* in leidingwater en 50 willekeurig geselecteerde bladluizen per bakje, bakjes geplaatst in een insectenkooi (30 cmx30cmx30cm), één bakje per kooi, op 26 februari 2018. Raptol bespuitingsadvies is 600 liter/ha omgerekend is dat 1.056 ml per bakje.

Op 26 februari 2018 (dag 0) is 2 keer 0,53 ml 1% Raptol oplossing per bakje gespoten (controles 2 keer 0.53 ml kraanwater), met 'Airbrush' spuitje (firma Harder & Steenbeck Nozzle, art-nr. 2300), gekoppeld aan een compressor.

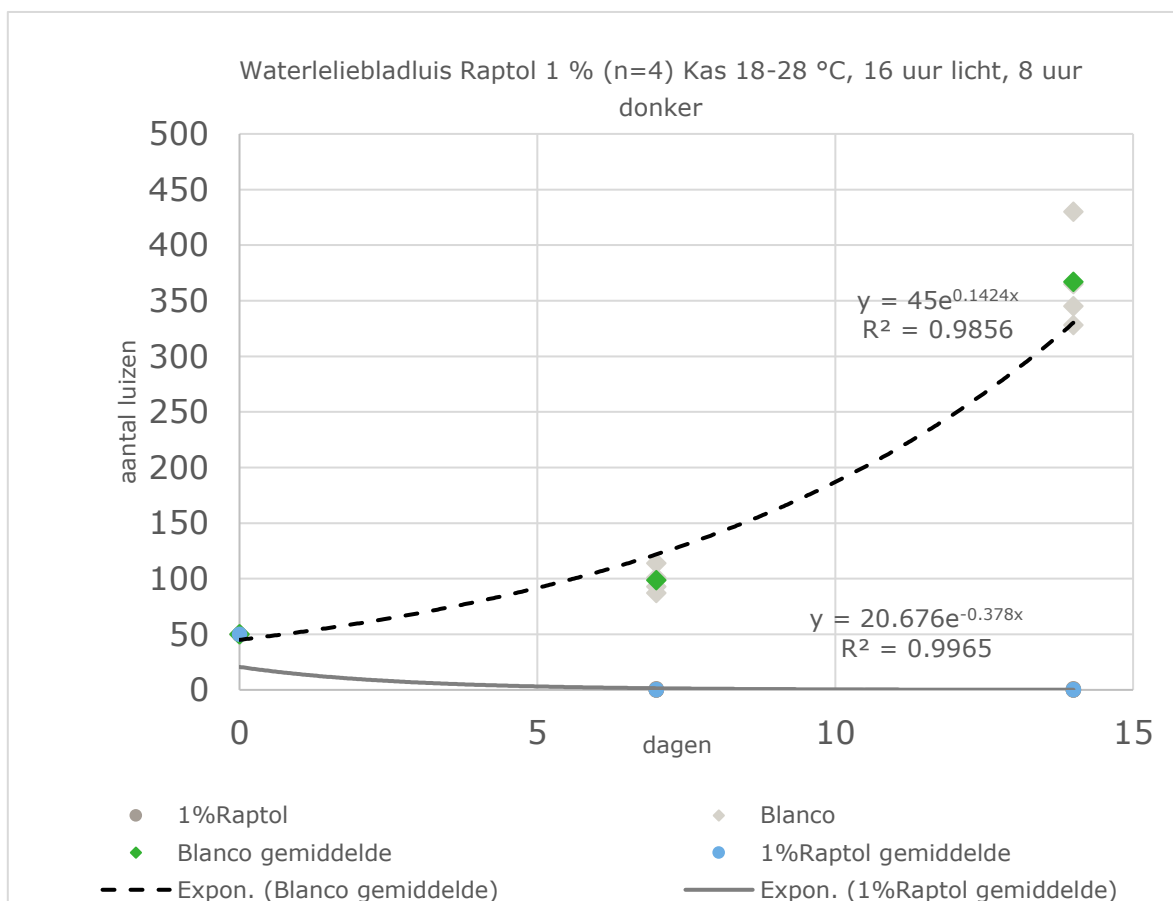
Op dag 7 en dag 14 werden het aantal bladluizen per kooi bepaald (Tabel 5.2 en Fig. 5.2) . Totaal is op één tijdstip gespoten met 1% Raptol.

### 5.2.3 Resultaten

In tabel 5.2 en Fig. 5.2 zijn de resultaten van de bestrijding met 1% Raptol oplossing van de waterleliebladluiz weergegeven.

**Tabel 5.2** Gemiddelde aantal waterleliebladluizen (*Rhopalosiphum nymphaeae*) en percentage doding op *Lemna* na 1 en 2 weken met en zonder bestrijding met 1% Raptol (op dag 0 gespoten), de beginpopulatie was 50 luizen per bakje, n=4 (exp. 4).

Gemiddelde aantal levende Luizen			
Dag	Controle	1% Raptol	% doding
0	50	50	0
7	98.75	0.25	99.5
14	367	0.25	99.5



**Fig. 5.2** Populatieontwikkeling van de waterleliebladluis (*Rhopalosiphum nymphaea*) met en zonder bestrijding met 1% Raptol (18-28 °C 16 uur licht, 8 uur donker) n=4, beginpopulatie 50 luizen, in plastic bakjes (176 cm<sup>2</sup>) met verse *Lemna minor* (geoogst op 19/2/2018). De plastic bakjes zijn na de bespuiting met 1% Raptol of kraanwater (controles) op 26/2/2018 geplaatst in een net-kooi (30x30x30 cm) in een kas. Dag 0 = 26/2/2018.

#### 5.2.4 Discussie en Conclusies

De bestrijding van de waterleliebladluis met 1% Raptol oplossing werkte goed. De populatie reductie was 99,9 %. Het experiment is uitgevoerd op *Lemna*. Het experiment is eenmalig uitgevoerd in de kas, niet buiten en niet herhaald in de tijd. De verwachting is dat de luizenbestrijding met 1% Raptol op *Azolla* net zo goed werkt met een kanttekening. Omdat de bladstructuur van *Azolla* anders is als *Lemna* kunnen de bladluizen zich beter verschuilen, het bestrijdingsmiddel kan daardoor waarschijnlijk minder goed alle luizen raken wanneer deze gesprayd wordt over het gewas.

Zie ook §4.1.4 biologische, mechanische en andere niet-chemische bestrijding voor meer informatie over bestrijdingsmogelijkheden van de waterleliebladluis.

## 5.3 Experiment: Biologische bestrijding van *Rhopalosiphum nymphaeae* (waterleliebladluiz) op *Lemna* met LuisVrij

### 5.3.1 Doel geïntegreerde gewasbescherming en uitgangsmateriaal

Zie paragraaf 5.1.1 en 5.1.2

### 5.3.2 Materiaal en Methode

Productomschrijving Luisvrij van Ecostyle. Geciteerd van Ecostyle "LuisVrij werkt op basis van natuurlijke vetzuren, de werkzame stoffen zijn Kaliumzouten van vetzuren 1,02 w/w (10,2 g/l) en is veilig voor mens en dier en daarom ook binnen en buiten te gebruiken. Schaadt het bodemmilieu niet!"

De werkzame stof van LuisVrij is hetzelfde als Insect-Off, alleen de concentratie is lager. Insect-Off bestaat uit 3 verschillende vetzuren afkomstig van raapzaadolie, gehydrolyseerd met kaliumhydroxide.

De spuitconcentratie van Luisvrij is zo berekend dat het overeenkomt met de concentratie die voorgeschreven wordt voor Insect-off.

Experiment 5 werd uitgevoerd in de kas met temperatuur tussen de 18 en 28 °C met een fotoperiode van 16:8 (L:D), lichtintensiteit van  $130 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , in plastic bakjes (176 cm<sup>2</sup>) gevuld met water en verse *L. minor* verzameld op 6 april 2018. Opzet experiment (n=4, behandeling bespuiting met LuisVrij (fles 750 ml ECOstyle) controle geen LuisVrij, bespuiting met kraanwater); acht bakjes met *Lemna* in leidingwater en 50 willekeurig geselecteerde bladluizen per bakje, bakjes geplaatst in een insectenkooi (30 cmx30cmx30cm), één bakje per kooi, op 9 april 2018 (dag 0).

Op 10 april 2018 is 4 keer 0,85 ml LuisVrij (oplossing onverdund uit de fles) per bakje gespoten (controles 4 keer 0.85 ml kraanwater), met 'Airbrush' spuitje (firma Harder & Steenbeck Nozzle, art-nr. 2300), gekoppeld aan een compressor.

Op dag 7 en dag 14 werden het aantal bladluizen per kooi bepaald (Tabel 5.3 en Fig. 5.3). Totaal is op één tijdstip gespoten met Luisvrij.

### 5.3.3 Resultaten

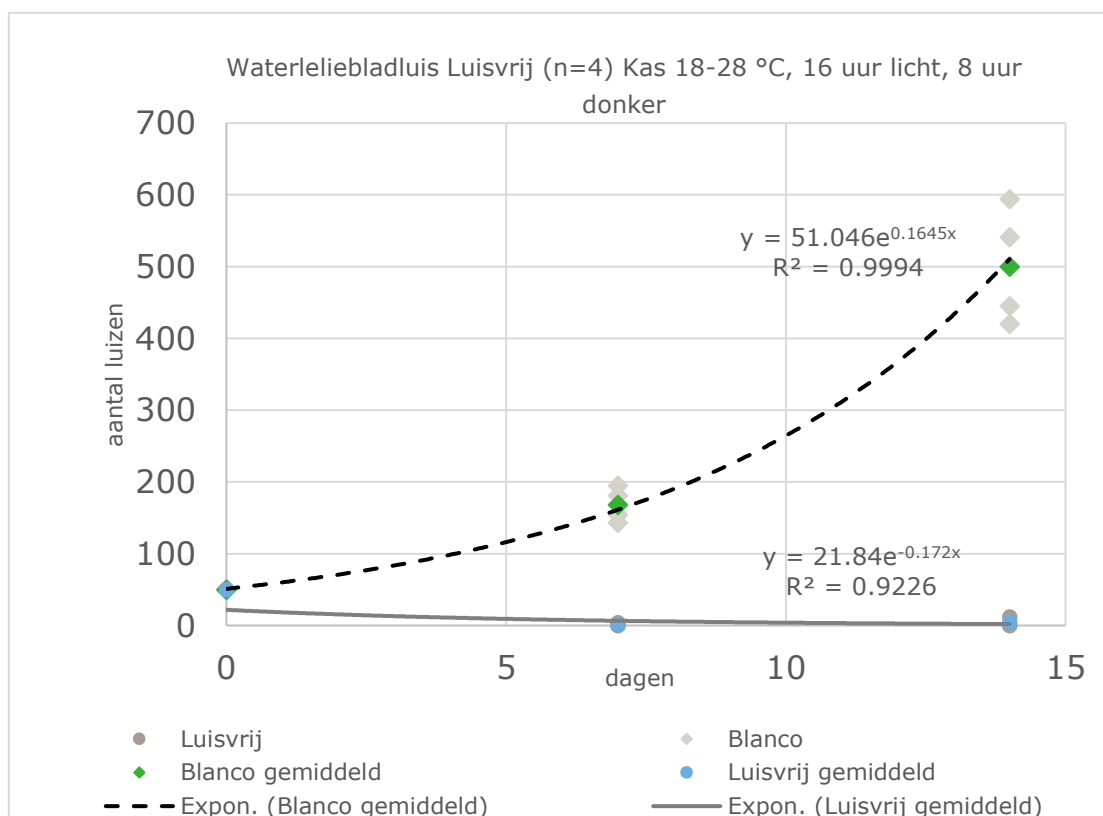
Bij de Luisvrij behandelingen zijn de blaadjes erg nat en ze gaan net niet onder water. Op dag 7 en dag 14 was er geen verschil in vitaliteit van het kroos bij de behandelden met luisvrij t.o.v. de controles.

In tabel 5.3 en Fig. 5.3 zijn de resultaten van de bestrijding met LuisVrij van de waterleliebladluiz weergegeven.

**Tabel 5.3** Gemiddelde aantal waterleliebladluizen (*Rhopalosiphum nymphaeae*) en percentage doding op *Lemna* na 1 en 2 weken met en zonder bestrijding met LuisVrij (op dag 0 gespoten), de beginpopulatie was 50 luizen per bakje, n=4 (exp. 5).

Dag	Gemiddelde aantal vitale Luizen		
	Controle	Luisvrij	%doding
0	50	50	0
7	168.25	1.25	97.5
14	500	4.5	91





**Fig. 5.3** Populatieontwikkeling van waterleliebladluis (*Rhopalosiphum nymphaea*) met en zonder bestrijding met LuisVrij (24-32 °C 16 uur licht, 8 uur donker) n=4, beginpopulatie 50 luizen, in plastic bakjes (176 cm<sup>2</sup>) met verse *Lemna minor* (geoogst op 6/4/2018). De plastic bakjes zijn geplaatst in een net-kooi (30x30x30 cm) in een kas op 9/4/2018 (= dag 0). De bespuiting met LuisVrij of kraanwater (controles) was op 10/4/2018

#### 5.3.4 Discussie en Conclusies

De bestrijding met LuisVrij oplossing (ECOstyle) werkte goed. De populatie reductie was 99,1 %. Het experiment is uitgevoerd op *Lemna*. Het experiment is eenmalig uitgevoerd in de kas, niet buiten en niet herhaald in de tijd. De verwachting is dat de luizenbestrijding met Luisvrij op *Azolla* net zo goed werkt met een kanttekening. Omdat de bladstructuur van *Azolla* anders is als *Lemna* kunnen de bladluizen zich beter verschuilen, het bestrijdingsmiddel kan daardoor waarschijnlijk minder goed alle luizen raken wanneer deze gesprayd wordt over het gewas.

Zie ook § 4.1.4 biologische, mechanische en andere niet-chemische bestrijding voor meer informatie over bestrijdingsmogelijkheden van de waterleliebladluis.

---

## 5.4 Experiment: Biologische bestrijding van de rupsen van de kroosmot *C. lemnata* met *Bacillus thuringiensis*

### 5.4.1 Doel geïntegreerde gewasbescherming

Uittesten van een biologische bestrijdingsmethode voor IPM stap 4. Chemische bestrijdingsmiddelen moeten zo veel mogelijk vermeden worden. Duurzame biologische, mechanische en andere niet-chemische methodes hebben de voorkeur, zo lang ze tot een bevredigend resultaat leiden.

### 5.4.2 Uitgangsmateriaal

De experimenten werden uitgevoerd in de kas en onder veldomstandigheden aan de Wageningen University & Research, Nederland. De statistische analyses van de studies werden uitgevoerd in Genstat 64-bit Release 20.1 (PC/Windows 8-10) ANOVA, Fisher's unprotected least significant difference test (5% niveau), Pairwise testing: homogene groepen in tprob,  $P=0.05$ . In het voorjaar van 2016, 2017 en 2018 werd *Lemna minor* (accessie *L. minor* 8627) in zes buitenbaden (2mx3m) gekweekt, voedingsstoffen werden toegevoegd,.

Een populatie van *C. lemnata*, verzameld in juli 2016 van buiten *L. minor*- experimenten, werd gedurende meerdere generaties gekweekt in 5-15 L containers/emmers onder niet gecontroleerde laboratoriumomstandigheden (temperatuur 15-30°C, dag-nachtcyclus 16-8 uur).

### 5.4.3 Materiaal en Methode

Een biologisch bestrijdingsmiddel XenTari®WG, bestaande uit een zuivere, krachtige stam van *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* (Bta) in een concentratie van 1 kg/ha werd gebruikt in de experimenten.

Experiment 1 werd uitgevoerd in de kas bij 18-20°C overdag en 15-16°C 's nachts met een fotoperiode van 16:8 (L:D) in plastic bakken (176 cm<sup>2</sup>) gevuld met water en verse *L. minor* verzameld op 26 september 2016. Opzetten experiment (n=5, behandeling Bt, controle met rupsen); tien dozen met *Lemna* in leidingwater en 20 willekeurig geselecteerde rupsen (in cocon) per doos, geplaatst in een insectenkooi (30 cmx30cmx30cm), één bakje per kooi, op 26 september 2016. Om de tien dagen werd 1 ml XenTari®WG per bakje gespoten (1,76 mg/ml) met behulp van een airbrush mondstuk 0,2 mm, cup 5 ml (firma Harder& Steenbeck) aangesloten op een compressor. De controlebakjes werden bespoten met 1 ml leidingwater. De spuitdata waren 27 september 2016 (dag 0), 7 (dag 10) en 17 oktober (dag 20). Op dag 41 werd het totaal aantal motten en rupsen per doos bepaald (zie Tabel 1).

Experiment 2A en 2B werden buiten uitgevoerd onder een helder dak in insectenkooien (2,5m x 2,5m x 2,5m), onder veldomstandigheden, in pvc-bakken (2400 cm<sup>2</sup>) gevuld met 40 L water, voedingsstoffen toegevoegd. *L. minor* werd verzameld op 6 en 8 juni 2017, 200 gram verse *Lemna* werd per container geplaatst. Opzet beide experimenten( n=5; behandeling Bt, controle met rupsen, controle zonder rupsen); 15 bakken, per behandeling in één kooi. Exp. 2A, Rupsen in cocon werden willekeurig geselecteerd uit de kweek en tussen de *Lemna* geplaatst, in totaal 127 rupsen per bak, in een periode van 15 juni tot 14 juli 2017. Exp. 2B, op 12 juni 2017 werd de natuurlijke infectie van de bakken gestart door 4 emmers met geïnfecteerde *Lemna* (rupsen en poppen) uit de opkweek te plaatsen in de kooi van de behandeling Bt en in de kooi van de controle met rupsen. Om de tien dagen werd 13,6 ml XenTari®WG per bak gespoten (1,76 mg/ml) met behulp van een airbrush spuitkop 0,2 mm, cup 5 ml (firma Harder& Steenbeck) aangesloten op een compressor. De spuitdata waren 19 (dag 0), 29 (dag 10) van juni 2017, 9 (dag 20) en 19 juli (dag 30). Een derde van de *Lemna* werd geoogst op dag 21 en gedurende 7 dagen gedroogd bij 38°C (Drooggewicht per bak (gram)). Op dag 28 werden nieuwe voedingsstoffen toegevoegd. Voor exp. 2A werd op dag 38 en voor exp 2B op dag

46 het totaal aantal motten en rupsen per container bepaald en werd *Lemna* geoogst en 7 dagen gedroogd bij 38°C (Drooggewicht per bak (gram))(zie tabel 5.4).

#### 5.4.4 Resultaten

**Tabel 5.4** Gemiddelde aantal rupsen en drooggewicht van *Lemna* met en zonder biologische bestrijding met *Bacillus thuringiensis* (XenTari®) van *C. lemnata* (Kroosmot)

Exp.	Locatie	Grootte Bak (cm <sup>2</sup> )	n=	Behandeling	Gem. # Rupsen per Bak	Lsd <sup>1</sup> 5%	Gem. Drooggewicht per bak (gram)	Lsd <sup>1</sup> 5%
1	Kas	176	5	XenTari® Rupsen uitgezet	0	a	NA	NA
1	Kas	176	5	Controle met Rupsen uitgezet	15.4	b	NA	NA
2A	Buiten	2400	5	XenTari® Rupsen uitgezet	1	a	45.2	a
2A	Buiten	2400	5	Controle met Rupsen uitgezet	272.6	b	28.1	b
2A	Buiten	2400	5	Controle zonder Rupsen	0	a	45.8	a
2B	Buiten	2400	5	XenTari® Natuurlijke besmetting met Rupsen	0	a	54.8	a
2B	Buiten	2400	5	Controle Natuurlijke besmetting met Rupsen	196.6	b	34.3	b
2B	Buiten	2400	5	Controle zonder Rupsen	0	a	60	a

<sup>1</sup> Fisher's unprotected least significant difference test (5% level)

#### 5.4.5 Discussie en Conclusies

De biologische bestrijding met *Bacillus thuringiensis* (XenTari®) op *Lemna* werkte uitstekend in de kas en ook buiten in de semi-praktijkproef. Na de behandelingen met XenTari® werd bij alle behandelde bakken in de experimenten maar één levende rups gevonden.

In het buiten-experiment was de gewasopbrengst bij de onbehandelde bakken met rupsen significant lager (40% reductie) t.o.v. de controle en de bakken met XenTari®. De bakken met de biologische bestrijding met XenTari® vertoonde geen significant verschil in opbrengstreductie t.o.v. de controle zonder rupsen.

De verwachting is dat de rupsenbestrijding met XenTari® op *Azolla* net zo goed werkt met een kanttekening. Omdat de bladstructuur van *Azolla* anders is als *Lemna* kunnen de rupsen zich beter verschuilen, het bestrijdingsmiddel kan daardoor waarschijnlijk minder goed alle rupsen raken wanneer deze gesprayed wordt over het gewas.

---

## 5.5 Experiment: Monitoren van de motten van de kroosmot *C. lemnata*

### 5.5.1 Doel geïntegreerde gewasbescherming

Wat is de beste methode om de motten van de kroosmot *C. lemnata* te monitoren voor IPM stap 2. De schadelijke organismen op een efficiënte manier monitoren.

### 5.5.2 Uitgangsmateriaal

Een populatie van *C. lemnata*, verzameld in februari 2017 van buiten *L. minor*- experimenten, werd gedurende meerdere generaties gekweekt in 5-15 L containers/emmers onder niet gecontroleerde laboratoriumomstandigheden (temperatuur 15-30°C, dag-nachtcyclus 16-8 uur).

*Lemna* (accessie *L. minor* 8627) is gebruikt uit kweek in laboratorium op Unifarm serre (WUR). Op 6/2/2017 is kroos uit de buitenbaden 4 en 6 locatie Nergena gehaald en een krooskweek gestart.

Zie ook §5.4.1

### 5.5.3 Materiaal & Methode

Verschillende kleuren sticky-plates en verschillende lichtvallen zijn uitgetest in een windtunnel (locatie Radix, Wageningen Universiteit & Research) of in een laboratorium op Unifarm (Wageningen Universiteit & Research) op het vangen van de kroosvlinder. Mannetjes en vrouwtjes worden apart getest.

Windtunnel (specificaties Wageningen University & Research Plant Sciences Group BU Biointeracties & Plantgezondheid ) Lengte 300 cm, Breedte 126 cm, Hoogte 78 cm. De afstand tot de ophangplaats tot de sticky-plates is 195 cm gemeten vanaf de achterkant en op 40 cm van de achterkant zijn de vlinders losgelaten (dus 155 cm tot de sticky-plates).

Sticky-plates, Lengte 25 cm, Breedte 10 cm kleuren: Groen, geen firma naam van Rob v. Tol, Geel 1233/3 Koppert B.V. The Netherlands, Kobalt Blauw Koppert B.V. The Netherlands, Licht Blauw 33030399.18 pherobank.nl monitoring system, Lengte koord 20 cm van plafond tot sticky-plate.

Plastic doos met deksel voor waterval/lichtval, 21 cm x 13.3 cm x 4 cm (hoogte), voor waterval 3 cm water, voor de lichtval lijm op de deksel gebracht van twee sticky-plates.

Fietslampjes HEMA, specificaties: Set van 2 LED lampjes voor op de fiets (voor- en achterlicht). Makkelijk vast te maken door het siliconen bandje. Inclusief duurzame lithium batterijen (ca. 100 uur bij continue licht). Sterke lichtbundel, 2 lichtstanden (continue en knipperlicht). De batterijen kunnen vervangen worden door het binnenwerk uit de siliconen behuizingen te duwen. Inclusief 4 lithium 3v type CR 2032 batterijen, afmeting: 4,5 x 3,5 cm materiaal: silicone artikelnummer: 41155089. Het witte licht gebruikt in de lichtval.

Lichtval (specificaties Wageningen University & Research Plant Sciences Group BU Biointeracties & Plantgezondheid) Uv violet-licht 365 nm en blauw-licht 460 nm, lengte lichtstraat 50 cm, aantal lampjes 4, LedEngin, lengte tussen het eerste lampje en de laatste is 38 cm. Twee Ampère kastjes specificatie nodig voor de voeding van de lampen; Voltcraft CE, version 07/14, Netvoeding met vaste spanning, 11-14 V 2/4A, vermogen 28 W Dc-Ampère.

Lampenopstelling is op een tafel (85 cm hoog), lampen liggen op de tafel. Frame-opstelling met zwart plastic eromheen is 9,5cm hoog boven de lamp, Breedte is 80cm, Lengte is 60cm, Afstand van het plastic in de breedte gemeten is van de lamp UV violet 30,5 cm tot 39,5 cm en de blue lamp is 53,5 cm tot 62,5 cm. Doorzichtig plastic boven hangt boven de lampstraat (24 cm x 9 cm) met lijm opgebracht van twee sticky-plates. Afstand van de lampenopstelling tot de kweek is minimaal 150 cm en maximaal 300cm.

De kweek van kroosvlinder is opgestart op 20 juli 2016 in de tempora kweek (16h licht, temp. ong. 20 °C). Vervolgens is een tweede kroosvlinder-kweek gestart in kas 2.25 op Unifarm (16 h licht, 20 °C dag en 15 °C nacht). Waarna een derde kroosvlinder-kweek is gestart in het laboratorium Unifarm serre (WUR) op 5 januari 2017 (16 uur licht, gemiddelde temp. 26 °C, min. temp 19 °C, max. temp 30 °C).

Vanaf 12 januari 2017 t/m 3 februari 2017 zijn 7 keer vlinders (mannetjes of vrouwtjes) losgelaten in de windtunnel. De temperatuur is continue gemeten en opgeslagen in Excel-files. De daglengte was 16 uur met belichting en 8 uur donker.

Op 21 februari 2017 tot 28 februari 2017 is een lichtval getest bij de kroosvlinderkweek in het laboratorium Unifarm serre (WUR)

Run 1 en 2, twee kleuren sticky-plates opgehangen (groen, geel) aan het plafond (20 cm koord tot de sticky-plate), midden was 250 cm, plate links op 265 cm en plate rechts op 235 cm.

Run 3, 2 waterbakken met sticky-plates onder de waterbak. Geen zeep in het kraanwater gedaan. Midden was 250 cm, bak links op 265 cm en bak rechts op 235 cm.

Run 4, twee bakken met wel en geen wit licht (3 fietslampjes) met lijm op de deksel van de bakken. Midden was 250 cm, bak links op 265 cm en bak rechts op 235 cm.

Run 5, 6 twee kleuren sticky-plates opgehangen (kobalt blauw, licht blauw) aan het plafond (20 cm koord tot de sticky-plate) midden was 250 cm, plate links op 265 cm en plate rechts op 235 cm.

Run 6, twee bakken met wel en geen wit licht (3 fietslampjes) met lijm op de deksel van de bakken. Midden was 250 cm, bak links op 265 cm en bak rechts op 235 cm.

Run 7, twee bakken met wel en geen wit licht (3 fietsen lampjes) met lijm op de deksel van de bakken. Midden was 250 cm, bak links op 265 cm en bak rechts op 235 cm.

Run 8, lichtval (Uv violet-licht 365 nm en blauw-licht 460 nm).

#### 5.5.4 Resultaten

In de tabellen hieronder zijn de resultaten weergegeven van zeven runs die zijn uitgevoerd in de windtunnel (Radix-klima, specificaties Rob v. Tol) met sticky-plates of water- of lichtval (Tabel 5.5.1).

Run 1 t/m 5 met mannetjes met resp. 5, 6, 5, 4, 4 vlinders uitgezet in de windtunnel.

Run 6 en 7 met vrouwtjes met resp. 1, 3 vlinders uitgezet in de windtunnel.

Beoordeling na 24 uur na uitzetten in de windtunnel.

Extra test: Getest is of de lijm van de sticky-plates sterk genoeg is, uitgevoerd in Spraying Cabinet-lab (Tabel 5.5.2).

Run 8 lichtval (Uv violet-licht 365 nm en blauw-licht 460 nm) is getest in laboratorium Unifarm serre (WUR) bij de kroosvlinder-kweek met mannetjes en vrouwtjes, tijdsduur 7 dagen. Beide lampen kregen 0.1 Ampère stroom (Tabel 5.5.3).

**Tabel 5.5.1** Waarnemingen monitoring run 1 t/m 7 in de windtunnel (specificaties Wageningen University & Research Plant Sciences Group BU Biointeracties & Plantgezondheid) van de kroosvlinder (*Cataglyphis lemnae*) in 2017 (kamertemperatuur, de daglengte was 16 uur met belichting en 8 uur donker).

								Aantal		In de	
			Tijd		Sticky-trap	Sticky-trap	Sticky-trap	Motten	Kleur 1	Kleur 2	windtunnel
Run	Datum	Lokatie	uur	Geslacht	methode	Kleur 1	Kleur2	losgelaten	gevangen	gevangen	gevonden
1	12-1-2017	Wind-tunnel	24	man	hangend	groen	geel	5	0	0	0
2	17-1-2017	Wind-tunnel	24	man	hangend	groen	geel	6	0	0	3
3	19-1-2017	Wind-tunnel	24	man	bodem/water	groen	geel	5	0	0	4
4	23-1-2017	Wind-tunnel	24	man	bodem/lijm	transparent	transparent/wit licht	4	0	0	1
5	26-1-2017	Wind-tunnel	24	man	hangend	kobalt blauw	licht blauw	4	0	0	3
6	1-2-2017	Wind-tunnel	24	vrouw	hangend	kobalt blauw	licht blauw	1	0	0	1
7	3-2-2017	Wind-tunnel	24	vrouw	bodem/lijm	transparent	transparent/wit licht	3	0	2	3

**Tabel 5.5.2** Waarnemingen monitoring run 8 in laboratorium Unifarm serre Wageningen University & Research van de kroosvlinder (*Cataglyphis lemna*) in 2017; 6 waarnemingen, totaal 7 dagen gemonitord (kamertemperatuur).

Run	datum	Locatie	dag	tijd	uur	Motten gevangen	Motten gevangen	Motten gevangen	Motten gevangen
						Lichtval Violet (365 nm)	Lichtval Violet (365 nm)	Lichtval Blauw (460 nm)	Lichtval Blauw (460 nm)
						vrouw	man	vrouw	man
8a	21-2-2017	Laboratorium	0	17:40	0	0	0	0	0
8b	22-2-2017	Laboratorium	1	13:40	20	1	2	0	0
8c	23-2-2017	Laboratorium	2	10:00	40.3	1	0	1	0
8d	24-2-2017	Laboratorium	3	9:16	63.55	0	0	0	0
8e	27-2-2017	Laboratorium	6	9:30	87.78	6	1	0	2
8f	28-2-2017	Laboratorium	7	17:15	167.58	1	1	0	1
<b>Totaal gevangen</b>						<b>9</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>3</b>

**Tabel 5.5.3** Test werking lijn van de gebruikte sticky plates in de monitoring experimenten run 1 t/m 8 in laboratorium Unifarm serre van Wageningen University & Research met de kroosvlinder (*Cataglyphis lemna*) in 2017.

datum	Lokatie	day	tijd	uur	mot (man)	Stickyplate
31-1-2017	Laboratorium	0	14:32	0	vast	geel
31-1-2017	Laboratorium	0	15:26	0.88	nog steeds vast	geel
1-2-2017	Laboratorium	1	11:45	21.22	vast/dood	geel
31-1-2017	Laboratorium	0	14:55	0.9	vast	groen
31-1-2017	Laboratorium	0	15:26	0.52	nog steeds vast	groen
1-2-2017	Laboratorium	1	11:45	20.66	vast/dood	groen

### 5.5.5 Discussie en Conclusies

Mannetjes vlinders zijn moeilijk te vangen. Ze hebben vooral een zoekgedrag naar de vrouwtjes, waarschijnlijk door de feromonen die de vrouwtjes afscheiden. Waarschijnlijk hangen de sticky-plates te hoog, vlinders zoeken vooral op de grond. En bij de waterval moet er zeep (Tepol) in het water zodat de vlinders verdrinken, anders kun je ze niet vangen (mondelinge opmerkingen Rob v. Tol).

De mannetjes motten zijn uitsluitend gevangen met de lichtvallen Uv violet 365 nm en blauw-licht 460 nm. Met de lichtval wit led-fietslampje zijn geen mannetjes gevangen. De vrouwtjes motten zijn gevangen met de lichtval wit led-fietslampje en met de lichtvallen Uv violet 365 nm en blauw-licht 460 nm.

De meeste motten (76%) werden gevangen bij Uv violet 365 nm, waarbij 2 keer zoveel vrouwtjes als mannetjes worden gevangen. Bij de blauw-licht 460 nm werden 24% van de motten gevangen.

Met de sticky-plates (groen, geel, kobalt blauw en lichtblauw) zijn geen mannetjes motten gevangen. Met de sticky-plates (kobalt blauw en lichtblauw) zijn geen vrouwtjes motten gevangen.

Monitoren met Uv violet 365 nm geeft het meeste perspectief. Bjerge et al., 2021 gebruiken voor hun geautomatiseerde lichtval voor het monitoren van motten (*Lepidoptera*) ultraviolette licht (UV-licht) d.m.v. een fluorescerende buis van Bioform. De ultraviolette stralen (UV) bestrijken de golflengten tussen 100 nm en 400 nm. Ons experiment met Uv violet licht 365 nm valt binnen dit spectrum. Het geeft aan dat Uv (ultra)violet de beste keuze is voor de lichtval.

---

## 5.6 Experiment: Vraat *Lemna* door rupsen van de kroosmot *C. lemnata*

### 5.6.1 Doel geïntegreerde gewasbescherming

Kwantitatieve data in kroos meten van vraat door rupsen van de kroosmot *C. lemnata* voor het bepalen van schade- en actiedrempels voor IPM stap 3. Toepassen van een beslisstrategie, die, op basis van de uitkomsten van monitoring, bepaalt of er ingegrepen moet worden en met welke middelen. Essentieel hierbij zijn goed hanteerbare en wetenschappelijk onderbouwde drempelwaardes.

### 5.6.2 Uitgangsmateriaal

Kroos (accessie *L. minor* 8627) is gebruikt uit de kweek in een laboratorium op Unifarm serre (WUR). Op 6/2/2017 is *Lemna* uit de buitenbaden 4 en 6 locatie Nergena gehaald en een krooskweek gestart. De kroosteelt in de buitenbaden op locatie Nergena is gestart begin mei 2016. De start was in één bad, waarna in ca. 3 weken de teelt is uitgebreid naar 6 baden. De oppervlakte van een bad is 6 m<sup>2</sup> (2 m x 3 m).

De kweek van kroosvlinders is opgestart op 20 juli 2016 in een laboratorium in Radix Tempora (WUR) (16 uur licht, temp. ong. 20 °C). Vervolgens is een tweede kroosvlinder-kweek gestart in een kas op Unifarm (WUR) (16 uur licht, 20 °C dag en 15 °C nacht). Waarna een derde kroosvlinder-kweek is gestart in het laboratorium Unifarm serre (WUR) op 5 januari 2017 (16 uur licht, gemiddelde temp. 26 °C, min. temp 19 °C, max. temp 30 °C). De 2 experimenten zijn uitgevoerd met rupsen uit de derde kroosvlinder-kweek.

### 5.6.3 Materiaal & Methode

In de twee experimenten is de hoeveelheid vraat per rups (*Cataglyphis lemnata*) van kroos (*Lemna minor*) per dag, per oppervlakte in de tijd gemeten, zodat actie- en schadedrempelwaarde kunnen worden berekend van de rupsen van de kroosvlinder. Rupsen zitten in een bladkoker.

De twee experimenten (duur vraat; resp. 92 uur, 69 uur) zijn uitgevoerd in twee herhalingen per experiment. Per experiment zijn 40 rupsen per 'bami' bakje (2x) en geen rupsen voor de blanco (2x) per 'bami'bakje uitgezet. Het vers gewicht van de *Lemna* per bakje werd bepaald bij de start en het einde van het experiment. Het vers gewicht van de rupsen in bladkoker werd bepaald bij de start en het einde van het experiment. De lengte van de bladkokers werd bepaald.

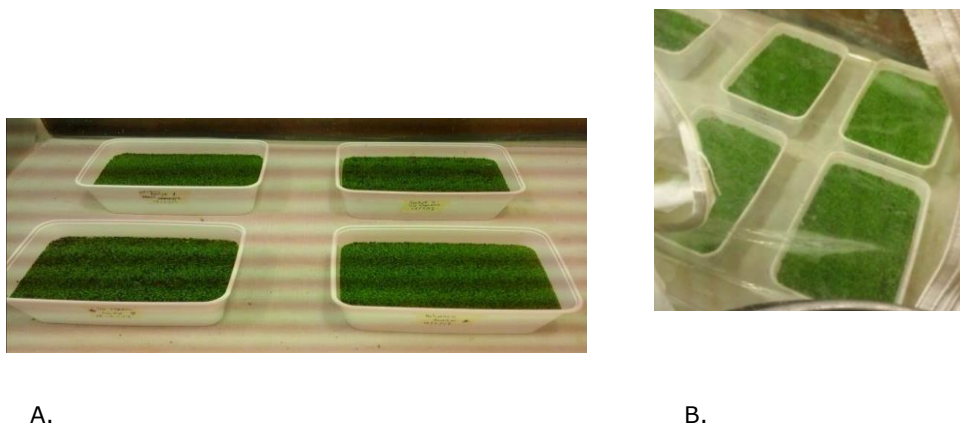
Vraat\_exp. 1: Op 13/2/2017 is kroos verzameld uit krooskweek Unifarm serre (WUR), gewogen (versgewicht per 'bami'-bakje) en verdeeld over 4 'bami' bakjes (16 x 11 cm inwendig; 176 cm<sup>2</sup>) in 450 ml kraanwater (zonder voeding). Totaal zijn 40 rupsen in bladkoker per 'bami' bakje ingezet (2 herh). De bladkokers zijn van dezelfde orde in grootte. Van minimaal 5 bladkokers per bakje is de lengte en breedte bepaald. Het totale versgewicht van de 40 rupsen in bladkoker per bakje is bepaald.

Vraat\_exp. 2: Op 14/2/2017 is het bovenstaande herhaald voor het tweede experiment. De bakjes zijn 13/2/2017 en 14/2/2017 geplaatst in een net-kooi in een laboratorium op Unifarm serre (WUR), (16 uur met belichting, gemiddelde temp. 26 °C, min. temp 19 °C, max. temp 30 °C), de watertemperatuur was 21,5°C.

Op 17/2/2017 zijn beide experimenten gestopt. Van elk bakje is het versgewicht van het kroos bepaald en van de bakjes met rupsen is ook het versgewicht en de rupsen in de bladkoker bepaald. Experiment 1 is na 92 uur gestopt en experiment 2 is na 69 uur gestopt.

Model (2) uit artikel van der Heide et al., 2006 is gebruikt om verschillende scenario's door te rekenen, zie §5.6.3 Resultaten.

#### 5.6.4 Resultaten



**Fig. 1** A. Vraat experiment 1, 13/2/2017 dag 0, B. Vraat experiment 2, 14/2/2017 dag 0.

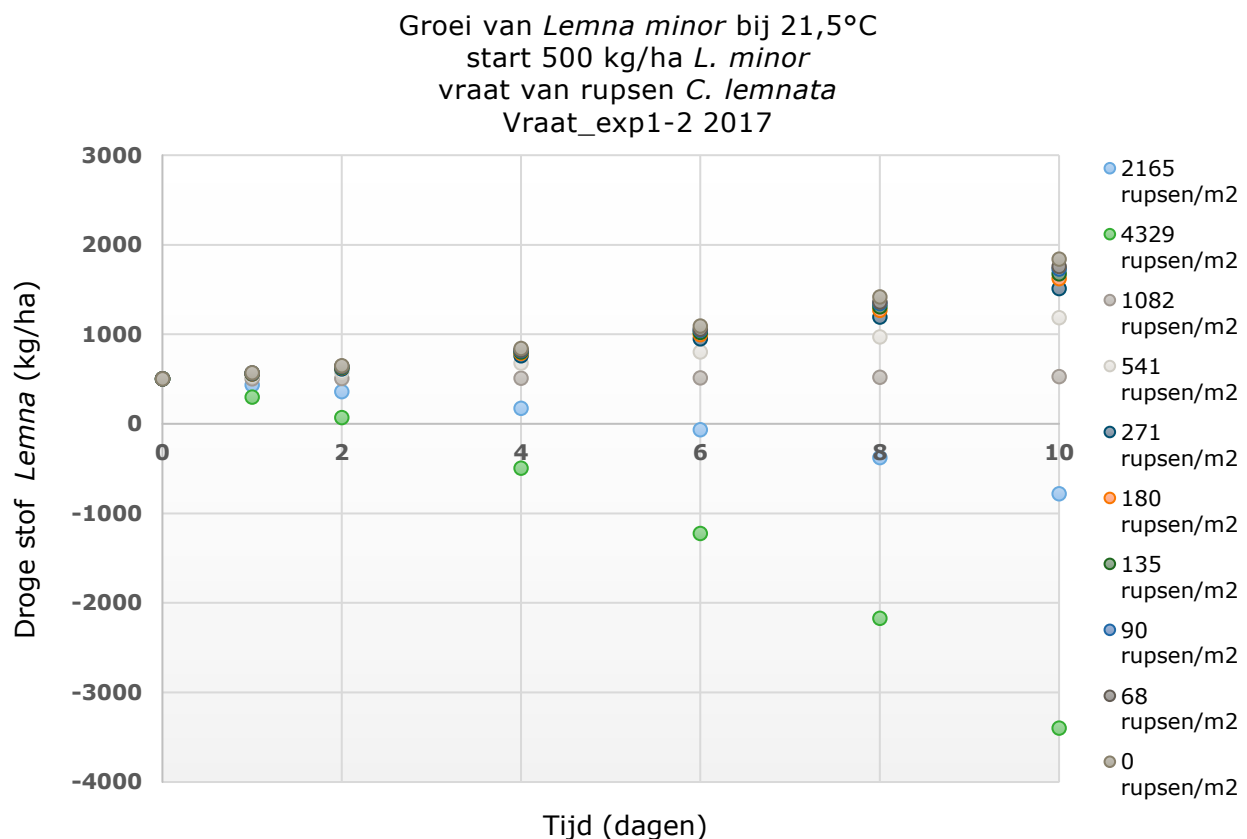
**Tabel 5.6** Vraat *Lemna* (gram) na 69 en 92 uur door 40 rupsen van *Cataclysta lemnata* per bakje bij de start en het einde van twee experimenten en het gewicht van de rupsen in bladkokers aan het begin en het einde van twee experimenten (lengte en breedte bladkokers (cm) is bij de start van de experimenten gemeten).

Exp.	Herhaling	Datum start exp.	Datum einde exp.	versgewicht (gram) Rupsen in bladkokers Start exp.	Gem. Lengte (cm) steekproef Bladkokers Start exp.	Gem. Breedte (cm) steekproef Bladkokers Start exp.	<i>Lemna</i>		versgewicht (gram) Rupsen in bladkokers Einde exp.	<i>Lemna</i> versgewicht(gram) Einde exp.
							versgewicht(gram)	uren		
1	1	13-2-2017	17-2-2017	0	0	0	29,7	92	0	31,1
1	2	13-2-2017	17-2-2017	0	0	0	29,0	92	0	27,5
1	1	13-2-2017	17-2-2017	8,43	1,48	0,44	28,0	92	10,6	18,0
1	2	13-2-2017	17-2-2017	11,2	1,60	0,46	30,8	92	13,6	13,0
2	1	14-2-2017	17-2-2017	0	NA	NA	24,5	69	0	18,5
2	2	14-2-2017	17-2-2017	0	NA	NA	22,9	69	0	15,3
2	1	14-2-2017	17-2-2017	3,47	1,02	0,24	24,3	69	4,22	7,88
2	2	14-2-2017	17-2-2017	4,59	1,14	0,28	23,7	69	4,54	5,94

Experiment 1. Na 92 uren hebben de 40 rupsen gemiddeld 47.3% van de *Lemna* opgegeten, de toename in versgewicht van de rupsen was gemiddeld 18.7 %.

Experiment 2. Na 69 uren hebben de 40 rupsen gemiddeld 42.4% van de *Lemna* opgegeten, de toename in versgewicht van de rupsen was gemiddeld 8.1 %.





**Fig. 5.6** Weergave van berekeningen van de groei van kroos per hectare in de tijd met model (2)  $Y_1 = C/\mu + (Y_0 - C/\mu) * e^{\mu t}$  (van der Heide et al., 2006) bij vraat van rupsen van de Kroosvlinder. Bij tien verschillende dichtheden van de rups zijn de scenario's doorgerekend. De volgende parameters zijn gebruikt: 0,13 (relatieve groeisnelheid ( $\mu$ ) per dag van *Lemna minor* bij watertemperatuur van 21,5 °C (uit Fig. 1 van der Heide et al., 2006)), 0.00588 g Droge Stof vraat (C) per dag (Consumptie snelheid in g DS dag<sup>-1</sup>) bij 21,5 °C (gemiddelde van exp. 1 en 2, 2017), 500.000 (g/ha) Droge Stof, begindichtheid van het kroos ( $Y_0$  in g DS van *L. minor*).

### 5.6.5 Discussie en Conclusies

Uit de tien scenario's berekeningen met model (2) uit artikel van der Heide et al., 2006 blijkt dat bij 4329 en 2165 rupsen per m<sup>2</sup> de groei (door vraat van de rupsen) van *Lemna* onder de nullijn komt en naar beneden duikelt. Bij 1082 rupsen per m<sup>2</sup> is de toename in gewicht van *Lemna* minimaal. Vanaf 541 rupsen per m<sup>2</sup> is de toename in gewicht van *Lemna* exponentieel aan het stijgen. De rupsenvraat is vanaf 541 rupsen per m<sup>2</sup> dusdanig laag dat de groei van *Lemna* de vraat overstijgt en richting de 100% opbrengst gaat (0 rupsen per m<sup>2</sup>) zie Fig. 5.6.

Van der Heide et al., 2006 toonden aan dat stijgende temperaturen niet noodzakelijk een toename van vraat voorspeld. Het effect van vraat hangt niet alleen af van de vraatsnelheid van het herbivoren insect, maar ook van de groeisnelheid van de planten, en beide kunnen verschillend worden beïnvloed door de temperatuur.

Van der Heide et al., 2006 toonden ook aan dat hun eenvoudige drieparametervergelijking zeer voorspellend is met betrekking tot de temperatuurafhankelijke groei van vrij zwevende macrofyten en zowel de minimale als de maximale groeitemperatuur kan inschatten.

---

De minimale groeitemperatuur van *Azolla filiculoides* werd geschat op 0,1 °C. Dit kan onrealistisch lijken, aangezien bekend is dat de meeste soorten een minimumtemperatuur ver boven de 0 °C hebben. *A. filiculoides* groeit namelijk nog steeds bij 5 °C en is in staat temperaturen onder het vriespunt van -5 °C te overleven, wat aangeeft dat hun schatting betrouwbaar is.

Binnen het geslacht *Azolla* is *A. filiculoides* slecht bestand tegen hogere temperaturen. Experimenten op korte termijn (0,5-2 uur) toonden aan dat temperaturen rond 42-44 °C dodelijk waren. De experimenten van van der Heide et al., 2006 toonden aan dat op langere termijn zelfs temperaturen onder de 40 °C dodelijk zijn voor *A. filiculoides* (duur 1,5 week).

Met o.a. scenario berekeningen kunnen schade- en actiedrempels worden vastgesteld om economisch het beste tijdstip te bepalen voor de bestrijding van de rupsen met een hoge opbrengst. De vraag is bijvoorbeeld; hoeveel opbrengstderving wordt getolereerd waarbij de kosten en baten in balans zijn, zodat de teelt van *Lemna* of *Azolla* rendabel is?

Het pilot-experiment met *Lemna* is een eerste aanzet voor dit doel. Meer praktijk onderzoek in *Azolla* zal nog moeten worden verricht om de juiste schade- en actiedrempels te bepalen in combinatie met monitoring van de motten en rupsen.

---

## 6 Bespreking drie vraagstellingen *Azolla*-teelt vanuit project AzoPro

### 6.1 Vraagstelling (1) opties biologische en chemische bestrijding

Welke opties zijn er voor biologische en chemische bestrijding van de verschillende ziekten en plagen in *Azolla*? Wat zijn de voor- en nadelen van deze opties? (beknopt overzicht kosten en praktische uitvoerbaarheid)

De teelt van *Azolla* is nieuw. Voor het toepassen van gewasbeschermingsmiddelen zijn wetten opgesteld die worden gecontroleerd door de Nationale Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) van het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselveiligheid. Hieronder de link naar de website van NVWA met citaten uit de website. Het is namelijk niet zonder toestemming mogelijk om gewasbeschermingsmiddelen toe te passen in een nieuwe teelt.

<https://www.nvwa.nl/onderwerpen/gewasbescherming>

**Citaat** " De NVWA controleert of bedrijven uitsluitend toegelaten gewasbeschermingsmiddelen gebruiken. En of ze deze middelen op de juiste wijze toepassen. De NVWA ziet ook toe op de naleving van de keuringsplicht van toedieningsapparatuur voor gewasbeschermingsmiddelen.

Ziekten, plagen en onkruiden zijn in de landbouw altijd aanwezig. Gewasbeschermingsmiddelen en gewasbeschermingsmaatregelen zorgen ervoor dat ziekten, plagen en onkruiden onder controle blijven. Middelen kunnen chemisch of niet-chemisch zijn (bijvoorbeeld biologisch).

Gewasbeschermingsmiddelen kunnen schadelijke stoffen bevatten voor mens, dier en milieu. Daarom gelden er eisen voor de toelating en het gebruik van deze middelen. Deze regels staan in **Verordening (EG) Nr. 1107/2009** en de **Wet gewasbeschermingsmiddelen en biociden** (Wgb). U mag alleen bestrijdingsmiddelen gebruiken die het **College voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen en biociden** (Ctgb) heeft toegelaten op de Nederlandse markt.

Onjuist gebruik van gewasbeschermingsmiddelen kan er onder andere toe leiden dat resten van gewasbeschermingsmiddelen terecht komen in het oppervlaktewater. Door gebruik van te veel of niet-toegelaten middelen kunnen resten van bestrijdingsmiddelen in levensmiddelen of in het milieu achterblijven. Dit kan risico's opleveren voor de voedselveiligheid en de instandhouding van ons milieu.

Aanvragen opstellen draft registration report werkzaamheid voor gewasbeschermingsmiddelen"

<https://www.nvwa.nl/onderwerpen/gewasbescherming/aanpak-kleine-toepassingen-voor-kleine-teelten/loket-kleine-toepassingen>

#### **Citaat "Loket Kleine Toepassingen**

Het Loket Kleine Toepassingen heeft als doel bijdragen te leveren aan het oplossen van de problemen die spelen bij kleine toepassingen binnen de gewasbescherming. Het loket geeft adviezen aan het bedrijfsleven en de overheid. Het loket geeft aan wat de efficiëntste route is om een toelatingsaanvraag te verwezenlijken en zoekt ook naar het kansrijkste middel. Het loket maakt actief gebruik van de internationale contacten van de NVWA op het gebied van kleine toepassingen. Zo kunnen bepaalde onderzoekgegevens uit het buitenland bruikbaar zijn in Nederland, en omgekeerd. Het loket betreft bij het zoeken naar oplossingen ook perspectievolle, niet-chemische oplossingen.

---

### Loket en structurele oplossingen

Het Loket Kleine Toepassingen kan ook projecten benoemen of uitvoeren die bijdragen aan structurelere oplossingen voor de problemen die spelen bij de kleine toepassingen. Denk hierbij aan extrapolatiemogelijkheden voor kleine toepassingen of gewaslijsten. Daarnaast maakt het loket het bedrijfsleven attent op toekomstige problemen in kleine gewassen. Bijvoorbeeld door het wegvallen van toepassingen door de EU-harmonisatie. Zo kan het bedrijfsleven op tijd op zoek gaan naar alternatieven. Door contacten met andere partijen in het veld (zoals vertegenwoordigers uit de sector, Ctgb, onderzoek, toelatingshouders, andere lidstaten) probeert het loket zoveel mogelijk al bestaande kennis te gebruiken in de advisering.

### Meer informatie:

Hebt u vragen over kleine toepassingen, of wilt u advies? Neem contact op met ."

## 6.2 Vraagstelling (2) potentiële effecten op het (aquatisch) milieu?

Wat zijn de potentiële effecten op het (aquatisch) milieu? En zijn er methoden om die impact te voorkomen of te beperken?

De potentiële effecten op het (aquatisch) milieu en of er methoden zijn om die impact te voorkomen zijn niet in dit rapport meegenomen. Zie § 6.1 en het boek Productieve landbouw, schoon water van de Snoo & Vijver (2012) voor meer informatie. De nadruk van het boek ligt op de milieuaspecten van bestrijdingsmiddelen en de daaraan verbonden risico's.

## 6.3 Vraagstelling (3) praktische adviezen t.a.v. voorkomen en bestrijden van ziekten en plagen

Welke bestaande ervaringen en praktische adviezen t.a.v. voorkomen en bestrijden van ziekten en plagen zijn reeds beproefd in de teelt van *Azolla* (of andere watergewassen)?

Zie hoofdstuk 4 IPM en in hoofdstuk 5 de ervaringen die zijn opgedaan tijdens de WUR-experimenten t.a.v. voorkomen en bestrijden van ziekten en plagen die reeds beproefd zijn in de teelt van *Azolla* en/of in *Lemna* en de onderzoeksresultaten uit de literatuur- en deskstudie.

---

## 7 Conclusies en aanbevelingen

Ziekten en plagen zijn één van de grote knelpunten voor de (grootschalige) productie van *Azolla*-biomassa. Voor de doorontwikkeling van de Azollateelt naar een productief, duurzaam en financieel rendabele nieuwe teelt is het van belang om deze ziekten en plagen te kunnen voorkomen en/of te bestrijden.

In het AzoPro-project is gebleken dat tijdens de uitvoering van diverse veldproeven en experimenten ziekten en plagen de *Azolla*-planten fors kunnen aantasten en de teelt zelfs helemaal kunnen vernietigen.

In dit rapport zijn verschillende handvaten beschreven om deze ziekten en plagen te voorkomen en/of te bestrijden volgens een geïntegreerde aanpak (IPM). Ondanks de preventieve maatregelen die genomen kunnen worden kunnen ziekten en/of plagen toch de kop op steken. Omdat het een nieuwe teelt is in een aquatisch milieu zijn de mogelijkheden beperkt om bestrijdingsmiddelen te mogen inzetten en is niet duidelijk wat wettelijk is toegestaan.

Voor de verdere doorontwikkeling van de *Azolla*-teelt in de toekomst is onze aanbeveling om met de NVWA contact op te nemen, zodat duidelijk wordt wat wettelijk is toegestaan in deze nieuwe teelt (in een aquatisch milieu).

De experimenten die door de WUR zijn gedaan is pas een eerste begin. Er ontbreekt nog veel kennis om een beter inzicht te krijgen in het voorkomen en bestrijden van de ziekten en plagen in *Azolla*. Onze aanbeveling is om in de komende jaren praktijk onderzoek te doen, zodat de Azollateelt in de toekomst robuust en bedrijfszeker wordt.

---

## 8 Dankwoord

We willen dr.ir. W. (Wim) van den Berg bedanken voor zijn statische analyses van de experimenten 1 t/m 3. We willen dr.ir. R. W. H. M. (Rob) van Tol bedanken voor zijn advies en hulp bij de experimenten en dr.ir. J. (Joeke) Postma voor haar bijdrage aan schimmels en bacteriën.

---

## 9 Literatuur

Allema, B., van Rozen, K., Helsen, H., Huiting, H., Verbeek, M., en van Tol, R., Natuurvriendelijke bestrijding van bladluizen Voorkómen van hoge populatiedichtheden en curatief bestrijden. Wageningen Research, Rapport WPR-851, 2020. p.1-51.

azollacontrol.com, website CABI, United Kingdom.

Balou, S., & Iboton, N., Azolla diseases in Manipur, India. International Rice Research Newsletter, 1985. 10:28.

Balou, J.K., Tsai, J.H. and Center T.D., Effects of Temperature on the Development Natality and Longevity of *Rhopalosiphum-Nymphaeae Homoptera Aphididae*. Environmental Entomology, 1986. 15(5): p. 1096-1099.

Barahoei, H., Rakhshani, E., Nader, E., Starý, P., Kavallieratos, N.G., Tomanović, Ž., and Mehrparvar, M., Checklist of *Aphidiinae* parasitoids (*Hymenoptera: Braconidae*) and their host aphid associations in Iran. J. Crop Prot., 2014. 3(2): p. 199-232.

Bjerger, K., Nielsen, J.B., Sepstrup, M.V., Helsing-Nielsen, F. en Høye, T. T., An Automated Light Trap to Monitor Moths (*Lepidoptera*) Using Computer Vision-Based Tracking and Deep Learning. Sensors, 2021. 21 (343): p. 1-18.

Blackman, R. L. and Eastop, V. F., Aphids on the world's trees: an identification and information guide, 1994. p. 10-466.

Brouwer, P., Schluepmann, H., Nierop, K.G.J., Elderson, J., Bijl, P.K., van der Meer, I., de Visser, W., Reichart, G.J., Smeekens, S., and van der Werf, A., Growing Azolla to produce sustainable protein feed: the effect of differing species and CO2 concentrations on biomass productivity and chemical composition. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018. 18(12): p. 4759-4768.

Bulle, A., en Breeuwsma, S., Bestrijding *Rhizoctonia solani* in zomerbloemen. Wageningen University & Research, Rapport PPO nr. 3236134300/PT nr. 14373, 2012. P. 1-20.

Carrapico, F., Santos, R. and Serrano, A., First occurrence of *Stenopelmus rufinus* Gyllenhal, 1835 (*Coleoptera: Eirrhinidae*) in Portugal. Coleopterists Bulletin, 2011. 65(4): p. 436-437.

Cawley, M., More records for uncommon weevils (*Coleoptera: Curculionidea*), including *Omphalapion hookeri* Kirby new to Ireland. Bulletin of the Irish Biogeographical Society, 2012. 36: p. 186-189.

Chan, C.K., Forbes, A.R. and Raworth, D.A., Aphid-transmitted viruses and their vectors of the world. Canada Department of Agriculture Research, 1991. Research Branch.

Chand, R., Verma, R., Singh, S.K., Chaurasia, S. and Lal, M., Biology of the aquatic isolates of *Sclerotium rolfsii*. Indian Phytopathology, 2003. 56(3): p. 293-294.

Colbaugh, P.F., Pathogenicity of *Pythium aphanidermatum* on duckweed and watermeal. Phytopathology, 1981. 71(8): p. 867-868.

Das, K. and S. Gupta, Seasonal variation of *Hemiptera* community of a temple pond of Cachar District, Assam, northeastern India. Journal of Threatened Taxa, 2012. 4(11): p. 3050-3058.

De Snoo, G.R. en Vijver, M.G., Bestrijdingsmiddelen en waterkwaliteit, 2012. Boek: p. 1-176, ISBN 978-90-5191-170-1.

- 
- Dong, Y., Zhao, Y., Chen, W., Cui, X., and Shang, H., Inhibitory effect of *Rhopalosiphum nymphaeae* on growth of water hyacinth, *Eichhornia crassipes*. Journal of Ecology & Rural Environment, 2008. 24(3): p. 55-59.
- Dray, F.A., Jr., T.D. Center, and Habeck, D.H., Phytophagous insects associated with *Pistia stratiotes* in Florida. Environmental Entomology, 1993. 22(5): p. 1146-1155.
- Dugel, M. and N. Kazanci, Assessment of water quality of the Buyuk Menderes River (Turkey) by using ordination and classification of macroinvertebrates and environmental variables. Journal of Freshwater Ecology, 2004. 19(4): p. 605-612.
- Farahpour-Haghani, A., Hassanpour, M., Alinia, F., Nouri-Ganbalani, G., Razmjou, J., and Agassiz, D., Water ferns *Azolla* spp. (Azollaceae) as new host plants for the small China-mark moth, *Cataglyphis lemnae* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera, Crambidae, Acentropinae). Journal Nota Lepidopterologica, 2017. 40: p. 1-13.
- Farahpour-Haghani A., Hassanpour, Faramarz, M., Alinia, F., Nouri Ganbalani G., and Razmjou, J., *Cataglyphis lemnae* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Crambidae) expanded its host range feeding on invasive aquatic ferns, species of *Azolla* Lamarck, 1783 (Hydropteridales: Azollaceae): fitness factors and costs. Journal Aquatic Insects, 2019. 40(1): p. 76-97.
- Flaishman, M.A., E. Hadar, and E. Hallak-Herr, First report of *Pythium myriotylum* on *Lemna gibba* in Israel. Plant Disease, 1997. 81(5): p. 1-550.
- Florencio, M., Fernandez-Zamudio, R., Bilton, D.T. and Diaz-Paniagua, C., The exotic weevil *Stenopelmus rufinus* Gyllenhal, 1835 (Coleoptera: Curculionidae) across a "host-free" pond network. Limnetica, 2015. 34(1): p. 79-84.
- Foekema, E.M., Kaag, N.H.B.M., Van Hessel, D.M., Jak, R.G., Scholten, M.C.T. and V D Guchte, C., Mesocosm observations on the ecological response of an aquatic community to sediment contamination. Water Science & Technology, 1998. 37(6-7): p. 249-256.
- Halder, J., Rai, A.B., Chakrabarti, S., and Dey, D., Distribution, Host Range and Bionomics of *Rhopalosiphum nymphaeae* (Linnaeus, 1761), a Polyphagous Aphid in Aquatic Vegetables, Defence Life Science Journal, 2020. 5 (1): p. 49-53.
- Ganev, J., Subfamily Nymphulinae in Bulgaria Lepidoptera Pyraustidae. Atalanta (Marktleuthen), 1982. 13(3): p. 224-229.
- Georgis, R., Koppenhöfer, A.M., Lacey, L.A., Bélair, G., Duncan, L.W., Grewal, P.S., Samish, M., Tan, L., Torr, P., Tol, R.W.H.M. van, Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. Biological Control, 2006. 38 (1): p. 103 -123.
- Giardini, M., Notes on the biology, ecology and control of *Salvinia molesta* D.S. Mitchell (Salviniaceae), an invasive species new to Latium. Rivista di Idrobiologia, 2003. 42(1-3): p. 263-282.
- Giardini, M., *Salvinia molesta* DS Mitchell (Salviniaceae): the second record for Italy (Latium) and consideration about the control of this invasive species. Webbia, 2004. 59(Part 2): p. 457-467.
- Gillespie, D.R., and Menzies, J.G., Fungus gnats vector *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicislycopersici*, Journal Annals of Applied Biology, 1993. 123(3): p. 49-53.
- Grossi-de-Sa, M.F., Quezado de Magalhães, M., Santos Silva, M., Buffon Silva, S.M., Campos Dias S., Tempel Nakasu, E.Y., Felipe Brunetta, P.S. and Ramos Oliveira, G., Susceptibility of *Anthonomus grandis* (Cotton Boll Weevil) and *Spodoptera frugiperda* (Fall Armyworm) to a Cry1Ia-type Toxin from a Brazilian *Bacillus thuringiensis* Strain. Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2007. 40(5): p. 773-782.



- 
- Hance, T., Nibelle, D., Lebrun, P., Van Impe, G. and Van Hove, C., Selection of *Azolla* forms resistant to the water lily aphid, *Rhopalosiphum nymphaeae*: Life history of *Rhopalosiphum nymphaeae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 1994. 70(1): p. 11-17.
- Hance, T., Nibelle, D., Lebrun, P., Van Impe, G. and Van Hove, C., Selection of *Azolla* forms resistant to the water lily aphid, *Rhopalosiphum nymphaeae*: Susceptibility of *Azolla* forms to *Rhopalosiphum nymphaeae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 1994. 70(1): p. 19-25.
- Hedicke, H., and Laticeps, A., A new Parasite of an imported Weevil, the North American *Stenopelmus rufinasus*, Gyll., occurring on *Azolla filiculoides*. *Zeitschrift fur wissenschaftliche Insektenbiologie*, 1929. 24(1-3): p. 59-61.
- Hellwege, E., and Hungenberg, H., Active compounds combination containing fluopyram Bacillus and biologically control agent. National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, patent, 2016. p 1-60.
- Hill M.P., McConnachie, A.J. and Byrne M.J., *Azolla filiculoides* Lamarck (Pteridophyta: Azollaceae) control in South Africa: a 10-year review. *Proceedings of the XII International Symposium on Biological Control of Weeds*, Waikoloa, Hawaii, USA, 2008. p. 558-560.
- Hill, M., and Madeira, P., *Stenopelmus rufinasus* proves to be an excellent *Azolla* taxonomist. *Proceedings of the XIII International Symposium on Biological Control of Weeds*, Waikoloa, Hawaii, USA, 2011. p. 321.
- Hill, M.P., Life history and laboratory host range of *Stenopelmus rufinasus*, a natural enemy for *Azolla filiculoides* in South Africa. *BioControl*, 1998. 43(2): p. 215-224.
- Hill, M.P., Biological control of red water fern, *Azolla filiculoides* Lamarck (Pteridophyta: Azollaceae), in South Africa, in *Biological control of weeds in South Africa (1990-1998)*. *Entomological Society of Southern Africa: Pretoria*, 1999. 25: p. 119-124.
- Hill, M.P. and Cilliers, C.J., *Azolla filiculoides* Lamarck (Pteridophyta: Azollaceae), its status in South Africa and control. *Hydrobiologia*, 1999. 415: p. 203-206.
- Hofland-Zijlstra, J.D., Breeuwsma, S., en Noordam, M., Ontwikkeling teeltstrategie voor weerbare planten tegen bovengrondse ziekten, Rapport GTB-1442 Wageningen University & Research, 2017. p. 1-60.
- Huang N., Enkegaard A., Osborne, L.S., Ramakers, P.M.J., Messelink, G.J., Pijnakker, J. and Murphy, G., The Banker Plant Method in Biological Control. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2011. 30:3: p. 259-278.
- John, K.C. and Nair, N.B., *Rhopalosiphum-Nymphaeae Homoptera Aphididae* a Control Agent for *Salvinia-Molesta*. *Entomon*, 1982. 7(3): p. 381-384.
- Kapur, A.P. and Munshi, S., A New Species of *Pullus Coleoptera Coccinellidae Predaceous* on the Aphid *Rhopalosiphum-Nymphaeae* in Calcutta. *Records of the Zoological Survey of India*, 1970. 62(1-2): p. 2-8.
- Leendertse, P., Hoftijser, E. en Lageschaar, L., Milieumeetlat voor bestrijdingsmiddelen in de open teelten Achtergrondnotitie. CLM, 2019. publicatienummer 1007: p. 1-21.
- Li, X., Dreher T.W. and Li, R., An overview of diversity, occurrence, genetics and toxin production of bloom-forming *Dolichospermum (Anabaena)* species. *Harmful Algae*, 2016. 54: p. 54-68.

- 
- Lazarte, N., Valacco, M.P., Moreno, S., Salerno, G.L. and Beron, C.M, Molecular characterization of a *Bacillus thuringiensis* strain from Argentina, toxic against Lepidoptera and Coleoptera, based on its whole-genome and Cry protein analysis. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2021. 183: p. 1-8.
- McConnachie, A.J., Hill, M.P., and Byrne, M.J., Field assessment of a frond-feeding weevil, a successful biological control agent of red waterfern, *Azolla filiculoides*, in southern Africa. *Biological Control*, 2004. 29(3): p. 326-331.
- McConnachie, A.J., Hill, M.P., Byrne, M.J. and De Wit, M. P., The successful biological control of *Azolla filiculoides* in South Africa: an economic perspective. XI International Symposium on Biological Control of Weeds, Canberra, Australia, 27 April - 2 May, 2003. CSIRO Entomology: Canberra, 2003. p. 576-583.
- McConnachie, A.J., De Wit, M.P., Hill, M.P. and Byrne, M.J., Economic evaluation of the successful biological control of *Azolla filiculoides* in South Africa. *Biological Control*, 2003. 28(1): p. 25-32.
- Messing, R.H., *Rhopalosiphum nymphaeae*. *American Entomologist*, 2005. 51(3): p. 140.
- Mor, J.R., Sabater, L.C., Masferrer, J., Sala, J., Font, J. and Boix, D., Presence of the exotic weevil *Stenopelmus rufinasus* Gyllenhal, 1836 (*Coleoptera: Eirrhinidae*) in Ter River (NE Iberian Peninsula). *Boletín de la S.E.A.*, 2010. 46: p. 367-372.
- Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA), Ministerie van landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, factsheet grote kroosvaren. Q-bank invasive plants ([www.q-bankplants.eu](http://www.q-bankplants.eu)), 2019. p. 1-4.
- Nwance, J.A.C., Bob-Manuel, R.B., Zakka, U. and Kingsley-Umana, E.B., Population dynamics of Fall Army Worm [(*Spodoptera frugiperda*) J.E. Smith] (*Lepidoptera: Nuctuidae*) in maize-cassava intercrop using pheromone traps in Niger Delta Region. *Bulletin of the National Research Centre*, 2021. 45 (44): p. 1-7.
- Oraze, M.J. and Grigarick A.A., Biological Control of Ducksalad *Heteranthera-Limosa* by the Waterlily Aphid *Rhopalosiphum-Nymphaeae* in Rice *Oryza-Sativa*. *Weed Science*, 1992. 40(2): p. 333-336.
- Pabis, K., Life cycle, host plants and abundance of caterpillars of the aquatic moth *Cataglyphis lemnae* (*Lepidoptera: Crambidae*) in the post-glacial lake in central Poland. *North-Western Journal of Zoology*, 2014. 10(2): p. 441-444.
- Parys, K.A., Tewari, S. and Johnson, S.J., Adults of the Waterfern Weevil, *Stenopelmus Rufinasus* Gyllenhal (*Coleoptera: Curculionidae*), Feed on a Non-Host Plant, *Salvinia Minima* Baker, in Louisiana. *Coleopterists Bulletin*, 2015. 69(2): p. 316-318.
- Pemberton, R.W. and Bodle, J.M., Native North American *Azolla* weevil, *Stenopelmus rufinasus* (*Coleoptera: Curculionidae*), uses the invasive old world *Azolla pinnata* as a host plant. *Florida Entomologist*, 2009. 92(1): p. 153-155.
- Pereira, A. L. and Vasconcelos, V., Classification and phylogeny of the cyanobiont *Anabaena azollae* Strasburger: an answered question? *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2014. 64(6): p. 1830-1840.
- Pesic, S., New weevils (*Coleoptera: Curculionoidea*) in the special nature reserve Zasavica. *Acta Entomologica Serbica*, 2012. 17(1/2): p. 123-134.
- Petrishchak, H., The biology of the aquatic moth *Cataglyphis lemnae* L., 1758 investigated at a pond in Schleswig-Holstein (*Lepidoptera: Pyralidae*). *Faunistisch-Oekologische Mitteilungen*, 2000. 8(1-2): p. 61-99.

- 
- Petrovic, A., Tomanovic, Ž., Zikic, V., Kavallieratos, N.G. and Stary, P., New Records of *Aphidiinae* (Hymenoptera: Braconidae) from Serbia and Montenegro. *Acta Entomologica Serbica*, 2009. 14(2): p. 219-224.
- Pinero-Rodríguez, M.J., Fernández-Zamudio, R., Arribas, R., Gomez-Mestre, I. and Díaz-Paniagua, C., The invasive aquatic fern *Azolla filiculoides* negatively impacts water quality, aquatic vegetation and amphibian larvae in Mediterranean environments. *Biol Invasions*, 2021. 23: p. 755–769.
- Plata-Rueda, A., Quintero, H.A., Serrão, J.E. en Martínez, L.C., Insecticidal Activity of *Bacillus thuringiensis* Strainson the Nettle Caterpillar, *Euprosteria elaeasa* (Lepidoptera: Limacodidae). *Insects*, 2020. 11 (310): p. 1-10.
- Postma, J., Willemsen-De Klein, M.J.E.I.M. and Van Elsas, J.D., Effect of the indigenous microflora on the development of root and crown rot caused by *Pythium aphanidermatum* in cucumber grown on rockwool, 2000. *Phytopathology* 90: p. 125-133.
- Prado S.G., Jandricic, S.E., and Steven D.F., Ecological Interactions Affecting the Efficacy of *Aphidius colemani* in Greenhouse Crops, *Insects*, 2015. 6: p. 538-575.
- Pratt, C.F., Shaw, R.H., Tanner, R.A., Djeddour, D.H. and Vos, J.G.M., Biological control of invasive non-native weeds: an opportunity not to be ignored. *Entomologische Berichten*, 2013. 73(4): p. 144-154.
- Proeseler, G., Stanarius, A., Kontzog, H.G. and Barth, H., Infection of Aquatic Plants with Viruses. *Archiv fuer Phytopathologie und Pflanzenschutz*, 1990. 26(1): p. 19-24.
- Rejmankova, E., Blackwell, M., and Culley, D.D., Dynamics of Fungal Infection in Duckweeds *Lemnaceae*. *Veroeffentlichungen des Geobotanischen Institutes der Eidgenoessische Technische Hochschule Stiftung Ruebel in Zuerich*, 1986. 87: p. 178-189.
- Richerson, P. and Grigarick, A., Life history of *Stenopelmus rufinus* (Coleoptera - Curculionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 1967. 60(2): p. 351.
- Rinnhofer, G., Contributions to the Insect Fauna of East Germany *Lepidoptera Schoenobiinae Acentropidae*. *Beitraege zur Entomologie*, 1988. 38(1): p. 169-182.
- Romano, A., Salvidio, S., Palozzi, R. and Sbordonì, V., Diet of the Newt, *Triturus Carnifex* (Laurenti, 1768), in the Flooded Karst Sinkhole Pozzo Del Merro, Central Italy. *Journal of Cave & Karst Studies*, 2012. 74(3): p. 271-277.
- Sangun, O. and Satar, S., Aphids (Hemiptera: Aphididae) on lettuce in the Eastern Mediterranean Region of Turkey: Incidence, population fluctuations, and flight activities. *Turkiye Entomoloji Dergisi*, 2012. 36(4): p. 443-454.
- Smith, J.L., Boyer, G.L. and Zimba, P.V., A review of cyanobacterial odorous and bioactive metabolites: Impacts and management alternatives in aquaculture. *Aquaculture*, 2008. 280(1-4): p. 5-20.
- Stary, P. and Carver, M., 2 New Species of *Aphidius* Hymenoptera Ichneumonoidea Aphidiidae from Australia. *Journal of the Australian Entomological Society*, 1979. 18(4): p. 337-341.
- Stoetzel, M.B. and Miller, G.L., Aphids (Homoptera: Aphididae) colonizing peach in the United States or with potential for introduction. *Florida Entomologist*, 1998. 81(3): p. 325-345.
- Svensson, A.M., Eklof, J., Skals, N. and Rydell, J., Light dependent shift in the anti-predator response of a pyralid moth. *Oikos*, 2003. 101(2): p. 239-246.

- 
- Szabó, S., Roijackers, R. and Scheffer, M., 2003. A simple method for analysing the effects of algae on the growth of Lemna and preventing algal growth in duckweed bioassays. *Archiv Für Hydrobiologie*, 2003. 157(4): p. 567-575.
- Teulon, D.A.J., Davidson, M.M., Nielsen, M.C., Perry, N.B., Van Tol, R.W.H.M. and De Kogel, W.J., The potential use of lures for thrips biocontrol in greenhouses: practice and theory. Proceedings of the Third International Symposium on Biological Control of Arthropods, Christchurch, New Zealand, 8-13 February 2009. Morgantown, WV: United States Department of Agriculture, Forest Service, 2009. p. 301-308.
- Tomanovic, Ž., Starý, P., Kavallieratos, N.G., Gagic, V., Plecaš, M., Jankovic, M., Rakhshani, E., Četkovic, A. and Petrovic, A., Aphid parasitoids (*Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae*) in wetland habitats in western Palaearctic: key and associated aphid parasitoid guilds. *Annales de la Société entomologique de France (N.S.): International Journal of Entomology*, 2012. 48(1-2): p. 189-198.
- Torp, E., Some Insects Visiting Water-Hemlock *Cicuta-Virosa*. *Flora og Fauna*, 1990. 96(2): p. 47-50.
- Van der Heide, T., Roijackers, R. M. M., Peeters, E. T. H. M. and Van Nes, E. H., Experiments with duckweed-moth systems suggest that global warming may reduce rather than promote herbivory. *Freshwater Biology*, 2006. 51(1): p. 110-116.
- Van der Heide, T., Roijackers, R. M. M., Van Nes, E. H. and Peeters, E. T. H. M., Simple equation for describing the temperature dependent growth of free-floating macrophytes. *Aquatic Botany*, 2006. 84(2): p. 171-175.
- Van Lenteren, J.C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W.J., and Urbaneja, A., Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, 2018. (63): p. 39-59.
- Van Tol, R.W.H.M., Effectieve biologische bestrijding rupsen kroosmot. *De Boomkwekerij*, 1995. 27:p. 25-26.
- Van Der Velde, G., *Cataglyphis-Lemnata* L. *Lepidoptera Pyralidae* Can Survive for Several Years Consuming *Macrophytes* Other Than *Lemnaceae*. *Aquatic Botany*, 1988. 31(1-2): p. 183-190.
- Van der Plaats-Niterik, A.J., Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology*, 1981. 21: p. 1-241.
- Vattala, H. D., Wratten, S. D., Phillips, C. B. and Wäckers, F. L., The influence of flower morphology and nectar quality on the longevity of a parasitoid biological control agent. *Biological Control*, 2006.39 (2), p. 179-185.
- Wäckers, F. L., Assessing the suitability of flowering herbs as parasitoid food sources: flower attractiveness and nectar accessibility. *Biological Control*, 2004. 29(3): p. 307-314.
- Wäckers, F. L., Van Rijn, P. C. and Heimpel, G. E., Honeydew as a food source for natural enemies: making the best of a bad meal? *Biological Control*, 2008. 45(2): p. 176-184.
- Waipara, N. W., Bourdôt, G. W. and Hurrell, G. A., *Sclerotinia sclerotiorum* shows potential for controlling water lettuce, alligator weed and wandering jew. *New Zealand Plant Protection*, 2006. 59: p. 23-27.
- Wagner, D.L. and Hoyt, A.C., On Being a Caterpillar: Structure, Function, Ecology, and Behavior. In: Marquis, R.J., Koptur, S., *Caterpillars in the Middle. Fascinating Life Sciences*. Springer, Cham., 2022. p. 11-62.
- Watson, S.B., Ridal, J. and Boyer, G.L., Taste and odour and cyanobacterial toxins: impairment, prediction, and management in the Great Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2008. 65(8): p. 1779-1796.

---

Wood, S., Williams, S.T. and White, W.R., Microbes as a source of earthy flavours in potable water - a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2001. 48(1-4): p. 26-40.

Wyman, J.A., Toscano, N.C., Kido, K., Johnson, H. and Mayberry, K. S., Effects of Mulching on the Spread of Aphid Transmitted Watermelon Mosaic Virus to Summer Squash. *Journal of Economic Entomology*, 1979. 72(1): p. 139-143.

# 10 Bijlage Milieumeetlat

<https://www.milieumeetlat.nl/nl/bereken-open-teelt.html>

Zie ook het rapport Milieumeetlat voor bestrijdingsmiddelen in de open teelten Achtergrondnotitie. CLM, 2019. at

## Waterleven, bodemleven en grondwater

	0-100 MBP
	100-1000 MBP
	>1000 MBP

## Nuttige organismen

**A** Bruikbaar in geïntergr. teelt

**B** Beperkt bruikbaar

**C** Niet bruikbaar

**?** Onbekend

## Risico toepasser

Raadpleeg altijd het etiket van het middel voor gevaarcodes en persoonlijke beschermingsmiddelen.

Milieubelastingpunten			Risico			
Middel	Werkz. stof (kg/ha)	Waterleven	Bodemleven	Grondwater	Bestuivers	Bestrijders
COLLIS	0.300	34	22	870	A	B

Milieubelastingpunten			Risico			
Middel	Werkz. stof (kg/ha)	Waterleven	Bodemleven	Grondwater	Bestuivers	Bestrijders
FADO	0.200	220	14	1000	A	?

Milieubelastingpunten			Risico			
Middel	Werkz. stof (kg/ha)	Waterleven	Bodemleven	Grondwater	Bestuivers	Bestrijders
SERENADE SC	0.010	0	0	0	?	?

Milieubelastingpunten			Risico			
Middel	Werkz. stof (kg/ha)	Waterleven	Bodemleven	Grondwater	Bestuivers	Bestrijders
BOTANIGARD WP	0.116	0	0	?	?	?

Milieubelastingpunten			Risico			
Middel	Werkz. stof (kg/ha)	Waterleven	Bodemleven	Grondwater	Bestuivers	Bestrijders
BIO 1020	0.020	300	0	0	?	?

Milieubelastingpunten			Risico			
Middel	Werkz. stof (kg/ha)	Waterleven	Bodemleven	Grondwater	Bestuivers	Bestrijders
XEN TARI WG	0.540	4	2	0	?	?

---

Correspondentieadres voor dit rapport

Postbus 16  
6700 AA Wageningen  
T 0317 48 07 00  
[wur.nl/plant-research](http://wur.nl/plant-research)  
Rapport WPR-1270



De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 7.600 medewerkers (6.700 fte) en 13.100 studenten en ruim 150.000 Leven Lang Leren-deelnemers behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.