

Populatiedynamica van *Radopholus similis*

Literatuurstudie

Loes Stapel en Jan Amsing

Inhoudsopgave

	Pagina
1 Inleiding	5
2 Verspreiding <i>R. similis</i>	7
3 Populatieontwikkeling <i>R. similis</i>	9
3.1 Levenscyclus	9
3.2 Vermeerdering	10
3.3 Invloed van temperatuur op de vermeerdering	11
3.4 Invloed van inoculumdichtheid op de vermeerdering	12
3.5 Vermeerdering in substraten	13
3.6 Vermeerdering van <i>R. similis</i> in stengels	14
3.7 Bewaring van monsters	15
4. Discussie en conclusie	17
Literatuur	19
Bijlage 1 Begripsomschrijving	20

1 Inleiding

In dit rapport geeft Praktijkonderzoek Plant & Omgeving een literatuuroverzicht over de reeds aanwezige kennis omtrent de populatiedynamica van het wortelnecroseaaltje *Radopholus similis*. Kennis omtrent onder andere de optimale ontwikkelingstemperatuur en de invloed van substraten op de vermeerdering van dit wortelaaltje is van belang om aan te kunnen geven hoe een aaltjespopulatie zich kan ontwikkelen en wat de gevolgen zijn indien een van deze factoren wordt gewijzigd.

R. similis is een zich verplaatsende endoparasiet (Luc et al., 1990; Orton Williams en Siddiqi, 1973) van wortels, (stengel)knollen en bollen. In wortels zijn de voedingsactiviteiten beperkt tot de cortex, wat resulteert in het ontstaan van wonden, bruinverkleuring en invalspoorten voor secundaire aantastingen van andere micro-organismen. Van *R. similis*, bestaan twee biotypen. *R. similis similis* tast banaan en vele andere gewassen aan, behalve citrusplanten, terwijl *R. similis citrophilus* (gedetermineerd als een aparte soort op een verschil in het aantal chromosomen en morfologische details) zowel citrusplanten en banaan, als andere gewassen kan aantasten (Luc et al., 1990; Orton Williams en Siddiqi, 1973).

Alle larvale stadia en de volwassen vrouwtjes zijn infectieus. Vaak komt geslachtelijke voortplanting voor, echter parthenogenese komt ook voor (Orton Williams en Siddiqi, 1973). Het volwassen mannetje draagt niet bij aan de aantastingen, deze neemt namelijk geen voedsel meer tot zich (Luc et al., 1990). De wortelnecroseaaltjes kunnen de wortel op ieder punt binnendringen, maar bij voorkeur in de strekkingszone (Brinkman en Amsing, 1984). Nadat de aaltjes de wortels zijn binnengedrongen, nestelen ze zich in de intercellulaire ruimten van het schorsparenchym. Ze voeden zich met het cytoplasma van nabij gelegen cellen, waardoor de cellen kapot gaan, en zo bruine lesies ontstaan. De lesies verenigen zich met elkaar, waardoor ze continu vergroot worden. Hierdoor ontstaan grote necrotische of afgestorven plekken op de wortels, vandaar de naam 'wortelnecroseaaltje'. Aaltjes van *R. similis* kunnen niet door de endodermis heen, waardoor ze de centrale cilinder niet kunnen bereiken (Orton Williams en Siddiqi, 1973). Schimmels kunnen nu gemakkelijk de wortels binnendringen, waardoor necrose ontstaat. Schimmels kunnen wel de centrale cilinder bereiken, waardoor de wortel wegwijnt.

Schadebeelden van een aantasting van *R. similis* bij Anthurium zijn een slechte (vegetatieve) groei, chlorose en een afname van het aantal te oogsten bloemen die kan oplopen tot circa 30 % in de zieke planten (Aragaki et al, 1984; Amsing en Stapel, 2001). Aantaste planten hebben weinig, smalle, doffe bladeren; oudere bladeren worden geel en de planten produceren kleine bloemen. Wanneer de planten goed bestudeerd worden, blijkt dat het grootste gedeelte van de wortels en het onderste gedeelte van de stengel rot is. Hierdoor wordt ook de opname en transport van water en voedingsstoffen in de plant verminderd (Stoffelen et al., 1999). Bij isolatie van het wortelmateriaal vindt men allerlei schimmels. Vroeger werd gedacht dat deze schimmels de oorzaak waren van de slechte groei van Anthurium. Echter, wanneer getracht werd met deze schimmels gezonde Anthuriums ziek te maken, lukte dat niet omdat de schimmels de plant niet in konden komen. Ook chemische bestrijding van de schimmels zorgde er niet voor dat de ziektebeelden afnamen. In jonge lesies worden nog geen schimmels gevonden (Aragaki et al, 1984). Later kwam men erachter dat het wortelnecroseaaltje *R. similis* de oorzaak van de ziektebeelden was.

In hoofdstuk 2 wordt ingegaan op de verspreiding van *R. similis* over de wereld en aangegeven welke planten allemaal geschikt zijn als waardplant. Hoofdstuk 3 beschrijft de populatie-ontwikkeling van *R. similis*. In paragraaf 3.1 wordt ingegaan op de levenscyclus van *R. similis*, paragraaf 3.2 gaat over de vermeerdering van *R. similis*, paragraaf 3.3 gaat over de invloed van de temperatuur op de ontwikkeling, paragraaf 3.4 beschrijft de invloed van de inoculumdichtheid op de vermeerdering, paragraaf 3.5 gaat in op de invloed van verschillende substraten op de vermeerdering, paragraaf 3.6 beschrijft de mogelijkheid van het wortelnecroseaaltje om zich ook in andere plantendelen dan wortels te vermeerderen en paragraaf 3.7 tenslotte beschrijft het effect van bewaring op de aantallen *R. similis* in de wortelmonsters. Hoofdstuk 4 geeft de discussie en de conclusie weer, het rapport wordt afgesloten met een literatuurlijst en begripsomschrijving.

2 Verspreiding *R. similis*

R. similis is wijd verspreid in tropische en subtropische regio's over de gehele wereld. Het aaltje komt echter ook voor in kassen in Europa. Waardplanten (meer dan 300 soorten) van *R. similis* kunnen onder andere zijn: banaan, zwarte peper, koffie, mais, groenten, bloemisterijgewassen (onder andere Marantaceae (Maranta, Calathea, Ctenanthe, Stromanthe), Araceae (Anthurium, Monstera, Philodendron), Musaceae (Strelitzia), Palmae (kokospalm, Chamaedorea) en Citrus), grassen en onkruiden (Orton Williams en Siddiqi, 1973; Brinkman en Amsing, 1984; internet: <http://ucdnema.ucdavis.edu/imagemap/nemmap/Ent156html/204NEM/INURS>).

Uit verschillende studies blijkt dat de diversiteit in pathogeniteit van *R. similis* bij bananenplanten in directe relatie staat met de vermeerderingssnelheid van het wortelnecroseaaltje. Het blijkt dat hoe makkelijker *R. similis* zich vermeerderd op wortelschijfjes, des te groter de pathogeniteit is op banaan (Stoffelen et al., 1999). De diversiteit van *R. similis* is waarschijnlijk te danken aan de verschillen in evolutie door verschillende omstandigheden van de omgeving en waardplanten. Van de omgevingsfactoren speelt waarschijnlijk vooral de temperatuur een belangrijke rol (Fallas en Sarah, 1995).

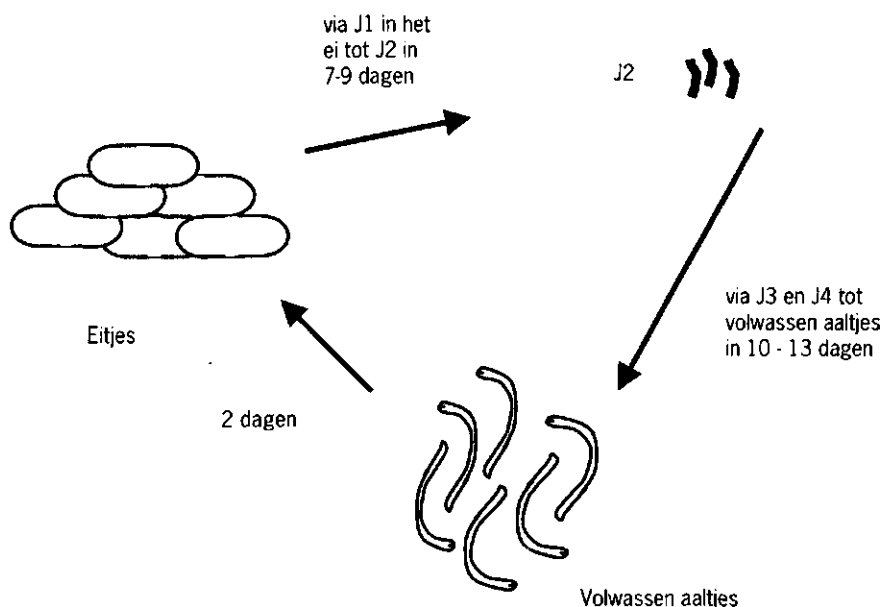
Aantasting door *R. similis* in Anthurium komt in Hawaï algemeen voor in planten ouder dan drie jaar (Aragaki et al, 1984). In Trinidad en Tobago ondervindt de Anthuriumteelt veel problemen door het wortelnecroseaaltje *R. similis*. De teelt van Anthurium in Trinidad vindt plaats in op de grond staande bakken. Op de bodem van de bakken ligt plastic, de bakken zijn gevuld met kokosvezel. In Trinidad en Tobago zijn gedurende de periode van 1988 tot 1991 totaal 21 Anthurium cultivars bemonsterd, afkomstig van een veertiental bedrijven, over het algemeen gelegen in het westelijk gedeelte van Trinidad. Dit om te onderzoeken in welke omvang *R. similis* voorkomt in deze gebieden in de kassen. In de monsters werden 18 verschillende plantenparasitaire aaltjes gevonden. Vooral *R. similis* en *Paratylenchus minutus* kwamen veel voor. *R. similis*, was met 69% het meest voorkomende wortelaaltje in Anthurium in Trinidad, bovendien komt hij ook in vrij hoge populatiedichtheden voor (Bala en Hosein, 1996).

3 Populatieontwikkeling *R. similis*

3.1 Levenscyclus

Uit in vitro proeven blijkt dat zwangere vrouwtjes in gedestilleerd water gedurende de eerste 24 uur gemiddeld 2,6 eitjes per vrouwtje leggen, daarna stopt dit proces. In wortels daarentegen gaat de productie van eieren wel gewoon door. Hieruit blijkt dat de factor voeding belangrijk is voor de continuïteit van het leggen van eitjes. In vitro komen de eitjes, bij een temperatuur tussen 24-32°C, na 5-7 dagen uit (Loos, 1962). Ook is gekeken naar de levenscyclus van *Radopholus similis* in proeven met levende wortels. Hiervoor is gekozen voor *Thephrosia candida* (een groente uit de familie van de Leguminosaea), waarvan de wortels van pas gezaaide plantjes, gemakkelijk door aaltjes geïnfecteerd worden. De levenscyclus van *R. similis* van ei tot ei bij temperaturen tussen 24-32°C in de wortels van *T. candida* is afgerond in 20-25 dagen en verloopt als volgt: nadat de aaltjes in de wortels zijn gedrongen, verplaatsen ze zich niet veel verder meer. Van geselecteerde zwangere vrouwtjes die zich in de wortel bevonden, legde 14% geen eitjes. Nog eens 14% legde maar enkele eitjes. Het maximaal aantal gelegde eitjes per vrouwtje was 76 in 14 dagen. De maximale hoeveelheid eitjes per vrouwtje varieerde van 6,4 tot 7,7 eitjes per dag. Na 7-9 dagen komen de eitjes uit. De larvale periode duurt circa 10-13 dagen, het grootste deel is volwassen na 11 dagen. De larvale periode van de mannetjes duurt een dag korter. De eerste vervelling van de larven vindt in het ei plaats. Het tweede larvale of juveniele stadium (J2) komt uit het ei, daarna zijn er nog 3 vervellingen. Het vierde larvale stadium (pre-adulte stadium) is het kortste stadium, daarna vindt er waarschijnlijk geen echte lengtegroei meer plaats.

Het duurt circa nog 1-2 dagen totdat een volwassen geworden aaltje eitjes kan gaan leggen. Alle larvale stadia en vrouwtjes zijn infectieus. Mannetjes zijn niet in staat de wortels in te kruipen (Loos, 1962). Het grootste gedeelte van de aaltjes sterft vrij snel af, maar een klein gedeelte kan afhankelijk van de omstandigheden soms meer dan een half jaar zonder waardplant in leven blijven (Brinkman en Amsing, 1984). In figuur 1 is de cyclus van ei tot ei weergegeven.



Figuur 1 - Levenscyclus van *Radopholus similis*.

3.2 Vermeerdering

Ducharme en Price (1966) beschrijven twee soorten proeven met citrusplanten, namelijk veldproeven en laboratoriumproeven. Voor de veldproeven zijn in een met *R. similis* besmet perceel, aangetaste wortels met *R. similis* (36 monsters) verzameld, schoon gewassen, in gelijke delen verdeeld en geïncubeerd bij 18,5°C in gesloten potjes. Uit deze verzamelingen zijn de nematoden gedurende 25 dagen in twaalf keer verzameld. Het aantal aaltjes is daarna geteld. Per 10 g wortels werden bij acht monsters minder dan 250 *R. similis* gevonden, elf monsters met 260-500 aaltjes, elf monsters met 510-750 aaltjes, drie monsters met 760-1260 aaltjes en één monster met 1520 aaltjes per 10 g wortels.

Voor de labproeven zijn steriele kweken van acht dagen oude grapefruit zaailingen, geïnculeerd met één vrouwtje per zaailing en verder gekweekt bij 24-27°C. Iedere vijf dagen zijn steeds vijftig plantjes in stukjes gesneden om aaltjes en eitjes te verzamelen en te tellen. In de steriele kweken begonnen de vrouwtjes, zodra ze in de wortel gekropen waren, vrij snel eitjes te leggen. Eitjes kwamen in 2-3 dagen uit en de larven bleven in dezelfde lesie om zich te voeden. Gemiddeld legde een vrouwtje 1,8 eitjes per dag. In de labproeven duurde een levenscyclus 18-20 dagen bij 24-27°C. Na 90 dagen (vier generaties) zijn de labproeven afgebroken. De populaties werden op een gegeven moment namelijk zo groot, dat de aaltjes door voedselgebrek zelfs migreerden naar de zaadlobben, jonge stengels en het blad, op zoek naar voedsel. De vrouwtjes legden echter geen eitjes buiten de wortels.

In dit onderzoek heeft men ook nog geprobeerd om populaties op te starten met alleen mannetjes van *R. similis*. Gedurende 4-6 weken zijn deze 'kweken' aangehouden. Uit deze proef is gebleken dat mannetjes zich niet vermeerderen. Na 60 dagen waren de mannetjes nog in leven. Daarna werden echter geen levende mannetjes meer gevonden. Dit onderzoek heeft aangetoond dat mannetjes niet van sekse kunnen veranderen om een nieuwe populatie op te bouwen. Dit terwijl er wel voldoende voedsel beschikbaar was. Vrouwtjes kunnen zich wel zonder mannetjes voortplanten.

De levenscyclus van *R. similis* onder de condities in deze experimenten was gemiddeld 19 dagen. De vrouwtjes legden gemiddeld twee eitjes per dag. Uit het onderzoek is gebleken dat wanneer de gemiddelde populatie in een lesie 30.000 aaltjes bereikt, de groei van de populatie sterk afneemt. Hier zijn verschillende oorzaken voor aan te wijzen. Ten eerste bleek dat veel aaltjes de lesie verlieten naar het omringende medium. De vrouwtjes die vertrokken, droegen zodoende niet meer bij aan de groei van de populatie. Door 'overbevolking' kunnen aaltjes in de lesie doodgaan. Ook is het mogelijk dat de achterblijvende vrouwtjes stoppen met het leggen van eitjes of minder eitjes gaan leggen. Bovendien kan een toename van het aantal uitscheidingsproducten van de aaltjes hun levensprocessen beïnvloeden of de wortels onaangenaam maken om te consumeren.

De reproductiesnelheid van *R. similis* in steriele culturen, startend met een zwanger vrouwtje en een vermeerderingsfactor van 20, kan theoretisch na negen generaties resulteren in een populatie grootte van 2×10^9 nakomelingen. Deze populatie kan na zes maanden bereikt zijn, ervan uitgaande dat de alle externe factoren gunstig zijn. In de praktijk is de reproductiesnelheid trager. De geschatte populatie van een 20 jaar oude citrus boom wordt geschat op gemiddeld $2,3 \times 10^5$ aaltjes. Dit getal is gebaseerd op een gemiddelde van 15,5 kg wortels per aangetaste boom en 52 aaltjes per gram wortels. Omgerekend naar een hectare is dit gemiddeld ca. $1,4 \times 10^8$ aaltjes (minimaal ca. $1,9 \times 10^7$, maximaal $4,0 \times 10^8$). De omvang van de populatie in de praktijk wordt onder andere beïnvloed door de beschikbare hoeveelheid voedsel, concurrentie om het voedsel met andere micro-organismen en de temperatuur. In de steriele kweken waren dit geen belemmerende factoren en konden de aaltjespopulaties maximaal groeien (Ducharme en Price, 1966).

Stoffelen et al. (1999) hebben in vitro onderzoek gedaan naar de snelheid van vermeerdering van twee *R. similis*-populaties, afkomstig van Cuba en Ghana en vergeleken met een populatie uit Costa Rica. Alle populaties waren afkomstig van bananenplanten.

In deze proef hebben ze de invloed van de tijd op de reproductie van *R. similis* onderzocht, door 25 vrouwtjes op ieder wortelschijfje (*Daucus carota*) te leggen en na 3, 4, 5, 6 en 7 weken het aantal aaltjes te tellen. De populaties groeiden na 7 weken uit tot een maximum. Uit het artikel blijkt niet dat de verschillen die er zijn tussen de aantallen, betrouwbaar zijn. Na zes weken waren de populaties van Cuba, Ghana en Costa Rica respectievelijk 35.026 en 20.541 en 11.085 (totaal van eitjes, levende en dode aaltjes).

3.3 Invloed van temperatuur op de vermeerdering

Brinkman en Amsing (1984) beschrijven in hun artikel dat de optimumtemperatuur voor het wortelnecrose-aaltje *R. similis* tussen de 24 en 27°C ligt. De minimumtemperatuur waarbij de aaltjes de wortels nog binnendringen en eieren leggen is 12°C.

Pinochet et al. (1995) hebben in vitro de invloed van de temperatuur onderzocht op de reproductie van *R. similis* op wortelschijfjes (*Daucus carota*). De gebruikte *R. similis* waren afkomstig van Musa AAA uit Ivoorkust. Na sterilisatie zijn op ieder wortelschijfje tien zwangere vrouwtjes gelegd in 0,1 ml water. Er zijn drie sets van tien kweken gemaakt en weggezet bij 16, 21 en 25 ($\pm 0,5$)°C gedurende 75 dagen. Daarna is de inhoud van de schalen fijngemalen, gezeefd en zijn de aaltjes (in de verschillende ontwikkelingsstadia) geteld. *R. similis* kon zich het beste vermeerderen bij 21 en 25°C. Bij 16°C werden geen eitjes, juvenielen of mannetjes gevonden, waaruit men kan concluderen dat bij deze temperatuur geen vermeerdering heeft plaatsgevonden. De vrouwtjes die bij 16°C zijn gevonden (5 stuks) lijken 'overlevenden' te zijn van het originele inoculum. Dit betekent dat *R. similis* wel kan overleven bij deze temperatuur, maar zich niet kan voortplanten. De grootste populatie (eitjes, juvenielen, mannetjes en vrouwtjes) werd gevonden bij 25°C, namelijk een eindpopulatie van 42.415. De eindpopulatie bij 21°C was 2.668 stuks. *R. similis* kan zich in vitro dus niet vermeerderen bij temperaturen van 16°C en lager.

Fallas en Sarah (1995) hebben onderzoek gedaan naar het effect van de temperatuur op de in vitro-vermeerdering van zeven *R. similis*-isolaten, afkomstig uit verschillende bananen producerende gebieden. De zeven herkomsten waren: Martinique, Guadeloupe, Costa Rica, Ivoorkust, Sri Lanka, Guinea en Queensland (Australië). Alle isolaten zijn geïsoleerd van de wortels van bananenplanten (*Musa AAA*) en vervolgens gekweekt op wortelschijfjes. In 100 ml flessen werd 5 ml van een 1% agar-oplossing gegoten, en daarop werden vier of vijf wortelschijfjes van circa 1 cm doorsnede gelegd. Gemiddeld werden 70 aaltjes per fles uitgezet (bestaande uit 90% vrouwtjes en 10% mannetjes en juvenielen). Het onderzoek bestond uit twee proeven.

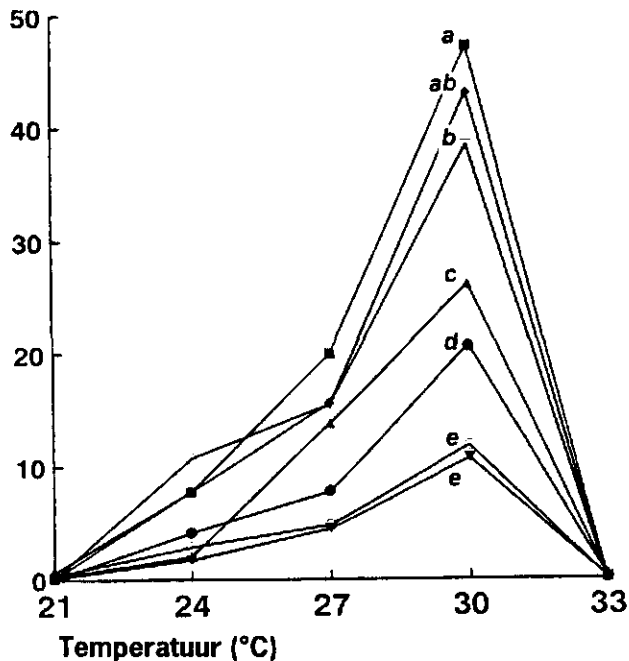
In de eerste proef werd ieder isolaat gedurende 30, 40 en 50 dagen opgekweekt bij 21, 24, 27 en 30°C ($\pm 0,5$ °C). Bij 21°C was de vermeerdering van *R. similis* erg laag, onafhankelijk van het gebruikte isolaat en het tijdstip na inzetten van de proef. Op tijdstip 40 en 50 dagen waren slechts kleine betrouwbare verschillen aanwezig. Bij de hogere temperaturen (24, 27 en 30°C) was de vermeerdering veel hoger en de snelheid nam toe naarmate de temperatuur hoger was. Na 30 dagen was het aantal aaltjes nog vrij laag (van 700-4900 aaltjes per fles), afhankelijk van de temperatuur en het gebruikte isolaat. Na 40 dagen was het maximum aantal aaltjes ca. 10.000 bij 24°C, 20.000 bij 27°C en 50.000 bij 30°C, en waren de verschillen tussen de isolaten groter, en ook significant betrouwbaar. Na 50 dagen waren de verschillen tussen de isolaten nog wat groter, dit gold voor alle drie de temperaturen (24, 27 en 30°C). Bij een temperatuur van 30°C nam de kwaliteit van de wortelschijfjes sterk af van vooral de isolaten afkomstig uit Costa Rica, Ivoorkust en Guinea. De vermeerdering van deze isolaten was ook minder hoog dan van de andere isolaten. De degradatie van de wortelschijfjes zou hiervan een oorzaak kunnen zijn.

In de tweede proef werden de isolaten gedurende 20, 30 en 40 dagen bij 30 en 33°C ($\pm 0,5$ °C) gekweekt. Uit deze proef bleek een temperatuur van 33°C te hoog voor vermeerdering van *R. similis*. Bij 30°C was de vermeerderingssnelheid erg hoog en vergelijkbaar met de gegevens uit de eerste proef 30 en 40 dagen na inoculatie. Daarvoor meende men ook de gegevens uit de beide proeven te mogen vergelijken voor de diverse isolaten. Op het tijdstip van 40 dagen was nog geen degradatie van het weefsel zichtbaar, en dit tijdstip is dan ook gekozen voor het vergelijken van de isolaten bij een temperatuurreeks van 21-33°C (Figuur 2).

Het verloop van de populaties, beïnvloed door de temperatuur is ruwweg onafhankelijk van het gebruikte isolaat. Alle isolaten vermeerderden zich het beste bij 30°C. De minimumtemperatuur voor vermeerdering is waarschijnlijk niet veel lager dan 21°C, de maximumtemperatuur ligt bij de 33°C. De aaltjes konden echter wel overleven bij 33°C. Het zou mogelijk kunnen zijn dat deze uniformiteit geïnduceerd is door de kweektemperatuur waarbij alle isolaten in stand gehouden zijn gedurende een periode van drie jaar. Het is bekend dat ongewervelde dieren zich kunnen aanpassen aan de temperatuur. Ook van een aantal nematodensoorten is bekend dat hun 'voorkeurstemperaturen' beïnvloed kunnen worden door de temperatuur waarbij ze in stand gehouden worden. In dit onderzoek was de waargenomen optimale temperatuur echter hoger dan de temperatuur waarbij de aaltjes gekweekt worden (27°C). Bovendien lieten alle isolaten hetzelfde beeld zien,

waaruit men de conclusie zou kunnen trekken dat deze homogeniteit specifiek is voor deze nematodensoort (Fallas en Sarah, 1995).

Aantal nematoden per fles (x 1000)



Figuur 2 - Eindpopulatie van zeven *Radopholus similis*-isolaten in relatie tot de temperatuur, veertig dagen na inoculatie op wortelschijfjes - isolaten zijn afkomstig uit: ■ Ivoorkust; ◊ Guinea; ◆ Costa Rica; ▲ Gadeloupe; ▼ Martinique; ● Sri Lanka; ○ Queensland. Bij 30°C duiden ongelijke letters op significante verschillen ($P \leq 0.05$) (bron: Fallas en Sarah, 1995).

3.4 Invloed van inoculumdichtheid op de vermeerdering

Aragaki et al. (1984) beschrijven kasproeven waarin ziektevrije planten van *Anthurium 'Marian Seefurth'* geplant in 5 cm potjes besmet zijn met 0, 10 of 100 aaltjes per potje. Dit gebeurde wanneer de planten 4-6 bladeren of 5-7 bladeren hadden in respectievelijk de eerste en de tweede proef. De planten werden in de kas gezet bij temperaturen tussen 20-30°C gedurende 16 en 19 weken in respectievelijk de eerste en de tweede proef. Het aantal aaltjes is na afloop geteld. De controle-planten zijn niet besmet geraakt in de proef, daarin werden geen wortelnecroseaaltjes gevonden. Bij een inoculumdichtheid van 10 aaltjes per plant werden gemiddeld over beide proeven per pot van 100 cm³ 127 aaltjes teruggevonden, en bij 100 aaltjes per plant werden gemiddeld over beide proeven per pot van 100 cm³ 562 aaltjes teruggevonden aan het einde van de proef. In het artikel wordt niet vermeld uit hoeveel herhalingen en planten beide proeven bestonden, ook is het wortelgewicht niet vermeld waaruit de aaltjes geëxtraheerd zijn.

Amsing en Stapel (2001) vonden in een kasproef met *A. andreaeanum* in steenwolblokken in relatie tot een inoculumdichtheid van 100, 1.000 en 10.000 *R. similis* per 4,7 liter container na vier tot zes maanden maximale aaltjespopulaties van respectievelijk 7.306, 8.363 en 6.775 *R. similis* per 10 g wortels. Berekend over alle wortels waren er toen per container respectievelijk 112.162, 111.628 en 58.564 *R. similis* aanwezig. Vanwege de steeds slechter wordende wortelstelsels namen de aaltjespopulaties daarna alleen nog maar af.

Stoffelen et al. (1999) hebben in vitro onderzoek gedaan naar de invloed van de inoculumdichtheid op de vermeerdering van twee *R. similis*-populaties, afkomstig van Cuba en Ghana en vergeleken met een populatie uit Costa Rica. Alle populaties waren afkomstig van bananenplanten. In deze proef is de invloed van de inoculumdichtheid op de reproductie onderzocht door 5, 10, 25, 50 en 100 vrouwtjes per wortelschijfje te

inoculeren en na zes weken het aantal aaltjes te tellen. In beide proeven zijn de petrischalen bij 28°C geïn-cubeerd in het donker. Na afloop zijn het aantal eitjes, juvenielen, mannetjes en vrouwtjes geteld. Bij de populaties afkomstig van Cuba en Costa Rica werd een significante toename van het totaal van eitjes, levende en dode aaltjes gezien bij een inoculumdichtheid van 5-25 vrouwtjes per wortelschijfje (Tabel 1). Bij een inoculumdichtheid van 50 en 100 vrouwtjes nam dit niet meer significant toe. Bij de populatie afkomstig van Ghana was de spreiding zo groot dat de verschillen tussen de inoculumdichtheden niet betrouwbaar waren. De afname van de vermeerdering bij hoge inoculumdichtheden kan verklaard worden door uitputting van de voedingsbron.

Tabel 1 - Effect van inoculumdichtheid op de vermeerdering van drie *R. similis*-populaties op wortel-schijfjes 6 weken na inoculatie bij een temperatuur van 28°C (Bron: Stoffelen et al., 1999).

Inoculum-Dichtheid	Herkomst populaties		
	Costa Rica	Cuba	Ghana
5	4.622	7.896	7.742
10	9.272	12.663	16.955
25	15.941	23.250	29.654
50	28.159	27.509	30.164
100	28.518	20.892	30.399

3.5 Vermeerdering in substraten

Naast de invloed van de temperatuur op de populatieontwikkeling van *R. similis* kan ook het soort substraat de vermeerdering van het wortelnecroseaaltje beïnvloeden. In het onderzoek van Wang et al. (1997) is gekeken naar de invloed van het type substraat op de populatieontwikkeling. Het onderzoek is opgezet naar aanleiding van de mogelijkheden voor het exporteren van plantmateriaal. In een aantal substraten is het toegestaan plantmateriaal te exporteren. Dit zijn: turf, veenmos, houtskool van bast, perliet, vermiculiet, steenwol, puimsteen lava. De meeste van deze substraten lijken ook geschikt voor de teelt van *Anthurium*, omdat *Anthurium* groeit in een goed lichtig substraat met een hoge waterhoudende capaciteit. In dit onderzoek zijn twee *Anthurium* cultivars ('Midori' en 'Alii') gebruikt met vier substraten (perliet/ pijnboomschors compost (1:1), lava, lava/veenmosveen (2:1) en lava/veenmosveen met steenwol (1:2:1)) en twee inoculumdichtheden (0 en 2.000 aaltjes per pot van 3,8 liter). Een maand na oppotten is er geïnoculeerd. Negen maanden later is de proef beoordeeld.

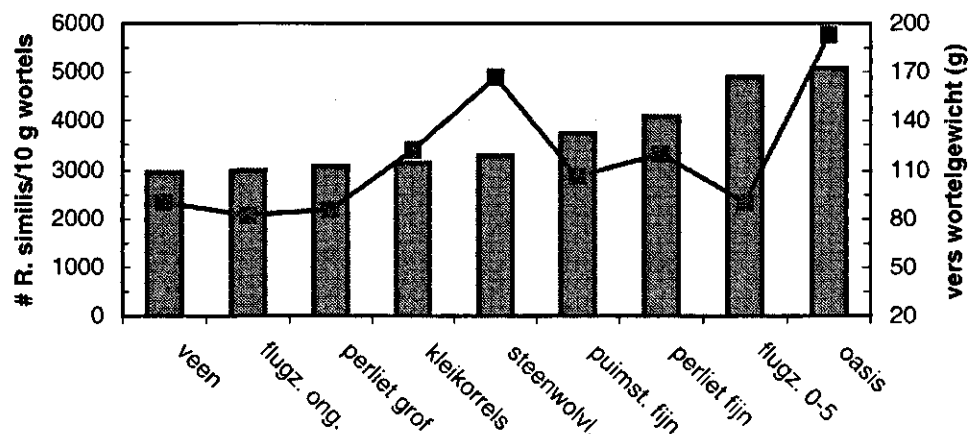
De cultivar 'Alii' gekweekt in lava vertoonde de minste schade door *R. similis* wat betreft wortel- en scheut drooggewicht ratios, schade aan de scheuten, wortels, aantal nieuwe bladeren en aantal bloemen. Dit wordt echter niet veroorzaakt doordat de planten beter in lava groeiden. Onder onbesmette omstandigheden groeiden beide cultivars namelijk het minst goed in lava en beter in de andere substraten. Wat aantallen aaltjes betreft werden de meeste aaltjes gevonden bij 'Alii' gekweekt in lava, hoewel deze behandeling niet significant verschillend was van de behandeling met perliet/pijnboomschors compost. Een aaltjes-infectie wordt beïnvloed door een aantal factoren, waaronder worteldichtheid, de gezondheid van de planten, de hoeveelheid organische stof in een substraat en het vochtgehalte van het medium. De onderzoekers geven een mogelijke verklaring voor de lagere schade bij *Anthurium* in lava. Men denkt dat het aantal secundaire aantastingen van andere pathogenen lager is omdat door een lagere vochthoudende capaciteit van lava de omgeving voor deze pathogenen minder gunstig is om te (over)leven (Wang et al, 1997).

Bij de cultivar 'Midori' waren de verschillen in schade tussen de vier substraten klein en waren er aan het einde van de proef geen significante verschillen in aantallen aaltjes tussen de verschillende substraten (Wang et al, 1997).

Amsing en Stapel (2001) hebben negen substraten getest op hun invloed op het ontstaan van aantasting van *Anthurium andreanum* door *R. similis*, namelijk veen, flugzand ongewassen, perliet grof, kleikorrels 2-4 mm, steenwolvlokken, ijslands puimsteen fijn, perliet fijn, flugzand 0-5 mm en polyfenolschuim (oasis). Dertien weken na het inoculeren met 4.000 *R. similis* per container waren er in de planten in alle bovenstaande substraten veel aaltjes aanwezig, variërend van 3.000 – 5.000 *R. similis*/10 gram wortels (Figuur 3). Hoewel er geen onbesmette planten in dit onderzoek zijn opgenomen, wordt op basis van eerder onderzoek naar de schadelijkheid van *R. similis* bij *A. andreanum* in steenwolvlokken aangenomen dat in alle onder-

zachte substraten schade mag worden verwacht (Amsing en Stapel, 2001). De keuze van het substraat om schade door *R. similis* te voorkomen biedt derhalve geen oplossing. Het is beter te trachten aantasting te voorkomen en een optimale groei na te streven door een substraat te kiezen waarin *Anthurium andreaenum* goed bewortelt. In figuur 3 zijn tevens de wortelgewichten (vers) weergegeven. Hieruit blijkt dat een grover substraat een betere beworteling geeft.

Wat betreft het telen van *Anthurium* in een substraatloos systeem door middel van wortelberegening blijkt uit onderzoek (pers. meded. Amsing, 2001) dat *R. similis* daarin moeilijk tot aantasting komt. Welke gevolgen dit heeft voor de schadelijkheid kon vanwege de korte proefduur niet worden vastgesteld.

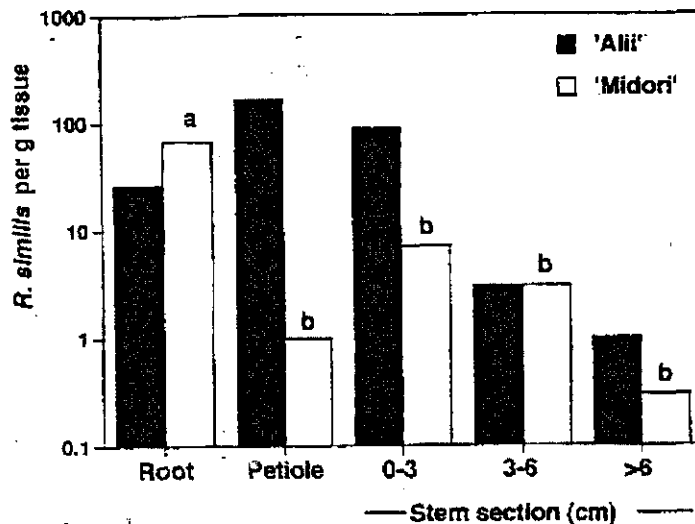


Figuur 3 - Invloed van het type substraat op de aantasting van *Anthurium andreaenum* 'Sonate' door het wortelnecroseaaltje *Radopholus similis* en het effect op het verswortelgewicht (bron: Amsing en Stapel, 2001).

3.6 Vermeerdering van *R. similis* in stengels

In het onderzoek van Wang et al. (1999) is nagegaan of *R. similis* ook bovengrondse stengeldelen van *Anthurium* kan aantasten. In dit onderzoek is gewerkt met de twee cultivars 'Midori' (20 cm groot) en 'Alii' (30 cm groot), opgepot in 3,8 liter potten gevuld met een steriel medium. Tweeduizend aaltjes per plant zijn aan de basis van iedere plant geïnoculeerd. Negen maanden later is de aantasting vastgesteld. Iedere hoofdstengel werd hiertoe verdeeld in drie stukken: <3 cm, 3-6 cm en >6 cm vanaf de basis. Ook werden de bladsteel van het eerste blad (<3 cm vanaf de basis) en de wortels beoordeeld op aantasting.

R. similis werd teruggevonden in 83% van de scheutdelen. Over het algemeen werden de meeste aaltjes teruggevonden in de wortels, de bladstengel en de onderste 3 cm van de hoofdstengel (Figuur 4). *R. similis* kan dus naast de wortels ook de hoofdstengel en bladstelen binnendringen (Wang et al., 1999).



Figuur 4 - Aantallen *R. similis* gevonden per gram drooggewicht in stengeldelen van *Anthurium andraeanum*. De stengeldelen zijn aangegeven vanaf de basis van de stengel. Ongelijke letters bij 'Midori' geven significante verschillen weer ($P \leq 0,05$) (bron: van Wang et al., 1999).

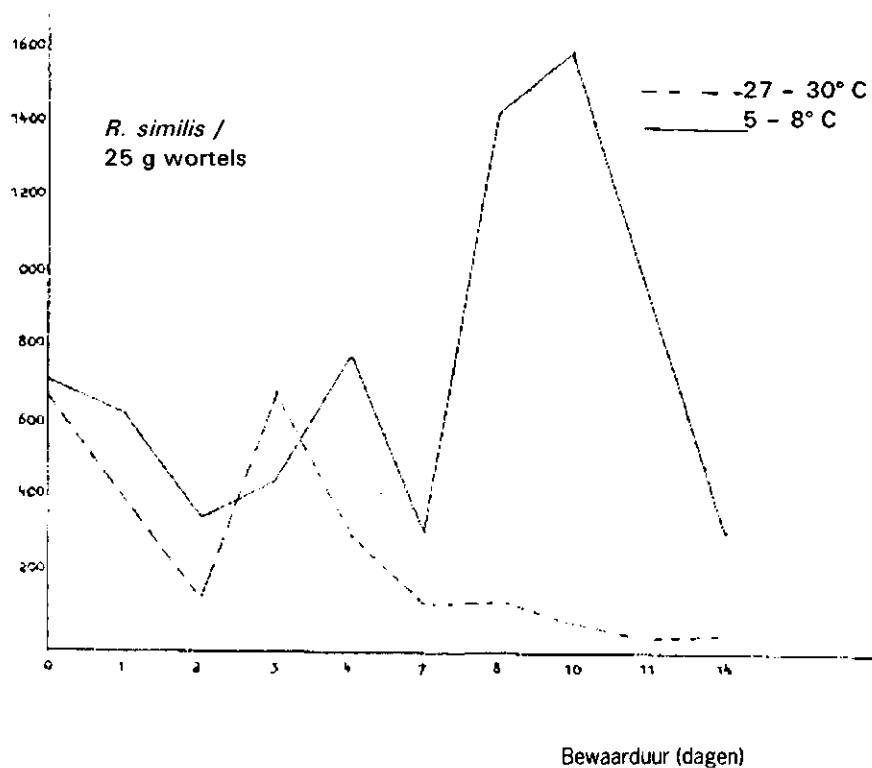
3.7 Bewaring van monsters

Whyte en Gowen (1974) hebben gekeken naar de effecten van bewaring van wortel- en grondmonsters van banaan bij diverse temperaturen en tijdsduren. Voor het maken van de wortelmonsters zijn de wortels goed gespoeld en in stukjes van 2-3 cm gehakt. Het monster is goed gemengd en in tien gelijke delen verdeeld. Elk deel is genummerd en nogmaals in tweeën verdeeld en in plastic zakjes gestopt. De ene helft is bij 5-8°C bewaard, de andere helft bij 27-30°C. Op de dag van monsternamen en na 1, 2, 3, 4, 7, 8, 10, 11 en 14 dagen zijn submonsters van 25 gram genomen, gemixt in een keukenmachine gedurende tien seconden en daarna gedurende twee dagen geïncubeerd bij 27-30°C om de aaltjes te extraheren.

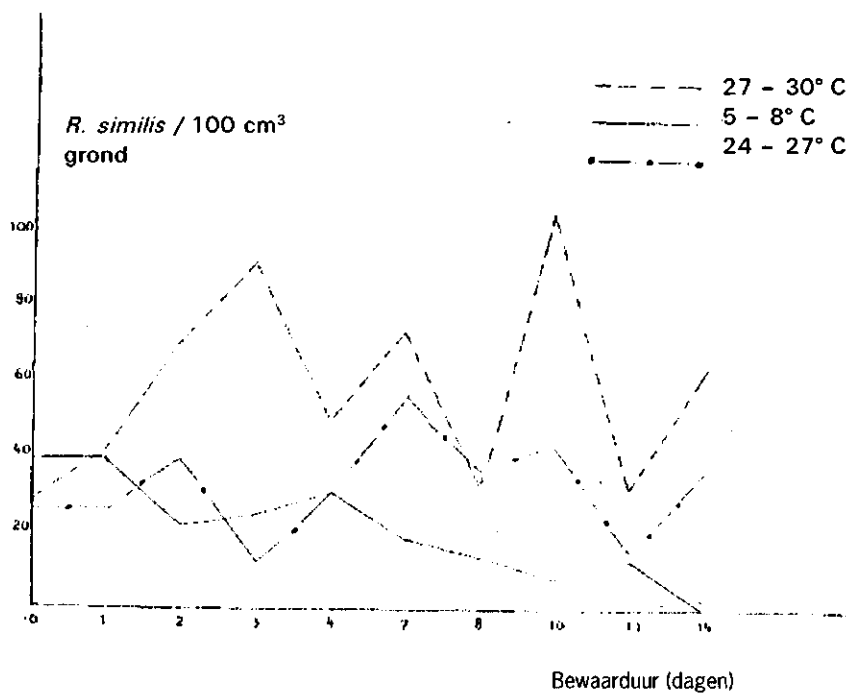
Voor de grondmonsters is de partij grond eerst gezeefd door een 10 mm zeef en goed gemengd waarna de partij in tien gelijke delen is verdeeld. Elk deel is hierna nogmaals verdeeld, nu in drie gelijke delen, in plastic zakjes gedaan en bewaard bij 27-30°C, 24-27°C en 5-8°C. Op de dag van monsternamen en na 1, 2, 3, 4, 7, 8, 10, 11 en 14 dagen zijn submonsters van 100 cm³ genomen en gedurende 24 uur geïncubeerd bij 27-30°C.

De aantallen *R. similis* die in de wortelmonsters werden teruggevonden namen eerst af gedurende de eerste twee dagen van de bewaring bij beide bewaartemperaturen (Figuur 5). Op tijdstip 0 (dag van de monsternamen) werden er ca. 700 aaltjes per 25 gram wortels gevonden. Bij bewaring bij 27-30°C nam het aantal aaltjes op de derde dag weer toe, om vervolgens tot 14 dagen alleen maar af te nemen tot minder dan 50 aaltjes per 25 gram wortels. De bewaring bij 5-8°C liet tot 7 dagen na aanvang een wisselend beeld zien, maar na 7 dagen nam het aantal aaltjes dat teruggevonden werd sterk toe, tot ca 1600 aaltjes per 25 gram wortels na tien dagen. Daarna was weer een sterke afname te zien.

De aantallen *R. similis* die in de grondmonsters werden teruggevonden bij bewaring bij 5-8°C nam alleen maar af (Figuur 6). Na 14 dagen werden er geen aaltjes meer gevonden. Bij de andere twee behandelings-temperaturen namen de aantallen toe bij bewaring. Bewaring van de grondmonsters bij 27-30°C leverde de meeste aaltjes op (Whyte en Gowen, 1974).



Figuur 5 - Aantallen *R. similis* afkomstig van wortels bewaard bij kamertemperatuur (27-30°C) en in de koeling (5-8°C) (bron: Whyte en Gowen, 1974).



Figuur 6 - Aantallen *R. similis* verkregen uit de grondmonsters bij drie verschillende bewaarcondities (bron: Whyte en Gowen, 1974).

4. Discussie en conclusie

In Tabel 2 zijn de gevonden literatuurgegevens betreffende de invloed van de temperatuur op de ontwikkelingssnelheid c.q. vermeerdering van *R. similis* weergegeven. Bij temperaturen tussen 24-32°C duurt een levenscyclus van ei tot ei 20-25 dagen. De resultaten in de verschillende artikelen komen aardig overeen. De kleine verschillen die gevonden zijn, kunnen onder andere voortkomen door de verschillende herkomsten van *R. similis* (Stoffelen et al., 1999) en verschillende proefomstandigheden als temperatuur, grondsoort, licht, etcetera.

Bij temperaturen lager dan 21°C vindt nauwelijks tot geen (16°C) vermeerdering van het wortelnecroseaaltje plaats. De optimale ontwikkelingstemperatuur ligt bij 30°C (Figuur 1, paragraaf 3.2) waarna de ontwikkeling snel afneemt. De aaltjes overleven nog wel bij 33°C, maar van vermeerdering is geen sprake.

Alle onderzoeken met temperatuurreeksen zijn in vitro op wortelschijfjes uitgevoerd. Er is in de literatuur geen onderzoek aangetroffen waarin is nagegaan wat de relatie is tussen de temperatuur en de populatieontwikkeling van *R. similis* bij planten. Bij planten zou deze relatie wel eens anders kunnen zijn dan op wortelschijfjes. Om te weten hoe *R. similis* op temperatuur reageert bij Anthuriumplanten in substraat, zou onderzoek opgezet moeten worden.

Een ander resultaat dat in de literatuur gevonden is, is dat de vermeerdering van *R. similis* beïnvloed wordt door het type substraat, maar gelet op het goede vermeerderingsvermogen van *R. similis* in alle onderzochte substraten, biedt de keuze van het substraat geen perspectief om schade aan het gewas te beperken. De kans op schade kan mogelijk wel worden verkleind in een substraatloos teeltsysteem door middel van wortelberegening.

Het wortelnecroseaaltje wordt niet alleen teruggevonden in wortels, maar kan ook in stengeldelen binnendringen. Tenslotte heeft ook nog de bewaring van de monsters (zowel wortel- als grondmonsters afkomstig van banaan) invloed op de hoeveelheid aaltjes die teruggevonden wordt. Bewaring van wortelmonsters kan het beste plaatsvinden bij temperaturen van 5-8°C, bewaring van grondmonsters juist bij hoge (27-30°C) temperaturen, hoewel de resultaten wel heel erg kunnen wisselen van dag tot dag.

Tabel 2 – Vergelijken van de invloed van de temperatuur ontwikkelingssnelheid van het wortel necrose aaltje *Radopholus similis*.

Temperatuur	Ontwikkelings-snelheid	Gemiddeld aantal eitjes per dag	Vermeerdering	Bron
24 - 32°C	20 - 25 dagen	6,4 - 7,7	.	Loos, 1962
24 - 27°C	18 - 20 dagen	1,8	.	Dücharme en Price, 1966
20 - 30°C	.	.	<ul style="list-style-type: none"> • 10 zwangere vrouwtjes → 12-voudige vermeerdering na 122 dagen • 100 zwangere vrouwtjes → 5-voudige vermeerdering na 122 dagen 	Aragaki et al., 1984
24 - 27°C	18 - 35 dagen	4 - 5	.	Brinkman en Amsing, 1984
16, 21 en 25°C	.	.	10 zwangere vrouwtjes per wortelschijfje gedurende 75 dagen: <ul style="list-style-type: none"> • 16°C → geen voortplanting • 21°C → 2.668 nakomelingen • 25°C → 42.415 nakomelingen 	Pinochet et al., 1995
21, 24, 27, 30 en 33°C	.	.	Per fles 70 aaltjes op 4 of 5 wortelschijfjes, 90% vrouwtjes, 10% mannetjes en juvenielen gedurende 40 dagen, afhankelijk van het isolaat: <ul style="list-style-type: none"> • 21°C → 40 - 640 nakomelingen • 24°C → 1000 - 10.000 nakomelingen • 27°C → 3500 - 20.000 nakomelingen • 30°C → 10.000 - 50.000 nakomelingen • 33°C → 64 - 116 nakomelingen 	Fallas en Sarah, 1995
28°C	.	.	25 vrouwtjes per wortelschijfje, gedurende 49 dagen, 3 populaties vergeleken, alles geteld, incl. eitjes en dode aaltjes <ul style="list-style-type: none"> • Herkomst Cuba: 35.026 nakomelingen • Herkomst Ghana: 20.541 nakomelingen • Herkomst Costa Rica: 11.085 nakomelingen 	Stoffelen et al., 1999

- gegevens niet in het artikel weergegeven

Literatuur

- Amsing, J.J. en Stapel, L.H.M., 2001. Populatieontwikkeling, schadelijkheid en beheersing van het wortelne-croseaaltje *Radopholus similis* in *Anthurium andreanum* in kunstmatige substaten. Proefstation voor de Bloemisterij en Glasgroente, Rapport 308, 44 pag.
- Aragaki, M., Apt, W.J., Kunimoto, R.K., Ko, W.H. and Uchida, J.Y., 1984. Nature and control of Anthurium decline. Plant Disease 68: 509-511.
- Bala, G. and Hosein, F., 1996. Plant-parasitic nematodes associated with Anthuriums and other tropical ornamentals. Nematropica 26:9-14.
- Brinkman, H. en Amsing, J.J., 1984. Veroorzaker van wortelrot. Schade bij tropische sierplanten door *Radopholus similis*. Vakblad voor de Bloemisterij 40, 36-37.
- Ducharme, E.P. and Price, W.C., 1966. Dynamics of multiplication of *Radopholus similis*. Nematologica 12: 113-121.
- Fallas, G. and Sarah, J.-L., 1995. Effect of temperature on the in vitro multiplication of seven *Radopholus similis* isolates from different banana producing zones of the world. Fundam. Appl. Nematol., 18(5), 445-449.
- Loos, C.A., 1962. Studies on the life-history and habits of the burrowing nematode, *Radopholus similis*, the cause of black-head disease of banana. Proceedings of the Helminthological Society of Washington: a semi-annual journal of research devoted tot helminthology and all branches of parasitology, 43-52.
- Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J., 1990. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Tropical regions. Crops, Pests, Roundworms. 32-33. C.A.B. International Institute of Parasitology, 632 pp.
- Orton Williams, K.J. and Siddiqi, M.R., 1973. *Radopholus similis*. C.I.H. Description of plant-parasitic nematodes: set 2, no 27.
- Pinochet, J., Fernandez, C. and Sarah, J.-L., 1995. Influence of temperature on in vitro reproduction of *Pratylenchus coffeae*, *P. goodeyi*, and *Radopholus similis*. Fundam. Appl. Nematol., 18(4), 391-392.
- Stoffelen, R., Jimenez, M.I., Dierckxsens, C., Tam, V.T.T., Swennen, R. and Waele, D. de, 1999. Effect of time and inoculum density on de reproductive fitness of *Pratylenchus coffeae* and *Radopholus similis* populations on carrot disks. Nematology, 1(3), 243-250.
- Wang, K.-H., Sipes, B.S. and Kuehnle, A.R., 1997. Effect of soilles media on the growth of *Anthurium andraeanum* infected by *Radopholus similis*. Nematropica 27: 77-84.
- Wang, K.-H., Sipes, B.S. and Kuehnle, A.R., 1999. *Radopholus similis* in *Anthurium* shoot tissue. HortScience 34(2): 296-297.
- Whyte, E.B. and Gowen, S.R., 1974. Recovery of nematodes from banana roots and soil samples. Nematropica 4(2): 27-30.

Bijlage 1 Begripsomschrijving

Centrale cilinder	- binnenste gedeelte van de wortel
Cortex	- bast, schors
Cytoplasma	- (eiwithoudende) vloeistof in de cel
Endoparasiet	- een organisme of virus dat min of meer blijvend en soms voor een deel van zijn levenscyclus leeft in min of meer nauwe gemeenschap met een levend organisme (gastheer) aan de weefsels waarvan het zijn voedsel geheel of gedeeltelijk en ten nadele ervan onttrekt.
Lesie	- min of meer begrensde verwonding of weefselbeschadiging
Parthenogenese	- voortplanting zonder bevruchting
Pathogeniteit	- algeheel ziekteverwekkend (ziekmakend) vermogen van een biologische factor
Schors parenchym	- opslagweefsel, grondweefsel in de schors