

Consultancy-onderzoek naar de veroorzaker van een onbekende verwelking in komkommer

December 2008

Adriaan Vermunt, Mohamed Chettou en Barend Groen van Groen Agro Control
Pim Paternotte en Roel Hamelink van WUR Glastuinbouw

Consultancy-onderzoek naar de veroorzaker van een onbekende verwelking in komkommer

Opdrachtgever:

- Productschap Tuinbouw



Begeleidingscommissie:

- BCO komkommer, LTO Groeiservice



Looptijd project: Mei 2008 - September 2008

COLOFON:

Auteurs:	Adriaan Vermunt Mohamed Chettou Barend Groen	en	Pim Paternotte Roel Hamelink
Adres:	Groen Agro Control Distributieweg 1 2645 EG Delfgauw Tel: 015 2572511 Fax: 015 2572522		WUR Glastuinbouw Violierenweg 1 2665 MV Bleiswijk Tel: 0317 485632 Fax: 010 5225193
Datum:	December 2008		
Titel Rapport:	Consultancy-onderzoek naar de veroorzaker van onbekende verwelking in komkommer		
Opdrachtgever:	Productschap Tuinbouw		
Kernwoorden:	Komkommer, verwelking.		

Niets uit deze uitgave mag worden veelevoudigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotokopie, microfilm, elektronisch of op geluidsband of op welke andere wijze ook en evenmin in een retrieval systeem worden opgeslagen zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de opdrachtgevers.

INHOUDSOPGAVE

INHOUDSOPGAVE	3
SAMENVATTING	4
1 INLEIDING	5
2 PLAN VAN AANPAK	6
3 RESULTATEN	7
4 CONCLUSIES	11
5 OPMERKINGEN	11

SAMENVATTING

Op een aantal bedrijven trad in 2008 tijdens de teelt van komkommer pleksgewijs verwelking op waarvan de oorzaak onbekend was. Hierbij werd de stengelvoet soms wat dikker en de punt van de hoofdwortel was bruinverkleurd en glazig. De plantuitval bleef bij een paar telers beperkt tot enkele planten, maar kon ook in ernstige gevallen oplopen tot ca 20% van de planten. Omdat de uitval pleksgewijs optrad, was een chemische verontreiniging, fysiologische of klimatologische oorzaak onwaarschijnlijk. De verwachting was dat het om een microbiologische oorzaak gaat.

Uit het hier uitgevoerde onderzoek bleek dat de ziekte niet veroorzaakt wordt door een bekende komkommerziekte. Wel is er geconstateerd dat in de vaatbundels van aangetaste planten hoge concentraties bacteriën aanwezig waren. Deze bacteriën zorgen ervoor dat de vaatbundels verstopt raken, waardoor geen transport van voedingsstoffen meer plaats kan vinden en de plant uiteindelijk verwelkt. Om de ziekte weer op te roepen in komkommerplanten, zijn bacteriën geïsoleerd uit aangetaste planten. Deze bacteriën zijn vervolgens opgekweekt en hiermee zijn jonge komkommerplantjes besmet. Er was echter geen effect waar te nemen gedurende een 6-weken durende teeltproef. De ziekte kon dus, in dit onderzoek, niet opgeroepen worden om zodoende de primaire veroorzaker vast te stellen. Uitgebreider onderzoek is gewenst om vast te stellen wat de primaire oorzaak is, zodat gerichte maatregelen getroffen kunnen worden om de verwelking te voorkomen. Anders bestaat er een risico, dat onder gelijke teeltcondities, er in 2009 en 2010 meer bedrijven getroffen zullen worden door deze verwelking.

1 INLEIDING

Onbekende verwelking bij komkommer

Op een aantal bedrijven trad in 2008 tijdens de teelt van komkommer pleksgewijs verwelking op waarvan de oorzaak onbekend was. De stengelvoet werd soms wat dikker en de punt van de hoofdwortel was bruinverkleurd en glazig. De plantuitval bleef bij een paar telers beperkt tot enkele planten, maar kon ook in ernstige gevallen oplopen tot ca 20% van de planten. Omdat de uitval pleksgewijs optrad is een chemische verontreiniging, fysiologische of klimatologische oorzaak onwaarschijnlijk. De verwachting is dat het om een microbiologische oorzaak gaat.

Geen bekende komkommerziekte

Met de standaard diagnostiekanalyses op de wortels en stengels van aangetaste planten werden geen bekende ziekterverwekkers aangetoond en kon de oorzaak van de aantasting niet vastgesteld worden. Onderzocht zijn schimmels, bacteriën en virussen.

2 Plan van aanpak

Opslag matten en monstername

Om de oorzaak van de komkommeraanantasting te kunnen onderzoeken zijn steenwolmatten opgeslagen waar aangetaste komkommerplanten en steenwolmatten waar goede komkommerplanten op hadden gestaan.

Er zijn monsters genomen uit de matten met blok waar toen bovengronds alleen nog het onderste gedeelte van de stengel in stond. In de vaatbundels was een duidelijke aantasting waar te nemen. Vaatbundelmonsters zijn genomen uit stengels die stonden op:

1. Matten met aangetaste planten.
2. Matten met goede planten in dezelfde rij als de aangetaste planten.
3. Matten met goede planten ver van de plek met aangetaste planten

Diagnostiek

Met behulp van een binoculair en een microscoop zijn er foto's gemaakt van de aangetaste hoofdwortel en van de vaatbundels. Met DNA-analyses, uitplaatmethode en ELISA-methode is op aangetast plantmateriaal getoetst op de aanwezigheid van plantpathogene schimmels, oomyceten, de wortelverdikkingsbacterie en op de virussen komkommermozaïekvirus en komkommerbontvirus.

Isolatie van schadelijke organismen

De vaatbundels van komkommerstengels zijn op voedingsmedia uitgeplaat om mogelijke schadelijke micro-organismen te kunnen isoleren.

Uitvoering besmettingsproeven

1. Aan de wortels van jonge komkommerplantjes in hydrocultuur zijn vier verschillende bacterie-isolaten toegevoegd en bij ca 22°C in hydrocultuur opgekweekt.
2. Suspensies van de verschillende bacterie-isolaten zijn ook toegevoegd aan komkommerzaailingen op steenwolblokken.

3 RESULTATEN

Symptomen

De hoofdwortel en de vaatbundels van de stengel van de verwelkte planten waren bruinverkleurd. In een vroege fase van de ziekte gaan de onderste bladeren van komkommerplant slap. Vervolgens verwelkt de hele plant en sterft af. Behalve de hoofdwortel, waren er op de rest van de wortels van de zieke planten geen symptomen waar te nemen.

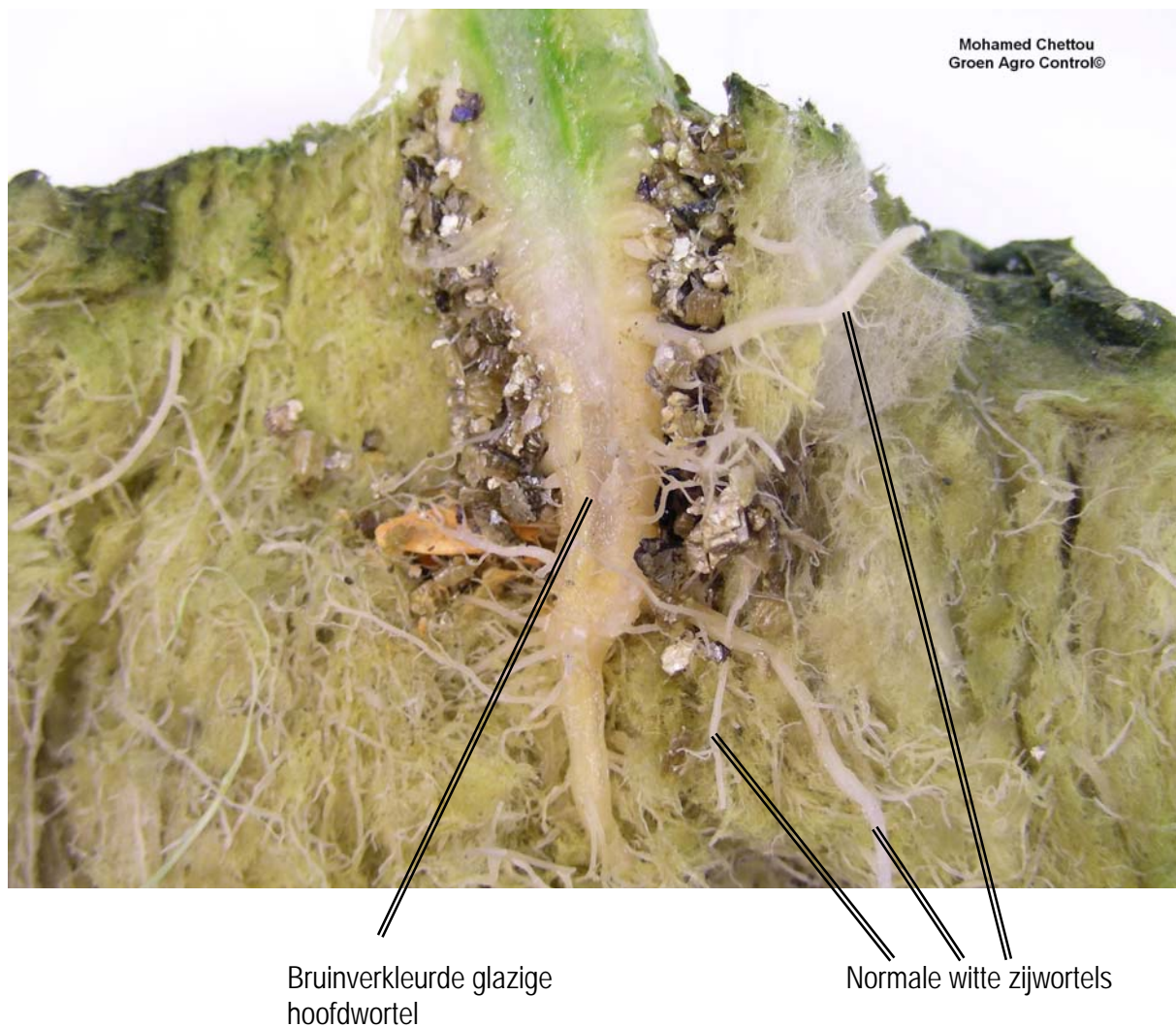
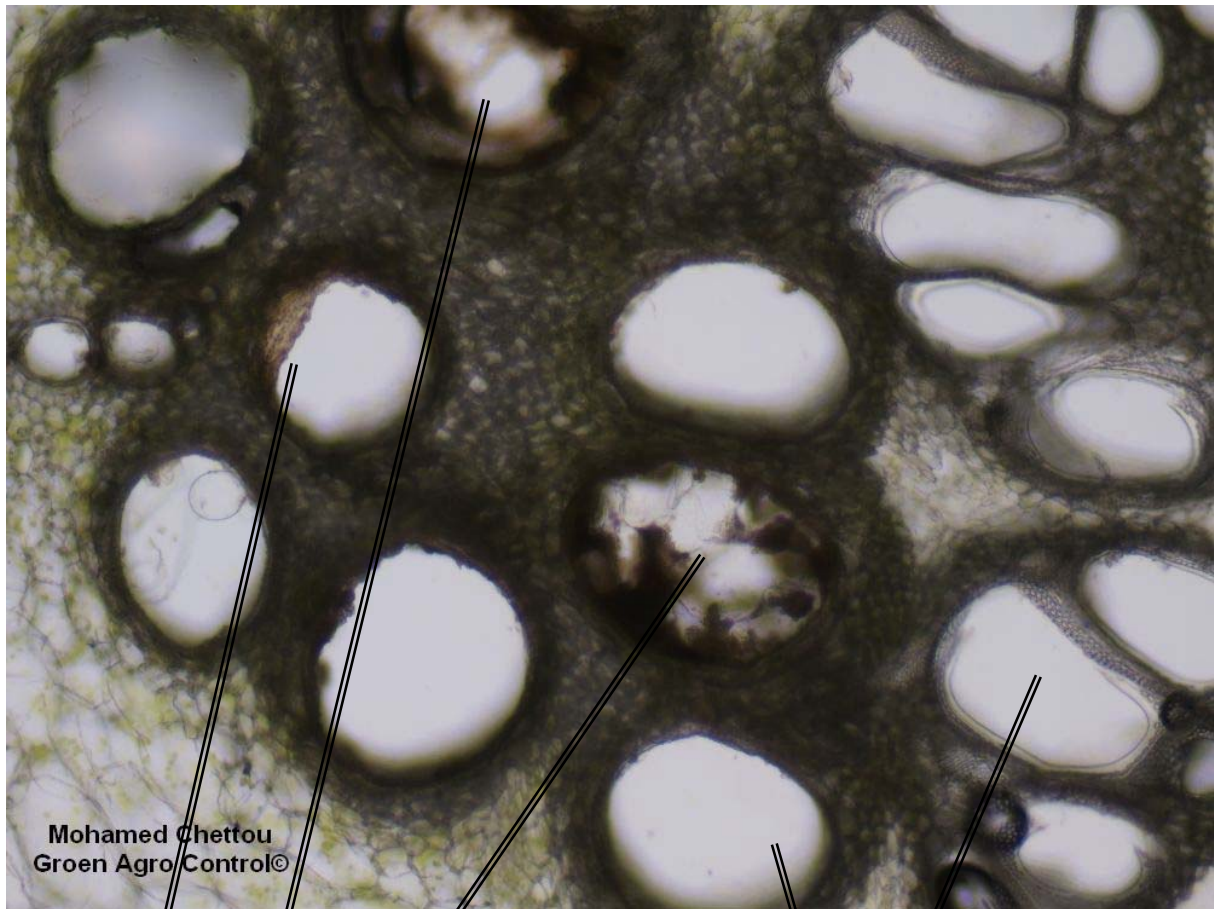


Fig. 1. Foto van wortels en stengelvoet van verwelkte komkommerplant.

Van de verwelkte planten was altijd duidelijk de hoofdwortel aangetast, bruinverkleurd en licht glazig, terwijl de zijwortels normaal wit waren (Fig. 1).

Microscopische inspectie van vaatbundels



Aangetaste vaatbundels,
waarbij in de bruinverkleuring,
bacterie-ophoping aanwezig is.

Normale, gave vaatbundels.

Fig. 2. Microscopische opname van aangetaste vaatbundels van een verwelkte komkommerplant.

In de vaatbundels van verwelkte planten waren in de aangetaste vaatbundels bacterie-ophopingen met de microscoop waar te nemen (Fig. 2). Deze ophopingen zorgen ervoor dat de vaatbundels verstopten en er geen voedingsstoffen getransporteerd kunnen worden naar de bladeren, waardoor de plant uiteindelijk verwelkt.

Diagnostiek naar bekende komkommerziekten

Met de DNA-assays is een zeer lage infectiedruk geconstateerd van de oomycet *Pythium spp.* in en rondom de wortels. Daarnaast is een lage infectiedruk van *Fusarium solani* en een matige infectiedruk van *Fusarium oxysporum* gedetecteerd. Bij een dergelijke aantasting kunnen de gevonden concentraties oomyceten en schimmels niet verantwoordelijk zijn voor aantasting, want dat zouden de concentraties hoger moeten zijn.

De zeer schadelijke oomyceten *Pythium aphanidermatum*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora spp.*, wortelverdekking-bacterie, de schimmels *Verticillium albo-atrum*, *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum f.sp. radicum-cucumerinum*, *F.oxysp. f.sp. cucumerinum* en andere schadelijke schimmels zijn niet aangetoond. De virussen komkommermozaiekvirus en komkommerbontvirus zijn ook niet gedetecteerd.

Uitplaten:

Na het uitplaten van de stengelvaatbundels is schimmel- en bacteriegroei beoordeeld op verschillende voedingsbodems:

Tabel 1. Observaties na uitplaten stengelvaatbundels

Materiaal	Observaties
Aangetaste planten	Veel bacteriën, geen schimmelgroei.
Goede planten in dezelfde rij als de aangetaste planten	Geen bacteriën, geen schimmelgroei
Goede planten ver van de plek met aangetaste planten	Geen bacteriën, geen schimmelgroei

Uit deze gegevens blijkt dat in de vaatbundels van aangetaste planten hoge concentraties bacteriën voorkwamen (Tabel 1). Om te kunnen onderzoeken of de bacteriën een rol spelen bij de aantasting van komkommer, werden verschillende typen bacteriën geïsoleerd uit de vaatbundels van aangetaste planten. Uit het mengsel van bacteriën zijn vier verschillende bacteriën geïsoleerd. Met deze isolaten zijn besmettingsproeven met jonge komkommerplanten uitgevoerd.

Besmettingsproeven

1. Bij de hydrocultuur plantproeven was op verschillende tijdstippen (2, 4 en 6 weken) gecontroleerd of de wortels en de wortelvoet aangetast waren. Bij alle vier bacterie-isolaten was geen aantasting waar te nemen. Ook tijdens een herhaling van de besmettingsproeven was er geen aantasting geconstateerd.
2. Ook bij het toevoegen van de bacterie-isolaten aan zaailingen op steenwol was in de planten gedurende drie weken geen aantasting waar te nemen.

Instandhouden van inoculum

Op steenwolmatten waarop eerder aangetaste planten stonden, werden drie maal nieuwe komkommerplanten gezet. Twee van de drie keer was waargenomen dat de planten achterbleven in groei en iets donkerder stonden dan planten op matten waarop goede planten stonden uit dezelfde rij als waar de aangetaste planten vandaan kwamen, en planten op matten ver van de plek met aangetaste planten. Uit planten die achter bleven in groei en iets donkerder stonden zijn een aantal schimmels zoals *Fusarium* en incidenteel *Verticillium* geïsoleerd. Gezien de beperkte tijdsduur en mogelijkheden tijdens dit onderzoek is niet verder bekeken in hoeverre deze schimmels ziekteverwekkend zijn.

4 CONCLUSIES

- De oorzaak van de aantasting was aanwezig in de steenwolmat.
- In aangetaste planten waren hoge concentraties bacteriën aanwezig
- De geïsoleerde bacteriën hebben in de uitgevoerde plantproeven geen aantasting veroorzaakt.
- Van de geïsoleerde schimmels is niet bekend of ze de aantasting kunnen veroorzaken.

5 OPMERKINGEN

- Het is mogelijk dat de gevonden bacteriën secundair zijn en er dus andere pathogenen of andere factoren de ziekte primair hebben veroorzaakt. Deze zijn nog onbekend. Dit zou in een vervolgonderzoek bekeken kunnen worden.
- De duur van het aanhouden van planten na het besmetten was aan de korte kant (6 weken). In de praktijk ziet men de verwelking pas als er redelijk grote vruchten aan de plant zitten en de plantbelasting dus hoog is. In een eventueel vervolgonderzoek zou dus naar een langere plantproef gekeken moeten worden.
- Of de geïsoleerde schimmels toch pathogeen zijn, zou ook in een vervolgonderzoek bekeken moeten worden.
- Volgens voorlichters speelde het probleem nog steeds in het najaar van 2008 bij telers. Aangezien de oorzaak nog niet is achterhaald, is het wenselijk om vervolgonderzoek te starten. Anders bestaat het risico dat onder gelijke teeltcondities de verwelking in 2009 meer bedrijven zal treffen.