

508-B/
1991

PROEFVERSLAG

PROEF 3408-1 : Onderzoek naar de pathogeniteit van de schimmels *Cylindrocladium spathiphylli* en *Phytophthora* bij *Spathiphyllum*.
PLAATS : Kas L59, Proefstation voor de Bloemisterij, Aalsmeer
ONDERZOEKERS : Jan Amsing, Albert Kerssies en Helma Verberkt
BEGINDATUM : december 1990
EINDDATUM : april 1991

PROBLEEMSTELLING : Sinds het begin van 1990 worden er in Nederland in toenemende mate problemen in de teelt van *Spathiphyllum* geconstateerd. Bij nadere inspectie blijkt het om wortelaantastingen te gaan. Verbruining van de wortels, vaak beginnend aan één zijde van de potkruit, onderin de pot. In een later stadium wordt het hele wortelstelsel aangetast. Bovengronds gaat dit gepaard met vergeling van de onderste bladeren, gevolgd door verwelkingsverschijnselen en tenslotte afsterving van de gehele plant. Dergelijke aantastingen komen op de meeste bedrijven met *Spathiphyllum* voor. Het gaat dan zowel om bedrijven die recirculeren (eb/vloed), als om bedrijven zonder recirculatie (o.a. regenleiding). De aantastingen komen voor bij zaailingen en bij planten, die door middel van weefselkweek zijn vermeerderd. In overleg met de NTS *Spathiphyllum* commissie zijn de volgende drie rassen met hun prioriteit voor onderzoek aangegeven:

1. 'Mauna Loa'
2. 'Petite'
3. 'Pallas'

Uit de 38 inzendingen van *Spathiphyllum*, die de Plantenziektenkundige Dienst in Wageningen sinds begin 1990 tot december 1990 heeft ontvangen, werden de volgende schimmels geïsoleerd.

<u>Schimmel:</u>	<u>Aantal inzendingen:</u>
<i>Phytophthora</i> spp.	12
<i>Cylindrocladium spathiphylli</i>	11
<i>Pythium</i> spp.	7
<i>Myrothecium roridum</i>	2
<i>Cylindrocladium scoparium</i>	1
geen parasitaire oorzaak	5

Van de bovengenoemde schimmels is alleen van *C. spathiphylli* bekend dat deze primair pathogeen is voor *Spathiphyllum*. Dit betekent dat deze schimmel in staat is gezonde, goed groeiende planten aan te tasten. Voordat gerichte teeltmaatregelen kunnen worden genomen, moet worden vastgesteld wat de pathogeniteit (= ziekteverwekkend vermogen) van de andere geïsoleerde schimmels is. Gelet op de frequentie van voorkomen in de 38 inzendingen, is alleen de pathogeniteit van *Phytophthora* en *Pythium* onderzocht. Om welke soorten het hier gaat is niet bekend. Naast deze twee schimmels is ook *C. spathiphylli* in het pathogeniteitsonderzoek meegenomen. Hierdoor konden de symptomen, die door de drie bodemschimmels zouden worden veroorzaakt, met elkaar worden vergeleken.

2200771

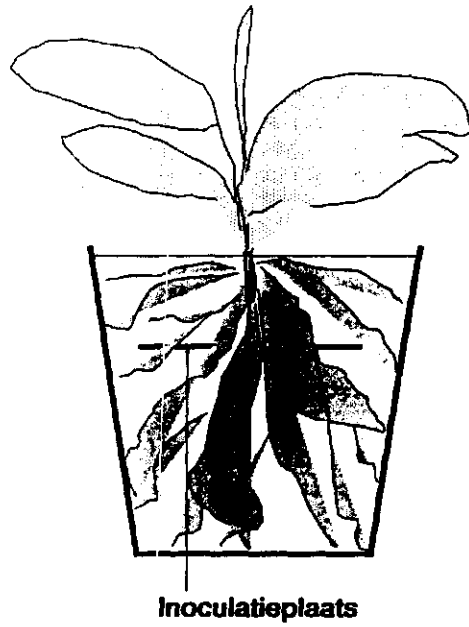
DOELSTELLING : Dit onderzoek had tot doel na te gaan in hoeverre de schimmels *Phytophthora* en *Pythium* primaire pathogenen zijn voor *Spathiphyllum*. Daarnaast moest deze proef informatie opleveren over de symptoomontwikkelingen van deze twee schimmels in relatie tot de symptoomontwikkeling van *C. spathiphylli*.

UITVOERING : Het pathogeniteitsonderzoek is op 12 december 1990 (week 50) van start gegaan met kwalitatief goed opotbare planten. Dit laatste wil zeggen dat de planten afkomstig waren uit partijen waarin zich nog geen ziekteproblemen hebben voorgedaan. De planten zijn opgepot in 0 13 cm potten met een inhoud van 650 ml. De grond, die is gebruikt was een mengsel van twee EGO-potgronden, namelijk 40% S : Flush = 3 : 2. Het onderzoek is uitgevoerd met de rassen 'Mauna Loa' (zaailing) en 'Petite' (weefselkweek). Daarvan stonden er resp. vier en twee planten in een pot. Na het oppotten zijn de planten, alvorens te zijn geïnoculeerd, gedurende zes weken regelmatig gecontroleerd op een mogelijke aanwezigheid van ziekten. In die periode werden geen zieke planten aangetroffen. Met betrekking tot het inoculeren bestond de proef uit zes behandelingen. Naast een onbesmette behandeling waren er vijf behandelingen met schimmels: één iso-laar van *Pythium* (PD 90/1938), één mengsel van twee isolaten van *C. spathiphylli* (CBS 478-88 en 538-87), en drie isolaten van *Phytophthora* (PD 90/582, PD 90/1922-5 en PD 90/1924-5). Alle isolaten waren afkomstig van aangetaste planten van *Spathiphyllum*-bedrijven. Van de onderzochte schimmels zijn op het PBN reïncultures gekweekt: 34 PDA-voedingsbodems per iso-laar, ingezet op 27/12/90. De schimmels zijn gekweekt onder donkere omstandigheden bij een temperatuur van 26°C. Op 22/1/91, zes weken na het oppotten, zijn de reïncultures gebruikt voor de vervaardiging van de schimmelsuspensies om de potkluiten te inoculeren. De suspensies van *Phytophthora* en *Pythium* bevatten 25×10^3 cfu's/ml en de suspensie van *C. spathiphylli* 50×10^3 cfu's/ml (cfu = kolonie vormende eenheid). De cfu's hadden betrekking op het aantal stukjes mycelium. In de suspensies van *Phytophthora* en *Pythium* waren geen sporen aanwezig, terwijl de suspensie van *C. spathiphylli* voor slechts ongeveer 1/40 deel uit sporen bestond. De schimmelsuspensies zijn op twee plaatsen rond de planten op een diepte van 2-3 cm in de potkluiten geïnjecteerd (figuur 1). Op deze wijze is in elke potkluit 2x20 ml suspensie aangebracht. De potkluiten van de onbesmette behandeling zijn met water geïnjecteerd. Per behandeling waren van beide *Spathiphyllum*-rassen 48 potten aanwezig. Om besmetting tussen de behandelingen te voorkomen stonden de planten van de zes behandelingen op zes aparte tafels opgesteld (figuur 2).

Gedurende elf weken na het inoculeren zijn de planten wekelijks twee keer gecontroleerd op de aanwezigheid van bovengrondse symptomen. Ook de wortels zijn regelmatig beoordeeld. In geval van aantastingen zijn de aantallen aangetaste planten genoteerd en de symptomen en symptoomontwikkelingen vastgelegd. Uit de aangetaste delen zijn diverse keren isolaties gemaakt om na te kunnen gaan of de aangebrachte schimmels verantwoordelijk zijn geweest voor de aantastingen. Verschillende plantdelen zijn geïsoleerd om aan te kunnen geven waar de schimmels zich in de planten bevinden.

Tijdens de proefperiode van zeventien weken is getracht om voor de planten zo optimaal mogelijke omstandigheden te creëren. Daarvoor is met de hand water en voeding gegeven en bedroeg de ingestelde nacht-/dagtemperatuur 20/21°C.

Gedurende de proefperiode vanaf 12-12-1990 t/m 14-04-1991 was de gerealiseerde etmaaltemperatuur gemiddeld 21,1°C. In figuur 3 is het verloop van de wekelijkse gemiddelde etmaaltemperaturen grafisch weergegeven.



Figuur 1. Doorsnede van de pokluit met daarin aangegeven de twee inoculatieplaatsen. Injectiediepte: 2-3 cm.

Proefschema: pathogeniteitsonderzoek *Spathiphyllum*

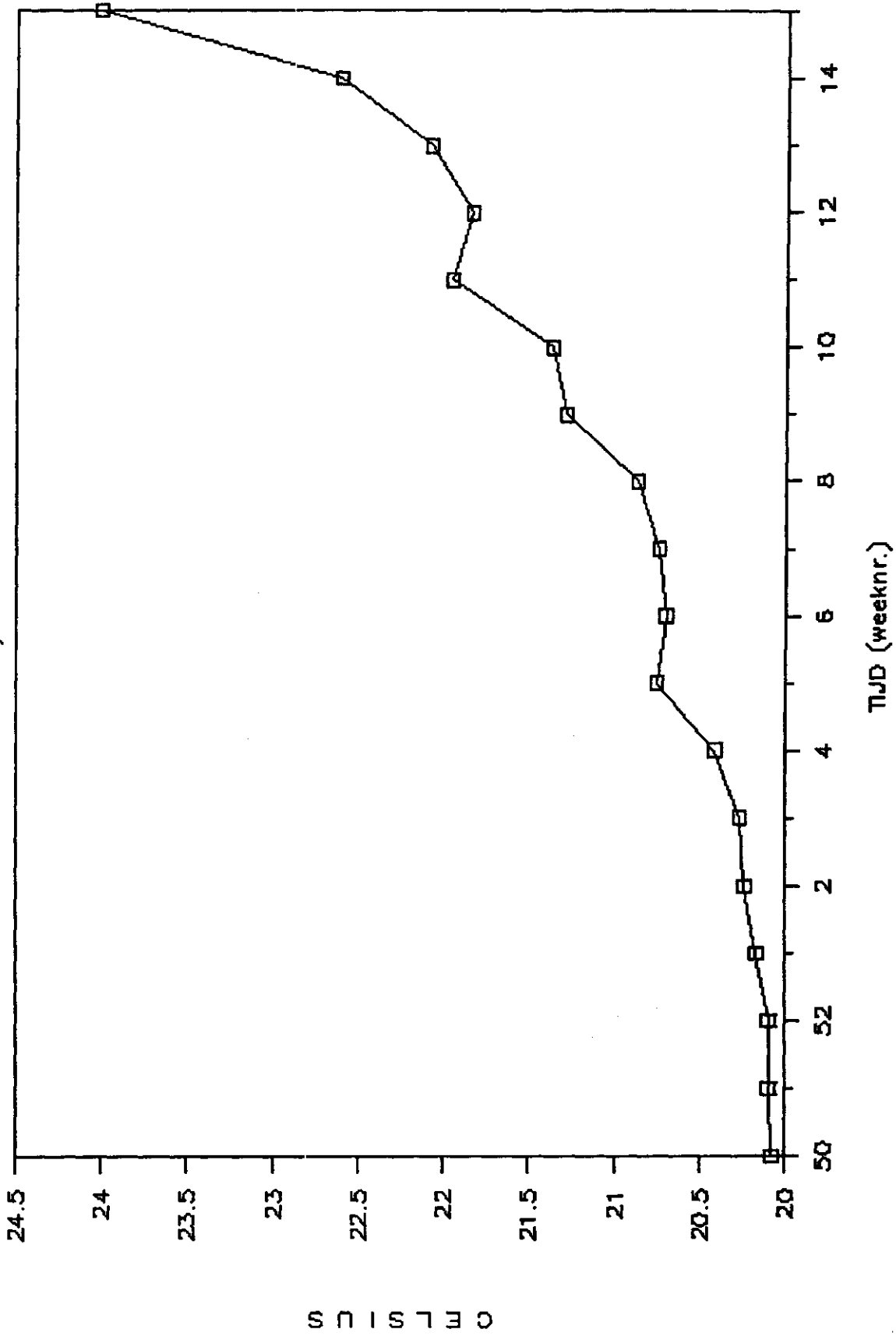
1 M M M M M M	1 M M M M M M	1 M M M M M M
2 P P P P P P	2 P P P P P P	2 P P P P P P
3 M M M M M M		
4 P P P P P P		
Onbesmet		
13 M M M M M M		
14 P P P P P P		
15 M M M M M M	15 M M M M M M	15 M M M M M M
16 P P P P P P	16 P P P P P P	16 P P P P P P
Pythium		
Phytophthora 2		
1 M M M M M M	1 M M M M M M	1 M M M M M M
2 P P P P P P	2 P P P P P P	2 P P P P P P
Cylindrocladium		
Phytophthora 3		
Phytophthora 1		
15 M M M M M M	15 M M M M M M	15 M M M M M M
16 P P P P P P	16 P P P P P P	16 P P P P P P

M = 'Mauna Loa'
P = 'Petite'

Figuur 2. Opstelling van de *Spathiphyllum* cultivars, verdeeld over zes tafels. Eén schimmel/tafel.

Gemiddelde etmaaltemperatuur kas L59

12-12-1990 t/m 14-04-1991



Figuur 3. Verloop van de wekelijkse gemiddelde etmaaltemperaturen gedurende de proefperiode van 12-12-1990 t/m 14-04-1991. Inoculatie: week 4 1991.

RESULTATEN : Gedurende de periode van elf weken dat de planten wekelijks werden gecontroleerd op de aanwezigheid van symptomen, hebben er zich in de onbesmette behandeling en in de behandeling met *Pythium* geen ziekteproblemen voorgedaan. De wortels zagen er bij beide behandelingen prima uit. Daarmee is aangetoond dat *Pythium* geen primaire pathogeen is voor 'Mauna Loa' en 'Petite', maar een zwakteparasiet. Dit betekent dat *Pythium* alleen onder voor de planten ongunstige omstandigheden kan toeslaan.

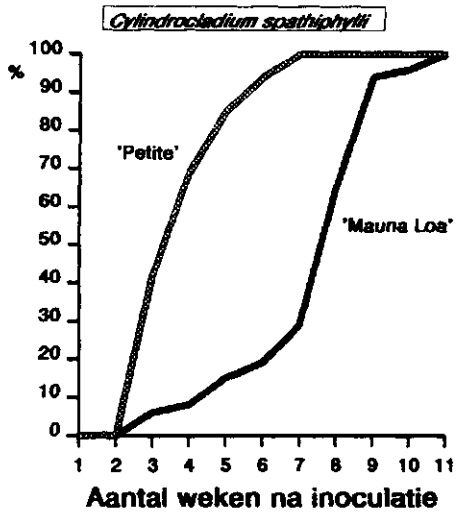
In tabel 1 is aangegeven hoeveel potten in de loop van de tijd planten bevatten die als gevolg van een aantasting door *C. spathiphylli* en *Phytophthora* bovengrondse symptomen vertoonden. Figuur 4 toont het verloop van de daaruit berekende percentages potten met aangetaste *Spathiphyllum* (100% = 48 potten).

Tabel 1. Absolute aantallen potten met *Spathiphyllum* 'Mauna Loa' (M) en 'Petite' (P), die bovengrondse symptomen vertoonden van *C. spathiphylli* en *Phytophthora*.

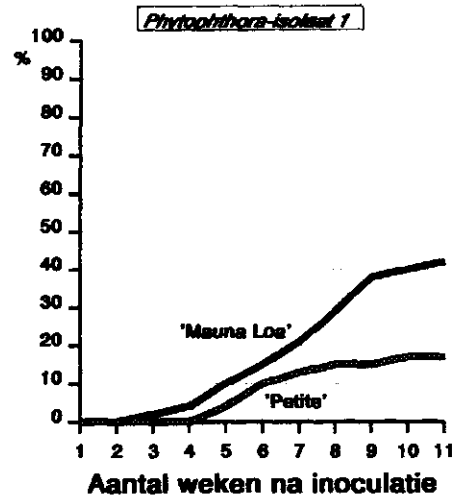
Aantal dagen na inoculatie	Aantal potten met aangetaste <i>Spathiphyllum</i>							
	<i>C. spat.</i>		<i>Phyt. 1</i>		<i>Phyt. 2</i>		<i>Phyt. 3</i>	
	M	P	M	P	M	P	M	P
14	0	0	0	0	0	0	0	0
17	1	11	0	0	0	0	0	0
21	3	20	1	0	0	0	0	1
24	3	29	2	0	0	1	0	1
28	4	33	2	0	0	1	0	1
31	7	37	4	0	0	2	0	2
35	7	41	5	2	1	2	0	2
38	8	45	5	4	1	4	0	2
42	9	45	7	5	1	7	1	4
45	12	46	9	6	2	8	1	5
49	14	48	10	6	6	9	1	5
52	22	48	13	6	6	9	1	5
56	31	48	14	7	7	11	1	5
59	39	48	17	7	9	11	1	5
63	45	48	18	7	9	11	2	5
66	45	48	19	8	9	11	2	5
70	46	48	19	8	9	12	2	6
73	48	48	19	8	10	12	2	6
77	48	48	20	8	10	12	2	6

Uit tabel 1 en figuur 4 blijkt dat *C. spathiphylli* en de drie isolaten van *Phytophthora* bij beide rassen aantasting hebben veroorzaakt. Dit betekent dat niet alleen *C. spathiphylli* primair pathogeen is voor *Spathiphyllum*, maar ook *Phytophthora*. *Phytophthora* was wel minder agressief dan *C. spathiphylli*. Zoals uit figuur 4 blijkt, tastte *C. spathiphylli* de planten eerder aan en werd bij beide rassen de 100% bereikt, terwijl *Phytophthora* op een maximale aantasting van 42% uitkwam (isolaat 1). Dat *C. spathiphylli* agressiever was dan *Phytophthora* blijkt ook uit het feit dat bij *Phytophthora* in de meeste gevallen slechts één plant per pot was aangetast, terwijl *C. spathiphylli* alle planten in een pot aantastte. Van de in totaal 58 potten met door *Phytophthora* aange-

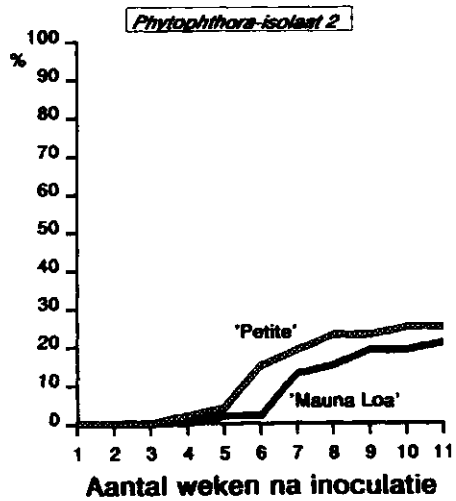
Percentage potten met aantasting



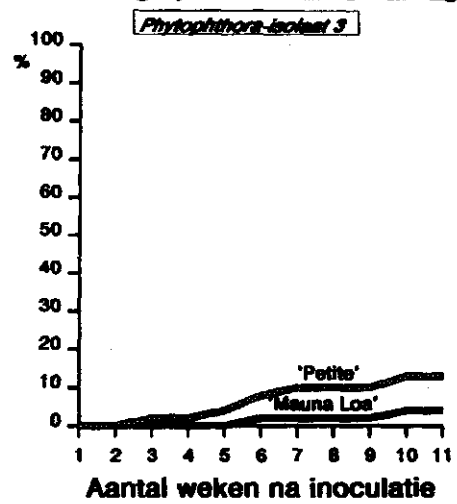
Percentage potten met aantasting



Percentage potten met aantasting



Percentage potten met aantasting



Figuur 4. Verloop van de percentages potten met aangetaste Spathiphyllum. Cultivar 'Mauna Loa' en 'Petite'.

taste planten, bevatte slechts 10% twee of drie zieke planten. Mede omdat in deze proef is uitgegaan van jonge planten, verliep de aantasting door *C. spathiphylli* zeer snel. Binnen drie weken nadat de eerste bovengrondse symptomen van *C. spathiphylli* aanwezig waren, waren alle planten in dezelfde pot door deze schimmel aangetast. Zoals uit figuur 4 blijkt verliep het ziekteproces van *C. spathiphylli* bij de forsere 'Mauna Loa' minder snel dan bij 'Petite'. Aan het eind van de proef waren de meeste planten van het ras 'Petite' nagenoeg geheel afgestorven, terwijl bij 'Mauna Loa' toen ongeveer 20% van het bovengrondse gewas dood was. De drie *Phytophthora*-isolaten veroorzaakten bij beide rassen verschillende aantastingspercentages (figuur 4 en tabel 2). Dat wil zeggen dat de isolaten verschillen in pathogeniteit vertoonden. Of dit samenhangt met de mogelijkheid dat er misschien sprake is van verschillende soorten of fysio's van *Phytophthora* is niet bekend.

Tabel 2. Percentage potten met aangetaste *Spathiphyllum* elf weken na het inoculeren.

Cultivar	<i>Phytophthora</i> -isolaat		
	1	2	3
'Mauna Loa'	42%	21%	4%
'Petite'	17%	25%	13%

Symptomen en symptoomontwikkelingen

A. *Cylindrocladium* wortel- en stengelbasisrot

Het eerste bovengrondse symptoom, dat duidde op een aantasting door *C. spathiphylli* vanuit de kunstmatig besmette grond, was de aanwezigheid van knikkende bladstengels. Dit verschijnsel trad altijd het eerst op bij de buitenste oftewel de oudste bladeren en vervolgens bij steeds jongere bladeren. Deze volgorde hangt samen met het feit dat *C. spathiphylli* geen vaatparasiet is, maar de plant uitsluitend van buitenaf aantast. Dit betekent dat deze schimmel van buiten naar binnen groeit, waarbij al het planteweefsel dat het tegenkomt, wordt vernietigd. Daardoor kwamen er geen jonge zijscheutjes meer tot ontwikkeling. In tegenstelling tot 'Mauna Loa' waren bij 'Petite' de bladstengels van de buitenste blaadjes zo kort dat de knik tot gevolg had dat de bladschijven plat op de potkluiten kwamen te liggen. Daarentegen leidde de knik in de bladstengels van 'Mauna Loa' er toe dat de bladschijven van de buitenste bladeren schuin naar beneden gingen hangen. Daarbij hingen ze vaak over de potrand. Het knikken van de bladstengel vond altijd plaats juist onder de aanhechting met de bladschijf. De knikkende bladstengel bleef star.

Naarmate de tijd verstreek verschenen er bij elke aangetaste plant steeds meer knikkende bladstengels, wat spoedig werd gevolgd door verwelking van die bladeren. De verwelking uitte zich in het geel en vervolgens bruin worden van de bladstengels en -schijven. Bij de kleinste bladeren was de verwelking binnen een paar dagen een feit, terwijl het bij de grotere bladeren minstens een week duurde voordat ze geheel bruin waren. De verbruining begon nagenoeg steeds aan de rand of de top van de bladschijf. Vanuit dat punt werd vervolgens de gehele bladschijf bruin, waarna de bladstengel volgde. Bij nadere inspectie van

planten bleek de basis van die stengels te zijn ingerot. Het groeipunt, dat zich binnen in de plant bevindt, werd altijd het laatst aangetast. Het inwendige van de plantvoet bleef zeer lang in tact. Pas tegen de tijd dat het groeipunt werd aangetast, was de plantvoet inwendig verrot.

Op het moment dat de eerste knikkende bladstengels bij een plant aanwezig waren, was het grootste gedeelte van het wortelstelsel al weggerot. Dit leidde er toe dat de hele plant gebreksverschijnselen ging vertonen: de bladeren werden licht groen van kleur en gingen enigszins afhangen. Bij 'Mauna Loa' waren deze gebreksverschijnselen soms al aanwezig nog voordat de eerste knikkende bladstengels ontstonden. Ook in dat geval waren de wortels al in ernstige mate door *C. spathiphylli* aangetast. De aangetaste wortels waren donkerbruin van kleur.

Om aan te kunnen tonen dat *C. spathiphylli* de veroorzaker was van bovengenoemde symptomen werden diverse plantedelen geïsoleerd. Alleen uit de wortels en de basis van de bladstengels van aangetaste planten werd steeds *C. spathiphylli* geïsoleerd. In de bladstengels en -schijven werd deze schimmel nooit aangetroffen.

C. spathiphylli kan de vorming van zogenaamde oogvlekken tot gevolg hebben. Dat zijn donkerbruine tot nagenoeg zwarte, enigszins ovaal gevormde vlekken, die door een gele rand zijn omgeven. Dergelijke vlekken kunnen onder andere op de plantvoeten voorkomen. In de praktijk werd er steeds vanuit gegaan dat een aantasting door *C. spathiphylli* altijd gepaard gaat met oogvlekken op de plantvoeten. In deze proef, waarbij de aantasting vanuit de grond tot stand kwam, werden nooit oogvlekken op de plantvoeten aangetroffen. Op de nog niet volledig verrotte wortels waren soms wel bruine, ovale vlekjes aanwezig.

B. *Phytophthora* voetrot

De volgorde waarin de bladeren als gevolg van een aantasting door *Phytophthora* symptomen vertoonden, was zeer wisselend. Dit komt omdat deze schimmel in tegenstelling tot *C. spathiphylli*, een vaatparasiet is. Nadat *Phytophthora* de wortels heeft geïnfecteerd, groeit de schimmel via de vaatbundels de plant binnen. Hierdoor wordt de plantvoet inwendig aangetast. De aangetaste, en daardoor niet goed meer functionerende vaatbundels leiden tot verwelking van dat gedeelte van de plant dat via die vaatbundels van vocht wordt voorzien. Aanvankelijk kan een gedeelte van het vaatbundelsysteem in de plantvoet zijn aangetast, maar ook een plotselinge aantasting van het hele systeem is mogelijk. In het eerste geval vertoont een gedeelte van het bovengrondse gewas symptomen en in het laatste geval de hele plant. De volgorde waarin de vaatbundels worden aangetast, is niet voorspelbaar. Daardoor ligt ook de volgorde waarin de bladeren symptomen vertonen niet van te voren vast. In deze proef traden de eerste symptomen nu eens op bij het oudste blad, dan weer bij een jonger blad. Er waren zelfs planten waarbij eerst het groeipunt verwelkte. In een enkel geval deed zich ook een plotselinge verwelking van de gehele plant voor. Indien het groeipunt het eerst werd aangetast, kwam het voor dat het grijsbruin tot zwart door het centrale deel van de plant heen scheen.

Evenals *C. spathiphylli* veroorzaakte ook *Phytophthora* knikkende bladstengels. Aanvankelijk waren de bladeren dan nog groen, maar spoedig werden ze in meer of mindere mate geel, gevolgd door een verbruining. De verbruining kwam in veel gevallen vanuit de bladsteel omhoog. Ontstonden de eerste knikkende bladstengels bij de oudste bladeren, dan kon uitsluitend op grond van de bovengrondse symptomen geen onderscheid worden gemaakt met een aantasting door *C. spathiphylli*. Om beide aantastingen dan toch van elkaar te kunnen onderscheiden, moet gekeken worden naar het inwendige van de plantvoet. Direct bij aanwezigheid van bovengrondse symptomen, veroorzaakt door *Phytophthora*, is de plantvoet inwendig al aangetast, terwijl dat bij *C. spathiphylli* niet het geval is. Zelfs planten, die bovengronds nog geen symptomen vertonen, kunnen in geval van *Phytophthora* inwendig al bruine plantvoeten hebben. Zo werden er aan het einde van de proef, bij het doorsnijden van de plantvoeten van ogenschijnlijk gezonde planten, nog vijftien aangetaste planten gevonden. Bij de drie isolaten werden zo nog resp. 3, 10 en 2 aangetaste planten opgespoord. Elf van deze planten stonden in potten waarvan de andere plant(en) nog gezond was(ren). Uit de wortels en plantvoeten werden de *Phytophthora* spp. geïsoleerd.

SYMPTOOMVERSCHILLEN

In de praktijk kunnen aantastingen door *C. spathiphylli* en *Phytophthora* spp., die vanuit de grond plaatsvinden, op basis van een aantal kenmerkende verschillen van elkaar worden onderscheiden.

- * Het meest karakteristieke verschil is te vinden in het inwendige van de plantvoet. Zodra de eerste bovengrondse symptomen van *Phytophthora* verschijnen, zijn de vaatbundels in de plantvoet al bruin verkleurd, wat spoedig wordt gevolgd door een totale verrotting van de plantvoet. In tegenstelling tot *Phytophthora* veroorzaakt *C. spathiphylli* nauwelijks of geen inwendig, bruine plantvoeten.
- * Bij *C. spathiphylli* vertonen eerst de buitenste, dus de oudste, bladeren symptomen, daarna steeds jongere. Het groeipunt verwelkt het laatst. Bij *Phytophthora* spp. is deze volgorde volkomen willekeurig.
- * De verbruining van het blad begint bij *C. spathiphylli* meestal vanuit de bladschijf en bij *Phytophthora* spp. vanuit de bladstengel.
- * Het wortelstelsel wordt door *C. spathiphylli* zeer ernstig aangetast. Er blijven slechts weinig wortels over. De aangetaste wortels zijn donkerbruin van kleur. *Phytophthora* spp. tast de wortels minder sterk aan en heeft een lichtbruine verkleuring van de wortels tot gevolg.
- * Na aantasting door *C. spathiphylli* komen er nauwelijks of geen nieuwe zij-scheuten tot ontwikkeling, terwijl dat bij *Phytophthora* spp. wel mogelijk is.

Op basis van de hierboven beschreven proef, is het hieronder genoemde vakblad-artikel verschenen. Daarin zijn foto's opgenomen die enkele van de symptoomverschillen laten zien.

Amsing, J.J., Kerssies, A. en Verberkt, H. (1991): 'Duidelijk onderscheid tussen *Cylindrocladium* en *Phytophthora*'. Vakblad voor de Bloemisterij 29: 46-48.