



## Voorkomen c.q. verminderen van 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](mailto:info@dlvplant.nl)

[www.dlvplant.nl](http://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  
Dave van Marwijk  
Jeroen van der Meij

Groen Agro Control  
Adriaan Vermunt

**PT-Projectnummer: 13317**

*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.*

Uw sector investeert in dit project via het Productschap  Tuinbouw

---

## Inhoudsopgave

<b>Samenvatting</b>	<b>3</b>
<b>1 Inleiding en doel</b>	<b>5</b>
<b>2 Materiaal en methode</b>	<b>7</b>
2.1 Waterkwaliteit	7
2.2 Grondsoort	7
2.3 Vermeerderingstraject	7
2.3.1 Aanpak	7
2.3.2 Opzet	7
2.3.3 Accommodatie	8
2.3.4 Proefverloop	8
2.3.5 Waarnemingen	9
2.4 Inzoomen bush-fase	10
2.5 Prepareren van bladstek	11
<b>3 Resultaten</b>	<b>12</b>
3.1 Waterkwaliteit	12
3.2 Grondsoort	12
3.3 Vermeerderingstraject	12
3.4 Inzoomen bush-fase	18
3.5 Prepareren van bladstek	20
<b>4 Conclusies en aanbevelingen</b>	<b>22</b>
<b>Bijlage 1. Klimaatdata</b>	<b>23</b>
<b>Bijlage 2. Aanpak inzoomen bush-fase</b>	<b>24</b>

## 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 maatregelen voor het (zoveel mogelijk) voorkomen van stengel- en wortelverdikking bij Saintpaulia. Meer inzicht in belangrijke besmettingsbronnen en -momenten is gewenst. 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 is eerst een inventarisatie uitgevoerd en bekeken in hoeverre waterkwaliteit en grondsoort een rol spelen in de besmettingsproblematiek. Hierna is bij proeftuin Boskoop een proef opgezet waarbij (blad)stekken en planten in de verschillende fases van het vermeerderingstraject zijn besmet.

Uit deze proef bleek dat de zgn. bush-fase (de fase waarin bladeren geplukt en geprepareerd worden en al dan niet na korte bewaring gestoken worden om na verloop van tijd stekjes van te oogsten) een potentieel risico moment is voor besmetting met de dikke wortelbacterie. Daarom is middels twee besmettingsproeven juist in deze fase verder gezocht naar meer inzicht in besmetting en verspreiding door de bacterie.

Na het uitvoeren van bovenstaande aanpak is gebleken dat de waterkwaliteit van zowel gift- als drainwater in dit onderzoek geen verband heeft opgeleverd met de aanwezigheid van dikke wortel bacterie.

Na de monsteranalyses van de besmettingsproef in Boskoop bleek dat alle bladmonsters (controle als besmet) negatief waren. Dit betekent dat in deze proef het potentieel besmettingsrisico in de moerplantfase (het bladplukken) klein is.

Alle stekmonsters uit de bush-fase (controle als besmet) van de proef waren positief. Dit betekent dit dat tijdens de bush-fase de besmettings- en verspreidingsrisico's groot zijn.

De bush-fase blijkt een potentieel risico moment te zijn voor besmetting met de bacterie. Hoewel in de praktijk een bewaarperiode van bladstekken (voordat deze gestoken worden als uitgangsmateriaal) als gunstig wordt ervaren i.v.m. de mate van besmetting na de bush-fase, is in deze proef bewezen dat dikke wortel bacteriën 10 dagen van bewaring kunnen overleven.

Een belangrijk gegeven is dat de bacterie niet kunstmatig is op te kweken. Het is wel in stand te houden. De indruk is dat de bacterie zich vooral op het weefsel voordoet en minder in het weefsel en/of sapstroom, hoewel dit theoretisch wel mogelijk is. De bacterie houdt niet van een lage pH evenals chloor.

Na infectie is de bacterie vooral actief bij wortels (komkommer) en ook wel stengelbasis dicht tegen het substraat (tomaat, paprika). In sapstroom is de bacterie nog niet gevonden. Bij een negatieve PCR toetsuitslag is er zeker geen DW bacterie in het submonster. Moeilijkheid hierin is dat voor een submonster slechts heel weinig materiaal wordt gebruikt uit het hele monster. Vaststellen dat een hele partij 100% vrij is van DW bacterie is hierdoor vrijwel onmogelijk.

Het is lastig gebleken om de belangrijkste besmettings- en verspreidingsbronnen goed in kaart te brengen. Dit komt mogelijk door het feit dat niet alleen de bacterie zelf dit bepaald, maar ook de interactie met omstandigheden en klimaat een rol speelt. Duidelijk is dat hygiëne zeer belangrijk is bij deze problematiek. Een belangrijk onderdeel van effectieve hygiëne is om vastgestelde besmettingsbronnen, zoals geïnfecteerde planten, te verwijderen. Besmetting moet zoveel mogelijk voorkomen worden door oa. schoon te werken, continu instrumenten en handen te ontsmetten en instrumenten per vermeerderings- en teelfase gescheiden te houden.

Hiernaast kan ook curatief worden gehandeld. De ziekteverwekker kan gedood worden met ontsmettingsmiddelen, zoals chloorbleekloog, waterstofperoxide en perazijnzuur. Tevens is ontsmetten middels UV en verhitting effectief.

Bij lagere pH (<6) blijkt de aantasting minder te zijn dan bij hoge pH (>7). Dit effect is met name waar te nemen wanneer in hydrocultuur geteeld wordt.

# 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. Het aantastingspercentage verschilt per partij en per jaar, maar kan zelfs oplopen tot 100% in een partij.

Uit voorgaand onderzoek naar de oorzaak van deze problematiek is duidelijk gebleken dat het hier gaat om een bacteriële aantasting. Nu de aantaster duidelijk is, is het de vraag hoe problemen zoveel mogelijk voorkomen kunnen worden.

De veroorzaker van verdikte stengel- en worteldelen bij Saintpaulia lijkt op de bacterie die in komkommer wortelverdikking veroorzaakt. Na deze constatering is het onderzoek naar de veroorzaker van verdikte wortels bij komkommer (uitgevoerd door Groen Agro Control, in opdracht van Productschap Tuinbouw) erbij gehaald. Belangrijkste bevindingen hiervan:

- Wortelverdikkingsymptomen kunnen in planten opgeroepen worden met een preparaat dat micro-organismen bevat. Het is een besmettelijke ziekte.
- Er zijn sterke aanwijzingen dat de ziekteveroorzaker waarschijnlijk een Gram-negatieve staafvormige bacterie is, die behoort tot het geslacht Burkholderia.
- De bacterie is niet op te kweken in het laboratorium. Het is wel in stand te houden.
- Er is een DNA-toets ontwikkeld waarmee de bacterie gedetecteerd kan worden.
- De ziekteverwekker kan gedood worden met ontsmettingsmiddelen, zoals chloorbleekloog, waterstofperoxide en perazijnzuur. Tevens is onsmetten middels UV en verhitting effectief.
- Bij lagere pH (<6) blijkt de aantasting minder te zijn dan bij hoge pH (>7). Dit effect is met name waar te nemen wanneer in hydrocultuur geteeld wordt.

De indruk is dat de bacterie zich vooral op het weefsel voordoet en minder in het weefsel, hoewel dit ook mogelijk is. Na infectie is de bacterie vooral actief bij wortels (komkommer) en ook wel stengelbasis dicht tegen het substraat (tomaat, paprika). In sapstroom is de bacterie nog niet gevonden.

De bacterie lijkt sterk op degene die bij komkommer wortelverdikking veroorzaakt, maar is niet per definitie dezelfde. Om dit te achterhalen zou het DNA van de bacterie totaal geïdentificeerd moeten worden, wat een kostbare aanpak blijkt te zijn. Daarnaast zou deze exacte kennis niet leiden tot de oplossing van het voorkomen of verminderen van deze bacterie.

De bacterie kan in grond voorkomen bij (nog) gezonde wortels. Wanneer aangetaste delen vermaald worden en toegevoegd worden aan gezonde planten is de besmettingskans erg groot. De bewaartijd van onbeworteld stek heeft invloed op de mate van aantasting. Langer bewaarde stekken resulteren in minder aantastingen. Wellicht heeft de langere bewaarperiode invloed op herstel en afdichting van de snijwond van de stek.

Het doel van het onderzoek is maatregelen te achterhalen voor het (zoveel mogelijk) voorkomen van stengel- en wortelverdikking bij Saintpaulia.

Er is vooral gekeken naar de factoren ~~waterkwaliteit~~ ~~grondsoorten~~ en ~~vermeerderingsstappen~~ als mogelijke besmettings- en verspreidingsbronnen. Hierna zijn proeven uitgevoerd met actieve besmetting bij de verschillende vermeerderingsstappen 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 uitgevoerd in nauw overleg met de intensieve begeleiding met daarin vertegenwoordigers van de landelijke Saintpaulia commissie van LTO Groeiservice.

## 2 Materiaal en methode

Alvorens gewasproeven op te starten is eerst een inventarisatie uitgevoerd en bekeken in hoeverre waterkwaliteit en grondsoort een rol spelen in de besmettingsproblematiek. In chronologische volgorde behandelt dit hoofdstuk de aanpak van de verschillende activiteiten, waarna het hoofdstuk resultaten op dezelfde indeling hanteert.

### 2.1 Waterkwaliteit

In eerste instantie is de waterkwaliteit op 6 verschillende bedrijven onderzocht op de aanwezigheid van dikke wortelbacterie. Monsters van gift- en drainwater zijn genomen door DLV Plant en geanalyseerd op aanwezigheid van dikke wortelbacterie door Groen Agro Control in september 2008.

### 2.2 Potgrond

Parallel aan het nemen van de watermonsters is het gebruik van potgrondmengsels op de verschillende bedrijven geïnventariseerd. Hierna is centraal in de BCO besproken wat er met de uitkomst van deze inventarisatie gedaan zou worden.

### 2.3 Vermeerderingstraject

#### 2.3.1 Aanpak

Aangezien besmettingen (zowel op de praktijkbedrijven als op de vermeerderingsbedrijven) zeer beperkt zijn waargenomen gedurende het project is in het voorjaar van 2010 door de BCO besloten om planten actief te gaan besmetten en niet langer te wachten op besmette moerplanten. Centraal in de proef staat het besmetten van moerplanten en bushplanten (planten in een tussenfase tussen moerplant en uiteindelijk stekmateriaal voor de teelt). Uit de uiteindelijke Analyseresultaten van de proef moet duidelijk worden in hoeverre besmette planten toch schone stekken kunnen leveren voor vervolgstappen in het vermeerderingstraject.

#### 2.3.2 Opzet

Voor de proef is het ras Hananja ingezet, welke in het verleden regelmatig verdikte stengel- en worteldelen heeft gehad. Moer- en bushplanten zijn zowel op potgrond als op hydrocultuur gekweekt. Uit voorgaand onderzoek bleek namelijk dat bij teelt op water besmetting veel makkelijker tot stand is gekomen. Mocht besmetten op de potgrondbehandelingen niet aanslaan dan kan het onderzoek terugvallen op de planten van de hydrocultuur. Voor de potgrond behandelingen zijn 50 moerplanten en 4 bakken met bushplanten (25 planten per bak) ingezet per proefbehandeling (dus per controle en besmette behandeling). Voor de hydrocultuur zijn 24 bushplanten en 6 moerplanten ingezet per proefbehandeling (controle en besmet). Hiervoor zijn lichtdichte pvc bakjes (1 liter) gebruikt.

De teeltomstandigheden waren als volgt:

Temperatuur: minimaal 20°C.  
 Instraling: max.250 watt (krijten + schermen)  
 Voeding (potgrond) plantprod 12-2-14 (elke gift 1,5 EC via bevoeiingsmat. Drainwater apart opvangen).  
 Voeding (hydrocultuur): per 10 l regenwater: plantprod 7-11-27 (10 g), kalksalpeter (7 gr), Fe EDDHA (6%) (0,5 gr). EC instellen op 1,5 mS/cm, pH op 5,8.

### 2.3.3 Accommodatie

De proef is uitgevoerd in een proefkas in Boskoop, met klimaatomstandigheden zoals die voor Saintpaulia gebruikelijk zijn. De controle planten en de besmette planten zijn van elkaar gescheiden door verschillende roltafels te gebruiken. Bij alle mogelijke teelthandelingen is eerst de controletafel afgewerkt en daarna de proeftafel. Voor metingen aan de voedingsoplossingen van de hydrocultuur zijn aparte sensoren gebruikt per tafel.

### 2.3.4 proefverloop

De proef is gestart op een praktijkbedrijf waar op 9 april 2010 moerplanten zijn geselecteerd (100+) en bushplanten zijn gestoken (vanuit bladstekken van moerplanten). De bladstekken zijn 1 week eerder geoogst en geprepareerd, d.w.z. op maat gesneden (tot zo'n 1 cm bladsteellengte vanaf het blad). Dit snijvlak heeft een week in kunnen drogen alvorens deze gestoken is voor de bush-fase. Behalve op potgrond zijn ook bushplanten op watercultuur ingezet (foto 1 en 2).



Foto 1: bladstek moerplant voor inzet bushplant

Foto 2: watercultuur voor bushplanten

Vier weken na het inzetten van de proef zijn alle planten naar een proefkas in Boskoop verplaatst, waar de besmetting plaats kan vinden. Bij de helft van alle moerplanten is op dit moment bladgeplukt. Vlak voor besmetten is de andere helft van de planten ontdaan van de oudste bladeren. Deze verschillen in moment van bladplukken zijn gekozen om het effect te achterhalen van oude vs. verse wondvlakken ivm. besmetten. Na twee weken van acclimatiseren zijn de proefplanten besmet met een oplossing van (handmatig) gemalen verdikte stengel- en worteldelen (foto 3). Met een injectiespuit is per plant 10 ml toegediend aan de potgrond bij de stengelbasis. Een monster van deze oplossing is getoetst op aanwezigheid van dikke wortelbacterie.





Foto 3: besmet plantmateriaal, waarvan het deel binnen de rode cirkel is gebruikt voor besmetting

De planten op potgrond hebben, afhankelijk van het weer, zo'n tweemaal per week water en voeding gekregen. De hydrocultuur is wekelijks doorgemeten op EC en pH en afhankelijk van de mate van de schommelingen gecorrigeerd (met KOH) of ververst. Zeven weken na moment van besmetten heeft de eindbeoordeling plaatsgevonden, vooral omdat de moederplanten op hydrocultuur kwalitatief minder werden. Op dit moment zijn ook de volgende plantendelen verzameld: bladstekken controle (moer potgrond), bladstekken besmet (moer potgrond), stekjes controle (bush potgrond), stekjes besmet (bush potgrond), stekjes controle (bush hydrocultuur), stekjes besmet (bush hydrocultuur). Dit materiaal is gestoken op hetzelfde praktijkbedrijf als waar de proef is gestart. Doel hiervan is een praktijktest om te zien of en in hoeverre besmette stekken symptomen gaan vertonen.

### 2.3.5 Waarnemingen

Tijdens de proef zijn de klimaatomstandigheden (T, RV, CO<sub>2</sub>, par) continu gemeten. De ontwikkeling van het plantmateriaal is regelmatig waargenomen en foto's zijn gemaakt. De proef is afgesloten met een eindbeoordeling. Per behandeling zijn opvallende zaken beschreven, is aangegeven of visueel symptomen waargenomen zijn van wortel- en stengelverdikking en foto's zijn gemaakt. Daarnaast zijn monsters van verschillende plantendelen verzameld van de controlebehandelingen en de proefbehandelingen (tabel 1). Ook een monster van het giftwater is genomen. Deze zijn door Groen Agro Control getoetst op de mate van aanwezigheid van dikke wortelbacterie.

Tabel 1. Eindbeoordeling proef; monsternamen

behandeling	toelichting	Monster	Monster	monster
1 moer (grond)		Stengelbasis (met en zonder grond)	Blad laag	Blad hoog
2 moer (grond)	Vlak voor besmetten blad plukken*	Stengelbasis (met en zonder grond)	Blad laag	Blad hoog
3 moer (water)		stengelbasis	Blad laag	Blad hoog
4 moer (water)	Vlak voor besmetten blad plukken	stengelbasis	Blad laag	Blad hoog
5 bush (grond)		stengelbasis	Stekjes	
6 bush (water)		stengelbasis	Stekjes	

\*Deze werkwijze leidt er mogelijk toe dat de dikke wortelbacterie makkelijker een besmetting veroorzaakt via verse wonden.

De tabel geldt voor zowel de controle als de proef tafel.  
(1 monster van toedieningswater terplekke nemen)

## 2.4 Inzoomen bush-fase

Na de proef in Boskoop is besloten verder in te zoomen in specifiek de bush-fase; de fase waarin bladeren geplukt en geprepareerd worden en al dan niet na een week bewaring gestoken worden om na verloop van tijd stekjes van te oogsten. Doelstelling en werkwijze staan in bijlage 2 beschreven. Hieronder staat het proefverloop en de resultaten beschreven.

Deze proefopzet heeft vertraging in de uitvoering opgelopen i.v.m. de beschikbaarheid van besmet plantmateriaal uit de praktijk. In februari 2011 was er dan materiaal (foto 23) beschikbaar op een praktijkbedrijf wat is opgehaald door DLV Plant.

Op vrijdag 18 februari 2011 zijn bladeren van het ras Sharonq(uit weefselkweek) geplukt en meteen geprepareerd. In de partij moerplanten zijn enkele verdachte planten gesignaleerd (ietwat verdikte stengelbasis) en indicatief meegenomen in de proefopzet tot de volgende 4 behandelingen;

1. controle
2. besmet
3. verdachte plant controle
4. verdachte plant besmet

De controle behandelingen zijn geprepareerd met een schoon mes, welke na elk blad is ontsmet. Bij de besmette behandelingen is het mes telkens voorafgaand aan een blad ingedoopt in de dikke-wortel-bacterie oplossing. Een monster van deze oplossing is geanalyseerd en positief getoetst op deze bacterie.

Op 28 februari zijn de bladstekken per behandeling zowel op watercultuur als op potgrond ingezet.



Foto 23: plant met symptomen



Foto 24: aanmaken oplossing besmet materiaal

## 2.5 Prepareren van bladstek

Het lijkt erop dat de bacterie zich niet of slecht in plantweefsel/sapstroom verspreid. Een mogelijke oorzaak van het niet aanslaan van de besmetting is de bewaarperiode. Deze wordt normaal gebruikt omdat in de praktijk hierdoor een gelijkmatigere groei ontstaat en minder uitval. Tijdens bewaring drogen de snijvlakken wat in. Mogelijk dat de DW bacterie dit slecht overleeft. Om dit te testen en de proefresultaten te verifiëren is nog een laatste proefje uitgevoerd met al dan niet besmetten van bladstekken in combinatie met de tijdsduur van de bewaarperiode:

- 2 behandelingen; wel/niet besmetten via preparatie bladstek
- 2 hh per behandeling, 5 bladeren per herhaling
- 4 monstermomenten tijdens bewaarperiode; vanaf besmetten op dag 1, 3, 7, 10.

Dit komt neer op maximaal 2 (beh) x 2 (hh) x 4 (monstermomenten) = 16 monsters. In geval er op het einde van de bewaarperiode positief wordt getoetst dan wordt ook een bio-toets (met komkommer als testgewas) ingezet om te toetsen of de aangetoonde bacteriën nog leven of dood zijn. De dikke wortel toets kan hier namelijk geen onderscheid in maken aangezien het stukjes DNA aantoon. Dit DNA kan, afhankelijk van omstandigheden, tot enkele dagen na de dood van de bacteriën aangetoond worden.

### 3 Resultaten

#### 3.1 Waterkwaliteit

Van 6 verschillende bedrijven zijn monsters genomen van toedieningswater. In geval van recirculatie is ook het drainwater bemonsterd. Na analyse op aanwezigheid van de dikke wortelbacterie is gebleken dat geen van de monsters positief is getest. Op het moment van monsternamen kan gesteld worden dat de waterkwaliteit geen rol heeft gespeeld als besmettings- of verspreidingsbron. Op de bedrijven waren ten tijde van de monsternamen geen grote problemen met aantastingen.

#### 3.2 Grondsoort

Bij dezelfde bedrijven als waar watermonsters zijn genomen is de gebruikte potgrondsamenstelling (organische componenten) geïnventariseerd (tabel 2).

Bij potgrond is het namelijk mogelijk dat componenten ervan van nature dikke wortelbacteriën bevatten. Binnen dit onderzoek is er niet voor gekozen om potgrondbestanddelen afzonderlijk te onderzoeken op de aanwezigheid van dikke wortelbacterie. Net als bij het nemen van watermonsters gaat het hierbij namelijk ook om een momentopname.

Tabel 2. Gebruikte potgrond en toeleverancier

Samenstelling (van organische oorsprong)	Leverancier
Turf	Klasman
Turf	Stender (Duitsland)
Cocos en turf	Meeuwisse
Turf	Pindstorp (Denemarken)
Cocos en turf	Bas van Buren
Turf	Tref Ego substraat

#### 3.3 Vermeerderingstraject

Het vermeerderingstraject wordt onderzocht door besmettingsproeven te doen met de moerplant fase en de bushplant fase. In de proefkas zijn 2 aparte tafels aangehouden (controle en besmet), zoals te zien op foto 4. Een overzicht van het gerealiseerde klimaat tijdens de proef is zichtbaar in bijlage 1.



Foto 4: Proefoverzicht

Twee weken na de start van de proef zijn bij de bushplanten de eerste wortels zichtbaar (foto 5 en 6). Opvallend hierbij is dat de bushplanten op watercultuur een snellere wortelontwikkeling laten zien vergeleken met planten in potgrond. De bushplanten op water laten daarnaast een vreemd soort residu zien op het blad (foto 7 en 8) met vaak ook wat vocht op het blad vanuit de basis. Mogelijk heeft dit iets te maken met de balans water- en voedingopname en verdamping. Het residu heeft geen nadelige effecten op de ontwikkeling van de bushplanten.



Foto 5: wortelgroei bushplant watercultuur na 2 weken



Foto 6: wortelgroei bushplant potgrond na 2 weken



Foto 7 en 8: residu vanuit hart van de bladstek

Op het moment van besmetten is een monster genomen van de oplossing van gemalen verdikte stengel- en worteldelen. De toetsuitslag hiervan was positief.



Vier weken na het besmetten zijn er symptomen van wortelverdikking waargenomen bij de bushplanten op watercultuur (foto 10).



Foto 9: wortelgroei bushplant watercultuur (controle), 4 weken na moment van besmetting

Foto 10: wortelgroei bushplant watercultuur (besmet), 4 weken na moment van besmetting

Zeven weken na besmetten heeft de eindbeoordeling plaatsgevonden (tabel 3). Zoals te zien is in de tabel zijn een aantal monsters herhaald. Van de monsters die onverwacht positief of negatief waren zijn zowel de DNA extractie als de PCR toets herhaald. Hier is hetzelfde resultaat uitgekomen. Voor de drie monsters met grond en wortels van besmet materiaal zijn analyses uitgevoerd op zowel de aanhangende grond als op de wortels afzonderlijk. Bij één monster was de grond negatief en de wortels positief. Foto's 11 t/m 16 tonen verschillende planten tijdens de eindbeoordeling

Wat verder opvalt is dat:

- Van de controle behandeling zijn er 5 monsters besmet met dikke wortelbacterie. Dit is opmerkelijk. Er is namelijk geen enkel contact geweest tussen controle en proef, op welke manier dan ook. Altijd bij handelingen is eerst de controletafel afgewerkt en daarna de besmette tafel (zo ook bij de monsternamen). Tussen elk afzonderlijk monster zijn de handen en materialen ontsmet. Er is niets bewust besmet in de controleplanten.
- Van de monsters van de stengelbasis van planten die besmet zijn, blijken 3 van de 4 positief te zijn. 1 moederplant waarvan later blad geplukt is bleek negatief te zijn, terwijl wel 1 plant van deze behandeling verdacht was.
- Alle bladmonsters zijn negatief.
- Alle stekmonsters zijn positief (zowel van de besmette planten als van de controleplanten). Opvallend dat stekken van de controle ook positief zijn getoetst. Het bush-materiaal komt van dezelfde moederplanten vandaan die onderdeel waren van deze proef. Aangezien de controle moederplanten (op potgrond: dus het praktijkmateriaal) op alle onderdelen negatief zijn getoetst lijkt het onwaarschijnlijk dat het bush-materiaal al besmet was voordat de proef is ingezet.

Tabel 3. Resultaten monsteranalyse

Monsternr DW Saintpaulia 6-7-2010

Analyse DW PCR: wk 28 en wk 29, 2010

monsternr.	behandeling	monster	zichtbare symptomen	DW	
				1e PCR	2e PCR
controle materiaal					
1	moerplant	blad hoog	-	-	
2	moerplant	blad laag	-	-	
3	moerplant (later bladgeplukt)	blad hoog	-	-	
4	moerplant (later bladgeplukt)	blad laag	-	-	
5	moerplant (later bladgeplukt)	stengelbasis	-	-	
6	moerplant (later bladgeplukt)	wortels+grond	-	-	
7	moerplant	stengelbasis	-	-	
8	moerplant	wortels+grond	-	-	
9	moerplant watercultuur	blad laag	-	-	
10	moerplant watercultuur	blad hoog	-	-	
11	moerplant watercultuur	stengelbasis+enkele wortel	-	-	
12	moerplant watercultuur (later bladgeplukt)	blad laag	-	-	
13	moerplant watercultuur (later bladgeplukt)	blad hoog	-	-	
14	moerplant watercultuur (later bladgeplukt)	stengelbasis+enkele wortel	-	+	+
15	bushplant watercultuur	stekjes	-	+	++
16	bushplant watercultuur	wortels	? (callus)	++	++
17	bushplant	stekjes	-	+	+
18	bushplant	wortels+grond	-	+(grond)	++ (wortels)

besmet materiaal

19	moerplant	blad hoog	-	-	
20	moerplant	blad laag	-	-	
21	moerplant	stengelbasis	-	+	
22	moerplant	wortels+grond	-	-(grond)	-(wortels)
23	moerplant (later bladgeplukt*)	blad hoog	-	-	
24	moerplant (later bladgeplukt)	blad laag	-	-	
25	moerplant (later bladgeplukt)	stengelbasis	verdachte pla	-	-
26	moerplant (later bladgeplukt)	wortels+grond	-	-(grond)	-(wortels)
27	moerplant watercultuur	blad laag	-	-	
28	moerplant watercultuur	blad hoog	-	-	
29	moerplant watercultuur	stengelbasis+enkele wortel	-	+	
30	moerplant watercultuur (later bladgeplukt)	blad laag	-	-	
31	moerplant watercultuur (later bladgeplukt)	blad hoog	-	-	
32	moerplant watercultuur (later bladgeplukt)	stengelbasis+enkele wortel	+	+	
33	bushplant watercultuur	stekjes	+	+++	
34	bushplant watercultuur	wortels	+	-	-
35	bushplant	stekjes	+	++	
36	bushplant	wortels+grond	+	-(grond)	++ (wortels)

37	toedieningswater	bassin		-	
----	------------------	--------	--	---	--

\* later bladgeplukt: vlak voor toedienen besmet materiaal (zodat plant verse wonden aan stengelbasis heeft)

Met verschillende aantallen plusjes is de relatieve mate van besmetting aangegeven: +++: sterk besmet, ++: redelijk besmet, +: licht besmet, -: niet besmet.



Foto 11: wortels en stengelbasis moerplant op watercultuur (controle)



Foto 12: wortels en stengelbasis moerplant op watercultuur (besmet)



Foto 13: bushplant op watercultuur (controle)



Foto 14: bushplant op watercultuur (besmet)



Foto 15: stekje bushplant potgrond (besmet)



Foto 16: stekje bushplant watercultuur (besmet)



Als laatste stap in de proef is direct na de eindbeoordeling materiaal vanuit Boskoop vervoerd naar het praktijkbedrijf waar het van afkomstig was. Het gaat om 6 behandelingen; blad van controle moerplant (monsternr. 2), stekjes van controle bushmateriaal (monsternr. 15), stekjes van controle bushmateriaal (monsternr. 17), blad van besmette moerplant (monsternr. 20), stekjes van besmet bushmateriaal (monsternr. 33), stekjes van besmet bushmateriaal (monsternr. 35).

Dit materiaal is meteen gestoken. Zeven weken later zijn de stekken klaar om opgepot te worden en vindt er een waarneming van het materiaal plaats (foto's 17 - 22). Het enige zichtbare bovengrondse verschil is dat de stekken van het bushmateriaal die afkomstig zijn van de watercultuur wat lichter van kleur zijn in het hart. Verder zijn er visueel geen verschillen tussen besmette- en controle planten.



Foto 17: blad controle



Foto 18: stekje controle (grond)



Foto 19: stekje controle (water)



Foto 20: blad besmet



Foto 21: stekje besmet (grond)



Foto 22: stekje besmet (water)

Er is centraal besloten om geen verdere monsteranalyse te doen van dit materiaal uit de proef. Er is namelijk al gebleken dat in de proef alle bladmonsters negatief scoorden en alle stekmonsters positief.

### 3.4 Inzoomen bush-fase

Op 4 mei 2011 zijn monsters genomen, vooral omdat de stekjes op de watercultuur in de verdrukking kwamen en we smet wilden voorkomen. Van de potgrondbehandelingen zijn ook monsters genomen van stekjes van de helft van de planten, waarna de overige planten per behandeling zijn doorgeteeld voor eventuele latere monsternamen.

Duidelijk is dat de wortelvorming afwijkt voor behandeling 4 (foto 25-26-27). Wortels zijn korter en donkerder qua kleur. Verder zijn geen visuele afwijkingen zichtbaar aan stekjes op de watercultuur.



Foto 25: controle op hydrocultuur



Foto 26: verdachte planten besmet op hydrocultuur



Foto 27: steelbasis en wortels van de 4 behandelingen op hydrocultuur

Stekken van de potgrondbehandeling ~~controle~~ besmet laten op het monsterniveau af en toe een verdikking zien aan de basis. Dit hoeft echter niet meteen op symptomen van wortelverdikking te duiden; een bladstek die wat hoger in de potgrond is gestoken geeft automatisch stekken met een kortere en dikkere stengel. Deze hebben namelijk minder ver

hoeven rekken om boven de grond te komen dan stekken van bladeren die diep zijn gestoken.



Foto 28: stekjes van behandeling 1 (links) en 2 van potgrond

Stekken van zowel de watercultuur als de potgrondbehandelingen zijn geplukt en per stek zijn de worteltjes verwijderd. Per behandeling zijn monsters verzameld van tenminste 25 stekjes en meteen naar het analysebureau gebracht. Hier zijn de stekjes gespoeld (standaard procedure) en zijn de stukjes stengelbasis verzameld voor het te toetsen monster. Na analyse van alle monsters bleek dat nergens positief is getoetst op dikke wortel bacterie.

Hierna zijn op 16 juni nogmaals de stekken (foto 29) van de potgrondbehandelingen bemonsterd, evenals de potgrond rondom de basis van de bladstek. Op dit moment waren de stekken groot genoeg om volgens de praktijk geplukt te worden voor de volgende fase. Ook op dit moment waren alle monsters negatief.



Foto 29: stekjes van behandeling 1 t/m 4 (van links naar rechts) van potgrond



### 3.5 Prepareren bladstek

Nadat op 16 augustus 2011 (dag 1) bladstekken zijn geprepareerd al dan niet met een besmet mes, zijn meteen monsters geanalyseerd op dikke wortel bacterie. Hiervoor zijn de onderkanten van de steeltjes gebruikt (met het snijvlak). Tabel 4 geeft een overzicht van de analyseresultaten op de verschillende monstertmomenten tijdens de bewaarperiode. De oplossing waarmee is besmet is positief getoetst. Beide herhalingen van de controlebehandeling laten op alle monstertmomenten een negatieve uitslag zien. Opvallend is dat bij een van de behandelde herhalingen op de eerste twee monstertmomenten ook een negatieve uitslag is geanalyseerd.

Tabel 4. Analyseresultaten bladstekken (besmet en controle) op 4 momenten tijdens de bewaarperiode.

DNA toets				
beh/datum	16-aug	18-aug	22-aug	25-aug
B1	-	-	+	+/-
B2	+	+	+	+
C1	-	-	-	-
C2	-	-	-	-

opl. +

B=besmet

C=controle

Met het materiaal dat op dag 10 na besmetten (25 augustus) is geanalyseerd is een biotoets uitgevoerd om te bekijken in hoeverre de positieve uitslag van de PCR toets nog steeds levende bacteriën oplevert. Voor elk monster is materiaal fijngemaakt en toegevoegd in het voedingswater van de komkommerplantjes. Voor elk monster zijn drie plantjes besmet in één bakje. Tabel 5 en foto's 30 en 31 geven de uitslag en deze laat zien dat na 10 dagen van bewaring nog steeds levende dikke wortel bacteriën voor kunnen komen op het plantweefsel. Bij B-1 ontwikkelt mogelijk een begin van wortelverdikking bij één plantje (daarom uitslag +/-). Bij B-2 zien we bij één plantje hele duidelijke wortelverdikking (foto 31).

In deze proef heeft dus een gedeelte van de DW-bacteriën die via het mesje op de onderkant van het gesneden blad zijn overgedragen het na 10 dagen nog overleefd en kunnen ze nog steeds voor wortelverdikking zorgen.

Tabel 5. Biotoets met komkommer

bio toets	
beh/datum	25-aug
B1	+/-
B2	+



Foto 30. Komkommer behandeld met B1



Foto 31. Komkommer behandeld met B2

## 4. Conclusies en aanbevelingen

De volgende conclusies kunnen uit dit onderzoek worden getrokken:

- Stengel- en wortelverdikking in Saintpaulia wordt veroorzaakt door de dikke wortel bacterie.
- De waterkwaliteit van zowel gift- als drainwater heeft in dit onderzoek geen verband opgeleverd met de aanwezigheid van dikke wortel bacterie.
- Alle bladmonsters (controle als besmet) van de proef in Boskoop waren negatief.
- Alle stekmonsters (controle als besmet) van de proef in Boskoop waren positief. Samen met het feit dat alle bladmonsters negatief waren, betekent dit dat tijdens de bush-fase de besmettings- en verspreidingsrisico's groot zijn.
- De bush-fase blijkt een potentieel risico moment te zijn voor besmetting met de bacterie.
- Het lijkt erop dat de dikke wortel bacterie zich niet of slecht in plantweefsel en/of sapstroom verspreid.
- Hoewel in de praktijk een bewaarperiode van bladstekken als gunstig wordt ervaren i.v.m. de mate van besmetting na de bush-fase, is in deze proef bewezen dat dikke wortel bacteriën 10 dagen van bewaring kunnen overleven.

Een belangrijk gegeven is dat de bacterie niet kunstmatig is op te kweken. Het is wel in stand te houden. De indruk is dat de bacterie zich vooral op het weefsel voordoet en minder in het weefsel, hoewel dit theoretisch wel mogelijk is.

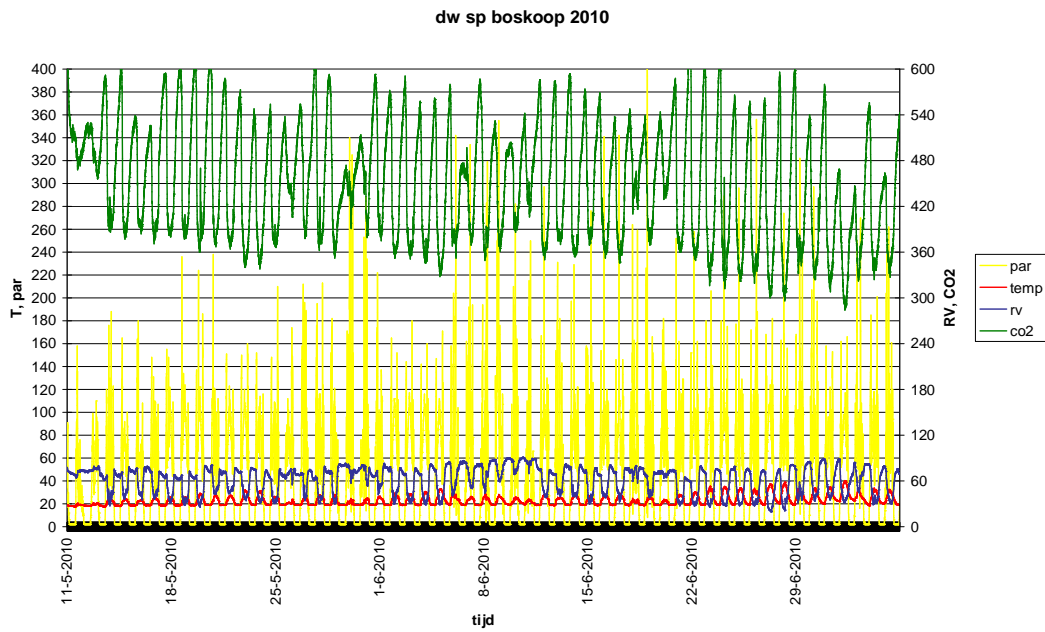
Na infectie is de bacterie vooral actief bij wortels (komkommer) en ook wel stengelbasis dicht tegen het substraat (tomaat, paprika). In sapstroom is de bacterie nog niet gevonden. Bij een negatieve PCR toetsuitslag is er zeker geen DW bacterie in het submonster. Moeilijkheid hierin is dat voor een submonster slechts heel weinig materiaal wordt gebruikt uit het hele monster. Vaststellen dat een hele partij 100% vrij is van DW bacterie is hierdoor vrijwel onmogelijk.

Het is lastig gebleken om de belangrijkste besmettings- en verspreidingsbronnen goed in kaart te brengen. Dit komt mogelijk door het feit dat niet alleen de bacterie zelf dit bepaald, maar ook de interactie met omstandigheden en klimaat een rol speelt.

Het belangrijkste advies om wortelverdikking te voorkomen is om hygiënisch te werken, zoals bij andere besmettelijke bacterieziekten (parallel aan het dikke wortelonderzoek bij komkommer, door Groen Agro Control). Middels de DNA-toets kunnen besmettingen opgespoord worden. Een belangrijk onderdeel van effectieve hygiëne is om vastgestelde besmettingsbronnen, zoals geïnfecteerde planten, te verwijderen. Besmetting moet zoveel mogelijk voorkomen worden door oa. schoon te werken, continu instrumenten en handen te ontsmetten en instrumenten per vermeerderingsstap gescheiden te houden.

Behalve preventief werken (hygiëne) kan ook curatief worden gehandeld. De ziekteverwekker kan gedood worden met ontsmettingsmiddelen, zoals chloorbleekloog, waterstofperoxide en perazijnzuur. Tevens is ontsmetten middels UV en verhitting effectief. Bij lagere pH (<6) blijkt de aantasting minder te zijn dan bij hoge pH (>7). Dit effect is met name waar te nemen wanneer in hydrocultuur geteeld wordt.

## Bijlage 1. Klimaat tijdens proefperiode



## Bijlage 2. Aanpak inzoomen bush-fase

### Inzoomen in kritische fase tussen bladstek en bush-fase

Het prepareren van bladeren (met mes) voor de bush-fase is een potentieel risicomoment. Naast de analyseresultaten die in deze richting wijzen en ervaringen van gewasbeschermingsexperts, is ook vanuit de praktijk duidelijk dat tijdens de bush-fase problemen vaak zichtbaar worden.

Om het blad prepareren als potentieel risico moment te toetsen, de volgende opzet, uit te voeren bij het proefbedrijf;

2 situaties; 100% schoon vs. besmet.

Beide situaties bladeren zo hoog mogelijk van de stengel (moerplant) plukken. Een ras kiezen welke in het verleden geen grote problemen heeft gehad, maar welke wel dikke wortels en stengels heeft laten zien.

Schoon

Na elk geplukt blad handen ontsmetten. Nieuw mes voor het op maat snijden. Na elk gesneden bladsteel het mes en handen ontsmetten en snijvlak vernieuwen.

Besmet

Voor elk te snijden bladsteel het mes dompelen in een oplossing van DW bacterie. Deze oplossing laten toetsen.

Alle bladeren 1 week bewaren alvorens te steken.

Bladsteken in potgrond (schoon (30) vs. besmet (30)) en in watercultuur (schoon (18) vs. besmet (18)).

Na x aantal weken monsters nemen van stekken;

- potgrond schoon 3 hh (10 planten per hh)
- potgrond besmet 3hh (10 planten per hh)
- watercultuur schoon 3hh (6 planten per hh)
- watercultuur besmet 3hh (6 planten per hh)

in totaal 12+1= 13 monsters.

D van Marwijk  
DLV Plant