



Gekke wortels bij komkommers en andere vruchtgroenten

Een consultancyonderzoek

Jan Janse

© 2007 Wageningen, Wageningen UR Glastuinbouw

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 Wageningen UR Glastuinbouw

Dit onderzoek is gefinancierd door:



Wageningen UR Glastuinbouw

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk
Tel. : 0317 – 48 56 06
Fax : 010 – 522 52 93
E-mail : glastuinbouw@wur.nl
Internet : www.glastuinbouw.wur.nl

Inhoudsopgave

	pagina
Samenvatting	5
1 Inleiding	8
2 De ziekteverwekker	9
3 Voorkomen, symptomen en schade	1
3.1 Voorkomen	Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.
3.2 Symptomen	1
3.3 Schade	1
4 Epidemiologie	3
5 Bepalingsmethoden	7
6 Bestrijding	9
6.1 Preventie	9
6.2 Chemische bestrijding	9
6.3 Fysische bestrijding	9
6.4 Biologische bestrijding	10
6.5 Andere methoden van bestrijding	10
7 Praktijkervaringen met gekke wortels in Nederland	11
8 Conclusies en aanbevelingen	13
Literatuur	15

Samenvatting

Bij komkommer trad het verschijnsel van gekke wortels voor het eerst op begin jaren '70 in Engeland. Na een lange periode van afwezigheid kwam te ziekte begin jaren '90 plotseling weer te voorschijn en is sindsdien nooit meer verdwenen. De verschijnselen zijn ondermeer enorm veel witte en lange wortels aan het grond- of steenwoloppervlak, die soms enkele centimeters omhoog groeien. Bij langere teelten kan de ziekte behoorlijke schade geven. De plant verzwakt, is gevoeliger voor ziekten en de kwaliteit en productie kunnen sterk verminderen. Inmiddels komen gekke wortels in verschillende landen voor. In Nederland zijn ze gevonden op bedrijven met komkommer, courgette, tomaat en aubergine.

Bacterie de oorzaak

De ziekte wordt in de meeste gevallen veroorzaakt door een bacterie, namelijk *Agrobacterium radiobacter*, welke een bepaalde Ri-plasmide bij zich draagt. Een plasmide is een circelvormige DNA-streng, die via de bacterie genetische eigenschappen overdraagt aan de wortelcellen. Deze cellen vermenigvuldigen zich hierdoor ongebreideld, met als gevolg de vorming van gigantisch veel wortels. Er zijn ook andere bacteriën gevonden die de betreffende Ri-plasmide bij zich dragen, maar ze kunnen de plant niet altijd ziek maken. *Agrobacteriën* kunnen zeer lang in de grond achterblijven; de grond vormt dus een belangrijke infectiebron. De verschijnselen van gekke wortels komen vijf tot acht weken na besmetting naar voren.

Voorkomen is beter dan genezen

In de teelt van vruchtgroenten zijn er geen bestrijdingsmiddelen tegen bacteriën (bactericiden) toegelaten. Zeer strikte hygiënische maatregelen tijdens de teeltwisseling en teelt zijn van uitermate groot belang om verspreiding van de ziekteverwekker zoveel mogelijk te voorkomen. Voorkomen is beter dan genezen! De verandering in genetische eigenschappen van de wortelcellen is na infectie namelijk onomkeerbaar: de plant kan dus niet meer genezen. Door tijdens de teelt reinigingsmiddelen die natriumhypochloriet bevatten te gebruiken, worden ook gunstige micro-organismen in het wortelmilieu gedood. Biologische bestrijdingsmiddelen of plantversterkers bieden potentie, maar de resultaten in proeven zijn vooralsnog wisselend.

1 Inleiding

Sinds 2000 komt in Nederland bij komkommer de afwijking van gekke wortels voor. In Engeland treedt dit verschijnsel al langer op en wordt 'root mat' of 'crazy roots' genoemd (Visser, 1999). Ook in Frankrijk komt deze afwijking voor. Hierbij is er sprake van een extreem sterke wortelgroei, waarbij wortels ook verticaal omhoog groeien en worteltoppen boven de pot uitsteken. De bacterieziekte kan in meer gewassen ziekteverschijnselen geven. In de tweede helft van de komkommerteelt veroorzaakt de ziekte vaak een zeer matige kwaliteit en de productie neemt sterk af. Zeker bij langere teelten, zoals een komkommerteelt aan de hogedraad, kan de schade aanzienlijk zijn. Er zijn Nederlandse bedrijven waar de afwijking al jaren achter elkaar optreedt.

In een consultancy onderzoek is aan de hand van de literatuur en gesprekken met adviseurs en telers de beschikbare informatie over gekke wortels op een rij gezet. Aandacht is besteed aan de ziekteverwekker, hoe de ziekte voorkomen kan worden en eventueel kan worden bestreden.



Figuur 1: Zeer ernstige aantasting van gekke wortels in tomaat in Engeland (foto CSL, 2007)

2 De ziekteverwekker

Het verschijnsel van gekke wortels wordt in vrijwel alle gevallen veroorzaakt door een bepaalde *Agrobacterium*-soort, namelijk *Agrobacterium rhizogenes* ook wel *A. radiobacter* genoemd. Agrobacteriën komen algemeen in de grond voor en kunnen voornamelijk verschillende soorten tweezaadlobbige planten aantasten. Naast de ziekteverwekkende soorten, komen in de grond ook veel niet-ziekteverwekkende soorten van *Agrobacterium* voor (Weller et al, 2000b).

De *A. rhizogenes* of *A. radiobacter* veroorzaakt 'harige wortelziekte' in appel, peer, framboos, roos en vele andere tweezaadlobbigen. *A. tumefaciens*, de veroorzaker van tumoren ofwel wortelknobbels in ondermeer roos, is familie van deze bacterie (Gelvin, 1990). De *A. radiobacter* en *A. tumefaciens* bacteriën veroorzaken geen rotting, maar brengen een gedeelte van de erfelijke eigenschappen uit de bacterie over naar de gastheercel. Deze cel produceert weer getransformeerde gastheercellen die abnormaal delen, resulterend in snel vermenigvuldigende wortels en knobbels (O'Neill en Yarham, 1993; Hooykaas en Beiersbergen, 1994).

De naamgeving van de bacteriën is mede gebaseerd op de groei op een specifiek groeimedium. De ziekteverwekkende soort van gekke wortels behoort tot het biotype of biovar 1 en bevat een Ri-plasmide ofwel pRi. Ri staat voor 'root inducing', dat is 'wortelvormend' (Weller et al, 2000a). Weller, Stead en Young (2005) toonden aan dat een bepaalde Rhizobium stam die een cucumopine Ri-plasmide bevat, ook gekke wortels kan veroorzaken. De ziekteverwekker van harige wortelziekte bij citrus, appel, rubus en andere waardplanten was veelal *Agrobacterium* biovar 2 en geen biovar 1 (Smith et al., 1985).

Gekke wortels moeten niet verward worden met dikke wortels in komkommer. De verschijnselen zijn anders en de veroorzaker is een andere bacterie. Deze bacterie behoort tot de groep *Pseudomonas/Burkholderia*, terwijl de veroorzakers van gekke wortels behoren tot de de *Alphaproteo*-bacteriën. Door het nemen van hygiënische maatregelen tijdens de opkweek bij plantenkwekers, vormen dikke wortels geen probleem meer voor telers van vruchtgroenten.

3 Historie, symptomen en schade

3.1 Historie

In Engeland (Lea Valley-district) kwamen in 1972 op één bedrijf met een grondteelt van komkommers abnormaal snel groeiende wortels in combinatie met een lage productie voor. De wortels groeiden omhoog en er ontstond een wirwar aan fijne witte wortels gedeeltelijk bovenop de grond. Het jaar erna kwam dit verschijnsel weer op hetzelfde bedrijf voor en ook op een ander bedrijf dat de planten had betrokken van het eerstgenoemde bedrijf. Het volgende jaar trad het verschijnsel op verschillende bedrijven op en breidde het zich verder uit op grondbedrijven met broeiveuren (Yarham en Perkins, 1978). Eind jaren '70 verdween de ziekte even geheimzinnig als dat deze verscheen.

Na 15 jaar weggeweest te zijn, verscheen de ziekte plotseling weer op een komkommerbedrijf met steenwol dichtbij Londen, twee maanden na uitplanten. Onbekend is waarom de ziekte was verdwenen (O'Neill en Yarham, 1993). Daarna kwam het verschijnsel in Engeland op steeds meer komkommerbedrijven voor, maar vanaf 1997 ook bij tomaat en aubergine geënt op een tomatenonderstam. Op deze bedrijven waren daarvoor geen komkommers geteeld (Anonymous, 2000; Weller et al, 2000b). Ook in Frankrijk en Nederland komt de ziekte sinds circa 2000 voor op een aantal komkommerbedrijven. In 2007 wordt de ziekte in ons land naast in komkommers, ook in tomaten, aubergines en courgette waargenomen. In Engeland wordt het verschijnsel 'root mat' of ook wel 'crazy roots' genoemd. In Nederland heeft het de benaming van gekke wortels gekregen (Gaag en Janse, 2000).

3.2 Symptomen

Hieronder volgt een beschrijving van de symptomen van gekke wortels bij met name komkommer (Yarham en Perkins, 1978; O'Neill en Yarham, 1993; O'Neill, 1994; Visser, 1999; Weller et al, 2000a en 2000b):

- Productie van enorme hoeveelheden fijne wortels die 1 tot 3 cm omhoog groeien vanuit de steenwolpot of boven de grond.
- Ontwikkeling van een wirwar aan dunne, helder witte wortels aan één of meer zijden van het steenwolblok en aan de verschillende zijden van de steenwolmat. Dit doet de steenwolpotten en -matten sterk opzwellen en vaak bolstaan. In proeven bedroeg de toename in matbreedte acht weken na opzettelijke besmetting 0,5 tot 0,8 cm.
- Soms omhoog groeien van de wortels in een streng langs de stekers naar de druppelaars toe.
- Wortels groeien in slierten in waterstromen of -plasjes.
- Bij erg aangetaste planten komen één of twee verdikte (tot 1 cm dikke) wortels voor, waarvan sommige zacht en rot of verkurkt zijn. Bij een teelt in de grond zit er aan de uiteinden van de verdikte wortels vaak een enorme pruik van vertakte wortels. Geïnfekteerde wortels blijken gevoeliger voor aantasting van *Pythium* te zijn.
- Planten gaan niet snel dood. Soms wel als gevolg van *Pythium* of verdroging. Soms kunnen steenwolmatten als gevolg van de enorme wortelontwikkeling onvoldoende water meer vast houden en verdrogen de planten.
- Meestal zijn er meer planten per steenwolmat aangetast, maar soms ook slechts één plant.
- Vaak iets dikkere stengel circa 5 centimeter boven de steenwolpot.

3.3 Schade

In Engelse proeven uitgevoerd door de ADAS met een relatief korte teeltduur van acht weken, is er bij komkommer op besmette matten geen effect op gewasgroei, productie of kwaliteit gevonden (O'Neill, 1994). Bij een langere teeltduur kan er bij komkommer een sterke gewasgroei ontstaan en neemt het aantal kwalitatief slechte vruchten (stek en krom) enorm toe. Zo nam in een lange teeltproef in de grond, die liep van begin februari tot en met half augustus, het aantal verkoopbare komkommervruchten met ongeveer 40% af. Sommige planten vertoonden pas drie of vier maanden na opzettelijke besmetting gekke wortel-symptomen. Hoe eerder de wortels van de planten symptomen vertoonden, hoe lager de productie was (Yarham en Perkins, 1978). Engelse voorlichters schatten de opbrengstderving bij komkommer als gevolg van gekke wortels op zo'n € 20.000 per ha.

Zeker bij langere teelten kunnen gekke wortels dus veel opbrengstverlies geven. Op een Engels komkommerbedrijf bedroeg het geschatte productieverlies als gevolg van gekke wortels in 1996 en 1997 wel zo'n € 165.000 per hectare. Op een sterk aangetast Engels bedrijf met cherrytomaten nam de vruchtdiameter met 2 tot 3 mm af. Dit verminderde het aandeel verkoopbare vruchten, wat resulteerde in een opbrengstverlies van 15% of rond € 50.000 per ha of hoger (Weller et al, 2000a; 2000b; Anonymous, 2004).

Een teler van aubergines met 50% aangetaste planten schatte het productieverlies in op 10%. Een Nederlandse komkommerteler moest vier maal per jaar planten om het opbrengstverlies als gevolg van gekke wortels te minimaliseren. Volgens de betreffende teler valt het opbrengstverlies in zijn komkommers bij een oogstduur van ruim acht weken, mee.



Figuur 2 en 3: Beelden van gekke wortels bij komkommer. Een typisch verschijnsel is dat de wortels omhoog groeien uit de pot rond de steker.

4 Epidemiologie

De ziekteverwekker is in de meeste gevallen de bacterie *Agrobacterium rhizogenes* die ook wel ook wel *A. radiobacter* wordt genoemd. Om gekke wortels te kunnen veroorzaken moet de bacterie echter wel een Ri-plasmide bevatten (Weller et al, 2000a).

Het ziekmaken van planten gaat globaal als volgt in zijn werk. Bacteriën bestaan maar uit één cel zonder celkern, waar normaal het DNA in ligt. Bij bacteriën ligt het DNA echter vrij in het cytoplasma.

In het cytoplasma kan ook een plasmide voorkomen. Een plasmide is een streng DNA dat zich buiten het chromosomaal DNA bevindt. Met dit DNA kan genetische informatie tussen bacteriën onderling en zelfs tussen verschillende soorten worden uitgewisseld. Het Ri-plasmide is een 'root-inducing' plasmide, wat zorgt voor een gigantische wortelgroei, de zogenaamde 'gekke wortels' of in het Engels 'root mat'. Dit circelvormige plasmide zit in de *A. radiobacter*. Wanneer deze bacterie een plantencel infecteert, wordt er een deel van het plasmide naar de plantencel overgebracht. Dit deel is het T-DNA ('transferred' DNA) en wordt opgenomen in het DNA van de plantencel.

Als dit gebeurt, zetten genen de wortelcellen aan tot een overproductie aan hormonen, zoals auxinen en cytokininen. De cellen gaan zich hierdoor abnormaal snel vermenigvuldigen. Via andere genen op het ingebouwde T-DNA gaan de cellen ongewone aminozuren produceren. Deze stofwisselingsproducten worden opines genoemd en dienen ondermeer als voedsel voor de betreffende bacteriën. Het aminozuur dat gevormd wordt bij gekke wortels in komkommers, wordt 'cucumopine' genoemd. Op dezelfde plasmides zitten andere genen, zogenaamde vir-genen ('virulence'). Deze zijn nodig voor de productie van 'trans-acting' eiwitten die belangrijk zijn voor de transformatie van de plantencel (Davioud et al. 1988; Zabel, 2005; Weller et al, 2006).

Weller, Stead en Young (2005) vonden dat de verschijnselen van gekke wortels in komkommerplanten ook opgewekt konden worden door een *Rhizobium* stam. Deze *Rhizobium* stam bleek een even sterke veroorzaker van gekke wortels te zijn als de ziekteverwekkende *A. radiobacter* (biovar 1) stam met cucumopine pRi. Hoogstwaarschijnlijk kan de Ri-plasmide overgedragen worden van *A. radiobacter* bacteriën naar de *Rhizobium*-bacteriën en andersom. Op bedrijven met gekke wortels is de cucumopine Ri-plasmide ook gevonden in *Ochrobacterium* en *Sinorhizobium* bacteriën. Deze bacteriën konden de ziekte in planten echter niet opwekken.

Ook andere niet ziekteverwekkende bacteriestammen die een Ri-plasmide bevatten, kunnen echter een belangrijke epidemiologische rol vervullen. Ze kunnen namelijk dienen als reservoir van pRi en deze plasmide kan weer overgebracht worden naar bacteriën met genetische eigenschappen die geschikter zijn om de plant binnen te dringen (Weller, Stead en Young, 2005).

Hoewel *Agrobacterium* biovar 1 isolaten zonder Ri-plasmide niet geacht worden ziekteverwekkend te zijn, kan hun overvloedige aanwezigheid in steenwolmatten wel gevaarlijk zijn, omdat ze Ri-plasmiden op kunnen nemen en zo de ziekte kunnen verspreiden (Weller et al, 2000a).

De soort pRi-plasmide blijkt van invloed te zijn op de ernst van de verschijnselen. Weller, Stead en Young (2000) vonden op een tomatenbedrijf met een milde uitbraak van gekke wortels een plasmide die niet van het cucumopine type was. Daarentegen werd op een bedrijf één kilometer verderop met een ernstige vorm van gekke wortels wél een cucumopine pRi bevattende stam gevonden. Op deze bedrijven is er dus een verband tussen de ernst van de symptomen en het pRi-type.

In een inventarisatieonderzoek zijn monsters genomen van komkommer- en tomatenbedrijven met gekke wortels. Vijftien van de zeventien wortelinducerende Ri plasmides afkomstig van α -*Proteo* bacteriestammen die gekoppeld worden aan gekke wortels, bleken van hetzelfde type te zijn, namelijk een cucumopine Ri-plasmide. De andere twee, die samengingen met het optreden van gekke wortels bij tomaat, behoorden tot een ander, onbekend type Ri-plasmide (O'Neill, 2004).

De incubatieperiode, dat is de periode tussen infectie van de plant en het zichtbaar worden van de eerste symptomen van gekke wortels, is 5 tot 8 weken of langer (Gaag en Janse, 2000). Weller et al (2000) zagen 5 weken na kunstmatige besmetting de eerste komkommerplanten met gekke wortel symptomen. Na 8 weken vertoonden 17 van de 18 geïnoculeerde planten symptomen. In deze wortels toonde men ook veel *A. radiobacter* met Ri-plasmiden aan. In wortels van gezonde, niet opzettelijk besmette planten vond men zeer veel *A. radiobacter*, maar dan zonder Ri-plasmide.

Agrobacterium-soorten, inclusief de ziekteverwekkende isolaten, komen algemeen in de grond voor. In een onderzoek op een tomatenbedrijf met gekke wortels, werd de ziekteverwekker (*A. radiobacter* en de Ri-plasmide) in grond in en buiten de kas én in verschillende onkruiden, zoals muur, kruiskruid en paardebloem gevonden. Dit geeft aan dat zowel grond als (on)kruiden een continue

bron van infectie kunnen zijn. Bij de onkruiden werd echter geen extreme wortelontwikkeling gevonden, maar ze kunnen dus wel als reservoirs van de ziekmakende bacterie dienen. (Anonymous, 2004).

Het organisme kan zeer lang in de grond overleven. In Engeland bleek de Ri plasmide ongeveer 15 jaar over te kunnen blijven zonder symptomen te geven tussenin twee uitbraken van gekke wortels in komkommer. Het ontbreken van de ziekteverschijnselen kan mogelijk te maken hebben met de opbouw van een onderdrukkende microflora in grond en broeiveur (Weller, Stead en Young, 2006). Ook uit ander onderzoek is bekend dat *Agrobacterium* stammen erg lang kunnen overleven zonder gastheer. In een veld met alleen symptomloze onkruiden, kon 16 jaar na het verwijderen van zieke planten in de grond de bacteriestammen met een Ti-plasmide nog worden aangetoond (Krimi et al, 2002). De bacterie kan minstens 35 dagen overleven in een voedingsoplossing voor substraat (Anonymous, 2004).

Agrobacterium biovar 1 isolaten werden door Weller et al (2000b) gevonden in ondermeer grond, steenwolpotten en -matten, wortels, de onderste 5 cm van de stengel en in drainwater.

Gekke wortels komen zowel voor bij de teelt in grond als op diverse substraten. In een vergelijkend onderzoek met cherrytomaten op steenwol, kokos, kokosvezels met toevoeging van *Trichoderma* en op boomschors, gaven alle substraten gekke wortelverschijnselen in de tomaten. Vier weken nadat de eerste symptomen waren waargenomen, was de aantasting zelfs erger in de organische substraten dan in steenwol (Anonymous, 1994).

Infectie bij komkommer kan ondermeer plaatsvinden tijdens de opkweek of bij het uitplanten als gronddeeltjes die met de bacterie verontreinigd zijn op de wortels worden geblazen of gespetterd. Beschadiging van de wortelpunten stimuleert hoogstwaarschijnlijk de infectie. O'Neill en Yarham (1993) denken hierbij vooral aan mechanische beschadiging door bijvoorbeeld plantstokjes, stekers of vraat van insectenlarven. Mechanische wortelbeschadiging is echter niet altijd noodzakelijk om infectie door de bacterie te verkrijgen. Weller, Stead, en Young (2005) konden zonder de komkommerplanten te beschadigen met bacteriën toch gekke wortelsymptomen opwekken. Bij wortelknobbel in roos is bekend dat voor infectie wel altijd een beschadiging noodzakelijk is (Wubben, 1999).

Niet alle komkommerplanten die op zieke steenwolmatten worden geplant, blijken te worden aangetast. In een juni-planting traden na drie, vier, vijf en zeven weken na het planten respectievelijk bij 0, 0.5, 7 en 16% van de planten aantasting van gekke wortels op. Er was toen echter nog geen productieverlies zichtbaar (O'Neill, 1994).

De aanwezigheid in de steenwolmat van *A. radiobacter* met Ri-plasmide leidt dus niet altijd tot gekke wortel symptomen. Mogelijk moet het aantal bacteriën een bepaalde drempelwaarde overschrijden voordat de plant gekke wortels gaat vertonen (Weller et al, 2000a). Planten onder stress lijken in het algemeen wel gevoeliger voor infectie van *Agrobacterium*, in het bijzonder gewassen die gevoelig zijn voor wortelknobbels of tumoren veroorzaakt door *Agrobacterium* soorten die Ti-plasmiden bevatten. Dit zou ook het geval kunnen zijn bij gekke wortels (Weller, persoonlijke waarneming).

Het ras lijkt geen invloed te hebben op de mate van aantasting (Yarham en Perkins, 1978; O'Neill, 1994). Enten van komkommers op de onderstam *Cucurbita ficifolia* gaf minder gekke wortels bij een grondteelt, maar het enten zelf leidde tot een lagere productie (Yarham en Perkins, 1978).

Een vochtige grond en hoge temperatuur stimuleren de infectie van harige wortelziekte in appel. Deze omstandigheden komen vaak voor in komkommers geteeld in steenwolmatten (O'Neill en Yarham, 1993). De veroorzaker van wortelknobbel (*Agrobacterium tumefaciens*) heeft een optimale temperatuur van 28°C (Wubben, 1999). Dit is mogelijk ook een verklaring voor het feit dat de gekke wortelverschijnselen in het algemeen heftiger zijn bij aubergine en komkommer dan bij tomaat. Bij de drie gewassen zijn er immers verschillen in aangehouden etmaaltemperaturen.

In Engeland werd de ziekte in de afgelopen jaren vooral verspreid via de plantopkweek. Dit was zowel het geval bij planten van eigen opkweek als bij planten afkomstig van twee Engelse plantenkwekers. Volgens voorlichter Derek Hargreaves zou in 2007 echter ook een Nederlandse plantenkweker geïnfecteerde planten hebben geleverd. Geïnfecteerde planten werden in het verleden geleverd aan teeltbedrijven, maar de planten vertoonden pas gekke wortelverschijnselen een aantal weken na aflevering. Volgens Hargreaves duurt het in een januari-planting ongeveer 8 tot 10 weken (inclusief opkweek) voordat de verschijnselen zich voordoen (Hargreaves, persoonlijke communicatie).

Op een aantal tomatenbedrijven in Engeland werden vanaf 1997 min of meer dezelfde gekke wortelsymptomen waargenomen als bij komkommer, maar vaak waren de beelden wat minder duidelijk. Weller et al (2000b) vonden ook op deze bedrijven stammen van *A. radiobacter* met Ri-plasmide in gekke wortels, maar niet in gezonde wortels van tomatenplanten. In een proef besmetten zij planten met drie verschillende stammen. Vijf weken na inoculatie zag men bij een enkele plant de eerste verschijnselen. Na drie maanden

vertoonde tweederde van de planten verschijnselen van gekke wortels. In zieke planten kon men de bacterie met Ri-plasmide weer terugvinden.

5 Bepalingsmethoden

De verschillende biotypen of biovars van *Agrobacterium* kunnen worden bepaald door de bacteriën te laten groeien op een selectief groeimedium en daarna de vetzuursamenstelling te analyseren (O'Neill, 1994; Weller et al, 2000a). Het ziekteverwekkend vermogen van een isolaat wordt meestal getest in een biotoets met bijvoorbeeld tomaat of komkommer. Dit doet men door enkele worteltoppen van 10 dagen oude zaailingen te beschadigen en deze enkele minuten in een oplossing met (*Agrobacterium*) bacteriën te zetten. Na het planten worden de besmette planten regelmatig beoordeeld op symptomen (O'Neill, 1994).

Al enige tijd is door verschillende onderzoeksinstituten en bedrijven gewerkt aan de ontwikkeling van een bepalingmethode met behulp van PCR ('Polymerase Chain Reaction') (Haas et al, 1995; Wubben, 1999). Voor deze methodiek wordt een klein stukje wortelweefsel fijn gemalen en hieruit wordt plantsap gehaald. Het sap wordt aan een selectief groeimedium toegevoegd waardoor de aanwezige bacterie zich kan vermeerderen. Vervolgens wordt DNA uit de vermeerderde bacteriën geïsoleerd. Met behulp van een PCR kan specifiek DNA van een bepaalde bacteriesoort worden aangetoond. De toets is zeer gevoelig en selectief voor ziekteverwekkende isolaten van *Agrobacterium*. De bepaling duurt echter ongeveer een week en is vrij bewerkelijk (Wubben, 1999; Weller en Stead, 2002).

Simon Weller en zijn medewerkers van het Central Science Laboratory, DEFRA in York (Engeland), hebben veel onderzoek verricht aan een snellere bepalingmethode van de veroorzaker van gekke wortels. Zij ontwikkelden een snelle test gebaseerd op een fluorescentie (TacMan) PCR test voor de bepaling van de schadelijke Ri-plasmiden van voornamelijk *Agrobacterium radiobacter* stammen (Weller en Stead, 2002; Weller, Stead en Young, 2006; CSL, 2007). Door deze snelle methode kunnen de bepalingskosten relatief laag worden gehouden.

6 Bestrijding

6.1 Preventie

Bij gekke wortels is de verandering in genetische eigenschappen van de wortelcellen onomkeerbaar. Als de plant eenmaal is geïnfecteerd, is de aanwezigheid van de ziekteverwekkende bacteriën dan ook niet meer nodig om de productie van grote hoeveelheden wortels gaande te houden. Daarom is preventie de enige manier met een kans op succes om de ziekte onder controle te houden (Anonymous, 1998; 2004).

Bij de hierboven beschreven bacterieziekte geldt dat voorkomen veel beter is dan genezen. Als de bacterie met de Ri-plasmide eenmaal op het bedrijf aanwezig is, is het uitermate moeilijk om deze uit te roeien. Bestrijdingsmethoden zijn over het algemeen zeer beperkt. Uiteraard moet uitgegaan worden van onbesmet plantmateriaal. Opkweek op het eigen bedrijf met een bacteriebesmetting brengt onaanvaardbare risico's met zich mee.

Voorafgaande aan de teelt moet het teeltsysteem goed worden ontsmet, maar dit is vaak onvoldoende.

In Engeland is in de strijd tegen gekke wortels voor de ontsmetting met succes hypochloriet gebruikt. Ook gluteraldehyde (het middel Unifect-G) was daar effectief, maar is in Nederland niet toegelaten (Hargreaves, persoonlijke communicatie). Scheuren en overgangen in het beton vragen bij de ontsmetting extra aandacht. Door de stekers te ontsmetten met Jet 5 was de ziekte wat minder hevig, maar het aantal zieke planten verminderde niet in Engelse proeven (O'Neill, 1994). Door de veelal verouderde Engelse bedrijven is het moeilijk om deze bedrijven goed te ontsmetten.

Besmette grond kan worden gestoomd, maar omdat slechts de bovenste laag een voldoende hoge temperatuur bij het stomen kan bereiken, zullen de overblijvende bacteriën in diepere lagen de planten alsnog kunnen besmetten. Volgens IKC-AT (1992), ligt de dodingstemperatuur van *Agrobacterium* tussen de 50 en 55°C.

Het vroeg vaststellen van de ziekte en de ziekteverwekker is belangrijk om te voorkomen dat de ziekte zich op het bedrijf vestigt en schade aan de geteelde gewassen veroorzaakt. Tijdens de teelt moeten er maatregelen worden genomen om verspreiding van een eventueel ontstane aantasting te voorkomen. Hygiëne speelt daarbij een zeer belangrijke rol.

6.2 Chemische bestrijding

Omdat de ziekte veroorzaakt wordt door een bacterie, zou bestrijding door een specifiek bacteriedodend middel ofwel bactericide moeten gebeuren. Chemische bactericiden brengen in het algemeen risico's mee in het gebruik (antibiotica) of zijn schadelijk voor het milieu (koperverbindingen). De toelating van deze middelen is dan ook zeer beperkt. Antibiotica zijn in de teelt van vruchtgroenten niet toegelaten.

Om organische en anorganische vervuiling in leidingen en druppelaars tegen te gaan, worden door substraattelers wel reinigingsmiddelen gebruikt die deels natriumhypochloriet (NaClO) bevatten. Zo bevat het middel Hyperclean 5% actieve chloor (Stijger, 2007). Het regelmatig meedruppelen van zo'n middel kan de verspreiding van de gekke wortelziekte in een substraatsysteem beperken, maar zal de ontwikkeling van gunstige micro-organismen in het wortelmilieu óók tegengaan. Natriumhypochloriet heeft geen toelating als bestrijdingsmiddel in planten.

Als een plant eenmaal gekke wortels heeft als gevolg van infectie door *Agrobacterium*, kan de plant niet meer genezen en zal de plant door blijven gaan met de productie van een enorme hoeveelheid wortels.

6.3 Fysische bestrijding

Zoals hiervoor al is beschreven (zie par. 6.1), kan de bacterie deels worden bestreden door de grond voor de teelt te stomen. Engelse deskundigen raden het stomen van besmet substraat echter af. Hoewel de ziekmakende bacteriën gedood kunnen zijn door het stomen, zou het DNA van de Ri-plasmide uit de bacterie mogelijk nog intact kunnen blijven. Niet ziekmakende (*Agrobacterium*) bacteriën die tijdens de teelt in dit substraat terechtkomen, zouden dit DNA weer op kunnen pikken en planten hiermee kunnen besmetten. Geadviseerd wordt om geen risico's te nemen en op nieuw substraat te starten (Anonymous, 1994; Hargreaves, persoonlijke communicatie).

Planten op ongestoomde matten bent grote risico's met zich mee. Komkommers die geplant waren op gebruikte zieke matten in vergelijking met planting op nieuwe matten, gaven in een herfstteelt na 12 weken respectievelijk 50 en 3% wortelbedekking aan de bovenkant van de mat. De mate van wortelbedekking is een maat voor de aantasting van gekke wortels (O'Neill, 1994).

6.4 Biologische bestrijding

In Engeland wordt de laatste jaren veel onderzoek gedaan aan biologische bestrijding van bacteriën die gekke wortels veroorzaken. Dit is echter meestal contractresearch in opdracht van een telersorganisaties of leveranciers van middelen, waardoor het moeilijk is om hierover informatie te verkrijgen.

Dat men zich richt op biologische bestrijding heeft te maken met aanwijzingen dat biologische activiteit tegen de ziekteverwekker van gekke wortels een rol speelt. Anders kan niet verklaard worden dat vier of vijf jaar na de eerste uitbraak van gekke wortels in de zeventiger jaren, de verschijnselen weer plotseling verdwenen en circa 15 jaar later weer opdoken.

De tweede aanwijzing is de afname van symptomen op een biologisch bedrijf op het eiland Wight. Op dit bedrijf werd steeds veel groencompost toegediend en jaarlijks nam de mate van aantasting af totdat deze helemaal verdween. In een steenwolteelt op hetzelfde bedrijf bleven de symptomen even erg of werden erger dan daarvoor. De meest waarschijnlijke verklaring voor het verdwijnen van de ziekte in beide gevallen is de werking van de bestaande micro-organismen in de grond die de populaties aan *Agrobacterium* deden afnemen. Dit berust mogelijk op een antagonistisch effect van concurrerende rhizogene *Agrobacterium* stammen in de grond, óf op de invloed van organismen die de plantafweer verhogen, waardoor de populatie van *Agrobacterium* afneemt (Anonymous, 2004).

In een onderzoek zijn ruim dertig fluorescerende *Pseudomonas* bacteriën, die verzameld waren uit monsters met gekke wortels van komkommer en tomaat, onderzocht op hun vermogen om aantasting van gekke wortels te verminderen. De helft van deze bacteriën bleken in petrischalen gekke wortel verschijnselen te voorkomen. Eén isolaat van *Pseudomonas* bacterie bleek in een proef met komkommerplanten op steenwol zelfs een vermindering van de aantasting van gekke wortels te geven van ruim 90%. Mede door een aantasting van *Mycosphaerella* kon in een volgende proef echter geen betrouwbaar effect van de betreffende *Pseudomonas* isolaat worden aangetoond. Dit was ook het geval bij andere 'plantversterkers' (Anonymous, 2004). De resultaten van vooral de eerste proef wijzen er echter op dat een grotere diversiteit aan micro-organismen in het wortelmilieu van in steenwol geteelde komkommers, de infectie door *Agrobacterium* met enkele weken uit kan stellen.

Toediening van Mycostop (*Streptomyces griseoviridis*) op het plantgat op zieke matten voor het planten, deed de aantasting eerder verergeren dan verminderen (O'Neill, 2004).

Door Weller, Stead en Young (2005) is aangetoond dat ook andere bepaalde bacteriën dan *Agrobacterium* gekke wortels op kunnen wekken. Dit maakt de biologische bestrijding waarschijnlijk niet eenvoudig. Na 2004 is van Engels onderzoek met biologische bestrijdingsmiddelen of plantversterkers nauwelijks meer iets naar buiten gekomen. Dit duidt er mogelijk op dat de resultaten toch wat tegen vallen.

6.5 Andere methoden van bestrijding

Waarschijnlijk kan een verlaging van de pH in de wortelzone van de plant de ziekte voor een deel onderdrukken, omdat bacteriën zich over het algemeen minder goed ontwikkelen bij een lagere pH (Gaag en Janse, 2000).

7 Praktijkervaringen met gekke wortels in Nederland

Komkommer

Voor zover bekend is het verschijnsel van gekke wortels in Nederland voor het eerst opgetreden in 1999 op een komkommerbedrijf in De Kring met teelt op puimsteen. Ook het daarop volgende jaar trad op dit bedrijf in een decemberplanting abnormale wortelgroei op, maar leek nog geen schade aan productie of kwaliteit te geven. Als twee planten op dezelfde emmer stonden, vertoonden vaak beide planten de symptomen. Op het PBG in Naaldwijk in 2000 waren in een proef ook enkele planten met gekke wortelverschijnselen. Op een bedrijf in De Kring komen er sinds 2003 in de komkommerplanten elk jaar gekke wortels voor. In 2006 zijn de ziekmakende bacteriën in de drainsilo aangetroffen; in regenbassin echter niet. Bij korte teelten, dat is ruim 8 weken oogsten, is er wel een enorme wortelontwikkeling zichtbaar, maar het gewas lijkt daarvan nog weinig schade te ondervinden. Bij 13 oogstweken worden er de laatste 3 weken een sterke gewasgroei en worden er nauwelijks goede vruchten geoogst. Het productieverlies is dus afhankelijk van de teelduur. Daarom heeft de teler in 2007 drie korte komkommerteelten gehad en een herfstteelt met tomaten. In Engeland heeft men vaak drie teelten, maar daar begint men later en eindigt men eerder.

Een andere teler in de buurt kreeg in 2006 voor het eerst te maken met gekke wortelverschijnselen op 10 steenwolmatten met komkommers. De aantasting breidt zich sindsdien langzaam uit over het bedrijf. De schade lijkt tot nog toe mee te vallen. Gekke wortels komen op meer komkommerbedrijven voor, maar vaak blijft de aantasting beperkt tot enkele planten en wordt het niet altijd herkend. Het is echter wel een sluimerend gevaar.



Figuur 4 en 5: Gekke wortels bij respectievelijk komkommer en tomaat. Bij komkommer zijn enkele zeer dikke wortels te zien.

Bij tomaat is een enorme hoeveelheid zeer lange, witte wortels zichtbaar (foto's F. Veenman)

Courgette

Een courgetteteler vond op zijn bedrijf in 2006 één plant met een extreme wortelgroei. Het jaar daarop waren ongeveer 10% van de planten aangetast. Door groei van een wortelstreng langs de stekers tot aan het druppelgat raakten druppelaars verstopt. Door de enorme wortelgroei konden de matten ook minder vocht opnemen. Hierdoor ontstond er een productieverlies. De teler had sterk de indruk dat de besmetting op zijn bedrijf was gekomen doordat hij tijdens de warme zomer van 2006 oppervlaktewater had gebruikt.

Tomaat

Bij een geïnterviewde tomatenteler begon de aantasting in 2006 op één steenwolmat. De planten op deze mat gingen dood, omdat de mat vol zat met wortels en daardoor geen water vast kon houden. De matten liggen op dit bedrijf op de grond op loopfolie. In 2007 nam de aantasting toe. De eerste symptomen ontstonden in mei/juni. Hij gebruikt alleen regenwater en bronwater en heeft nooit oppervlaktewater gebruikt. Hij denkt dat de ziekteverwekkende bacterie in het systeem terechtgekomen is via overstromend water afkomstig van kasgoten en dat dit water met de bacterie in het drainsysteem is terechtgekomen. De teler geeft de laatste vijf beurten via een doseerpompje een reinigingsmiddel (Hyperclean) mee. De ziekte is volgens hem nu beheersbaar.

Op verschillende tomatenbedrijven komen een aantal planten voor met gekke wortels, maar wordt evenals bij komkommer niet altijd herkend als het verschijnsel gekke wortels. Volgens een adviseur zijn het bijna altijd bedrijven waar tijdelijk gebruik gemaakt is/wordt van oppervlaktewater.

Aubergine

Bij aubergine komt op een aantal bedrijven verspreid over het land gekke wortelziekte voor. In feite is de tomatenonderstam onder de aubergine aangetast. Deze onderstammen worden ook onder tomaten gebruikt.

Eén van de telers kreeg de eerste ziekteverschijnselen zes jaar geleden in een paar planten, waarna de ziekte zich steeds verder heeft uitgebreid. Een andere teler vond de eerste symptomen vijf jaar geleden in zijn gewas. In maart/april zijn de eerste verschijnselen zichtbaar. Afhankelijk van het bedrijf was in 2007 circa 10 tot 50% van de planten aangetast. Een teler heeft de indruk dat de besmetting is gekomen door wateroverlast van een naburige laan. Dit water, dat waarschijnlijk met de bacterie is vervuild geraakt door contact met de grond, is via de draingoten in het teeltsysteem terechtgekomen.

De indruk van auberginetelers is dat er tussen onderstammen verschillen in aantasting: sterke onderstammen zouden gevoeliger zijn.

Paprika

Voorzover bekend zijn er noch in Nederland, noch in andere landen, paprika's gesignaleerd met gekke wortelsymptomen.

8 Conclusies en aanbevelingen

De belangrijkste conclusies uit deze studie naar gekke wortels in vruchtgroenten zijn:

- Gekke wortels is een verschijnsel waarbij de plant gigantische hoeveelheden wortels produceert, waarbij bijvoorbeeld steenwolmatten bol gaan staan. Vaak groeien wortels omhoog in de steenwolpot.
- De ziekte is begonnen in Engeland in de zeventiger jaren in grondteelten met komkommers. Verschillende bedrijven hebben daar nog veel last van de ziekte. De schade aan de vruchtbaarheid en productie kan bij langere teelten aanzienlijk zijn.
- Gekke wortels zijn in Nederland vanaf 1999 aangetroffen bij komkommers, tomaten, aubergines en courgettes.
- De ziekte wordt vrijwel altijd veroorzaakt door een bacterie, namelijk *Agrobacterium radiobacter* die een bepaalde Ri-plasmide bevat. De plasmide is een circelvormige DNA-streng, waarvan genetische eigenschappen worden overgedragen aan de wortelcellen. Deze cellen worden aangezet tot een ongebreidelde vermenigvuldiging met als gevolg onnatuurlijk veel wortelvorming.
- Er zijn ook andere bacteriën gevonden die eveneens de betreffende plasmide kunnen bevatten. Ze kunnen de plant veelal zelf niet ziek maken, maar dienen wel als reservoir omdat ze de plasmide over kunnen dragen aan *Agrobacterium radiobacter*.
- De grond vormt een belangrijke infectiebron. De bacteriën kunnen hierin meer dan 15 jaar zonder gastheer overleven, maar leven ook op onkruiden.
- De eerste verschijnselen van gekke wortels zijn vijf tot acht weken na besmetting zichtbaar.
- Bestrijdingsmiddelen tegen bacteriën zijn in de teelt van vruchtgroenten niet toegelaten. Zeer strikte hygiënische maatregelen tijdens de teeltwisseling en teelt zijn een must: voorkomen is beter dan genezen.
- Bij gekke wortels is de verandering in genetische eigenschappen van de wortelcellen onomkeerbaar: de plant kan dus niet genezen.
- Door tijdens de teelt in het watergeefstelsel reinigingsmiddelen met natriumhypochloriet te gebruiken, worden ook gunstige micro-organismen in het wortelmilieu gedood.
- De resultaten van biologische bestrijdingsmiddelen of plantversterkers zijn vooralsnog wisselend.

Hieronder volgen een aantal aanbevelingen voor maatregelen die op bedrijven genomen (zouden moeten) worden om gekke wortelverschijnselen in vruchtgroenten zoveel mogelijk te voorkomen:

- Alles goed ontsmetten met een goed werkend ontsmettingsmiddel: goten, watergeefstelsel inclusief stekers en druppelaars, drainkanalen, drainsilo, pad en kasopstanden
- Nieuw substraat nemen
- Grond goed afdekken met plastic loopfolie. Alleen gronddoek is waarschijnlijk onvoldoende, omdat er dan stofdeeltjes met bacteriën doorheen kunnen
- Tempex plaatjes onder matten leggen om contact van wortels met de ondergrond te vermijden. Nog beter is hangende goten installeren.
- Planten op laten kweken door een plantenkweker. Deze nemen goede hygiënische maatregelen, ook in verband met andere ziekten
- Wortels verwijderen als ze naar/in een draingootje dreigen te groeien
- Bij komkommer: (meer) kortere teelten uitvoeren
- Géén oppervlaktewater gebruiken
- Ervoor zorgen dat er zo weinig mogelijk water van bijvoorbeeld overlopende kasgoten in het drainsysteem terecht kan komen
- Drain- en drainagesysteem scheiden
- In verband met verspreiding van de bacterie, de units zo klein mogelijk maken
- Lage pH meedruppelen
- Regelmatig meedruppelen van reinigingsmiddel dat hypochloriet bevat
- Drain/drainagewater goed ontsmetten. UV-ontsmetting vraagt hierbij extra aandacht in verband met mogelijke vervuiling van het water: er kunnen dan nog bacteriën doorheen slippen
- Hygiënemaatregelen tijdens bezoek en excursies

Literatuur

- Anonymous, 1998. Root mat: tomatoes next? *Grower*, 20 augustus, p. 24.
- Anonymous, 2000. Root mat. Problem disorder heads north and turns up in tomato crops. *Grower*, 17 augustus, p. 6.
- Anonymous, 2004. Improved control of novel *Agrobacterium* induced diseases in hydroponic through risk assessment and biological control. Final Project Report, Department for Environment, Food and Rural Affairs (DEFRA), Central Science Laboratory, York, 23 p.
- CSL, 2007. <http://www.csl.gov.uk/aboutCsl/scienceGroupsAndTeams/phg/plhd/envBacteriology.cfm>
- Davioud, E., A. petit., M.E. Tate, M.H. Ryder en J. Pempe, 1988. Cucumopine – a new T-DNA encoded opine in hairy root and crown gall. *Phytochemistry* 27: 2429-2433.
- Gaag, D.J. en J. Janse, 2000. 'Gekke wortels' geconstateerd in Nederland. *Gewasnieuws komkommer*, LTO-Groeiservice 3(4): 1.
- Gelvin, S.B., 1990. Crown Gall Disease and Hairy Root Disease. A sledgehammer and a tackhammer. *Plant Physiology* 92, 281-285.
- Haas, J.H., L.W. Moore, W. Ream en S. Manulis, 1995. Universal PCR primers for detection of phytopathogenic *Agrobacterium* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 61: 2879-2884.
- IKC-AT, 1992. Stomen. Technische handleiding bij het stomen van grond en substraat.
- Krimi, Z., A. Petit, C. Mougel, Y. Dessaux en X. Nesme, 2002. Seasonal fluctuations and long-term persistence of *Agrobacterium* spp. in soils. *Applied Environmental Microbiology*, 68: 3358-3365.
- O'Neill, T.M., 1993. The cucumber root mat mystery. *Grower*, 120: 8-9.
- O'Neill, T.M., 1994. Cucumber: Investigation of root mat disease – 1993. Final Report. ADAS Cambridge, 19 p.
- Smith, I.M., Dunez, J., Lelliot, R.A. Phillips, D.H. en Archer, S.A., 1988. *European Handbook of Plant Diseases*, Blackwell Scientific Publications, London p 176-179.
- Stijger, H., 2007. Mark Zwinkels: 'We hebben geen vervuilde druppelaars meer'. *Hyperclean voor een schoon druppelsysteem*. *Onder Glas* 4(8): 40-41.
- Visser, P., 1999. 'Gekke wortels' verhinderen vruchtzetting in Engeland, *Groenten en Fruit*, 9(17): 6-7.
- Weller, S.A., D.E. Stead, T.O. O'Neill, D. Hargreaves en G. M. McPerson, 2000a. Rhizogenic *Agrobacterium* biovar 1 and cucumber root mat in the UK. *Plant Pathology* 49: 43-20.
- Weller, S.A., D.E. Stead, T.O. O'Neill en P.S. Morley, 2000b. Root mat in tomato caused by rhizogenic strains of *Agrobacterium* biovar 1 in the UK. *Plant Pathology* 49: 799.
- Weller, S. A. en D. E. Stead, 2002. Detection of root mat associated *Agrobacterium* strains from plant material and other sample types by post-enrichment TaqMan PCR. *Journal of Applied Microbiology* 92(1): 118-126.
- Weller, S. A., D. E. Stead en J.P.W. Young, 2004. Acquisition of an *Agrobacterium* Ri plasmid and pathogenicity by other *Proteobacteria* in cucumber and tomato crops affected by root mat. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5): 2779-2785.
- Weller, S. A., D. E. Stead en J.P.W. Young, 2005. Induction of root-mat symptoms on cucumber plants by *Rhizobium*, but not by *Ochrobactrum* or *Sinorhizobium*, harbouring a cucumopine Ri plasmid. *Plant Pathology*, 54(6): 799-805.
- Weller, S. A., D. E. Stead en J.P.W. Young, 2006. Recurrent outbreaks of root mat in cucumber and tomato are associated with a monomorphic, cucumopine, Ri-plasmid harboured by various *Alphaproteobacteria*. *FEMS Microbiology Letters* 258(1): 136-143.
- Wubben, J.P., 1999. *Agrobacterium tumefaciens*: de veroorzaker van wortelknobbel bij roos. Een literatuurstudie. Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente, Aalsmeer, 17 p.
- Yarham, D. J. en S. W. Perkins, 1978. Cucumber's mystery root mat disorder still spreading. *Grower* 90(1): 18, 20, 22.
- Zabel, P., 2005. Gene technology. Laboratory of Molecular Biology, Department of Plant Sciences, Wageningen University, 144 p.