

## Nieuwe soort slijmzwam op Potplanten

---



**Anne D. van Diepeningen**  
**Dirk-Jan Valkenburg**

BU Biointeracties en Plantgezondheid  
Wageningen University and Research  
Wageningen Plant Research  
Droevendaalsesteeg 1  
6708 PB Wageningen  
anne.vandiepeningen@wur.nl

PT. 15138.29



## Samenvatting

Dit werk is uitgevoerd in opdracht van LTO Glaskracht Nederland. De opdracht was om te achterhalen welke (schimmel)infectie verantwoordelijk is voor de donkere en soms zware begroeiing van jonge aanplant van verschillende potplanten waaronder Noline en Kentia palmsoorten en adviezen te geven over de mogelijke bestrijding ervan.

De infecties die bij jonge Kentia en Noline planten in kweekkamers de hele plant kunnen bedekken, blijken niet veroorzaakt te worden door een schimmel maar door een myxomyceet. Myxomyceten of slijmzwammen zijn ondanks hun naam geen schimmels, maar een aparte groep organismen die meer verwant zijn aan dieren dan aan schimmels. Myxomyceten komen overal ter wereld voor en bij allerlei temperaturen, maar veel ervan groeien vooral goed bij warme en vochtige omstandigheden zoals in kweekkamers waar ze op en rondom de jonge planten kunnen voorkomen. De infecties worden veroorzaakt door een niet eerder beschreven of bekende soort slijmzwam.

Omdat de infecties niet worden veroorzaakt door schimmels maar door slijmzwammen, werken specifieke antischimmelmiddelen niet. Helaas zijn er geen tot weinig manieren bekend om slijmzwammen te bestrijden: Ontsmetten met chloor wordt gezien als een mogelijke manier om materialen te ontsmetten. Qua teelten kan worden geadviseerd natte omstandigheden te vermijden en eventueel de pH van de grond te verhogen.

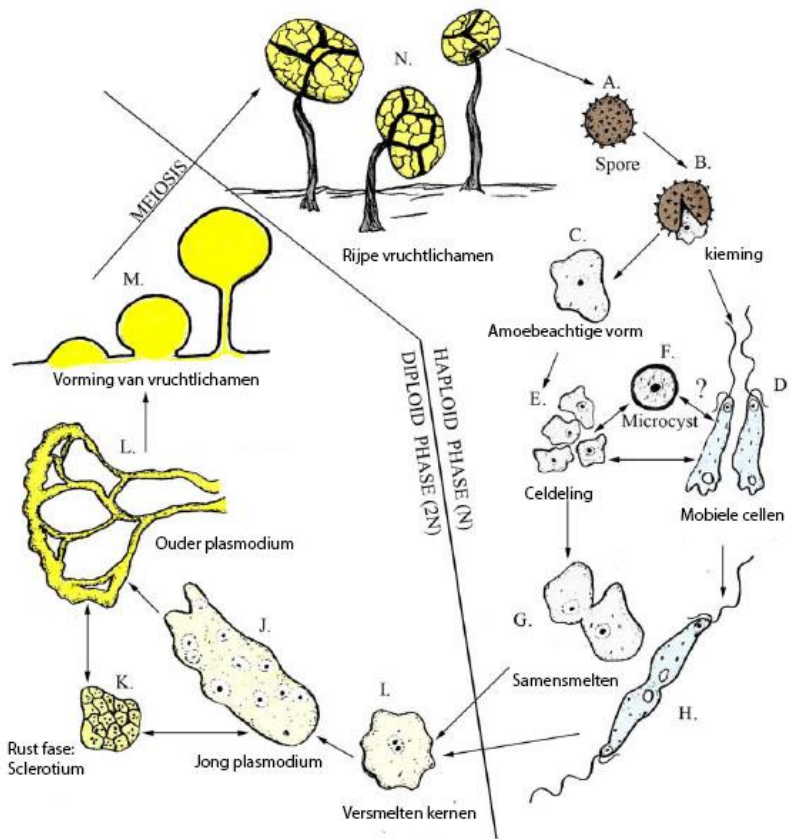
## Achtergrond slijmzwammen

Myxomyceten of slijmzwammen zijn ondanks hun naam geen schimmels, maar een aparte groep organismen die meer verwant zijn aan eencellige dieren dan aan schimmels. Er zijn tot op heden ruim duizend verschillende soorten slijmzwammen beschreven. Myxomyceten komen overal ter wereld voor en bij allerlei temperaturen, zo zijn er gevonden onder tropische omstandigheden, maar ook levend in de sneeuw op berghellingen.

Net als schimmels zijn slijmzwammen eukaryote organismen met een celkern en organellen zoals mitochondria, maar ze hebben geen celwand zodat ze meer op dierlijke cellen lijken. Ze hebben een complexe levenscyclus die enerzijds bestaat als amoebe-achtige stadium waarin ze een flagella of zweepstaart kunnen hebben om zich voort te bewegen en te verspreiden. In dit stadium kunnen de cellen delen en uit elke cel kan een nieuwe slijmzwam groeien (Figuur 1C, D en E). Microcysten kunnen in dit stadium gevormd worden om ongunstige levensomstandigheden te overbruggen (Figuur 1 F).

In het tweede stadium van de levenscyclus smelten meerdere cellen samen tot een groot plasmodium (Figuur 1G-L). Zo'n plasmodium kan meerdere centimeters groot worden en opnieuw is het mogelijk dat er ruststadia gevormd worden om ongunstige levensomstandigheden te overbruggen (Figuur 1K). Uit het plasmodium groeien één of meerdere vruchtlichamen (Figuur 1 M-N) die vol zitten met sporen die met de lucht verspreid kunnen worden en elk een nieuwe amoebe-vormige slijmzwam kunnen vormen (Figuur 1A-B).

Slijmzwammen voeden zich met bacteriën en schimmels, rottend hout of plantenresten. Na insectenvraat kan het voorkomen dat de slijmzwammen op de plant gaan groeien op uitgescheiden suikers en andere stoffen. Onder ideale omstandigheden kan het voorkomen dat een plasmodium levende planten omgroeit en bedekt met vruchtlichamen, maar omdat de slijmzwam de plant niet zou binnendringen, wordt deze niet als een echt pathogeen beschouwd (Keller & Everhart, 2010). Alleen in zoete aardappel is beschreven dat er rot op kan treden in het veld door een tweetal slijmzwammen, *Fuligo septica* en *Stemonitis herbatica* (Kim *et al.*, 2007). Lang is gedacht dat ook *Plasmodiophora brassica*, die knolvoet bij koolsoorten veroorzaakt een myxomyceet was, maar deze blijkt tot de klasse der Phytomyxea of plasmodiophorida te horen die juist de plant aanzetten tot het vormen van structuren, terwijl bij de slijmzwammen het organisme zelf de structuren produceert.



**Figuur 1.** Schematische levenscyclus van een *Physarum*-type slijmzwam. A-H haploïde levensfase met amoebachtige en mobiele cellen, I-M diploïde levensstadium waarin plasmodium met daarop vruchtlichamen gevormd worden. Naar Everhart en Keller (2008).

Slijmzwammen houden over het algemeen van vochtiger omstandigheden voor hun groei. Sommige slijmzwammen zijn beperkt tot groei op een beperkte pH-range, terwijl anderen op schijnbaar elk substraat kunnen groeien (Everhart *et al.*, 2008). Sommige soorten schijnen minder van licht te houden, terwijl andere soorten juist door licht aangezet worden tot het vormen van vruchtlichamen.

## Werkzaamheden

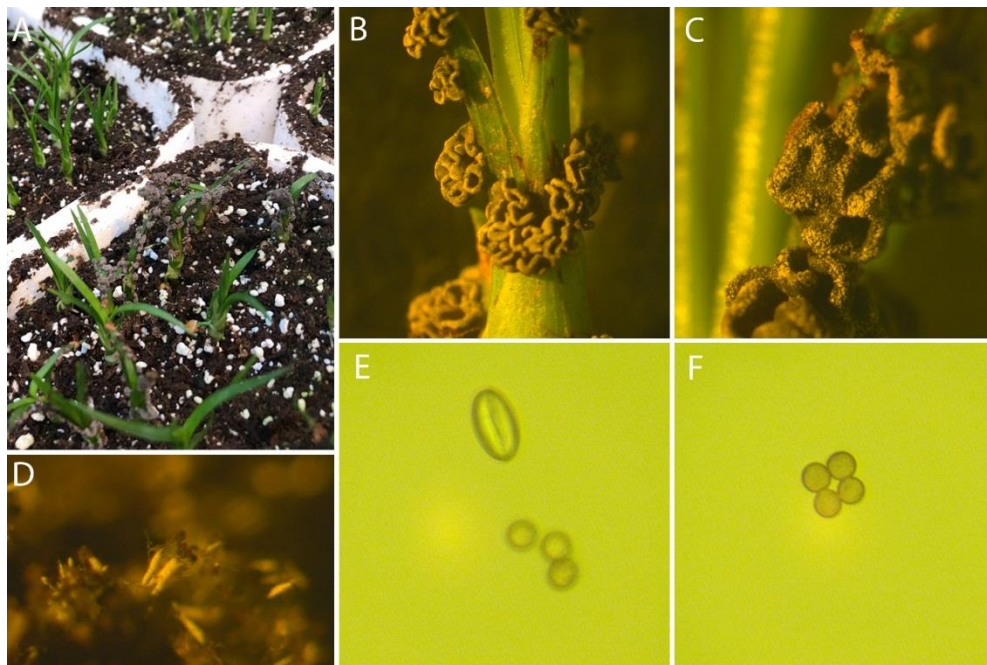
### 1. Cultures en Bewaring

Volgens de planning, zouden op basis van aangeleverde planten met symptomen schimmelpreparaten worden gemaakt op diverse agar media. Hiervoor zijn zowel schimmel als bacterie-media gebruikt: water agar WA, potato dextrose agar (PDA), Czapek Dox Agar met biotine (CZD), malt extract Agar (MEA) met calmoduline, Reasoner's 2A Agar (R2A) en Luria Bertani agar (LB). Geen van deze media gaf echter groei van sporen uit sporocarpes verzameld van begroeide planten. Als alternatief is materiaal verzameld direct van de symptomatische planten, gedroogd en opgeslagen als referentie materiaal bij -20°C.

### 2. Macroscopische en microscopisch determinatie

Macroscopische en microscopische opnames van de slijmzwamstructuren zijn gemaakt en verzameld in een fotoplaat (Figuur 2). De structuren, die blad en stengel van de jonge aanplant omgeven, zijn sporendragers (2B & C voor close ups) die vol zitten met donker getinte sporen (2E en F). Waargenomen structuren wijzen op besmetting met een slijmzwam in of verwant aan het genus *Physarum*.

De waargenomen slijmzwam lijkt de planten niet binnen te dringen: Verwijdering van sporendragers vanaf de begroeide planten laat slechts een klein bruin stukje littekenweefsel achter waar de sporendragers aan de plant vastgehecht zaten.



**Figuur 2.** Fotoplaat: A. Kweekbak met jonge planten overgroeid met sporendragers (sporocarps) van de slijmzwam. B-C. Close up van de sporendragers aan stengel en blad. D. mycelium-achtige begroeiing van de grond met daarop kleine witte sporendragers. E-F. Microscopische opnames van sporen van de slijmzwam uit de structuren zoals in foto's B en C.

### 3. PCR amplificatie met schimmel of andere primers

Determinatie van schimmels vindt standaard plaats met identificatie op grond van de ribosomale regio met standaard PCR primer paren zoals ITS1/ITS4 of ITS4/ITS5. Omdat slijmzwammen tot een heel andere klasse van organismen horen, werken deze primers niet voor identificatie en zijn er de volgende primers gebruikt voor identificatie op basis van het 18S ribosomale fragment en translation elongation factor 1-alpha van slijmzwammen.

Gebruikte primers:	sequentie	regio
MYX 1F	GGA TTC GTT ATT GGN CAY GTN GA	Elongation factor 1-alpha
MYX 2F	CTC GAG AAR AAY ATG ATN CAN GG	Elongation factor 1-alpha
MYX 10.1R	GTY TGN CAN CGS CAG CCT TAA GAC	Elongation factor 1-alpha
MYX 10.2R	CGN CAN CCT CAT TAC CTA GGT CT	Elongation factor 1-alpha
MYX S3bF	TCT CTC TGA ATC TGC GNA C	18S RNA
MYX S31R	AAT CTC TCA GGC CCA CTC TCC AGG	18S RNA
MYX S1	TGG TTG ATC CTG CCA GTA GTG T	18S RNA
MYX SU19R	CGT TAA AGT TGT TGC GGT TA	18S RNA

### 4. Sequentie analyse van gegenereerde PCR producten

Met de hierboven beschreven primer sets was het mogelijk verschillende fragmenten te genereren waarvan met Sanger sequensen de volgende nucleotidevolgorden zijn bepaald:

#### 18S Ribosomaal DNA

```
CCATCTCTAGATAGCCATGCATGCCTTCGAATAAGAAGAGTGTCTCTCTCTGAATCTGCGTACGGCTCCGCAAACCCAGTT
GTAAACTATAGCAAACAGATCGTCGGGGTAGCCTAAAACTCAGCTGATGGTCTACAAGGATATCCCTGGTAATTCTGA
GGCTAATACAAGAACGTAACCTGTCTGGGGGCAATTTTTAATCCCCGGGTGCGGGGCGCGGGTCTTAGTCGCAA
ATTTCTGGGAATAGCCGATGCTCGGACCACCATACAAGCAGACCCGGTCAGGAACCTTCGGGGGAATGGCCCCGCTGG
GTGGCTTTTTCGGTGTGCATCTGACCTATCAACTAGATGGCAGCATAAAGGACATGCTATGGTAACAACGGGTACAGAG
GATAAGGGTTCGATCCTGGAGAGTGCC
```

#### Elongation Factor 1-alpha

```
CCCGATTGCATGCGTCTCAAGCACGCCAGAGAAGAGACTTTTTGGGAGGGCTGACAAGTCTTAAGGCTGCCGATGACAA
ACAGTGGTTTTTTGTAATTTTTGGATTTTTGTGTGGTGGGGGCCATTTTTTACCCCCGGGGTTGGGGCCTGGCGGATT
GCTCCACTAGTTTTTGAACGTGCCGAGCCATGACCGTCCGGTTGCATCTGGGTCACTGCCTTTCTGGGGTTGGCTTG
CCTGGGTGGCTTTTGTCTTTCGCGTCTTATGGAGCACGTAGATCGTAAGGCTGCCGATGATACACAGTAACAACGGGGT
ACAGGATAAGGGTCTATCCTGGAGAGTGCAGTGAAGTTAATTACTCTGAGCGCCACTGGACGATATGTTGATTTT
CTCTCACACAGAATCATACGATTACGAACTACAGATTCATATCTTTCCCTTAGGCACCCCTTCGGCTGG
```

### 5. BLAST analyse van de genereerde sequenties in NCBI database

Met de gegenereerde sequenties is in de NCBI database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) gezocht naar soortgelijke sequenties. Algemeen geldt dat hoe meer sequenties op elkaar lijken des te hoger de scores zijn voor identiteit. Algemene vuistregels zijn daarbij dat over het algemeen sequenties tot dezelfde soort gerekend worden als ze 98% of meer gelijk zijn.

Bij onze myxomyceet bleek de sequentie van het fragment van Elongation Factor 1-alpha geen gelijkens te vertonen met sequenties die in de database zitten. Het fragment van het ribosomale DNA had een gelijkens van circa 76-80% met DNA van verschillende soorten uit de familie van de Physaraceae, waarin soorten horen die tot de genera *Physarum*, maar ook *Craterium* en *Fuligo* horen. Conclusie is dat we hier te maken hebben met een tot dusver onbeschreven, 'nieuwe' soort.

## **Conclusies en Beheersing**

Belangrijkste conclusies en adviezen

- De begroeiing van de jonge planten wordt veroorzaakt door een tot dusver onbekende en onbeschreven slijmzwam.
- Omdat het hier een begroeiing met een slijmzwam betreft en geen infectie met een echte schimmel, is bestrijding met een fungicide niet effectief.
- Uit de literatuur blijkt dat ontsmetten met chloor een mogelijke manier is om materialen te ontsmetten.
- Omdat de sporendragers van de slijmzwam vol zit met sporen die bij lichte aanraking als een stofwol verspreiden is het van belang de verspreiding van de droge sporen via de lucht te voorkomen: Verwijder besmet materiaal (planten/sporendragers) bedekt in tissues gedrenkt in chloorwater om luchtbesmettingen te voorkomen.
- Qua teelten wordt waar mogelijk geadviseerd natte omstandigheden te vermijden en eventueel de pH van de grond te verhogen.

## **Referenties**

Everhart, S.E., H.W. Keller, 2008. Life history strategies of corticolous myxomycetes: the life cycle, plasmodial types, fruiting bodies, and taxonomic orders. *Fungal Diversity* 29: 1-16.

Everhart, S.E., K.W. Keller, J.S. Ely, 2008. Influence of bark pH on the occurrence and distribution of tree canopy myxomycete species. *Mycologia*. 2008 Mar-Apr;100(2):191-204.

Keller, H.W., S.E. Everhart, 2010. Importance of Myxomycetes in Biological Research and Teaching. *Papers in Plant Pathology*. 366.

Kim, W.G., S.Y. Lee, W.D. Cho, 2007. Two Species of Myxomycetes Causing Slime Mold of Sweet Potato. *Mycobiology*. 35(2): 97-99. Two Species of Myxomycetes Causing Slime Mold of Sweet Potato.