

Onbekende bodemafwijking bij leliebollen

Voortgezet diagnostisch onderzoek 2011/2012

Peter Vink en Robert Dees

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit
Maart 2013
PPO nr. 32 341021 94 PT 13891-12

© 2013 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, 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.



PPO project nummer 32 341021 94 PT- Projectnummer: 13891-12

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Cluster Bollen, bomen en fruit

Adres : Droevendaalsesteeg 1, Wageningen

: Postbus 16, 6700 AA Wageningen

Tel. : 02521-462121

Fax : 02521-462100

E-mail : info.ppo@wur.nl

Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

Inhoud

Samenvatting	5
1 Inleiding	7
2 Uitvoering van het onderzoek.....	7
3 Resultaten en discussie.....	9
4 Conclusies	9

Samenvatting

Bij de teelt en/of handel van leliebollen worden sinds 2005 af en toe partijen leliebollen aangetroffen waarbij in een meer of minder hoog percentage sprake is van een onbekende bodemafwijking. Met name bij de cultivars Starfighter, Lorina, Tresor, Brunello en Val di Sole is deze onbekende bodemafwijking aangetroffen. Daarbij is sprake van glazige bolschubben die aan de basis geelachtig verkleurd zijn. Bij aansnijden van de bolbodem blijkt deze ook steeds geelachtig te zijn verkleurd zoals bij geelziek in hyacinten. De ervaring tot nu toe is dat leliebollen met genoemde symptomen uiteindelijk in de bewaring verloren gaan. Uit 5 verschillende partijen leliebollen met genoemde verschijnselen zijn isolaties gemaakt en zijn de gevonden bacteriën rein gekweekt. Gezonde leliebollen van een Aziatische type zijn uitwendig gedesinfecteerd en daarna aan de bolbasis aangesneden. Het wondvlak van de leliebollen is daarna besmet met de eerder geïsoleerde bacteriën. Alle besmette leliebollen zijn onder voor bacteriën gunstige omstandigheden weggelegd zonder dat de bollen konden uitdrogen. Na een aantal weken en maanden zijn de geïnfecteerde leliebollen beoordeeld op symptomen van geel verkleurd weefsel in de bolbodem. Het bleek dat onder de proefomstandigheden geen enkele leliebol symptomen ontwikkelde die vergelijkbaar waren met de eerder in leliebollen aangetroffen symptomen. Blijkbaar zijn de geïsoleerde en geselecteerde bacteriën niet pathogeen geweest voor lelie waardoor ze bij gezonde leliebollen geen symptomen konden veroorzaken of waren de omstandigheden niet gunstig voor het ontwikkelen van symptomen. Ook is het mogelijk dat bacteriën misschien helemaal geen primaire rol spelen bij de eerder vastgestelde ziekteverschijnselen maar dat andere tot nu toe onbekende factoren daarbij van invloed zijn. Daarbij zou kunnen worden gedacht aan verzwakking of stress van de leliebollen onder invloed van te natte grond tijdens de bollenteelt waardoor lichte verstikkingsverschijnselen kunnen optreden. Aansluitend zouden bacteriën dan mogelijk secundair een rol kunnen spelen bij het ontstaan van de symptomen in de bolbasis. Dergelijk onderzoek viel helaas buiten het bestek van het uitgevoerde onderzoek. Met dit onderzoek is het dus helaas niet duidelijk geworden of bacteriën primair een rol spelen bij een tot nu toe onbekende schub- en bodemafwijking bij lelies. Nader onderzoek zal nodig zijn om daarover meer duidelijkheid te verkrijgen.

1 Inleiding

In de handel worden sinds 2005 af en toe partijen leliebollen aangetroffen waarbij sprake is van een onbekende bodemafwijking. Daarbij is sprake van glazige bolschubben die aan de basis geelachtig verkleurd zijn. Bij aansnijden van de bolbodem blijkt deze lichtbruin tot geelachtig verkleurd te zijn. Bollen met genoemde symptomen worden meestal uit de partij verwijderd of de bollen gaan in de bewaring verloren. Uit het afwijkende bolbodem- en schubweefsel zijn tot nu toe geen schimmels geïsoleerd en ook zijn nooit virussen aangetoond. Wel zijn regelmatig bacteriën gevonden. Om na te gaan om welke bacteriën het gaat en of ze werkelijk pathogeen zijn voor lelies is e.e.a. onderzocht in het kader van het voortgezet diagnostisch onderzoek.

2 Uitvoering van het onderzoek

Uit de “praktijk” zijn in totaal 5 monsters leliebollen verzameld uit partijen waarin sprake was van een onbekende bodemafwijking. Deze monsters met leliebollen zijn na aankomst bij PPO in Lisse uitwendig grondig gewassen en gespoeld en daarna gedesinfecteerd om alle uitwendige contaminaties kwijt te raken. Aansluitend zijn de leliebollen aangedroogd en zijn uit de bolbasis isolaties gemaakt op daartoe geschikte voedingsbodems. Na incubatie is de uitgroei beoordeeld en zijn de gevonden bacteriën reïngekweekt. Uit elk van de 5 monsters leliebollen zijn daarna een aantal bacteriekolonies geselecteerd op basis van koloniemorfologie om te worden gebruikt in een infectieproef. De geselecteerde bacteriekolonies zijn aansluitend reïngekweekt op petrischalen met voedingsbodem. Na voldoende uitgroei is van elk bacterie-isolaat een suspensie gemaakt volgens vast protocol. In de bacteriesuspensies zijn vooraf gesteriliseerde cocktailprikkers gedompeld om als infectiemedium te dienen.

Van een gezonde partij leliebollen van een aziatische cultivar zijn bollen grondig gewassen en gespoeld en na uitdruipen gedesinfecteerd in 2% formaldehyde. Na desinfectie zijn de bollen 30 minuten nagespoeld met schoon water en weggelegd om uit te druipen. Aansluitend zijn met een scherp mes alle wortels verwijderd en een deel van de bolbasis. De leliebollen zijn aansluitend aangeprikt met de in bacteriesuspensie gedompelde cocktailprikkers. Bij een deel van de leliebollen is de verwonde bolbasis in contact gebracht met de op petrischaal uitgegroeide bacteriën.

Alle geïnfecteerde leliebollen zijn op rekjes met vochtig filterpapier in plastic zakken verpakt om uitdroging te voorkomen. De geïnfecteerde en ingepakte leliebollen zijn weggezet bij respectievelijk 2°C, 17°C of 25°C. Na 1, 4 en 8 weken bewaring van de leliebollen zijn ze visueel beoordeeld op symptomen van de onbekende schub- en bolbodemafwijking.

Van een aantal bacterieisolaten is m.b.v. PCR-technieken nagegaan welke bacteriën aanvankelijk waren geïsoleerd en zijn gebruikt in de infectieproef.

Behandelingen:

- 1 = controle niet besmet
- 2 = besmet met bacterie-isolaat nr. 1
- 3 = besmet met bacterie-isolaat nr. 2
- 4 = besmet met bacterie-isolaat nr. 3
- 5 = besmet met bacterie-isolaat nr. 4
- 6 = besmet met bacterie-isolaat nr. 5



Foto 1: Leliebol met glazig, geelverkleurd bolbodemweefsel opstralend in de schubben en spruit



Foto 2: Glazig en geelachtig verkleurd weefsel in de bolbasis, schubben en voet van de spruit

3 Resultaten en discussie

Het bleek dat na zowel 1, 4 als 8 weken incubatie bij zowel 2, 17 als 25°C bij geen enkele leliebol symptomen werden aangetroffen van glazige, geel verkleurde bolschubben of geel verkleurd weefsel in de bolbasis. Alleen op de plaats waar de cocktailprikkers in de bolbodems waren geprikt was het weefsel beschadigd en soms iets lichtbruin verkleurd. Er werden totaal geen symptomen aangetroffen die vergelijkbaar waren met de eerder in leliebollen aangetroffen symptomen.

Met behulp van PCR-technieken en GenBank-analyse is gebleken dat de in het lelieweefsel aangetroffen, en voor de infectieproef gebruikte bacteriën, verwantschap hadden met *Spingomonas*, *Rahnella* of *Pseudomonas*. De soort *Pseudomonas* bleek niet nader te bepalen.

Waarom geen aantasting bij de geïnfecteerde leliebollen is ontstaan, ondanks voor bacteriën ideale incubatieomstandigheden bij verschillende temperaturen, blijft vooralsnog onduidelijk. Mogelijk zijn de geselecteerde bacteriën niet pathogeen geweest voor lelieweefsel of hebben andere factoren een rol gespeeld bij het niet “aanslaan” van een aantasting. Ook kan de oorzaak van de onbekende bodemafwijking mogelijk verband houden met nu nog onbekende (fysiologische) factoren waardoor lelieweefsels “beschadigd” raken en daarna worden gecontamineerd door bacteriën. In dat geval zijn de aangetroffen bacteriën dus slechts secundair aanwezig geweest en niet in staat om primair gezond lelieweefsel aan te tasten. Dan is het ook niet verwonderlijk dat de eerder aangetroffen bacteriën in de infectieproef geen aantasting van gezond lelieweefsels hebben gegeven. Deze gedachte krijgt mede steun door het feit dat de rol van *Spingomonas*- en *Rahnella*-bacteriën als veroorzakers van plantenziekten niet bekend is. Dus ligt het voor de hand dat deze geïsoleerde en later in de infectieproef gebruikte bacteriën gelegenheidsorganismen zijn geweest.

Voor wat betreft *Pseudomonas* blijft het nog onduidelijk wat zijn rol is bij de onbekende bodemafwijking. Alleen nader onderzoek kan daarover meer uitsluitsel geven, maar valt helaas buiten het bestek van dit onderzoek.

4 Conclusies

In een infectieproef met leliebollen en bacteriën, die uit aangetaste leliebollen waren geïsoleerd, bleken de bacteriën onder de toegepaste proefomstandigheden niet in staat om gezonde leliebollen primair aan te tasten. Hiermee is een directe oorzaak voor een onbekende bodemafwijking bij leliebollen door bacteriën niet aangetoond.

Mogelijk spelen nog andere factoren een rol voor het ontstaan van de onbekende bodemafwijking in lelies en zijn de aangetroffen bacteriën slechts secundair aanwezig.