



Waar en onder welke omstandigheden infecteert *Rhizopus stolonifer* moerplanten van kalanchoë?

Project 433052

Dirk Jan van der Gaag & Marry van der Sar

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	5
1 ALGEMENE INLEIDING	7
2 EFFECT VAN VERWONDING I OP INFECTIE VAN MOERPLANTEN VAN KALANCHOË DOOR <i>RHIZOPUS</i> ...	9
2.1 INLEIDING	9
2.2 DOEL	9
2.3 MATERIAAL EN METHODEN.....	9
2.3.1 Teeltomstandigheden.....	9
2.3.2 Plantmateriaal.....	9
2.3.3 Besmetten	9
2.3.4 Behandelingen.....	9
2.3.5 Waarnemingen.....	10
2.4 RESULTATEN.....	10
2.5 DISCUSSIE EN CONCLUSIES	10
3 EFFECT VAN VERWONDING II EN BESMETTINGSWIJZE OP INFECTIE VAN MOERPLANTEN VAN KALANCHOË DOOR <i>RHIZOPUS</i>	11
3.1 INLEIDING	11
3.2 DOEL	11
3.3 MATERIAAL EN METHODEN.....	11
3.3.1 Teeltomstandigheden.....	11
3.3.2 Plantmateriaal.....	11
3.3.3 Besmetten	11
3.3.4 Behandelingen.....	11
3.3.5 Waarnemingen.....	12
3.4 RESULTATEN.....	12
3.5 DISCUSSIE.....	13
4 BESMETTEN VAN STENGELSTUKJES VAN MOERPLANTEN VAN KALANCHOË MET <i>RHIZOPUS</i>	15
4.1 INLEIDING	15
4.2 MATERIAAL EN METHODEN.....	15
4.2.1 Plantmateriaal.....	15
4.2.2 Behandelingen.....	15
4.2.3 Besmetten	15
4.2.4 Waarnemingen.....	15
4.3 RESULTATEN.....	15
4.4 DISCUSSIE.....	16
5 BESMETTEN VAN HET SUBSTRAAT VAN MOERPLANTEN VAN KALANCHOË MET <i>RHIZOPUS</i>	17
5.1 DOEL	17
5.2 MATERIAAL EN METHODEN.....	17
5.2.1 Teeltomstandigheden.....	17
5.2.2 Plantmateriaal.....	17
5.2.3 Besmetten	17
5.2.4 Behandelingen.....	17
5.2.5 Waarnemingen.....	17

5.3	RESULTATEN.....	18
5.4	DISCUSSIE.....	18
6	BESMETTING VAN DE CULTIVARS ORIBA EN BLANCA.....	19
6.1	INLEIDING EN DOEL.....	19
6.2	MATERIAAL EN METHODEN.....	19
6.2.1	Teeltomstandigheden.....	19
6.2.2	Plantmateriaal.....	19
6.2.3	Behandelingen en besmetten met <i>Rhizopus</i>	19
6.2.4	Waarnemingen.....	20
6.3	RESULTATEN.....	20
6.4	DISCUSSIE.....	20
7	ALGEMENE DISCUSSIE EN AANBEVELINGEN VOOR VERVOLGONDERZOEK	21
	LITERATUUR.....	23

Samenvatting

De schimmel *Rhizopus stolonifer* is een belangrijke veroorzaker van uitval bij moerplanten van kalanchoë. De schimmel veroorzaakt zachtrot van de stengels en de bladeren. De ziekte slaat vooral toe in de tweede helft van de teelt maar onbekend is waar en onder welke omstandigheden *Rhizopus* de plant kan infecteren. In de literatuur is vrijwel niets bekend over *Rhizopus* bij kalanchoë. Informatie is wel aanwezig over *Rhizopus* bij enkele andere bloemisterijgewassen en bij vruchten in de naoogstfase. Uit deze literatuur blijkt dat de aanwezigheid van wonden en een hoge luchtvochtigheid de kans op infectie door *Rhizopus* aanzienlijk verhoogt of zelfs een voorwaarde voor infectie is. In dit onderzoek is daarom onderzocht of de kans op infectie van kalanchoë-moerplanten door *Rhizopus* wordt verhoogd door: (I) kunstmatige verwonding van stengels en/of bladeren en (II) het plaatsen van planten bij een hoge luchtvochtigheid. Door planten na besmetting met *Rhizopus* zeer frequent waar te nemen (tot 2 maal per dag) is geprobeerd de plaats te achterhalen waar *Rhizopus* de plant was binnengedrongen (had geïnfecteerd).

In de proeven werden relatief weinig planten ziek. Moerplanten werden niet geïnfecteerd via wonden gemaakt in stengel of bladeren. Het kunstmatig aanbrengen van wonden verhoogde de kans op infectie niet. Het plaatsen van planten onder hoge luchtvochtigheid (ca. 100%) na besmetting verhoogde de kans op infectie evenmin. Bij 2 planten werd een stengellesie boven het substraatoppervlak waargenomen. *Rhizopus* kan dus de stengel infecteren. Bij één plant vond infectie via het blad plaats bij zeer hoge luchtvochtigheid. Bij alle andere zieke planten begonnen de symptomen onder in de plant. De eerste keer dat aantasting werd vastgesteld bij deze planten was de stengelvoet rot. Omdat echter in bijna alle gevallen de stengels boven de plantvoet tot 4 of meer centimeters boven het substraatoppervlak ook rot waren kan niet met zekerheid worden gezegd of *Rhizopus* deze planten "bovengronds" of vanuit het substraat (dus de plantvoet of de wortels) heeft geïnfecteerd.

1 Algemene inleiding

Moerplanten van kalanchoë staan in de praktijk ca. een jaar waarna ze worden afgevoerd. Met name in het tweede halfjaar treedt uitval op wat ten koste gaat van de stekproductie en extra arbeid vergt voor het verwijderen van de zieke planten. Een belangrijke veroorzaker van de uitval is de schimmel *Rhizopus stolonifer*. Deze schimmel, in de rest van dit verslag gemakshalve afgekort tot *Rhizopus*, kan de plant infecteren waarna de plant zachtrot-verschijnselen vertoont en vervolgens helemaal instort. Om te kunnen bepalen welke teeltmaatregelen en/of biologische middelen uitval door *Rhizopus* mogelijk kunnen verminderen is kennis nodig omtrent de omstandigheden die gunstig zijn voor infectie en de plaats(en) waar *Rhizopus* de plant kan binnendringen. Doel van dit onderzoek was om te bepalen waar en onder welke omstandigheden *Rhizopus* de plant kan infecteren. Hierbij werd uitgegaan van de hypothese dat de aanwezigheid van wonden en een hoge luchtvochtigheid infectie van kalanchoë bevordert omdat uit de literatuur bekend was dat dergelijke condities gunstig zijn voor *Rhizopus* infecties bij andere gewassen (Harris & Davies, 1987; Daughtrey *et al.*, 1995).

2 Effect van verwonding I op infectie van moerplanten van kalanchoë door *Rhizopus*

2.1 Inleiding

Bij zieke moerplanten ziet in de beginfase de buitenkant van de plant waar de stekken worden geplukt er nog gezond uit terwijl de stengel(s) in het midden duidelijke natrot verschijnselen vertonen. Vermoedelijk dringt *Rhizopus* niet via de stekwonden de plant binnen maar mogelijk via wondjes in de stengel en dan meer in het onderste deel van de plant. Uit onderzoek bij *Vinca* is gebleken dat verwonding van de stengel noodzakelijk was om infectie te krijgen (Harris & Davies, 1987). Infectie zal mogelijk worden bevorderd door een hoge luchtvochtigheid. Bovengestelde hypothesen kunnen experimenteel worden getoetst.

2.2 Doel

1. Bepalen of verwonding van plantendelen nodig is voor infectie
2. Bepalen of een hoge luchtvochtigheid infectie bevordert

2.3 Materiaal en methoden

2.3.1 Teeltomstandigheden

Datum inzet proef: 19 september 2001
Kas: kas 301, PPO-Naaldwijk
Temperatuurinstellingen: 20/21°C stoken/luchten
Assimilatiebelichting: 40 W/m², van 02.00 – 20.00 uur

2.3.2 Plantmateriaal

Zes maanden oude moerplanten (cv Tenorio, gestekt in week 11) afkomstig van een tuinbouwbedrijf werden gebruikt. De planten stonden in steenwolgranulaat (grow cube) in een plastic pot. Elke pot kreeg voedingsoplossing (EC 2.0, pH 6) via een druppelaar 1-2x per dag.

2.3.3 Besmetten

Isolaat: *Rhizopus stolonifer* geïsoleerd uit een zieke kalanchoëplant in juli 2001 (cv. Tenorio). Bereiding sporensuspensie: het isolaat werd gedurende 10 dagen gekweekt op PDA onder continu blauw licht bij labtemperatuur (ca 24°C). De sporen werden geogst door ca. 15 ml demiwater op een schaal te gieten en voorzichtig over het oppervlak te schrapen met een spatel en de suspensie af te gieten in een bekersglas. De sporensuspensie werd vervolgens door kaasdoek gezeefd, waarna het aantal sporen per ml werd bepaald m.b.v. telkamer. De gerealiseerde sporendichtheid was 5×10^5 /ml. Wondvlakken werden besproeid met de sporensuspensie totdat de druppels van de plant afrolden. Een zelfde hoeveelheid sporensuspensie werd gespoten op niet-verwonde planten.

2.3.4 Behandelingen

Planten werden bespoten met een sporensuspensie na het aanbrengen van verschillende soorten verwondingen m.b.v. een scherp mesje. Het mesje werd ontsmet na het aanbrengen van een wondvlak. Planten werden omhuld met een plastic zak om een hoge luchtvochtigheid te creëren.

Behandelingen:

1. geen verwonding
2. geen verwonding + plastic
3. stek snijden (6 per plant)
4. stek snijden (6 per plant) + plastic
5. blad bij basis afsnijden (6 per plant)
6. blad bij basis afsnijden (6 per plant) + plastic
7. stengel verwonden tot in de bast en ponsje met mycelium (6 mm in diameter) in wond steken, afdekken met parafilm
8. stengel doorsnijden op halve hoogte (2 per plant)
9. stengel doorsnijden op halve hoogte (2 per plant) + plastic

De wondvlakken werden bespoten binnen 5 minuten nadat de wond was gemaakt. De controlebehandelingen bestonden uit dezelfde 9 behandelingen waarbij de planten i.p.v. met een sporensuspensie met demiwater werden bespoten. De planten bespoten met de sporensuspensie stonden in een andere kas dan de controleplanten. Per behandeling waren er 3 planten.

2.3.5 Waarnemingen

Drie keer per week werd de planten gescoord op aantasting en van elke zieke plant werden de symptomen beschreven.

2.4 Resultaten

Na verwijdering van de plastic zak 5 dagen na besmetten waren duidelijk schimmeldraden en sporendragers van *Rhizopus* aanwezig op de plant. Dit was niet zichtbaar bij planten die niet onder plastic hadden gestaan en ook niet bij de controleplanten

Twee weken na besmetten had 1 plant uit behandeling 1 (niet verwond, geen plastic) duidelijke zachtrot symptomen en op de zieke delen groeide *Rhizopus*. De hoofdstengel was tot in de steenwolvlokken rot terwijl de bovenste delen van de plant nog groen waren.

2.5 Discussie en conclusies

Slechts één plant werd ziek. Deze plant was niet opzettelijk verwond. Er kan natuurlijk niet uitgesloten worden dat kleinere wonden aan stengel en bladeren aanwezig waren. In ieder geval lijkt het erop dat de aanwezigheid van grote snijvlakken de kans op infectie niet vergroot. Het verschijnsel dat bij de zieke plant de hoofdstengel tot in het substraat rot was en de bovenkant van de plant nog groen kan erop wijzen dat infectie mogelijk via de wortels of het stengeldeel in het substraat heeft plaatsgevonden. In een vervolgprouf zal moeten worden onderzocht of meer planten ziek worden na besmetting van het substraat.

3 Effect van verwonding II en besmettingswijze op infectie van moerplanten van kalanchoë door *Rhizopus*

3.1 Inleiding

In de proef beschreven in hoofdstuk 1 waren er geen aanwijzingen dat verwonding van planten de kans op infectie van moerplanten vergrootte. Slechts één plant werd ziek en de symptomen leken bij de voet van de begonnen te zijn. Dus mogelijk dat *Rhizopus* vanuit het substraat de plantvoet of de wortels infecteert.

3.2 Doel

Onderzoeken of planten ziek worden na aangieten van het substraat met sporen van *Rhizopus*. Tevens werd gekeken naar het effect van het afbreken van bladeren en incubatie van de plant in een verzadigde atmosfeer gedurende de eerste 5 dagen na besmetten.

3.3 Materiaal en methoden

3.3.1 Teeltomstandigheden

Datum inzet proef: 10 oktober 2001
Kas: kas 301, PPO-Naaldwijk
Temperatuurinstellingen: 20/21 °C stoken/luchten
Assimilatiebelichting: 40 W/m², van 02.00 – 20.00 uur

3.3.2 Plantmateriaal

Dezelfde moerplanten werden gebruikt als in de proef beschreven in hoofdstuk 2. Behandelingen werden uitgevoerd met de planten die in die proef waren geïnoculeerd met *Rhizopus* maar niet ziek waren geworden. Totaal 26 planten. De planten werden geteeld onder dezelfde omstandigheden als in de vorige proef behalve dat nu elke pot op een schotel was geplaatst om evt. verspreiding van sporen met de voedingsoplossing te voorkomen. De voedingsoplossing werd dus niet gerecirculeerd.

3.3.3 Besmetten

Isolaat: hetzelfde *Rhizopus stolonifer* isolaat werd gebruikt als beschreven in hoofdstuk 2. Bereiding sporensuspensie: het isolaat werd gedurende 10 dagen gekweekt op PDA onder continu blauw licht bij labtemperatuur (ca 24C). De sporen werden geoogst door ca 15 ml demiwater op een schaal te gieten en met een penseel voorzichtig over het oppervlak te schrapen. Deze methode was effectiever dan schrapen met een spatel zoals uitgevoerd in de vorige proef. De sporensuspensie werd vervolgens door kaasdoek gezeefd, waarna het aantal sporen per ml werd bepaald mbv telkamer. De gerealiseerde sporendichtheid was 5×10^6 /ml en werd verdund tot 1×10^6 /ml. Wondvlakken werden besproeid met de sporensuspensie totdat de druppels van de plant afrolden. Een zelfde hoeveelheid sporensuspensie werd gespoten op niet-verwonde planten.

3.3.4 Behandelingen

Er waren 3 wijzen van inoculeren:

- I 25 ml van de sporensuspensie werd rond de voet van een plant gegoten
- II de sporensuspensie werd op de bovengrondse delen van de plant gespoten

III van 10 bladeren in het onderste en middelste deel van de plant werd ca. 2/3 afgebroken waarna de sporensuspensie op de wondvlakken werd gespoten.

Een aantal van de planten werd omhuld met een plastic zak (P). Planten werden gebruikt die op verschillende wijzen waren behandeld in de vorige proef (zie proef I beschreven in hoofdstuk 2) (Tabel 1). Op 31 oktober, 3 weken na besmetten werden de planten getopt omdat ze topzwaar werden en dreigden om te vallen.

Tabel 1. Verdeling van de planten over de behandelingen in proef II die eerder waren gebruikt in proef I maar niet waren uitgevallen door *Rhizopus*. P= plant omhuld met plastic zak.

Behandeling in proef 1	Behandelingen in proef II		
	Plant 1	Plant 2	Plant 3
1	I	Uitgevallen in proef 1	III
2	I	II	III
3	I	II	III
4	I	II	III
5	I	II	III
6	I P	II P	III P
7	I P	II P	III P
8	I P	II P	III P
9	I P	II P	III P

3.3.5 Waarnemingen

Drie keer per week werden de planten beoordeeld op ziektesymptomen nadat de plastic zakken waren verwijderd. De laatste waarneming gebeurde 3 weken na besmetten.

3.4 Resultaten

Na verwijdering van het plastic sporuleerde *Rhizopus* zichtbaar (op de plant, de pot en/of substraat) bij die planten die afgedekt waren geweest met plastic. Na verwijdering van de plastic zakken, vijf dagen na besmetten, was bij één plant (behandeling IIP) een blad onderin de plant rot en *Rhizopus* groeide er uitbundig op. Het blad was rot tot aan de stengel. De hoofdstengel grenzend aan de bladbasis was hard. Eén dag later, 6 dagen na besmetten, was het rotte blad afgevallen, op de stengelwond die hierdoor was ontstaan sporuleerde *Rhizopus* en de stengel boven en beneden de wond was aangetast. Om de plant te sparen is deze stengel enkele centimeters onder het rotte deel afgesneden. Na afsnijden van de stengel bleef de plant gezond. Veertien dagen na besmetten viel één plant uit (behandeling I P: sporensuspensie bij plantvoet gegoten + plastic). Vijf weken na besmetten, 2 weken nadat de planten getopt waren, werd nog een zieke plant waargenomen (behandeling I P). Op het moment van waarnemen was bijna de gehele plant al aangetast en waren slechts enkele topscheuten nog niet aangetast. Zes weken na besmetten viel één plant van behandeling III P (bespuiting na bladbeschadiging) uit (Tabel 2). Van alle planten die na dag 6 uitvielen was op het moment dat aantasting werd waargenomen de stengelvoet rot en een deel van de stengels boven de plantvoet.

Tabel 2. Aantal kalanchoëplanten, cv Tenorio, aangetast door *Rhizopus* en aantal dagen na besmetten dat ziektesymptomen werden waargenomen.

Code	Behandeling	Aantal planten	Aantal zieke planten	Aantal dagen na besmetten
I	Sporensuspensie rond plantvoet	5	0	
IP	Sporensuspensie rond plantvoet + plastic	4	2	14, 35
II	Sporensuspensie spuiten op plant	4	0	
IIP	Sporensuspensie spuiten op plant + plastic	4	1	5 (blad) ^a
III	Bladbeschadiging, sporensuspensie spuiten op plant	5	0	
IIIP	Bladbeschadiging, sporensuspensie spuiten op plant + plastic	4	1	42

^a Blad = infectie van het blad, 6 dagen na besmetten was het stengeldeel waaraan het blad zat aangetast

3.5 Discussie

Ook in deze proef werden weinig planten ziek. Kunstmatige beschadiging van de plant noch het plaatsen van de planten bij een zeer hoge luchtvochtigheid leidde tot een verhoogd infectierisico. Twee planten vielen uit nadat een sporensuspensie op het substraat was gegoten. Er kan niet worden uitgesloten dat deze planten bovengronds zijn aangetast. Toch versterkt dit het idee dat *Rhizopus* de plant vooral via de plantvoet of wortels binnendringt. Mogelijk dat het toppen van de planten het risico van infectie heeft verhoogd doordat het verwijderen van bovengrondse delen over het algemeen wortelafsterving tot gevolg heeft. Uitgezocht dient te worden of een combinatie van substraatbesmetting en het toppen van planten tot meer uitval leidt.

4 Besmetten van stengelstukjes van moerplanten van kalanchoë met *Rhizopus*

4.1 Inleiding

In onderzoek met *Botrytis* of *Rhizopus* wordt soms gewerkt met delen van planten i.p.v. hele planten om zo ruimte en kosten te besparen (zie bijv. Clark & Hoy, 1994). In deze proef werden stengelstukjes van moerplanten van kalanchoë geïnoculeerd met *Rhizopus*.

4.2 Materiaal en methoden

4.2.1 Plantmateriaal

Stengels met bladeren werden op 24 oktober 2001 afgesneden van een 32-weken oude moerplant (cv Tenorio, zie hoofdstuk 2). De stengels werden in stukken van ca. 5 cm lengte gesneden waarbij aan elk stuk tenminste 1 blad zat. De stengelstukjes werden in vermiculiet in plastic bakjes gestoken. Vier stukjes per bakje. De vermiculiet was van tevoren bevochtigd met voedingsoplossing (EC 2, pH 6). De bakjes werden geplaatst in een plastic zak.

4.2.2 Behandelingen

De stengelstukjes werden op verschillende wijzen beschadigd voordat ze werden bespoten met een sporensuspensie van *Rhizopus*:

1. per stukje werd 1 blad beschadigd door het op 3-4 plaatsen te knakken zonder een stuk af te breken
2. per stukje werd een blad afgesneden bij de stengel
3. per stukje werd een blad afgescheurd bij de stengel

Er waren 2 controles: een niet-geïnoculeerde controle met onbeschadigde stengelstukjes en een geïnoculeerde controle met onbeschadigde stukjes. In totaal waren er dus 5 behandelingen. Per behandeling waren er 3 herhalingen (=3 bakjes).

4.2.3 Besmetten

Een sporensuspensie bereid zoals beschreven in hoofdstuk 3 (10^6 sporen per ml) werd op de stengelstukje gespoten totdat de druppels ervan af begonnen te rollen

4.2.4 Waarnemingen

Veertien dagen na besmetten werden de plastic zakken verwijderd en de stukjes beoordeeld op aantasting.

4.3 Resultaten

Bij de behandeling zonder opzettelijk aangebrachte beschadigingen was de hoofdstengel van 1 stengelstuk aangetast door *Rhizopus* (Tabel 3). Bij alle andere stengelstukjes was de hoofdstengel niet aangetast. Bij 2 stengelstukjes (van de behandeling waarbij het oppervlak van het blad was beschadigd) was één blad rot en *Rhizopus* groeide op dat blad. Bij 2 andere stengelstukjes (behandelingen: blad afscheuren en oppervlaktesbeschadiging) was één blad rot maar groeide *Rhizopus* niet zichtbaar op dat blad.

4.4 Discussie

Hoewel de omstandigheden voor *Rhizopus* zeer gunstig leken, een hoge luchtvochtigheid en veel wonden, werd slechts één stengelstukje aangetast. Enkele bladeren waren rot en begroeid met *Rhizopus* maar dit leidde niet tot infectie van de stengel. Omdat ook rotte bladeren werden waargenomen zonder *Rhizopus* lijkt de rotting van de bladeren niet het gevolg van *Rhizopus* maar eerder de oorzaak dat *Rhizopus* op de plant kan groeien. Ook in deze proef bleek verwonding in combinatie met een hoge luchtvochtigheid niet tot een hoog infectierisico te leiden. Tot nu toe is echter alleen met planten uit één partij en van één cultivar, Tenorio, gewerkt en om meer in zijn algemeenheid een uitspraak te doen over het effect van verwonding zullen vergelijkbare proeven met andere cultivars moeten worden uitgevoerd.

5 Besmetten van het substraat van moerplanten van kalanchoë met *Rhizopus*

5.1 Doel

Bepalen of besmetting van het substraat met *Rhizopus* in combinatie met het afsnijden van stengels aantasting bevordert.

5.2 Materiaal en methoden

5.2.1 Teeltomstandigheden

Datum inzet proef: 20 november 2001
Kas: kas 301, PPO-Naaldwijk
Temperatuurinstellingen: 20/21°C stoken/luchten
Assimilatiebelichting: 40 W/m², van 02.00 – 20.00 uur

5.2.2 Plantmateriaal

Moerplanten cv. Tenorio (gestekt in week 11, zie hoofdstuk 2) werden gebruikt. Deze planten waren nog niet eerder kunstmatig besmet met *Rhizopus*.

5.2.3 Besmetten

Besmetten: een *Rhizopus* sporensuspensie werd gemaakt zoals beschreven in hoofdstuk 3. Vijfentwintig ml van de sporensuspensie (10⁶ sporen/ml) werd met een spuit op 2 cm diepte bij plantvoet gespoten. Dit werd herhaald na 2 en na 6 dagen. Twintig dagen nadat de potten voor het eerst besmet waren werd bij elk van de (nog) niet-aangetaste planten 25 ml sporensuspensie (10⁶ sporen per ml) gepipetteerd bij de plantvoet op het grensvlak van substraat, lucht en stengel (plantvoetbesmetten).

5.2.4 Behandelingen:

Er waren 4 behandelingen:

1. controle, niet besmet (5 planten)
2. controle, stengel snijden, niet besmet (6 planten)
3. besmet (8 planten)
4. stengel snijden, besmet (8 planten)

De niet-besmette controle planten werden in een ander kascompartiment gezet dan de besmette planten.

Stengel snijden: 3 zijstengels werden per plant afgesneden, elk ca. 10 cm lang.

Elke plant werd in een aparte bak gezet om contaminatie van de voedingsoplossing met *Rhizopus* zoveel mogelijk tegen te gaan.

5.2.5 Waarnemingen

Vijf keer per week werd de planten gescoord op aantasting en van elke ziek plant werden de symptomen beschreven. Na plantvoetbesmetting werden de planten ma t/m vrijdag 2x per dag waargenomen en op zaterdag en zondag 1x per dag. De reden om zo frequent waar te nemen was om ziektesymptomen in een zo vroeg mogelijk stadium te ontdekken om zo de plaats van infectie zo nauwkeurig mogelijk te kunnen bepalen.

5.3 Resultaten

In totaal werden 6 van de 16 besmette planten aangetast door *Rhizopus* (Tabel 3). Stengel snijden had geen effect. Bij één zieke plant werd een stengellesie ca. 2 cm boven het substraatoppervlak waargenomen. Twee dagen na waarneming van de stengellesie was ook de voet van deze plant aangetast. Bij alle andere zieke planten was bij de eerste waarneming van symptomen de plantvoet tot in het substraat aangetast (hierbij was het deel van de hoofdstengel in het substraat over de gehele lengte, ca 2 cm, rot) en waren meerdere stengels tot ca. 4 cm hoogte rot. Bij één plant was de hoofdstengel tot 1 cm boven het substraatoppervlak aangetast. Eén dag later waren bij deze plant meerdere stengels tot ca. 4 cm boven het substraat aangetast. Bij 3 zieke planten waren ook 1 of enkele van de vlezige wortels direct onder de plantvoet rot. De dunnere wortels dieper de pot zagen er nog goed uit. Het afsnijden van stengels had geen effect op het percentage aangetaste planten (Tabel 3).

Tabel 3. Aantal kalanchoëplanten, cv Tenorio, aangetast door *Rhizopus* en aantal dagen na besmetten dat ziektesymptomen werden waargenomen. Planten werden besmet door (I) een sporensuspensie op 2 cm diepte in het substraat bij de plantvoet te spuiten op dag 0, 2 en 6 en na 20 dagen werd een sporensuspensie tegen de plantvoet gegoten.

Behandeling	Aantal planten	Aantal zieke planten	Aantal dagen na 1 ^e keer besmetten
Geen – <i>Rhizopus</i>	5	0	
Stengel snijden – <i>Rhizopus</i>	6	0	
Geen + <i>Rhizopus</i>	8	3	6, 22, 27
Stengel snijden + <i>Rhizopus</i>	8	3	8, 23 (stengel) ^a , 25

^a Stengellesie boven het substraatoppervlak; bij alle andere zieke planten was de stengelvoet rot op het moment dat de aantasting werd waargenomen.

5.4 Discussie

Evenals uit eerdere waarnemingen was gebleken, bleek ook in deze proef dat wanneer een plant eenmaal geïnfecteerd is door *Rhizopus* de plant snel wordt gekoloniseerd. Dit maakt het moeilijk om de plaats van infectie te achterhalen. In deze proef werden 20 dagen na de eerste besmetting de planten 2x per dag waargenomen. Dit om in een zo'n vroeg mogelijk stadium aantasting te kunnen ontdekken. In één geval leverde dat een plant op waarbij de stengel tot slechts 1 cm boven het substraat was aangetast en tot 2 cm (tot de inplanting van de wortels). Bij deze plant kan met vrij grote zekerheid gezegd worden dat infectie in of op het substraat heeft plaatsgevonden, maar bij de andere planten kan niet worden uitgesloten dat infectie "bovengronds" heeft plaatsgevonden. De stengellesie die is waargenomen toont in ieder geval aan dat *Rhizopus* de plant via de stengel kan binnendringen. Omdat pas 2 dagen na het waarnemen van de stengellesie de plantvoet was aangetast lijkt het echter aannemelijk dat de plantvoet of evt. de wortels de belangrijkste invalspoort is voor *Rhizopus*. Of (natuurlijke) wonden noodzakelijk zijn voor infectie is niet duidelijk. Op de stengel met de lesie waren kleine wortels aanwezig. Op de plek waar de wortels de stengel uitkomen zijn natuurlijke wonden aanwezig. Mogelijk vormen deze wonden een invalspoort voor *Rhizopus*.

6 Besmetting van de cultivars Oriba en Blanca

6.1 Inleiding en doel

Verwonding van moerplanten lijkt niet of nauwelijks de kans op infectie door *Rhizopus* te verhogen. Tot nu toe is echter alleen met moerplanten uit één partij van het ras Tenorio gewerkt. Om meer in zijn algemeenheid iets te kunnen zeggen over het effect van verwonding op het infectierisico door *Rhizopus* moeten vergelijkbare proeven worden gedaan met moerplanten uit andere partijen. In deze proef werd het effect van verwonding op infectie door *Rhizopus* bepaald bij moerplanten van de cultivars Oriba en Blanca.

6.2 Materiaal en methoden

6.2.1 Teeltomstandigheden

Datum inzet proef: 22 november 2001
Kas: kas 301, PPO-Naaldwijk
Temperatuurinstellingen: 20/21°C stoken/luchten
Assimilatiebelichting: 40 W/m², van 02.00 – 20.00 uur

6.2.2 Plantmateriaal

Moerplanten van 2 cultivars (Oriba en Blanca) werden verkregen van een tuinbouwbedrijf op 13 november 2001. De Oriba en Blanca moerplanten waren op dat moment respectievelijk 29 en 30 weken oud gerekend vanaf de week dat de planten waren gestoken. De glaswolmatten waarop de planten stonden werden doorgesneden zodat elke plant afzonderlijk in een plastic bakje kon worden gezet. In de bodem van elk bakje werden gaten gemaakt om de voedingsoplossing te kunnen laten weglopen. Elke plant werd voorzien van een steker en de planten kregen 1-2x per dag voedingsoplossing (EC 2, pH 6). Kastemperatuur: 20/22°C. Acht dagen nadat de planten waren binnengekomen werd een proef ingezet.

6.2.3 Behandelingen en besmetten met *Rhizopus*

Per ras waren er 4 behandelingen. Planten werden wel/niet verwond en wel/niet geïnoculeerd met een sporensuspensie van *Rhizopus*:

1. niet verwonden – *Rhizopus*
2. verwonden (blad snijden + stengel doorsnijden) – *Rhizopus*
3. niet verwonden + *Rhizopus*
4. verwonden (blad snijden + stengel doorsnijden) + *Rhizopus*

Blad snijden: per plant werden bovenin 4 bladeren bij de basis afgesneden.

Stengel snijden: per plant werd 1 stengel op ca. 2/3 hoogte dwars doorgesneden.

Besmetten: binnen 30 minuten na verwonding van de planten werden de planten besproeid met een sporensuspensie van *Rhizopus* zoals beschreven in hoofdstuk 3 (sporendichtheid 10⁶/ml).

De geïnoculeerde planten werden in een ander kascompartiment gezet dan de niet-geïnoculeerde planten

Behandelingen 1 en 2 hadden elk 3 herhalingen (planten), behandelingen 3 en 4 elk 6 herhalingen.

Achttien dagen nadat de planten waren geïnoculeerd werd bij elk van de (nog) niet-aangetaste planten 25 ml sporensuspensie (10⁶ sporen per ml) gepipetteerd bij de plantvoet op het grensvlak van substraat, lucht en stengel.

6.2.4 Waarnemingen

Drie tot 5 keer per week werden de planten gescoord op aantasting en van elke ziek plant werden de symptomen beschreven. Na plantvoetbesmetting werden de planten ma t/m vrijdag 2x per dag waargenomen en op zaterdag en zondag 1x per dag.

6.3 Resultaten

In totaal werden 9 planten aangetast door *Rhizopus* waaronder 2 niet-besmette controle planten. Bij één plant werd een lesie op een stengel waargenomen ca. 2.5 cm boven het substraatoppervlak. Bij alle andere planten was op het moment dat de aantasting werd waargenomen de plantvoet aangetast en een deel van de plant boven de plantvoet variërend van 4 cm boven het substraatoppervlak tot ca 15 cm boven het substraat. Aantasting begon niet vanuit een kunstmatig aangebrachte stengel- of bladwond.

Tabel 4. Aantal kalanchoëplanten van 2 cultivars aangetast door *Rhizopus* en aantal dagen na besmetten dat ziektesymptomen werden waargenomen. Planten werden bespoten met een sporensuspensie en na 18 dagen werd bij de (nog) gezonde planten een sporensuspensie tegen de plantvoet gegoten.

Behandeling	Cultivar	Aantal planten	Aantal zieke planten	Aantal dagen na besmetten
Niet verwonden - <i>Rhizopus</i>	Oriba	3	0	
Stengel, blad snijden - <i>Rhizopus</i>		3	1	11
Geen + <i>Rhizopus</i>		6	2	8 (stengel) ^a , 20
Stengel, blad snijden + <i>Rhizopus</i>		6	0	
Niet verwonden - <i>Rhizopus</i>	Blanca	3	0	
Stengel, blad snijden - <i>Rhizopus</i>		3	1	11
Geen + <i>Rhizopus</i>		6	2	8, 13
Stengel, blad snijden + <i>Rhizopus</i>		6	3	8, 8, 11

^a Stengellesie boven het substraatoppervlak; bij alle andere zieke planten was de stengelvoet rot op het moment dat de aantasting werd waargenomen.

6.4 Discussie

Ook uit deze proef blijkt dat het kunstmatig verwonden van stengel of bladeren niet tot een verhoogde kans op infectie leidt. Gedurende de eerste 18 dagen van de proef werd minder frequent waargenomen dan daarna en de aantasting was bij sommige planten dermate gevorderd dat de plaats van infectie niet te achterhalen was. Bij één plant werd een stengellesie waargenomen wat aantoont dat de stengel geïnfecteerd kan worden. Evenals in de proef beschreven in hoofdstuk 5 waren op de zieke stengel kleine wortels aanwezig en de wond die ontstaat op de plek waar de wortels naar buiten treden zou een invalspoort voor *Rhizopus* kunnen zijn.

7 Algemene discussie en aanbevelingen voor vervolgonderzoek

In de uitgevoerde proeven waarbij moederplanten van kalanchoë werden bespoten met sporen van *Rhizopus stolonifer* of waarbij het substraat werd besmet met deze schimmel werden relatief weinig planten ziek. Het opzettelijk aanbrengen van wonden vóór besmetting en het plaatsen van planten bij hoge luchtvochtigheid na besmetten leidde niet tot een hoog percentage zieke planten hoewel dat wel was verwacht. Bij vruchten en enkele bloemisterijgewassen was namelijk bekend dat de aanwezigheid van wonden en een hoge luchtvochtigheid gunstig zijn voor infecties (Harris & Davies, 1987; Daughtrey *et al.*, 1995). Er kan niet met zekerheid worden gezegd dat maatregelen ter verlaging van de luchtvochtigheid in het gewas helemaal geen effect zullen hebben op uitval van kalanchoë door *Rhizopus*. Een hoge luchtvochtigheid begunstigt namelijk wel de vorming van sporen van *Rhizopus*. Daarnaast is het niet bekend wat het effect is van een hoge luchtvochtigheid tijdens de teelt op de vatbaarheid van het plantenweefsel voor *Rhizopus*.

Van bijna alle zieke planten die werden waargenomen waren de plantvoet en de onderste stengeldelen aangetast terwijl het bovenste deel van de plant nog gezond was evenals de meeste wortels. In een enkel geval waren één of meerdere wortels vlak onder de plantvoet aangetast. Het vermoeden is dat de belangrijkste plaats van infectie de plantvoet is. Het zal echter lastig zijn om meer zekerheid te krijgen over de "infection court" (plaats van infectie) van *Rhizopus*:

- kunstmatige besmetting van planten leidt tot een relatief laag percentage zieke planten
- wanneer planten eenmaal geïnfecteerd zijn koloniseert *Rhizopus* de plant snel
- de meeste moederplanten zijn reeds besmet met *Rhizopus* (uit vooronderzoek was gebleken dat meer dan de helft van de moederplanten in de praktijk besmet is met de schimmel), waardoor het lokaal aanbrengen van inoculum in combinatie met het inhullen van de andere delen van de planten om besmetting te voorkomen geen uitsluitsel kan geven over de plaats van infectie.

Duidelijk is in ieder geval dat infectie door *Rhizopus* laag in de plant plaats vindt waardoor evt. bespuiting met chemische of biologische middelen ter voorkoming van infectie weinig kans van slagen zal hebben omdat het moederplantengewas lastig onderin te raken zal zijn met een middel dat verspoten wordt. Middelen die systemisch werken en/of bijvoorbeeld de weerstand van de plant verhogen hebben mogelijk wel perspectief. Daarnaast hebben de teeltomstandigheden mogelijk een effect op de weerstand van de plant. Een bedrijfsvergelijkend onderzoek zal echter vermoedelijk weinig opleveren. Op elk bedrijf worden de moeren wel iets anders geteeld, maar overal komen problemen met *Rhizopus* voor. Sommige bedrijven lijken minder last te hebben maar dit kan veroorzaakt worden door een lagere infectiedruk. Van de partij Tenorio-planten die in dit onderzoek is gebruikt viel geen één van de niet-kunstmatig besmette controleplanten door *Rhizopus* uit, terwijl uiteindelijk van de kunstmatig besmette planten ongeveer de helft uitviel. Waarnemingen uit de praktijk geven wel aan dat uitvalproblemen met name optreden na perioden waarin de planten te droog of te nat hebben gestaan.

Aanbevolen wordt om in vervolgonderzoek aandacht te besteden aan middelen en teeltmaatregelen die de weerstand van de moederplanten tegen *Rhizopus*-infecties kunnen verhogen. Meer specifiek: bepalen van het effect op plantuitval door *Rhizopus* van:

- plantversterkende middelen
- een verhoogde calciumgift (van calcium is bekend dat het de weerstand van plantenweefsel tegen schimmelinfecties kan verhogen)
- het vochtgehalte in het teeltsubstraat

Literatuur

Clark, C.A., & M.W. Hoy, 1994. Identification of resistance in sweetpotato to *Rhizopus* soft rot using two inoculation methods. *Plant Disease* 78: 1078-1082.

Daughtrey, M.L., R.L. Wick & J.L. Peterson, 1995. *Compendium of flowering potted plant diseases*. APS Press, St Paul, MN.

Harris, D.C., & D.L. Davies, 1987. A disease of *Vinca rosea* caused by *Rhizopus stolonifer*. *Plant Pathology* 36: 608-609.