

Rapportage Consultancy

Schimmelbesmetting in Gerbera



Anne van Diepeningen, Els Verstappen, en Dirk Jan Valkenburg
Biointeracties en Plant gezondheid, Wageningen Plant Research

PT 15138.19

Maart 2019

Samenvatting

Vanuit LTO Glaskracht Nederland kwam een vraag over de verspreiding van een schimmelinfectie, die voor problemen zorgt in de teelt van Gerbera. Vermoed werd dat het hierbij ging om *Verticillium*, maar de uitkomsten van onze bemonsteringen laten zien dat het hierbij gaat om *Fusarium oxysporum*. Deze schimmel werd aangetoond in verschillende planten met ziekteverschijnselen geïdentificeerd door de teler, maar werd niet aangetoond in asymptomatische planten.

De schimmel heeft meerdere mogelijkheden ter verspreiding zo blijkt uit de niet-plantenmonsters genomen op hetzelfde bedrijf: *Fusarium* werd namelijk ook aangetroffen in alle bemonsterde watermonsters (water uit de teelt, drainage water, recyclewater voor en na toevoeging H₂O₂), in een luchtmonster, aan de handschoenen van een van de werkers, aan de wielen van een van de karren en in dode bladeren op de grond. Complexe aanpak op meerdere fronten zal dus nodig zijn om infectiedruk te verminderen.

Inleiding

Fusarium en *Verticillium* zijn beiden bekende plant pathogenen die verwelkingsverschijnselen kunnen veroorzaken in verschillende teelten, waaronder verschillende siergewassen zoals Gerbera. *Fusarium* staat zelfs in de top vijf van de meest bedreigende plantenziekten ter wereld. De chemische bestrijding is lastig omdat middelen tegen *Fusarium* een relatief lage effectiviteit hebben. Daarnaast zijn een aantal middelen niet toegelaten of komen op termijn te vervallen. Ook in Nederland zijn de problemen met *Fusarium* de afgelopen jaren sterk toegenomen in zowel sierteelten als chrysanth, gerbera, lisianthus en potorchidee, maar ook in (bedekte) groenteteelten zoals komkommer, sla en tomaat. Begin van deze eeuw maakten de Werd en Wubben melding van een toenemend probleem in de Gerberateelt veroorzaakt door *Verticillium dahliae* die eerst gedeeltelijke verwelking veroorzaakt en waarvan de aantasting vaak eindigt met het afsterven van de gehele plant (de Werd en Wubben, 2002).

Het doel van deze consultancy was om de ziekteverwekker – vermoedelijk *Verticillium*- te achterhalen van de verwelking waargenomen in meerdere Gerberacultivars bij een kweker en te bepalen hoe de besmetting zich door het bedrijf verspreid met plantmateriaal, via lucht of via water. Daartoe zijn verschillende monsters genomen op het bedrijf, die zijn uitgeplaat op *Verticillium*-selectief medium en aselectief PDA-medium, waarna een selectie van de monsters is gebruikt voor soortidentificatie met behulp van moleculaire markers.



Figuur 1. Sfeerimpressie van de Gerberateelt. Op de stellage links vooraan een Coriolis air sampler waarmee de luchtmonsters genomen zijn.

Resultaten

Bij bezoek aan het bedrijf zijn een drietal symptotomatische en een drietal asymptotomatische planten verzameld. Daarnaast zijn er monsters genomen van het gesloten watersysteem, luchtmonsters (Figuur 1) en monsters van verschillende andere materialen. Alle monsters zijn uitgeplaat op semi-selectief medium voor *Verticillium* (Ethanol-medium; Ausher et al., 1975) als ook op algemeen potato-dextrose agar (PDA). Alle platen zijn na enkele dagen incubatie in het donker bij 25°C beoordeeld en een selectie aan kolonies is gebruikt voor isolatie van DNA, PCR-amplificatie van de barcode-regio ITS1-ITS4 en sequensen.

Plantenmonsters

Een drietal symptotomatische planten (Cultivars 'Sapphire', 'Bison' en 'Café') en asymptotomatische planten (Cultivars 'Sapphire', 'Bison' en 'Garfield') zijn verzameld en hiervan zijn na uitwendige sterilisatie monsters uitgelegd van stengel (bruine en groene stukken), blad, basis, wortel en substraat. Uit symptotomisch materiaal kon uit verschillende type monsters *Fusarium oxysporum* worden geïsoleerd. In asymptotomisch materiaal werd geen *Fusarium* aangetroffen.

Daarnaast werden er enkele andere bederf-schimmels gevonden zoals *Mucor circinelloides*, een zygomycete bekend van groei op bedervende waren en schimmel *Cladosporium sphaerospermum*, bekend van zijn secundaire groei op dood en afstervend plantenweefsel.



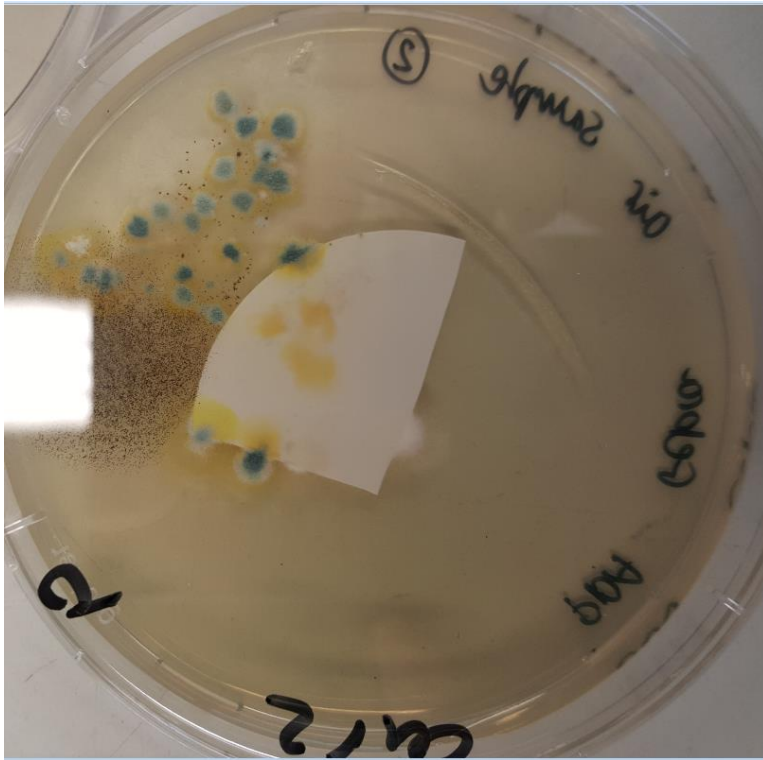
Figuur 2. Uitgroei van *Fusarium oxysporum* uit bruine stengelaanzet van symptotomatische 'Sapphire' cultivar.

Watermonsters

Binnen het bedrijf wordt gewerkt met een circulair watersysteem. Vier jerrycans watermonsters zijn genomen; water uit de leidingen bij de teelt, drainage water, verzameld water uit de voorraad voor en na toevoeging H₂O₂. Monsters zijn direct uitgeplaat en na concentratie over een 0.45 µm filter. In elk van de watermonsters bleek *Fusarium oxysporum* aanwezig te zijn. Dit geeft aan dat *F. oxysporum* zich goed in het circulaire watersysteem weet te handhaven en dat toevoeging van waterstofperoxide (H₂O₂) niet voldoende effectief is om *F. oxysporum* af te doden.

Luchtmonsters

Op vier plekken in het bedrijf zijn luchtmonsters genomen met behulp van Coriolis air samplers, die de luchtmonsters opvangen in steriel water, waarna de monsters direct of na concentratie uitgeplaat kunnen worden. Luchtmonsters zijn genomen circa 2 meter boven de grond met behulp van stellingen, in het verlengde van ventilatoren (Figuur 1). In de luchtmonsters die getest zijn bleek *Fusarium oxysporum* aanwezig, als ook de algemeen voorkomende soort *Penicillium commune* (algemene bederf-schimmel waarvan de sporen veel in luchtmonsters voorkomen) (Figuur 3).



Figuur 3. Luchtmonster: groene kolonies van *Penicillium commune*, donkere kolonie van *Aspergillus niger* (beide vaak aanwezig in lucht) en witte kolonies van *Fusarium oxysporum*.

Andere Monsters

Naast de eerder genoemde monsters zijn ook monsters genomen van

- Dood bladmateriaal op de grond: positief voor *Fusarium*
- Looppad en wielen van een van de karretjes: positief voor *Fusarium*
- Handschoenen van een van de werkers (vingerafdrukken op media en uitgroei schimmelmateriaal): positief voor *Fusarium oxysporum* en *Cladosporium sphaeospermum*

Conclusies

Bij bezoek aan het Gerbera-bedrijf zijn een drietal symptomatische en een drietal asymptomatische planten verzameld en zijn er monsters genomen van het gesloten watersysteem, luchtmonsters en monsters van verschillende andere materialen. Vermoed werd dat het hierbij ging om *Verticillium*, maar de uitkomsten van onze bemonsteringen laten zien dat het hierbij gaat om *Fusarium oxysporum*. Deze schimmel werd aangetoond in verschillende planten met ziekteverschijnselen geïdentificeerd door de teler, maar werd niet aangetoond in asymptomatische planten.

De schimmel heeft zich breeduit gevestigd op het bedrijf waarbij Gerberaplanten gedurende 3-4 jaar gekweekt worden op substraat. De schimmel lijkt gebruik te maken van meerdere verspreidingsroutes; via lucht, via water en via materialen.

Aanbevelingen

Aanbevelingen om de hoeveelheden *Fusarium oxysporum* in de kas terug te dringen:

- Aangezien *Fusarium oxysporum* in alle watermonsters terug werd gevonden:

Kan de huidige ontsmettingsmethode met waterstofperoxide geoptimaliseerd worden voor de gerbera-teelt algemeen of specifiek dit bedrijf, om *Fusarium oxysporum* tegen te gaan of kan er additionele ontsmetting plaats vinden bijvoorbeeld met behulp van UV of andere methodes?

Bijvoorbeeld door onderzoek naar effectieve bestrijding van *Fusarium* in het gerecirculeerde water, welke middelen/toedieningen zijn afdoende om de verschillende *Fusarium* structuren zoals microconidia, chlamydosporen en gevormde biofilm in leidingen en tanks af te doden en in welke vorm is de schimmel op het bedrijf aanwezig. Zuurstof-radicalen zoals ozon en waterstofperoxide kunnen worden gebruikt in het afdoden van pathogene *Fusarium* en dit gebeurt zelfs als onderdeel van de natuurlijk afweer in (resistente) planten (de Quadros et al., 2019). Waterstof peroxide is succesvol gebruikt in het afdoden van *Fusarium oxysporum*, maar benodigde hoeveelheden en behandelduur kunnen variëren met soort, stam en formae speciales (bijvoorbeeld Hatem, 2016; Nagygyörgy et al., 2014). Ook Ozon wordt gezien als effectieve manier om *Fusarium* sporen in het water af te doden, maar dit is ook afhankelijk van de hoeveelheid ozon en de manier van toedienen (bijvoorbeeld Kobayashi et al., 2011; Igura et al., 2010). Ook UV kan ingezet worden in het afdoden van *Fusarium* sporen en structuren, maar de benodigde doses hangen af van zowel het type schimmelstructuur als ook van de vloeistof die ontsmet moet worden waarbij water makkelijker te ontsmetten is dan hydroponie nutriënten-oplossingen (bijvoorbeeld Sutton et al 2000).

- Aangezien *Fusarium* op plantenresten, karrenbanden en handschoenen werd gevonden:

Verwijderen van zieke planten en dode plantenresten uit de kas zal leiden tot minder rondrijden en –lopen van infectieus materiaal door de kas. Voorzichtig en bijvoorbeeld nat verwijderen van nu aanwezige materiaal zodat dit niet gelijk tot een grote hoeveelheid sporen in de lucht leidt.

Regelmatig –na werken met vermoedelijk besmet plantenmateriaal- vervangen van handschoenen/tijdelijk gebruik van latex wegwerp handschoenen (niet prettig bij temperaturen in de kas) tot de infectiedruk in de kas verminderd is.

Gebruik van matten met desinfectiemiddel om schoenzolen en karren te ontsmetten en verloop door de kas te verminderen.

- Aangezien *Fusarium oxysporum* in de lucht werd gevonden

Verwijderen van dode plantenresten met mogelijke sporen van *Fusarium oxysporum* uit de kas; zodat deze ook niet de kas rondgeblazen kunnen worden.

Referenties

- Ausher, R., J. Katan, & Ovadia S (1975) An improved selective medium for the isolation of *Verticillium dahliae*. *Phytoparasitica* 3: 133-137
- de Werd HAE & Wubben JP (2002) *Verticillium* in Gerbera. *Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.* 13 pp.
- de Quadros F, Garcés-Fiallos FR, de Borba C, de Freitas MB, Stadnik MJ (2019) *Fusarium oxysporum* affects differently the hydrogen peroxide levels and oxidative metabolism in susceptible and resistant bean roots. *Physiol Mol Plant Pathol* 106: 1-6.
- Igura N, Fujii M, Shimoda M & Hayakawa I (2003) Research Note: Inactivation Efficiency of Ozonated Water for *Fusarium oxysporum* Conidia Under Hydroponic Greenhouse Conditions. *Ozone: Science & Engineering* 26: 517-521.
- Hatem MW (2017) Evaluation of the efficiency of hydrogen peroxide against *Fusarium oxysporum*, which causes fusarium wilt on tomato plant. *Current Research in Microbiology and Biotechnology* 5: 1112-1116
- Kobayashi F, Ikeura H, Ohsato S, Goto T & Tamaki M (2011) Disinfection using ozone microbubbles to inactivate *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum*. *Crop Protection* 30: 1514-1518.
- Nagygyörgy ED, Kovács B, Leiter E, Miskei M, Pócsi I, Hornok L, Adám AL (2014) Toxicity of abiotic stressors to *Fusarium* species: differences in hydrogen peroxide and fungicide tolerance. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 61: 189-208.
- Sutton JC, Yu H, Grodzinski B, Johnstone M (2000) Relationships of ultraviolet radiation dose and inactivation of pathogen propagules in water and hydroponic nutrient solutions, *Canadian Journal of Plant Pathology* 22:3, 300-309