

Oorzaak verdikte stengel- en worteldelen bij Saintpaulia

DLV Plant

Postbus 7001

6700 CA Wageningen

Agro Business Park 65

6708 PV Wageningen

T 0317 49 15 78

F 0317 46 04 00

E info@dlvplant.nl

www.dlvplant.nl

In opdracht van:

Landelijke commissie Saintpaulia LTO Groeiservice

Gefinancierd door:

Productschap Tuinbouw

Postbus 280

2700 AG Zoetermeer

Uitgevoerd door:

Onderzoek DLV Plant

Helma Verberkt

Dave van Marwijk

Groen Agro Control

Adriaan Vermunt

PT-Projectnummer: 12884

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

Inhoudsopgave

Samenvatting	3
1 Inleiding en doel	4
2 Materiaal en methode	5
2.1 Proefopzet en materiaal	5
2.2 Accommodatie	6
2.3 Proefverloop	6
2.4 Waarnemingen	6
3 Resultaten	7
3.1 Opnames aangetast materiaal	7
3.2 Verzameld praktijkmateriaal	9
3.3 Microbiologische oorzaak	9
4 Conclusies en aanbevelingen	13
Bijlage 1. Verzameld praktijkmateriaal	14

Samenvatting

Team Onderzoek van DLV Plant heeft in samenwerking met Groen Agro Control en de landelijke commissie Saintpaulia van LTO Groeiservice een onderzoek uitgevoerd met als doel het achterhalen van de oorzaak van wortel- en stengelverdikking bij Saintpaulia en het bepalen van de mate van besmettelijkheid. Uit het onderzoek is gebleken dat een bacterie de veroorzaker is en dat deze zich via grond en water kan verspreiden. Nu de oorzaak duidelijk is, is het de vraag wat de belangrijkste besmettingsbron(nen) is/zijn. Het onderzoek is gefinancierd door het Productschap Tuinbouw (PT).

Verdikking van ondergrondse stengel- en worteldelen veroorzaakt groeiachterstand en uitval bij Saintpaulia. Dit gebeurt vooral tijdens de bewortelingsfase, maar ook tijdens de oppotfase. Als aanpak van dit probleem zijn in eerste instantie aangetaste en niet aangetaste planten uit de praktijk afkomstig van meerdere herkomsten getoetst op het voorkomen van de wortelverdikking bacterie bij komkommer. Met deze toets wordt echter alleen aangegeven of deze aanwezig is, maar is nog niet duidelijk dat dit ook de daadwerkelijke veroorzaker is. Hierna is onderzocht of de oorzaak chemisch, microbiologisch of fysisch van aard is. Gezien de eerdere resultaten met de toets wortelverdikking bij komkommer is in eerste instantie de nadruk gelegd op mogelijke oorzaken van microbiologische aard.

Een proef met Saintpaulia planten is ingezet in hydrocultuur en in potgrond. Schoon (getoetst) plantmateriaal is besmet met verdikte wortel- en stengeldelen en al dan niet behandeld met antibiotica. Na het uitvoeren van bovenstaande proef is gebleken dat wortel- en stengelverdikking bij Saintpaulia wordt veroorzaakt door een bacterie. Deze bacterie lijkt op de bacterie die in Komkommer wortelverdikking veroorzaakt. De bacterie kan worden getoetst met de PCR toets voor de dikke wortel bacterie bij Komkommer. Opmerkelijk is dat de bacterie in grond voor kan komen bij gezonde (getoetste) wortels.

Nu de oorzaak achterhaald is, is het van belang om duidelijk te krijgen hoe de problemen tegengehouden of voorkomen kunnen worden. Belangrijke aanknopingspunten zijn 'grondsoort' als potentiële besmettingsbron en 'waterkwaliteit' als manier van verspreiding van de bacterie. Als rode draad hierdoor heen loopt het plantmateriaal, dat tijdens de vermeerdering verschillende handelingen ondergaat.

1 Inleiding en doel

Verdikking van ondergrondse stengel- en worteldelen veroorzaakt groeiachterstand en uitval bij Saintpaulia. Dit gebeurt vooral tijdens de bewortelingsfase, maar ook tijdens de oppotfase. De problemen treden vooral op in het najaar, winter en voorjaar. Het aantastingspercentage verschilt per partij en per jaar, maar kan zelfs oplopen tot 100%. Eerder onderzoek heeft geen concrete oorzaak kunnen achterhalen. Wel zijn verschillen in aantastingspercentage gebleken. Meest gunstige conditie blijkt bewaren van stekmateriaal bij een gematigde temperatuur te zijn, opgekweekt bij standaard vocht en behandeld met Ridomil, mede omdat er geen secundaire uitval (door schimmels) plaatsvindt. Meest ongunstige conditie is het direct steken van getransporteerd materiaal, opgekweekt bij een hoog vochtgehalte van het substraat en niet behandeld met Ridomil.

Onlangs is gebleken dat na het steken van een Saintpaulia stek in een pot waarin al een plant met verdikte wortels staat ook wortelverdikking is opgetreden. Dit zou in de richting kunnen wijzen van een microbiologische oorzaak. Tot op heden zijn echter geen plantpathogene micro organismen aangetoond als oorzaak van wortelverdikking bij Saintpaulia. De verschijnselen tonen overeenkomsten met de problematiek van wortelverdikking in komkommer. Ook bij deze problematiek werden aanvankelijk geen plantpathogene micro-organismen aangetoond met de standaard opkweekprocedures. De oorzaak werd uiteindelijk achterhaald door een combinatie van experimenten bestaande uit verschillende DNA analyses. DLV Plant heeft onlangs een aantal nieuwe Saintpaulia planten met verdikkingen onderzocht en laten toetsen via de speciale toets zoals deze is ontwikkeld voor wortelverdikking bij komkommer. Gezonde en aangetaste planten afkomstig uit een zelfde partij (zelfde ras, leeftijd e.d.) zijn via DLV Plant getoetst door Groen Agro Control. De gezonde planten gaven een negatieve uitslag, de aangetaste planten een positieve. Het lijkt erop dat de dikkewortelbacterie die problemen veroorzaakt bij o.a. komkommer ook aanwezig is op de wortels van de aangetaste Saintpaulia planten. Dat wil nog niet zeggen dat deze bacterie de primaire veroorzaker is. In grondmonsters komt deze bacterie vaker voor. Het is mogelijk dat iets anders de aantasting veroorzaakt en dat de bacterie zich secundair ophoopt op de ongezonde delen. Nader onderzoek zal dit moeten uitwijzen.

Het doel van het onderzoek is het bepalen van de veroorzaker van de groeiafwijkingen en de mate van de besmettelijkheid en de verspreidingskans van verdikte wortel- en stengeldelen bij Saintpaulia.

Voor het achterhalen van de oorzaak is onderzocht of deze chemische, microbiologisch of fysisch van aard is. Hierna zijn reproductieproeven uitgevoerd om inzicht te krijgen in de besmettelijkheid en verspreidingskans van de aantasting. Voor de verschillende proeven is plantmateriaal uit de praktijk gebruikt. Het project is in nauw overleg met de intensieve begeleiding met daarin vertegenwoordigers van de landelijke Saintpaulia commissie van LTO Groeiservice uitgevoerd.

2 Materiaal en methode

2.1 Proefopzet en materiaal

In eerste instantie is onderzocht of de oorzaak chemisch, microbiologisch of fysisch van aard is. Gezien de eerdere resultaten met de toets wortelverdikking bij komkommer is in eerste instantie de nadruk gelegd op mogelijke oorzaken van microbiologische aard. Ter aanvulling zijn aangetaste en niet aangetaste planten uit de praktijk afkomstig van meerdere herkomsten getoetst op het voorkomen van de wortelverdikking bacterie bij komkommer. Met deze toets wordt echter alleen aangegeven of deze aanwezig is, maar is nog niet duidelijk dat dit ook de daadwerkelijke veroorzaker is.

Door middel van ontsmetten kan achterhaald worden of een microbiologische ziekteveroorzaker betrokken is. Voor het ontsmetten zullen methoden gebruikt worden die de chemische en fysische parameters niet veranderen. Aan de hand van filtratieproeven kan opgehelderd worden of het een chemisch of microbiologische oorzaak betreft. Indien het een microbiologisch oorzaak betreft kan met filtratie ook bepaald worden aan welke groepen van ziekteverwekkers gedacht moet worden (schimmels, bacteriën of aaltjes). Eventuele virussen kunnen met electronenmicroscopie onderzocht worden. Ook met antibiotica experimenten kan bepaald worden of het een microbiologische oorzaak betreft. Tevens kan hiermee bepaalde groepen van bacteriën en schimmels uitgesloten worden. Als uit voorgaande experimenten blijkt dat het niet om een chemisch of microbiologische oorzaak gaat, moet het om een fysische of klimatologische oorzaak gaan.

Bovenstaande activiteiten moeten inzicht geven in de aard van de aantasting, zodat duidelijk is vanuit welke omstandigheden de aantasting van wortelverdikking gestimuleerd wordt. In eerste instantie is gestart met microbiologisch onderzoek met antibiotica experimenten.

Voor het achterhalen van de besmettelijkheid en verspreidingskans van de aantasting zijn de volgende testen uitgevoerd:

- biotoets komkommer
 - o controle
 - o controle met toevoeging besmet materiaal
 - o controle met toevoeging besmet materiaal en antibioticum tegen gram-negatieve bacteriën (deze zorgt ervoor dat bacteriën welke zorgen voor wortelverdikking uitgeschakeld worden)

- biotoets *Saintpaulia* stekken (van controle (schoon) materiaal; 'Regula')
 - o controle
 - o controle met toevoeging besmet materiaal
 - o controle met toevoeging besmet materiaal en antibioticum tegen gram-negatieve bacteriën (deze zorgt ervoor dat bacteriën welke zorgen voor wortelverdikking uitgeschakeld worden)

De biotoets voor *Saintpaulia* is zowel uitgevoerd op hydrocultuur als in (schone) potgrond, aangezien ervaring op hydrocultuur ontbreekt voor dit gewas. Per herhaling zijn 4 planten

ingezet voor de potgrond en 2 voor de hydrocultuur. In totaal zijn 3 behandelingen aangehouden in 2 media (hydrocultuur vs. grond) in 2 herhalingen.

2.2 Accommodatie

De experimenten zijn in samenwerking met DLV Plant uitgevoerd in het lab van GroenAgroControl te Delfgauw. Planten voor de reproductieproeven zijn geplaatst in een kas in de botanische tuin van Delft.

2.3 Proefverloop

Het onderzoek is gestart eind juli 2007. Besloten wordt om te starten met het verzamelen van het volgende (wel en niet aangetaste) materiaal: moerplanten uit Brazilië, onbeworteld stek uit Brazilië, beworteld stek uit Brazilië, beworteld stek uit Nederland en opgepotte planten uit Nederland. Parallel hieraan wordt onderzocht of de oorzaak chemisch, microbiologisch of fysisch van aard is.

In december 2007 zijn de biotoetsen ingezet om 100% zekerheid te krijgen over de aard van de aantasting en de mate van besmettelijkheid. Eind januari 2008 zijn de biotoetsen op hydrocultuur afgerond.

2.4 Waarnemingen

Voor het bepalen van aanwezigheid van de dikke wortelbacterie in verschillende testmonsters is de toets gebruikt zoals deze is ontwikkeld voor komkommer. Tijdens de biotoets is de ontwikkeling van het plantmateriaal waargenomen en zijn regelmatig foto's gemaakt.

3 Resultaten

3.1 Opnames aangetast materiaal

Tijdens het verzamelen van plantmateriaal voor het onderzoek zijn opnames gemaakt van de wortelverdikking (vooraanzicht, dwarsdoorsnede, lengtedoorsnede) bij Saintpaulia, cultivar 'Sonja'.



Foto 1. Opname Saintpaulia met verdikte stengel en wortels



Foto 2. Opname stengel/wortelverdikking

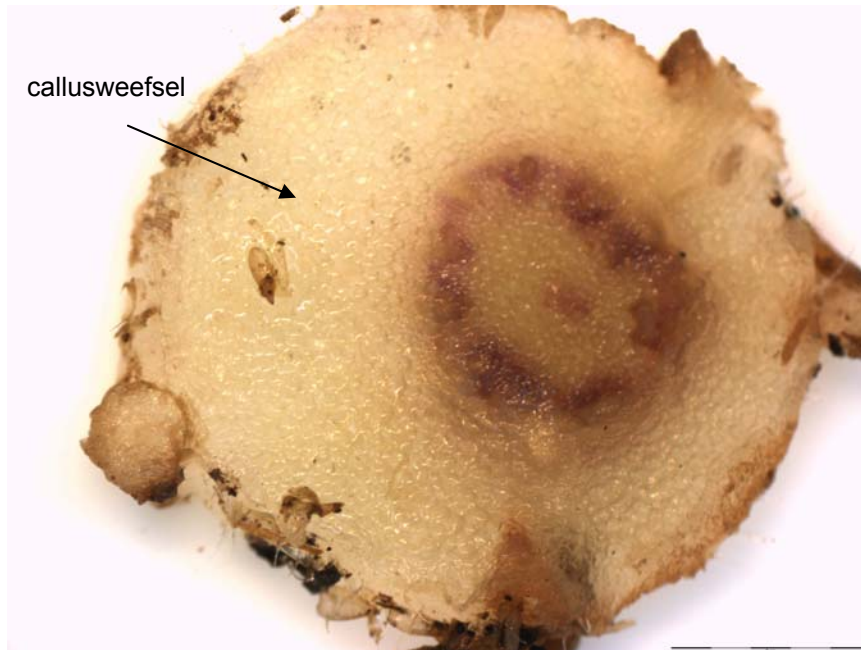


Foto 3. Dwarsdoorsnede van de verdikte stengel met de vaatbundels en het callusweefsel daaromheen

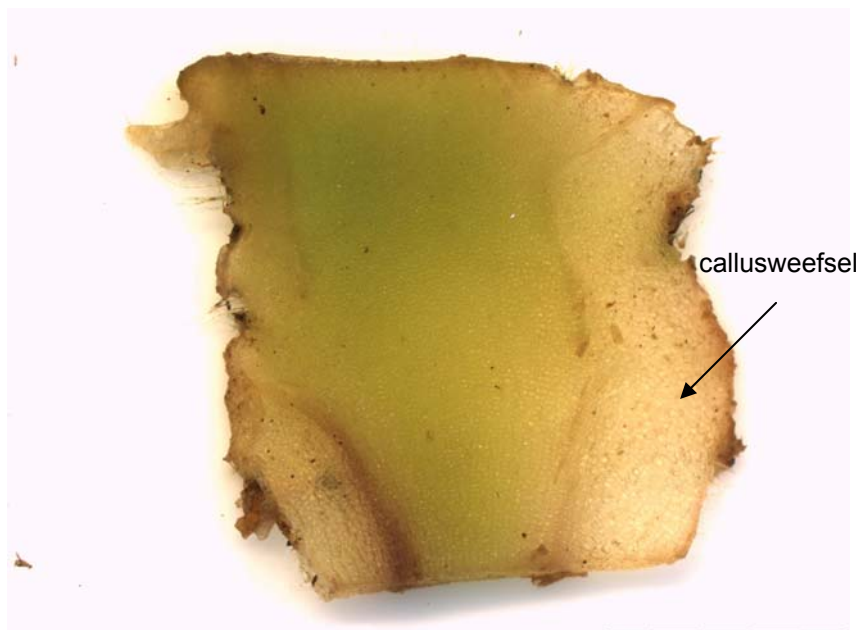


Foto 4. Lengtedoorsnede van de verdikte stengel met duidelijk zichtbaar het callusweefsel

In foto 3 is de originele stengel goed zichtbaar met daarin de vaatbundels. Het witte sponsachtige weefsel daaromheen is callusweefsel, als reactie van de plant ergens op. In foto 4 is in het groen de stengelbasis herkenbaar met daaromheen weer het callusweefsel.

3.2 Verzameld praktijkmateriaal

In 2007 is zowel aangetast als niet aangetast materiaal verzameld op verschillende praktijkbedrijven (bijlage 1). Uit analyses van aangeleverde planten blijkt in eerste instantie een duidelijke zwart-wit situatie. In het voorjaar van 2007 waren gezonde *Saintpaulia* planten negatief en aangetaste *Saintpaulia* planten positief met de PCR-toets voor de bacterie die wortelverdikking veroorzaakt bij komkommer. Van planten die aangeleverd werden in juli 2007 was de situatie minder duidelijk. Ook planten zonder symptomen bleken positief te zijn (rassen 'Sonja', 'Tabisa'). Maar achteraf bleek dat hier niet de wortels positief waren maar de grond. In augustus 2007 zijn er opgepotte planten van het ras 'Tessa' ontvangen die geen symptomen vertoonden en waarvan de wortels negatief scoorden. Echter de aanhangende grond (van grondplug) was wel positief. De grond in de pot was negatief. In het najaar van 2007 verzamelde stekken van het ras 'Tabisa' (zonder schadebeeld) waren positief. Bewortelde stekken van 'Regula' (zonder schadebeeld) waren negatief.

3.3 Microbiologische oorzaak

Middels besmetting en gebruik van antibiotica is een microbiologische oorzaak aan te tonen c.q. uit te sluiten. Vermaalde verdikte worteldelen zijn toegevoegd aan onaangetaste planten in hydrocultuur en in potgrond. Bij gezonde *Saintpaulia* moederplanten 'Regula' zonder symptomen waren wortels PCR negatief en grond ook PCR negatief. Deze partij is een goede controle partij voor verdere proeven. *Saintpaulia* planten 'Tessa' met symptomen opgepot in week 29 waren PCR positief. Dit materiaal is gebruikt voor besmetting van komkommerplanten op hydrocultuur (Foto 5, gezonde wortels). De wortels van de besmette planten ontwikkelen dikke wortels (Foto 6). Een hoge concentratie antibioticum voorkomt dikke wortels in komkommer na toevoeging besmet materiaal (Foto 7). Wel is enige antibioticum aantasting (concentratie effect) zichtbaar door minder wortelvorming.



Foto 5.
Negatieve controle,
Komkommerplanten op
hydrocultuur,
onbehandeld.



Foto 6.
Komkommerplanten op
hydrocultuur, behandeld
met besmet Saintpaulia-
materiaal. Typische
wortelverdikking is
waarneembaar.



Foto 7.
Komkommerplanten op
hydrocultuur, behandeld
met besmet Saintpaulia-
materiaal en antibioticum
(hoge concentratie).
Typische wortelverdikking
is niet waarneembaar,
maar wel
antibioticumaantasting.

Oorzaak verdikte stengel- en worteldelen bij Saintpaulia

Deze besmettingsproef is herhaald voor komkommer en ook ingezet voor Saintpaulia. Aangetast Saintpaulia materiaal van verschillende rassen is voor besmetting gebruikt. De controle komkommerplanten geven goede wortelgroei, de besmette komkommerplanten hebben typische stengel- en wortelverdikking en besmette komkommerplanten met lage concentratie antibiotica laten geen wortelverdikking en geen antibiotica aantasting zien (foto 8).



Foto 8. Komkommerplanten op hydrocultuur: Rechts controlebehandeling, midden besmet met aangetast Saintpaulia-materiaal, links besmet met aangetast Saintpaulia-materiaal en behandeld met antibiotica (Besmetting: 21 dec 2007. Foto:10 januari 2008).

Oorzaak verdikte stengel- en worteldelen bij Saintpaulia

Voor besmetting van Saintpaulia op hydrocultuur zijn verschillende rassen gebruikt met aantasting. De controle behandeling geeft goede wortelgroei, de besmette behandeling heeft typische stengel- en wortelverdikking en de besmette behandeling met lage concentratie antibiotica laat geen wortelverdikking en geen antibiotica aantasting zien (foto 9).

Besmetting van Saintpaulia is ook in potgrond uitgevoerd (op 7 december 2007). In januari 2008 zijn nog geen symptomen zichtbaar. Mogelijk geeft de potgrond een vertraging of zijn de proefkasomstandigheden niet optimaal geweest voor een goede groei.



Foto 9. Saintpauliaplantjes op hydrocultuur: Rechts controle, midden besmet met aangetast Saintpaulia-materiaal, links besmet met aangetast Saintpaulia-materiaal en behandeld met antibiotica, (Besmetting: 14 nov 2007. Foto: 10 januari 2008)

4 Conclusies en aanbevelingen

De volgende conclusies kunnen uit dit onderzoek worden getrokken:

- Stengel- en wortelverdikking in Saintpaulia wordt veroorzaakt door een bacterie;
- Deze bacterie lijkt op de bacterie die in komkommer wortelverdikking veroorzaakt;
- De bacterie kan worden getoetst middels de PCR toets voor de dikke wortel bacterie bij komkommer
- Deze bacterie kan in grond voorkomen bij gezonde (getoetste) wortels.

Nu de oorzaak achterhaald is, is het van belang om duidelijk te krijgen hoe de problemen tegengehouden of voorkomen kunnen worden. Belangrijke aanknopingspunten zijn 'grondsoort' als potentiële besmettingsbron en 'waterkwaliteit' als manier van verspreiding van de bacterie. Als rode draad hierdoor heen loopt het plantmateriaal, dat tijdens de vermeerdering verschillende handelingen ondergaat. Duidelijk is wel dat bepaalde rassen erg gevoelig zijn voor de aantasting.

Dit zal in vervolgonderzoek nader onderzocht moeten worden.

Bijlage 1. Verzameld praktijkmateriaal

Monster volgnr	Datum ontvangst	Bedrijf nr.	Ras	Prod. week	Monster omschrijving	Herkomst	Symptomen	DW PCR analyses resultaten
1	26-jul-07	1	Sonja	stek steek	planten met symptomen partij A	Brazilië	DW	alleen op wortels met grond getest: positief
2	26-jul-07	1	Sonja	stek steek	planten zonder symptomen partij A	Brazilië	geen	alleen op wortels met grond getest: licht positief
3	31-jul-07	2	Tabisa	22	beworteld stek	Brazilië	geen	alleen op wortels met grond getest: licht positief
4	31-jul-07	2	Tabisa	22	beworteld stek	Brazilië	DW	alleen op wortels met grond getest: positief
5	31-jul-07	2	Tabisa	21	busch	Brazilië	geen	alleen op wortels met grond getest: positief
6	31-jul-07	2	Tabisa	20	busch	Brazilië	DW	alleen op wortels met grond getest: positief
7	31-jul-07	2	Tabisa		beworteld stek, nieuwe moerplanten	Brazilië	geen	alleen op wortels met grond getest: licht positief
11	15-aug-07	2	Regula		Gezonde moerplanten partij A		geen	wortels zonder grond: negatief
12	15-aug-07	2	Tabisa		Gezonde stekken voor moerplanten		geen	wortels zonder grond: positief
13	8-nov-07	2	Regula		gezond beworteld stek als controleplanten	Brazilië	geen	wortels en grond: beide negatief
14	8-nov-07	2	divers		aangetast materiaal voor besmettingen	Brazilië	DW	wortels: positief
15	8-nov-07	2	Regula		gezond beworteld stek als controleplanten	Brazilië	geen	wortels en grond: beide negatief
16	8-nov-07	2	divers		aangetast materiaal voor besmettingen	Brazilië	DW	wortels: positief
8	2-aug-07	3	Tessa	oppot wk 23	20 planten opgepot schoon	bedrijf nr 1	geen	wortels:negatief; aanhangende grond positief; grond in pot negatief
9	2-aug-07	3	Tessa	oppot wk 29	20 planten opgepot aangetast	bedrijf nr 1	duidelijk DW	wortels: positief; grond negatief
10	2-aug-07	3	Tessa	oppot wk 30	21 planten opgepot aangetast	bedrijf nr 1	minder DW	wortels positief; grond niet getest

DW = verdikte stengel- en worteldelen