

# Inventarisatie, voorkoming en bestrijding van fytoplasma en zijn vector in Muscari

Voortgezet diagnostisch onderzoek 2010/2011

Peter Vink, Paul van Leeuwen en Khanh Pham

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving,  
Onderdeel van Wageningen UR  
Business Unit Bloembollen, Boomkwekerij & Fruit  
PPO nr. 3234102130/PT nr. 13891-01  
November 2013

© 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.

De bloembollensector investeert in dit project via het  Productschap **Tuinbouw**

---

PT nummer: 13891-01

**Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.**

Cluster Bollen, bomen en fruit

Adres : Droevendaalsesteeg 1, Wageningen

: Postbus 16, 6700 AA Wageningen

Tel. : 0317 - 47 83 00

Fax : 0317 - 47 83 01

E-mail : [infobollen.ppo@wur.nl](mailto:infobollen.ppo@wur.nl)

Internet : [www.ppo.wur.nl](http://www.ppo.wur.nl)

# Inhoudsopgave

pagina

## Inhoud

<b>Samenvatting</b> .....	<b>5</b>
<b>1 Inleiding</b> .....	<b>7</b>
<b>2 Uitvoering van het onderzoek</b> .....	<b>9</b>
<b>3 Resultaten en discussie</b> .....	<b>11</b>
<b>4 Conclusies</b> .....	<b>13</b>



# Samenvatting

Bij de broei van Muscari op pot kwamen vanaf 2007 veel klachten voor van ongelijke beworteling en ongelijke gewasontwikkeling uit ogenschijnlijk volkomen gezonde Muscaribollen. Aanvankelijk werd gedacht aan schade door herbiciden of het moment van rooien van de Muscaribollen voorafgaande aan het broeiseizoen. Uit (voortgezet) diagnostisch onderzoek bleek dat daarvan geen sprake was. In 2010 bleek uit diagnostisch onderzoek dat in Muscaribollen met achterblijvende beworteling en groei in de broeierij regelmatig fytoplasma kon worden aangetoond. In 2010 is ook fytoplasma in Scilla mischtschenkoana aangetoond met vergelijkbare symptomen als bij Muscari en hyacinten. Daarmee werd duidelijk dat bij Muscari, en incidenteel ook Scilla, sprake kan zijn van zogenaamde "Lissers" zoals we dit ook kennen bij hyacinten.

Om meer inzicht te krijgen in deze voor Muscari nieuwe ziekte en om na te gaan of fytoplasma's in Muscaribollen zijn te bestrijden is voortgezet diagnostisch onderzoek uitgevoerd. Daarbij zijn via verschillende kanalen extra monsters Muscari's uit de broeierij verzameld en middels PCR-technieken getoetst op fytoplasma's. Het bleek dat in veel partijen Muscaribollen die op zogenaamde "luwe tuinen" waren geteeld in de broeierij regelmatig sprake was van achterblijvende planten waarin fytoplasma kon worden aangetoond. Het betrof steeds het fytoplasma dat tot de Aster Yellow's Group (16Sr-I) behoorde. Dit is dezelfde groep fytoplasma die bij hyacint "Lissers" kan veroorzaken. Het werd duidelijk dat het probleem van een fytoplasma-besmetting in partijen Muscaribollen groter was dan men aanvankelijk dacht. Dit maakt het dan ook noodzakelijk dat tijdens de bollenteelt van Muscari extra aandacht wordt geschonken aan de bestrijding van dwergcicaden, de vector van fytoplasma. Daarom is in 2010 een vakbladartikel gepubliceerd in BloembollenVisie om de bollentelers van Muscaribollen te informeren over de nieuwe ziekte waardoor ze in het lopende broeiseizoen nog in staat waren om maatregelen te nemen tegen (dwerg)cicaden. In 2010 en 2011 zijn ook slecht bewortelde Muscaribollen uit de broeierij verzameld om na te gaan of met behulp van een warmwaterbehandeling fytoplasma is te doden. Ook is nagegaan of een boldompeling vóór het planten in imidacloprid (Admire) effectief beschermend kan werken tegen dwergcicaden waardoor de overdracht en verspreiding van fytoplasma's in Muscari tijdens de bollenteelt kan worden voorkomen. Het bleek dat een warmwaterbehandeling van 2 uur bij 43,5°C geen meetbare dodingseffect had op fytoplasma. Van deze cultuurkook mag in de praktijk dus niets worden verwacht ten aanzien van de doding van fytoplasma in Muscaribollen. Ook een warmwaterbehandeling van 4 uur 45°C gaf geen volledige doding van fytoplasma in Muscari. Of imidacloprid (Admire) een effect heeft gehad op het besmet raken van Muscaribollen door fytoplasma is onduidelijk gebleven. Tijdens de veldproef was het niet mogelijk voldoende ziektedruk aan te leggen voor overdrachtsexperimenten. De conclusie is dan ook dat een warmwaterbehandeling van leverbare Muscaribollen geen voldoende oplossing biedt om een besmetting met fytoplasma te bestrijden. Vooralsnog is dus de beste methode om een besmetting met fytoplasma te voorkomen door middel van perceelkeuze het gewas tijdens de bollenteelt vrij te houden van dwergcicaden zodat deze de fytoplasma niet kunnen overdragen op het Muscarigewas.



# 1 Inleiding

Al verschillende jaren kent men het probleem van ongelijke beworteling en achterblijvende groei van ogenschijnlijk gezonde Muscaribollen bij de broeierij op potjes. Daardoor wordt regelmatig aanzienlijke economische schade geleden. De oorzaak van de ongelijke beworteling en gewasontwikkeling werd aanvankelijk gezocht in het gebruik van bepaalde herbiciden tijdens de bollenteelt. Uit voortgezet diagnostisch onderzoek in voorgaande jaren was echter gebleken dat dit niet de oorzaak is. Ook werd gedacht aan een effect van het rooitijdstip van de Muscaribollen, maar ook deze factor bleek niet de echte oorzaak te zijn. Te vroeg rooien van de bollen heeft wel enig effect op een onregelmatige groei maar niet zo extreem dat het in de broeierij economische schade oplevert.

Tijdens het broeiseizoen 2009/2010 werden bij PPO ook weer ongelijke potjes met Muscari aangeboden voor diagnostisch onderzoek. Gelijktijdig werden ook monsters hyacinten uit de broeierij aangeboden voor onderzoek waarbij sprake was van onmiskenbare symptomen van "Lissers" als gevolg van een besmetting met fytoplasma. Pas toen de slecht bewortelde en ontwikkelde Muscari's werden vergeleken met de slecht bewortelde en ontwikkelde hyacinten bleek dat er sprake was van vergelijkbare symptomen. Direct daarna zijn diverse monsters slecht bewortelde Muscaribollen uit de broeierij getoetst op aanwezigheid van fytoplasma's en werd dit organisme vaak in de bollen aangetoond. Daarmee is min of meer duidelijk geworden wat waarschijnlijk de achterliggende oorzaak is van ongelijke wortel- en gewasontwikkeling bij de broeierij van ogenschijnlijk gezonde Muscaribollen. Ook zijn in een monster *Scilla mischtschenkoana* met ongelijke beworteling en achterblijvende spruitgroei fytoplasma's aangetoond. Dit is een serieuze aanwijzing dat naast hyacint ook verschillende andere hyacintachtigen door fytoplasma's kunnen worden besmet. Om meer inzicht te krijgen in deze voor Muscari nieuwe ziekte en om na te gaan of fytoplasma's in Muscaribollen zijn te bestrijden is voortgezet diagnostisch onderzoek uitgevoerd. Daarbij zijn via verschillende kanalen extra monsters Muscari's uit de broeierij verzameld en middels PCR-technieken getoetst op aanwezigheid van fytoplasma's.

Tijdens contacten met diverse Muscaritelers en -broeiers en voorlichting kwam de vraag naar voren of mogelijk ook een warmwaterbehandeling van leverbare Muscaribollen een besmetting met fytoplasma in de bol kon bestrijden zoals dit ook bij gladiolen bekend is. Echter bij gladiolen wordt gekookt tot 53°C. Dit is helaas niet mogelijk met Muscaribollen omdat er dan kookschade zal ontstaan. Toch leek het zinvol om na te gaan of een voor Muscaribollen realistische warmwaterbehandeling zinvol kan zijn om een besmetting met fytoplasma te bestrijden. Ook is nagegaan of een boldompeling in het middel imidacloprid (Admire) van invloed kan zijn op de risico's op infectie met fytoplasma door dwergcicaden.





## 2 Uitvoering van het onderzoek

In de winter van 2009-2010 zijn via Muscaribroeiers en -bemiddelaars uit de praktijk monsters verzameld waarbij sprake was van achterblijvende groei en slechte beworteling. Deze monsters zijn na ontvangst met behulp van PCR-technieken getoetst op aanwezigheid van fytoplasma's.

Tevens zijn potten Muscari, waarvan een deel van de planten was besmet met fytoplasma, verzameld uit de praktijk of uit eigen diagnostisch onderzoek en half april 2010 samen met gekoelde bollen bestemd voor de broeierij buiten volvelds opgeplant. De gekoelde Muscaribollen zijn vóór het planten al of niet gedompeld in imidacloprid om vast te kunnen stellen of daar eventueel een besmetting met fytoplasma te velde mee te voorkomen is. De potten met besmette Muscariplanten zijn pal naast de gekoelde Muscaribollen geplant om zodoende omstandigheden te creëren waarbij van nature aanwezige dwergcicaden het fytoplasma vanuit de besmette planten zouden kunnen overbrengen naar gezonde Muscariplanten. Een aantal als besmet herkende Muscariplanten van verschillende herkomsten zijn apart gehouden en na afsterving van het gewas zijn de bollen verzameld. De verzamelde Muscaribollen zijn 1 week bewaard bij 30°C en aansluitend wel of niet gekookt gedurende 2 uur bij 43,5°C. De Muscaribollen zijn daarna bewaard en na koeling bij 9°C opgeplant op potjes met potgrond om te worden afgebroeid in maart 2011.

In het broeiseizoen 2010-2011 zijn wederom verschillende monsters Muscari met symptomen van een besmetting met fytoplasma verzameld om een kookproef mee te doen. De als besmet herkende bollen zijn bewaard bij 20°C.

In juli 2011 hebben de Muscaribollen 1 week voorwarmte gehad bij 25°C en zijn aansluitend volgens onderstaand schema wel of niet gekookt.

Schema. Warmwaterbehandeling Muscaribollen besmet met fytoplasma.

Behandeling	Koken
1	Controle, geen warmwaterbehandeling
2	2 uur 43,5°C
3	4 uur 45°C

Bij het geven van de warmwaterbehandeling in juli waren alle bollen nog goed en hard. Aansluitend zijn de Muscaribollen bewaard volgens onderstaand schema. Tijdens de koeling begonnen enkele bollen weg te vallen, ze droogden volledig uit ondanks dat er geen aantasting door een schimmel zichtbaar was. Bij het planten zijn daarom niet alle bollen geplant, sommigen waren volkomen verpoederd. Na het planten zijn de Muscaribollen 2 weken voorbewarteld bij 9°C en aansluitend afgebroeid in de kas bij 18°C. Per behandeling zijn tijdens de broei steeds een viertal bollen getoetst met behulp van PCR.

Bewaring Muscaribollen na de warmwaterbehandeling

Temperatuur	Periode
23°C	26 juli – 26 oktober
17°C	26 oktober – 9 november
9°C	9 november – 1 maart



Foto: "Lissers" in Muscari waardoor ongelijk ontwikkelde potjes ontstaan

### 3 Resultaten en discussie

Het bleek dat in de uit de praktijk verzamelde Muscaribollen/planten met symptomen van “Lissers” met behulp van PCR-technieken zeer regelmatig fytoplasma kon worden aangetoond. Het betrof steeds Muscari’s die afkomstig waren uit partijen bollen die op zogenaamde “luwe tuinen” (in de buurt van boomsingels) waren geteeld. Het aangetoonde fytoplasma behoorde steeds tot de Aster Yellows Group (16Sr-I). Dit is dezelfde groep fytoplasma’s die ook bij hyacint “Lissers” kan veroorzaken. Het werd met het toetsen van deze extra verzamelde monsters Muscari duidelijk dat het probleem van een fytoplasmabesmetting in partijen Muscaribollen groter was dan men aanvankelijk dacht. Dit maakt het dan ook noodzakelijk dat tijdens de bollenteelt van Muscari extra aandacht moet worden geschonken aan de verspreiding van fytoplasma en de bestrijding van dwergcicaden als de vector van fytoplasma.

De te velde geplante Muscaribollen die al dan niet waren gedompeld in imidacloprid zijn na het planten snel uitgegroeid.

Echter, de als besmettingsbron meegeplante potjes met Muscari zijn na het planten te velde helaas zeer snel afgestorven vanwege relatief warm en schraal weer. Daarmee was een eventuele besmetting van de ernaast geplante Muscari’s ook niet meer aan de orde en kon dus ook niet meer worden nagegaan of een dompeling van Muscaribollen in imidacloprid effect zou kunnen hebben op de verspreiding van fytoplasma te velde.

De als besmet herkende Muscaribollen die in het broeiseizoen 2009-2010 waren verzameld en een warmwaterbehandeling (2 uur 43,5°C) hadden ondergaan zijn tijdens de afbroei getoetst met behulp van PCR. In de Muscaribollen, die in een slechte conditie verkeerden, kon geen fytoplasma worden aangetoond. Analyse op kwaliteit en kwantiteit van het DNA (HEX assay) was wel goed. Dat geeft aan dat de toets goed verlopen is en er geen fytoplasma is aangetoond.

De in het broeiseizoen 2010-2011 verzamelde en behandelde Muscaribollen bleken in de broei maar zeer beperkt uit te groeien. De meeste bollen liepen uit bij de zwaarste kookbehandeling van 4 uur 45°C. Bij het toetsen van de Muscaribollen tijdens de broei in maart 2012 bleek dat vrijwel steeds fytoplasma kon worden aangetoond (zie tabel 1). Daarmee is duidelijk geworden dat de warmwaterbehandeling bij 43,5°C geen effectief bestrijdende rol heeft gespeeld tegen fytoplasma. Ook een warmwaterbehandeling bij 45°C lijkt niet voldoende effectief. Een warmwaterbehandeling bij een hogere temperatuur biedt wellicht mogelijkheden. Muscari lijkt dat te kunnen verdragen maar vastgesteld moet worden of het ook effectief is in de doding van fytoplasma. Wel bleek dat besmette Muscaribollen vrij gemakkelijk wegzielen tijdens de broei. Op zich is dat niet zo vreemd als wordt bedacht dat besmette bollen een zeer dunne spruit geven met een enkele wortel. In het bewaarseizoen dat daarop volgt vallen de meeste bollen dan ook weg. Daarmee is het probleem van “Lissers” in Muscari niet helemaal opgelost.

Omdat een besmetting van fytoplasma ontstaat tijdens de bollenteelt te velde zal de bestrijding van “Lissers” in Muscari en andere hyacintachtigen dan ook voornamelijk gericht moeten zijn op perceelkeuze en het voorkomen van overdracht en verspreiding van fytoplasma’s via de dwergcicade. Het is dan ook van groot belang dat bollentelers van Muscari en andere hyacintachtigen bewust zijn van de risico’s op verspreiding van fytoplasma’s door dwergcicaden en daartegen dus maatregelen moeten nemen. Daartoe zijn in een aantal vakbladartikelen maatregelen aangereikt.

Tabel 2: PCR resultaten bij toetsing van Muscari op fytoplasma

Nr.	Code	Beschrijving	fytoplasma aangetoond
1	O1	Bol1, onbehandeld	ja
2	O2	Bol2, onbehandeld	ja
3	O3	Bol3, onbehandeld	ja
4	O4	Bol4, onbehandeld	ja
5	T1-1	Bol1, 2 uur 43,5°C	ja
6	T1-2	Bol2, 2 uur 43,5°C	ja
7	T1-3	Bol3, 2 uur 43,5°C	ja
8	T1-4	Bol4, 2 uur 43,5°C	ja
9	T2-1	Bol1, 4 uur 45°C	nee
10	T2-2	Bol2, 4 uur 45°C	ja
11	T2-3	Bol3, 4 uur 45°C	ja
12	T2-4	Bol4, 4 uur 45°C	nee
13	NTC	Water	nee
14	Neg1	Gezonde Muscari	nee
15	Pos1	Zieke Muscari	ja

## 4 Conclusies

Bedacht moet worden dat het onderzoek met een beperkt aantal bollen is uitgevoerd.

- Een warmwaterbehandeling van 2 uur bij 43,5°C had in een van de twee proeven geen meetbare doding van fytoplasma in Muscari tot gevolg. Van deze cultuurkook mag in de praktijk dus niets worden verwacht ten aanzien van de doding van fytoplasma.
- Een warmwaterbehandeling van 4 uur bij 45°C gaf geen volledige doding van fytoplasma in Muscari.
- Naar aanleiding van de twee beperkte proeven die zijn uitgevoerd met Muscari lijkt het erop dat een warmwaterbehandeling (4 uur bij 45°C) slechts gedeeltelijk werkt om fytoplasma in Muscaribollen te doden. Meer onderzoek is nodig om vast te stellen hoe effectief deze behandeling is en of hogere temperaturen effectief zijn.
- Over het voorkomen van verspreiding op het veld kan geen uitspraak worden gedaan omdat de besmette bronplanten afstierven terwijl de gezonde planten net flink begonnen te groeien. Mogelijk is er onvoldoende tijd voor besmetting geweest.



# Bijlage

Artikel over Muscari en fytoplasma uit 2010 is bijgevoegd.