

Onderzoek naar de oorzaak van kraterkoppen in Zantedeschia

Pythium als mogelijke oorzaak

P. J. van Leeuwen, P. Vink, J.P.T. Trompert

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector Bloembollen
juni 2004
PPO nr. 330976

© 2004 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vervoelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.



Projectnummer: 330976

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Bloembollen

Adres : Prof. Van Slogterenweg 2, Lisse

: Postbus 85, 2160 AB, Lisse

Tel. : 0252 - 462121

Fax : 0252 - 462100

E-mail : info.ppo@wur.nl

Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING	7
2 MATERIAAL EN METHODE. ALGEMEEN.....	9
2.1 Proef A. Postulaten van Koch.....	9
2.2 Proef B. Hoe vindt infectie plaats	10
3 RESULTATEN	11
3.1 Proef A. Postulaten van Koch.....	11
3.2 Proef B. Hoe vindt infectie plaats	13
4 CONCLUSIE EN DISCUSSIE	15
4.1 Proef A. Postulaten van Koch.....	15
4.2 Proef B. Hoe vindt infectie plaats	15

Samenvatting

Sinds 2002 vindt bij de *Zantedeschia* knollenteelt soms veel uitval plaats na het rooien tijdens de bewaring. In sommige partijen meer dan 50%. Veel van deze knollen worden 'kraterkoppen' genoemd omdat het weefsel rondom de centrale spruit inzakt waardoor een krater in de knol ontstaat. Bij doorsnijden waren deze knollen veelal grijsbruin maar soms ook blank. Uit het knolweefsel is door PPO Bloembollen een *Pythium* geïsoleerd.

Het doel van dit onderzoek was vaststellen of de gevonden *Pythium* de veroorzaker is van kraterkoppen en een eerste indruk krijgen onder welke omstandigheden aantasting plaatsvindt.

Om aan te tonen dat *Pythium* de veroorzaker is van kraterkoppen zijn gezonde knollen na het rooien geïnficeerd met de eerder geïsoleerde *Pythium*. Twee verschillende isolaten zijn met agar of aardemeelcultuur aangebracht nadat de knollen wel of niet waren beschadigd. Infectie is onderzocht bij 9 en 17 °C.

Om iets meer te weten te komen over de infectie-omstandigheden zijn knollen geïnficeerd met een aardemeelcultuur op drie tijdstippen, na het rooien, na het schonen en 4 weken na het schonen. Infectie is uitgevoerd bij een hogere of lagere rv, bij 9, 13, 17 °C en 2 weken 17 + 9 °C. Drie maanden na aanvang van de proef zijn de knollen beoordeeld.

In het onderzoek is vastgesteld dat de eerder geïsoleerde *Pythium* sp. werkelijk de veroorzaker is van kraterkoppen. De niet geïnficeerde knollen bleven gezond terwijl in de geïnficeerde knollen kraterkoppen ontstonden waaruit weer *Pythium* is geïsoleerd. Beide isolaten waren in staat kraterkoppen te veroorzaken. Afhankelijk van de methode van infecteren (agar of aardemeelcultuur) vond infectie plaats alleen na verwonding van de knol of ook zonder verwonding.

In het onderzoek naar de omstandigheden van infectie bleek dat infectie vooral plaatsvond indien versgeroide knollen in aanraking kwamen met de schimmel en de knollen onder wat vochtigere en koelere (9 °C) omstandigheden werden bewaard.

Aantasting vond in mindere mate plaats bij iets hogere temperatuur (13 °C) wanneer *Pythium* direct na rooien werd aangebracht maar ook na schonen (verwonden) indien de knollen daarna bij 9 °C werden bewaard.

Herhaling van deze proef is nodig om de resultaten te bevestigen voordat adviezen gegeven kunnen worden.

1 Inleiding

Het verschijnsel kraterkopen in Zantedeschiaknollen is al vele jaren bekend.

Er zijn twee enigszins verschillende beelden die beide de naam kraterkop krijgen in de praktijk.

1. Een knol waarbij het knolweefsel op de plaats van of rond de centrale hoofdspruit is ingezonken als een krater. Daarin zijn soms oppervlakkige scheurtjes te vinden. Bij doorsnijden van de knol is het onderliggende weefsel grijsbruin van kleur of vaak verkalkt. Soms is het weefsel onder het verkalkte laagje blank. Uit monsters ingezonden in 2002 bij diagnostiek bij PPO Bloembollen werd voor 100% *Pythium* uit dit grijsbruine weefsel geïsoleerd en geen andere schimmels. Het beeld van een ingezonken plek met onder een kalklaagje blank knolweefsel is al langer bekend en wordt waarschijnlijk veroorzaakt door het inrotten van de hoofdspruit (door *Erwinia*, nattigheid aan einde van de teelt, vorst). Door na het rooien goed te drogen stopt het rotten en blijft een krater achter. De knol gaat niet verloren en het volgende seizoen lopen de overgebleven ogen uit.
2. Een knol waarbij rond de centrale hoofdspruit een scheur aanwezig is van één tot enkele mm diep die een halve tot hele cirkel rond de hoofdspruit vormt. De oorzaak van deze afwijking is niet bekend. Vermoed wordt dat mechanische beschadiging direct na rooien (kapot springen van een volledig met water verzadigde knol door stoten bij rooien) een oorzaak kan zijn, evenals een gebrek aan een element. Borium-gebrek bij suikerbiet geeft ook scheuren in de knol. Dit beeld is pas sinds enkele jaren (2000-2002) bekend.

Met name de als eerste genoemde vorm van kraterkopen veroorzaakte in 2002 veel uitval (partijen met meer dan 50% uitval).

In dit onderzoek is nagegaan of de geïsoleerde *Pythium* de oorzaak is van deze als eerste genoemde vorm van kraterkopen.

Omdat een aantasting afhankelijk kan zijn van de omstandigheden is een aantal omstandigheden getest.

Hierdoor ontstaat direct een eerste indruk onder welke omstandigheden de *Pythium* toeslaat indien deze de veroorzaker van kraterkopen blijkt te zijn.

2 Materiaal en methode. Algemeen

Materiaal	: Zantedeschia 'Black Magic', maat 14/20
Rooidatum	: 5 februari 2004
Aanvang proeven	: 6 februari 2004
Beoordelen	: 25 mei 2004
Proefplaats	: PPO Bloembollen, Lisse

2.1 Proef A. Postulaten van Koch

In deze proef stond het onomstotelijk vaststellen van de gevonden Pythium sp. als veroorzaker van kraterkoppen centraal. Daartoe zijn knollen wel of niet geïnfecteerd met de gevonden Pythium, is gecontroleerd of weer dezelfde schadebeelden ontstonden en of uit de aangetaste knollen weer Pythium geïsoleerd kon worden.

Bewaartemperatuur knollen	: 9 en 17°C
Wijze van bewaren	: in geperforeerde plastic zakken
Beschadigen knollen	: ja, nee
Pythiumschimmels	: Pythium sp. Isolaat 36547 (isolaat 1) Pythium sp. Isolaat 36559 (isolaat 2)
Methode infectie	: geen (controle) Aarde/meelcultuur Reincultuur op corn meal agar
Aantal knollen	: 5 per behandeling (elke knol is herhaling)

Aanvullende gegevens over uitvoering van de proef:

De knollen zijn na rooien schoon gespoeld. Beschadigen vond plaats door het afsnijden van een plakje weefsel of het insmeren met grof rivierzand in het gedeelte rond de hoofdspruit. Daarna zijn de knollen besmet en weggezet.

Na 16 weken zijn de knollen visueel beoordeeld op symptomen van kraterkoppen. Aansluitend zijn de visueel aangetaste knollen getoetst op Pythium. Daartoe is aangetast knolweefsel uitgelegd op een selectief voedingsmedium en geïncubeerd bij 24°C. Na enkele dagen is de uitgroei van Pythium beoordeeld.

2.2 Proef B. Hoe vindt infectie plaats

In dit onderdeel van het onderzoek is onderzocht onder welke omstandigheden de infectie plaatsvond. Daarbij wordt vooral gekeken naar de invloed van de vochtigheid, de mate waarin de knollen beschadigd en gedroogd zijn en de temperatuur omdat dit waarschijnlijk het meest van invloed is op een eventuele aantasting.

In deze proef zijn zoveel mogelijk de praktijkomstandigheden nagebootst. Zo zijn onder andere alle knollen schoongemaakt, circa 4 weken na inzetten van de proef. Dit betekent dat de knollen die na rooien zijn bedekt met aarde/meelcultuur weer schoon gemaakt zijn. Andere behandelingen zijn ná het schonen bedekt met een laagje aarde/meelcultuur.

Omdat deze proef éénmalig is uitgevoerd vormt deze slechts een goede indicatie en geen onomstotelijk bewijs.

Vochtigheid knollen na rooien	: - droog in cel - in geperforeerde plasticzak
Methode infectie	: aarde/meelcultuur over knollen strooien zonder beschadiging
Tijdstip infectie	: direct na rooien (5 februari) na schonen (10 maart) 4 weken na schonen (6 april 2004)
Bewaartemperatuur	: 9 13 17°C 2 weken 17°C + 9°C
Aantal knollen	: 20 knollen per herhaling
Aantal herhalingen	: 4

3 Resultaten

3.1 Proef A. Postulaten van Koch

In tabel 1 is te zien dat in geen van de controlebehandelingen kraterkoppen optraden; de kraterkoppen zaten dus niet in het aangekochte materiaal.

In andere behandelingen zijn wél kraterkoppen gevonden. De aangetaste knollen hadden het bijbehorende 'kraterkoppenbeeld'; ingezonken weefsel op de plek van de aantasting. Bij doorsneden was het weefsel overwegend bruinrot. Er was geen stank, de aantasting was duidelijk anders dan de vaker voorkomende aantasting door *Erwinia*.

Op één geval na werd uit de aangetaste knollen wederom *Pythium* geïsoleerd. Hiermee is vastgesteld dat de gevonden *Pythium* sp. ook werkelijk de veroorzaker is van kraterkoppen.

Kraterkoppen zijn gevonden in bij 9°C bewaarde knollen maar niet in bij 17°C bewaarde knollen.

Pythium aangebracht met aarde/meelcultuur zorgde voor aantasting, ongeacht of de knollen waren beschadigd door inwrijven met zand of niet.

Pythium aangebracht met agar gaf alleen aangetaste knollen indien de agar op verwonde knollen was aangebracht.

Beide *Pythium* isolaten waren in staat om kraterkoppen te geven.

Tabel 1. Aantal aangetaste knollen (maximaal 5) per behandeling en of er Pythium uit geïsoleerd is.

Behandeling	Temp	Beschadigd	Isolaat	Inoculum	Aantal knollen aangetast	Pythium geïsoleerd
1	9°C	ja	1	controle	0	nee
2	9°C	ja	1	Aarde-meel	1	nee
3	9°C	ja	1	agar	4	ja
4	9°C	ja	2	controle	0	nee
5	9°C	ja	2	Aarde-meel	1	ja
6	9°C	ja	2	agar	5	ja
7	9°C	nee	1	controle	0	nee
8	9°C	nee	1	Aarde-meel	2	ja
9	9°C	nee	1	agar	0	nee
10	9°C	nee	2	controle	0	nee
11	9°C	nee	2	Aarde-meel	3	ja
12	9°C	nee	2	agar	0	nee
13	17°C	ja	1	controle	0	nee
14	17°C	ja	1	Aarde-meel	0	nee
15	17°C	ja	1	agar	0	nee
16	17°C	ja	2	controle	0	nee
17	17°C	ja	2	Aarde-meel	0	nee
18	17°C	ja	2	agar	0	nee
19	17°C	nee	1	controle	0	nee
20	17°C	nee	1	Aarde-meel	0	nee
21	17°C	nee	1	agar	0	nee
22	17°C	nee	2	controle	0	nee
23	17°C	nee	2	Aarde-meel	0	nee
24	17°C	nee	2	agar	0	nee

3.2 Proef B. Hoe vindt infectie plaats

Tijdens het schonen van de knollen op 4 maart (circa 4 weken na rooien) zijn al kraterkoppen waargenomen in de behandelingen die direct na rooien zijn geïnfecteerd.

Bij het beoordelen in mei zijn vooral knollen met 'echte' kraterkoppen gevonden. Daarnaast zijn enkele knollen als twijfelgeval beoordeeld. Statistische analyse van de resultaten heeft plaatsgevonden met de knollen die als kraterkoppen zijn beoordeeld én met kraterkoppen + twijfelgevallen. Beide analyses gaven dezelfde uitslag. In het verslag worden alleen de gegevens van de echte kraterkoppen weergegeven. Verder zijn slechts enkele door Erwinia aangetaste knollen gevonden (0,5%) en knollen die reeds waren verkalkt (1%).

Tabel 2. Aantal kraterkoppen gemiddeld per behandeling (maximaal 20).

Hoge rv	Tijd infectie	Bewaartemperatuur			
		9°C	13°C	17°C	2w17°C + 9°C
Nee	na rooien	2.5	0.75	0.0	0.25
Nee	na schonen	1.5	0.75	0.0	0.75
Nee	4 w na schonen	0.25	0.25	0.0	0.0
Ja	na rooien	7.0	2.5	0.25	1.5
Ja	na schonen	1.5	0.25	0.5	0.0
Ja	4 w na schonen	0.75	0.0	0.0	0.0

Er zijn twee interacties gevonden.

Ten eerste een interactie tussen de rv (het inpakken) en het tijdstip van infectie. Infecteren van de knollen direct na rooien waarbij de knollen onder hoge rv werden bewaard gaf meer kraterkoppen dan later in de tijd infecteren of onder een lagere rv bewaren.

Ten tweede was er een interactie tussen het tijdstip van infectie en de bewaartemperatuur. Direct na rooien infecteren en daarna knollen bewaren bij 9°C gaf meer kraterkoppen dan de andere behandelingen.

Daarnaast waren nog twee behandelingen die veelal meer kraterkoppen gaven dan de andere behandelingen, nl:

1. infecteren ná schonen én bewaren bij 9°C
2. infecteren ná rooien en bewaren bij 13°C.

Ook bij dit onderdeel van het onderzoek is uit diverse knollen weer Pythium geïsoleerd als veroorzaker van de kraterkoppen.

4 Conclusie en discussie

4.1 Proef A. Postulaten van Koch

- In dit onderzoek is bewezen dat de eerder uit een kraterkop geïsoleerde *Pythium* sp. de veroorzaker is van deze afwijking.
De niet geïnfekteerde knollen bleven gezond, een aantal van de geïnfekteerde knollen werden kraterkoppen waaruit weer *Pythium* kon worden geïsoleerd.
- Aantasting vond wel plaats bij 9°C maar niet bij 17°C.
- Beide *Pythium*isolaten gaven kraterkoppen. Afhankelijk van de methode van infecteren zijn kraterkoppen gevonden na verwonding of ook zonder verwonding van de knollen.

4.2 Proef B. Hoe vindt infectie plaats

- Uit deze eerste proef blijkt dat aantasting vooral plaatsvindt wanneer de knol direct na rooien in aanraking komt met de schimmel onder koele (9°C) en vochtige omstandigheden.
Aantasting lijkt ook mogelijk onder iets minder koele (13°C) omstandigheden en na beschadiging (schonen van de knollen).

Omdat deze proef éénmaal is uitgevoerd moet deze nog een keer herhaald worden voordat betrouwbare adviezen omtrend drogen en bewaren gegeven kunnen worden aan de praktijk met betrekking tot kraterkoppen.

Ervan uitgaande dat de schimmel in de grond aanwezig is en daardoor op de knol zit bij rooien moet onderzocht worden of goed drogen bij een bepaalde temperatuur voldoende is om kraterkoppen te voorkomen zonder het gebruik van fungiciden.