



Viburnum “terugloopziekte”

Consultancy onderzoek

Daniël Ludeking, Arca Kromwijk, Patricia de Boer, Cora v.d Bosch & Chris Blok



Referaat

Bij de teelt van *Viburnum opulus* komt het soms voor dat de groei pleksgewijs langzaam terugloopt. Het gewas lijkt niet ziek, maar het blad wordt stug en donker en de taklengte en bladgrootte worden elk jaar kleiner. In dit consultancy onderzoek is onderzocht wat de oorzaak is van deze symptomen. In gewasmonsters is de schimmel *Cylindrocarpon destructans* gevonden, maar dit lijkt niet de hoofdoorzaak. Verder zijn ook wortellesie-aaltjes (*Pratylenchus penetrans*) waargenomen, maar de aantallen waren te laag om de symptomen te kunnen verklaren. Er zijn geen insecten en wortelduizendpoten gevonden in het wortelgestel en er zijn geen fytoplasma's waargenomen in het gewas. Virussen hebben duidelijkere symptomen en liggen niet voor de hand. Biotoetsen met grond van goede en slechte plekken lieten zien dat fytotoxiciteit op basis van niet levende stoffen zoals plant-eigen wortellexudaten, hormonen of ander stoffen uitgesloten kan worden. Opmerkelijk is dat de grond zeer arm was en het is bekend dat een zeer lage EC kan leiden tot slecht groeiende en ziektegevoelige planten. Mogelijk is de terugloop in groei een gevolg van een combinatie van meerdere oorzaken zoals lage voedingstoestand, *Cylindrocarpon destructans* en *Pratylenchus penetrans*.

Abstract

When growing *Viburnum opulus*, it sometimes happens that growth slowly declines over the years. The crop does not seem sick, but the leaf is stiff and dark and the branch length and leaf size declines every year. In this study the cause of these symptoms was investigated. The fungus *Cylindrocarpon destructans* was found, but this fungus seems not to be the main cause. Furthermore, root lesion nematodes (*Pratylenchus penetrans*) were observed, but the numbers were too low to explain the symptoms. There were no root centipedes and insects found in the root system, and no phytoplasmas were observed in the crop. Viruses have clearer symptoms and are not obvious. Bioassays with soil of good and bad spots showed that there was no phytotoxicity based on non-living substances such as root exudates, hormones or other substances. It is noteworthy that the soil was very poor and it is known that a very low EC can lead to poor growing and susceptible plants. It is possible that the decline in growth is the result of a combination of several causes such as low nutritional status, *Cylindrocarpon destructans* and *Pratylenchus penetrans*.

© 2012 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Wageningen UR Glastuinbouw.

Wageningen UR Glastuinbouw

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk
Tel. : 0317 - 48 56 06
Fax : 010 - 522 51 93
E-mail : glastuinbouw@wur.nl
Internet : www.glastuinbouw.wur.nl

Inhoudsopgave

	Samenvatting	5
1	Beschrijving van het probleem	7
	1.1 Aanleiding	7
	1.2 Doel van het consultancyonderzoek	7
	1.3 Teelt van Viburnum	7
	1.4 Symptomen terugloopziekte	8
2	Diagnostiek	13
	2.1 Schimmels	13
	2.2 Aaltjes	13
	2.3 Insecten en andere plaagorganismen	14
	2.4 Fytoplasma's	14
	2.5 Virussen	15
	2.6 Allelopatie (zelfvergiftiging)	16
	2.6.1 Werkwijze	16
	2.6.2 Resultaten analyses grondmonsters	17
	2.6.3 Resultaten biotoets	18
	2.6.4 Discussie biotoets	19
	2.6.4.1 Aanpak en methode	19
	2.6.4.2 Bemesting	20
	2.6.5 Conclusie biotoets	21
3	Conclusie	23
4	Literatuur	25

Samenvatting

Bij de teelt van *Viburnum opulus* doet zich, vooral bij teelten in de volle grond, een mysterieus fenomeen voor. Planten die jaren volop in productie zijn geweest verliezen langzaam maar zeker hun vitaliteit en telers zien de groei langzaam teruglopen. Het gewas lijkt in eerste instantie niet ziek en gaat niet dood, maar het blad wordt stug en donker en de taklengte en de grootte van het blad loopt elk jaar verder terug. In dit consultancy onderzoek is bij een aantal telers, die te kampen hebben met de symptomen, onderzocht wat de mogelijkheden kunnen zijn van de problemen tijdens de teelt. Monsters zijn onderzocht op de aanwezigheid van aaltjes, plant pathogene schimmels, fytoplasma's en wortelduizendpoten of andere belagers in het wortelgestel. Daarnaast is ook uitgebreid gekeken naar bemesting en fytotoxiciteit van de bodem.

Isoleren van de aanwezige schimmels heeft de schimmel *Cylindrocarpon destructans* opgeleverd. Deze schimmel staat bekend als een schimmel die in het bijzonder een kans krijgt, wanneer het gewas in verminderde conditie is en dat is nu juist het geval bij deze ziekte. De schimmel is ziekteverwekkend, maar lijkt in dit geval niet de hoofdoorzaak van de symptomen in het gewas. Verder zijn er in de verschillende monsters ook wortellesie-aaltjes (*Pratylenchus penetrans*) waargenomen. Deze vrijlevende aaltjes kunnen een wortelgestel aanprikken en de energie als het ware uit een plant zuigen. Vooral bij rozen is dan een enorme terugloop in groei waarneembaar. De waargenomen aantallen waren echter niet enorm, waardoor het voorkomen van deze plaag ook geen overtuigende aanwijzing is voor de verklaring van de symptomen in het gewas. Verder is er materiaal onderzocht op de aanwezigheid van fytoplasma's. Deze bacterie-achtigen hebben geen celwand en leven in het floëem. Fytoplasma's kunnen leiden tot blad- en nervverkleuring, wildgroei (heksenbezems) en misvorming. Ook deze organismen zijn niet waargenomen in het gewas. Virussen hebben volgens de kenners duidelijkere symptomen en liggen niet voor de hand. Ook insecten en wortelduizendpoten zijn niet waargenomen in het wortelgestel. Daarom is in een aangetast perceel, grond van zowel goede als slechte plekken verzameld en is gekeken naar mogelijke groei remmende eigenschappen van de grond. Hiervoor is dezelfde methode gebruikt als voor het toetsen van fytotoxiciteit van water, meststoffen en gewasbeschermingsmiddelen. Uit de test is duidelijk geworden dat fytotoxiciteit op basis van niet levende stoffen zoals plant-eigen wortellexudaten, hormonen of ander stoffen niet voor de hand ligt.

Opmerkelijk is dat op beide percelen sprake is van zeer arme gronden. Van plekken in de grond met een zeer lage EC is bekend dat dit kan leiden tot slecht groeiende en ziektegevoelige planten, lang voor de groei bovengronds zichtbaar achter blijft. Dit gegeven samen met het feit dat in de gewasmonsters van alle drie bedrijven *Cylindrocarpon destructans* is aangetoond in combinatie met een lichte aantasting van het plant parasitaire wortellesieaaltje (*Pratylenchus penetrans*), leidt tot de veronderstelling dat de symptomen waarschijnlijk meerdere oorzaken hebben en dat de combinatie van pathogeen, parasiet en stand van het gewas leidt tot een terugloop in groei van *Viburnum opulus*.

1 Beschrijving van het probleem

1.1 Aanleiding

Bij een aantal telers van het gewas *Viburnum opulus* (sneeuwbal of Gelderse roos) treedt na verloop van tijd een symptoom op dat beschreven zou kunnen worden als 'terugloopziekte'. Een aantal jaren na aanplanten (of na vernieuwing) van het gewas in de grond, loopt de scheutlengte langzaam terug. De stelen worden elk jaar korter. De vitaliteit van het gewas verdwijnt en de scheuten die gevormd worden zijn niet alleen kort, maar worden ook dun. Het blad wordt kleiner en stug en de bladeren krijgen eerder een rode kleur. Het gewas gaat niet direct dood, maar vertoont elk jaar steeds iets minder groei. Opmerkelijk is dat de symptomen pleksgewijs lijken voor te komen. Zeker is dat gezonde planten naast planten met symptomen kunnen staan, wat in ieder geval duidt op de mogelijke aanwezigheid een plantenziekte. De symptomen komen voor zowel bij de teelt in potten als in de grond, maar lijken ernstiger in grondgebonden teelt.

1.2 Doel van het consultancyonderzoek

Het doel van deze inventarisatie is om het ziektebeeld te beschrijven en een hypothese over de oorzaak van de 'terugloopziekte' te formuleren. Aan de hand van de gevonden pathogenen kan de mogelijke richting van de aanpak van de problematiek worden bepaald. De verzamelde organismen kunnen in een vervolg onderzoek worden terug getoetst om met zekerheid pathogeniteit vast te stellen. Indien nodig kan in een daaropvolgend experiment worden gezocht naar een oplossing voor de ' terugloopziekte' bij deze teelt.

1.3 Teelt van *Viburnum*

De teelt van *Viburnum opulus* 'Roseum' voor de productie van bloemen (snijheesters) wordt zowel in de grond als in potten gedaan. De terugloopziekte wordt vooral bij de teelt in de grond waargenomen. Ook bij de teelt in potten wordt het beeld van teruglopende struiken genoemd, maar komt daar minder uitgesproken voor.

De teelt van trekheesterteelt van *Viburnum opulus* 'Roseum' verloopt kortweg als volgt: Voor de containerteelt en de teelt in de grond verloopt de aanpak min of meer hetzelfde. Bij het vallen van de bladeren in oktober gaan de struiken buiten in winterrust. Na een voldoende lange koude periode buiten worden de planten in de kas gezet om bij hoge temperatuur vroeg in bloei te trekken (Foto 1.). Bij de teelt in de grond worden de struiken rond gestoken en met kluit in de kas gezet of de planten worden overdekt door een rolkas. Na een periode van 4 tot 6 weken zijn de bloemen oogstrijp. Het trekseizoen loopt van januari tot april. Na de oogst gaan de planten terug naar buiten. Daar kunnen de planten herstellen en nieuwe bloemtakken vormen voor de volgende trekronde een jaar of twee jaar later.

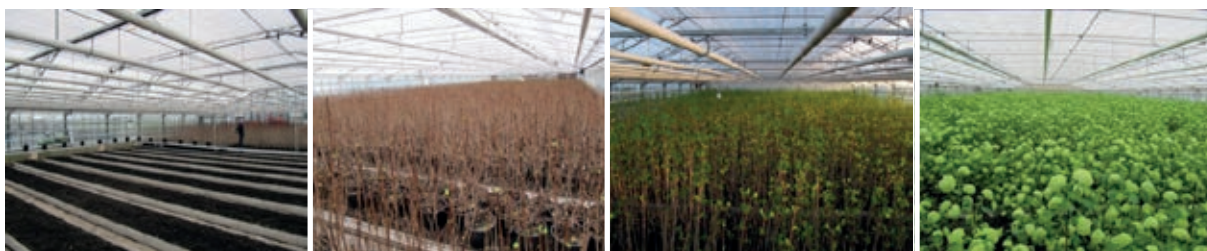


Foto 1: Het in bloei trekken van *Viburnum* in de kas (foto's: www.mediaverdi.nl)

1.4 Symptomen terugloopziekte

Op het eerst bezochte bedrijf (bedrijf A) worden de planten in volle grond geteeld. Er kan een rolkas over de planten gereden worden om de planten eerder in bloei te trekken. De symptomen zijn duidelijk in het perceel te herkennen als lagere en ook meestal kalere plekken in het gewas. In het gewas zijn “golven” waar te nemen. De groei van de planten loopt jaarlijks terug, dit is vooral zichtbaar aan de hand van de taklengte. Het aantal gevormde scheuten (takken) en ook de bloemaanleg wordt niet direct beïnvloed. De planten lopen steeds verder terug in activiteit en sterven uiteindelijk geheel af. Het beeld komt pleksgewijs voor, waarbij goede planten praktisch naast zeer slechte struiken kunnen staan. De plekken liggen verspreid over het perceel en zijn terug te vinden in zowel een ouder gewas als in een deel van het perceel waar struiken later zijn aangeplant. In eerste instantie is het teruglopen van de groei ook niet direct negatief te noemen, vanwege de opbouw van de bloemtakken. De takken hebben een compacter uiterlijk met kortere internodiën en dat komt de sierwaarde ten goede. Daarom worden de struiken in het perceel ook niet of nauwelijks bemest om de groei niet te veel te stimuleren. Ook is het blad bij de slechte struiken donkerder, dikker en stugger. Het wortelgestel is niet verrot en de planten staan vast in de grond. Het wortelgestel oogt echter niet heel actief, er worden nauwelijks nieuwe wortels gevormd. De snoeiwonden (daar waar de takken zijn geoogst) zijn soms verrot. De doorsnede van de takken en van het gesnoeide hout is in sommige gevallen aangetast. Het merg is bruin en verrot en in sommige gevallen is vaatverbruining waar te nemen. Symptomen zijn vanaf het voorjaar al waarneembaar en worden in het najaar (september) nog eens extra benadrukt door de snelle rood verkleuring van de struiken (Foto 2. en 3). Op het tweede bedrijf was een duidelijk hoek met planten herkenbaar die sterk achterbleven in groei (Foto 4.). In de doorsnede van de stengel zijn duidelijke bruine zones te zien in het weefsel van planten van de verschillende bedrijven (Foto 2, 4 en 5).



Foto 2: Symptomen van 'terugloopziekte' Viburnum bij bedrijf A in juli.



Foto 3: Symptomen van 'terugloopziekte' Viburnum bij bedrijf A in september.



Foto 4: Symptomen van 'terugloopziekte' Viburnum bij bedrijf B in juli.



Foto 5: Symptomen van 'terugloopziekte' Viburnum in de pottenteelt bij bedrijf C.

2 Diagnostiek

2.1 Schimmels

Het verzamelde materiaal van de probleem houdende telers is onderzocht op de aanwezigheid van schimmels. Planten zijn uitgegraven en van stengels en wortels zijn delen geselecteerd die vervolgens op een algemene voedingsbodem zijn geplaatst. De schimmels hebben gedurende 8 dagen de gelegenheid gekregen om zich uit het plant materiaal te ontwikkelen en te sporuleren. De petrischalen zijn in het donker en bij een temperatuur van 22 °C weggezet. Uit de diverse monsters van het aangetaste materiaal is de schimmel *Cylindrocarpon destructans* geïsoleerd. Andere schimmels zoals *Verticillium dahliae*, *Phytophthora spp.*, *Phoma viburni* (bladvlekkenziekte, Boerema, 1974) zijn ook in het materiaal waargenomen. De waargenomen schimmel *Cylindrocarpon destructans* is in alle drie monsters gedetecteerd, maar staat bekend als een pathogeen dat vaak een secundaire rol heeft bij de teelt van diverse houtachtige gewassen. De schimmel *Cylindrocarpon destructans* (teleomorf (geslachtelijk stadium) *Nectria radicola*) is in staat het materiaal te infecteren als wortels beschadigd zijn of als er andere ongunstige omstandigheden zijn zoals een te natte of juist te droge grond, te hoog of te laag zoutgehalte (EC) of afwijkende pH.

De symptomen in het gewas, zoals weinig activiteit van de wortels, verrotte wortels en bruin merg in stengels, kunnen passen bij een infectie met deze schimmel. Echter of de schimmel de hoofdoorzaak is van de symptomen is de vraag. De schimmel komt vaker voor in roos (De Hoog *et al.* 1998), druif (Halleen, 2006), fruitbomen zoals peer (Pyrus) (Traquair & White, 1992), aardbei, narcis, maar ook in *Rubus* soorten (Cedeno, 2004). In alle gevallen veroorzaakt de schimmel een zwarte voet van de plant en wortelrotproblemen. Ook verwelking wordt als een van de symptomen genoemd. Bij pioenen wordt deze ziekte wel geassocieerd met herplantingsziekte. Causaal verband is nooit aangetoond, echter grond van diverse herkomsten en verschillende teeltjaren van pioen is getest op groeiremming bij herbeplanten met pioenroos (Slootweg, 2010). en in de planten met verminderde groei werd vaak de schimmel *Cylindrocarpon destructans* aangetroffen.



Foto 6: Microscopische opname van conidiën van *Cylindrocarpon destructans*, 400x vergroot (links) en schematische weergave van de verschillende asexuele en seksuele sporen van *Cylindrocarpon destructans* (rechts). Bron: CMI descriptions of fungi and bacteria, No. 148, 1967.

2.2 Aaltjes

De wortels van de planten die zijn verzameld in de praktijk zijn ook onderzocht op de aanwezigheid van plant parasitaire aaltjes (nematoden). In wortelmonsters van het materiaal van bedrijf A en van bedrijf B zijn kleine aantallen van het worteltesieaaltje *Pratylenchus penetrans* aangetroffen. Dit vrijlevende aaltje kan schade veroorzaken bij de teelt van zeer uiteenlopende gewassen en staat bekend als schadelijk bij de teelt van *Viburnum*. De aantallen aaltjes in de monsters van

het wortelmateriaal waren echter niet van dien aard dat aaltjes als primair probleem gezien kunnen worden. De aantallen zijn te laag om groeiremming en sterfte te kunnen verklaren.

De aanwezige exemplaren van *Pratylenchus penetrans* voeden zich wel aan de wortels van de planten. Deze vrijlevende aaltjes prikken de wortel aan met hun stylet en kunnen cel inhoud en assimilaten opnemen. Het onttrekken van cel inhoud en assimilaten zorgt over het algemeen voor teruglopende groei en kan in sommige gevallen ook leiden tot misvorming. *Pratylenchus penetrans* speelt ook een rol in de levenscyclus van schimmels zoals *Verticillium dahliae*. *Pratylenchus penetrans* zorgt voor kleine wondjes op wortels (laesies), die een invalspoort vormen voor andere pathogenen. De aanwezigheid van *Pratylenchus penetrans* kan de symptomen van de in het materiaal aangetroffen schimmel *Cylindrocarpon destructans* wel versterken. De schimmel kan gebruik maken van de verslechterde conditie van het gewas en de verwondingen van het wortelgestel.



Foto 7: *Pratylenchus penetrans* (400x vergroot).

2.3 Insecten en andere plaagorganismen

In de planten van bedrijf A zijn geen insecten of andere plaagorganismen waargenomen in het wortelgestel of in de bovengrondse delen. Bij bedrijf B heeft de teler in de aangetaste hoek vooral luis aangetroffen. Mogelijk zijn de luizen aangetroffen als gevolg van de verminderde groei en de slechte conditie van het gewas. Dit laatste is een bekend fenomeen. In de slechte plekken is de zwarte bonen luis (*Aphis fabae*) aangetroffen. Luizen zijn in staat om virussen over te dragen.

Op bedrijf C was wortelduizendpoot aanwezig in de pottenteelt (*Scutigerella immaculata*). Dit organisme is een geleedpotige en behoort niet tot de insecten. Het organisme is lichtschuw en voelt zich thuis in een vochtige omgeving. Wortelduizendpoot kan zacht materiaal zoals jonge wortels en haarwortels aanvreten en daarmee net zoals bij een aantasting met aaltjes invalspoorten creëren voor bodemschimmels waaronder *Cylindrocarpon destructans*.

2.4 Fytoplasma's

Fytoplasma's zijn bacterie-achtigen zonder celwand die leven in het floëem (bastvaten) van een gastheer. Fytoplasma's zijn over het algemeen kleiner dan bacteriën en kunnen vanwege het ontbreken van een celwand allerlei vormen aannemen. Het zijn plantparasieten die verschillende fysiologische afwijkingen teweeg kunnen brengen. Symptomen zoals dwerggroei, misvorming van blad en bloemen, verkleuringen en bossige groei als gevolg van extra vertakking. Uiteenlopende plantensoorten kunnen last hebben van een fytoplasma aantasting. Het komt voor in aardbei, appel (appelheksebezemsziekte), peer (perenaftakelingsziekte), druif (bois noir), bloembollen ('Lissers' in Hyacint en Muscari). Ook Euphorbia kan sterk vertakken als gevolg van een fytoplasma infectie. Ook bij andere siergewassen zoals Tagetes, Cordyline en Hibiscus komen fytoplasma's voor. Fytoplasma's zijn niet te kweken en kunnen alleen in plantmateriaal

leven. Deze organismen worden overgebracht door insecten. Bij hyacint zijn dwergcicaden de belangrijkste vectoren (*Macrosteles spp.* en *Dalbulus spp.*) (Vreeburg *et al.* 2011). De ziekte kan niet op een medium worden gekweekt. Daardoor zijn de symptomen vaak aangezien als een virusachtige organisme. Fytoplasma's kunnen door enten worden overgebracht.

Omdat de symptomen van dwerggroei, rood-verkleuring en nervverkleuring bekende symptomen zijn bij gewassen die zijn aangetast door een fytoplasma (bijvoorbeeld perenaftakelingsziekte) en deze symptomen ook te herkennen zijn bij viburnumterugloopziekte zijn er twijgen verzameld en onderzocht op de aanwezigheid van fytoplasma's. Zowel het materiaal (twijgen) van teler A als van teler B is getoetst op de aanwezigheid van fytoplasma's. In beide gevallen zijn er met behulp van een moleculaire toets geen fytoplasma's aangetoond.

2.5 Virussen

In relatie tot *Viburnum* worden in de literatuur verschillende virussen genoemd. AMV (Luzernemozaïekvirus/*Alfalfa mosaic virus*) is het virus wat het meest regelmatig wordt gemeld in relatie tot het gewas *Viburnum* (Plešše *et al.* 1971). Het virus heeft echter duidelijke symptomen die niet overeenkomen met de symptomen van de viburnumterugloopziekte. Bij een aantasting met de ziekte vertonen de bladeren een felgeel mozaïek. Het virus kan ook voorkomen op *Chenopodium* (Ganzevoet) en op niet persistente wijze worden overgedragen door verschillende soorten luizen (Brunt *et al.* 1996).



Foto 8: Symptomen van AMV op *Viburnum* (Copyright 2006 Oregon State University Extension Plant Pathology Image Collection).

Ook Komkommer Mozaïek Virus (CMV) wordt in relatie met *Viburnum* gemeld, echter ook dit virus geeft ernstige symptomen die niet in het veld zijn aangetroffen.



Foto 9: Symptomen van CMV op *salvia* (© 2008 University of Arkansas, Plant Health Clinic, Sherrie Smith).

Daarnaast wordt in de literatuur melding gemaakt van *Viburnum* in relatie tot een nepovirus: het Satsuma dwarf 'nepovirus' of het citrus mozaïek virus. Een virus dat ernstige symptomen veroorzaakt in citrus. In de levenscyclus van het virus

zou een *Viburnum* soort een rol hebben als tijdelijke overlevingsplaats bij afwezigheid van een gastheer. Dit virus is een Europese quarantaine ziekte en komt niet voor in Nederland.



Foto 10: Symptomen van Satsuma dwarf 'nepovirus' op citrus (Foto T. Miyakawa).

Het ligt gezien de uitgesproken symptomen van bovenstaande virussen niet voor de hand om te denken aan een virus infectie als veroorzaker van de viburnumterugloopziekte. Er is daarom op basis van deze constatering besloten om geen verder onderzoek naar virussen uitvoeren.

2.6 Allelopatie (zelfvergiftiging)

Allelopatie wordt beschreven als het proces waarbij planten of andere organismen stoffen (secundaire metabolieten) uitscheiden die groei en ontwikkeling van andere organismen beïnvloeden. De stoffen kunnen een stimulerend effect of een remmend effect hebben op de groei. In dit geval bij *Viburnum*, waarbij een voortdurende terugloop in groeikracht wordt waargenomen, is er mogelijk sprake van een onderdrukkend effect als gevolg van de uitscheiding van stoffen (wortellexudaten) die de plant zelf produceert. De stoffen zijn toxisch of groeiremmend en zorgen voor een teruglopende groei of problemen bij het herinplanten van een perceel (Chou, 2006).

Om vast te stellen of er sprake is een groei remmend effect zijn bij *Viburnum* telers op goede en slechte plekken in het perceel, rondom de wortels grondmonsters genomen. Uit de percelen zijn monsters genomen op minimaal drie goede en slechte plekken. Mengmonsters zijn met behulp van een biotoets getest op eventuele groei remmende effecten van de grond (Fytotoxiciteit).

2.6.1 Werkwijze

De mengmonsters zijn geanalyseerd op pH, EC, voedingselementen, vochtpercentage en organische stofgehalte. Voorafgaand aan de biotoets zijn de monsters gedroogd (60 °C). Na droging zijn de monsters met behulp van een vijzel fijngemaakt en gezeefd met een 2 mm zeef. De fytotoxkits zijn gevuld met een vaste hoeveelheid gezeefde grond (grove delen zijn verder niet gebruikt). De grond in de fytotoxkits is bevochtigd met demiwater tot verzadiging optrad (Foto 11-links) en afgedekt met een filterpapier. Het filterpapier is na 30 minuten omgedraaid en ingezaaid met tuinkers en gele mosterd. Ter controle (als referentie) is ook op een standaard (komkommer)voedingsoplossing ingezaaid. De EC van deze controle is gelijkgesteld aan de gemiddelde EC van de te testen grondmonsters (EC=0.6).

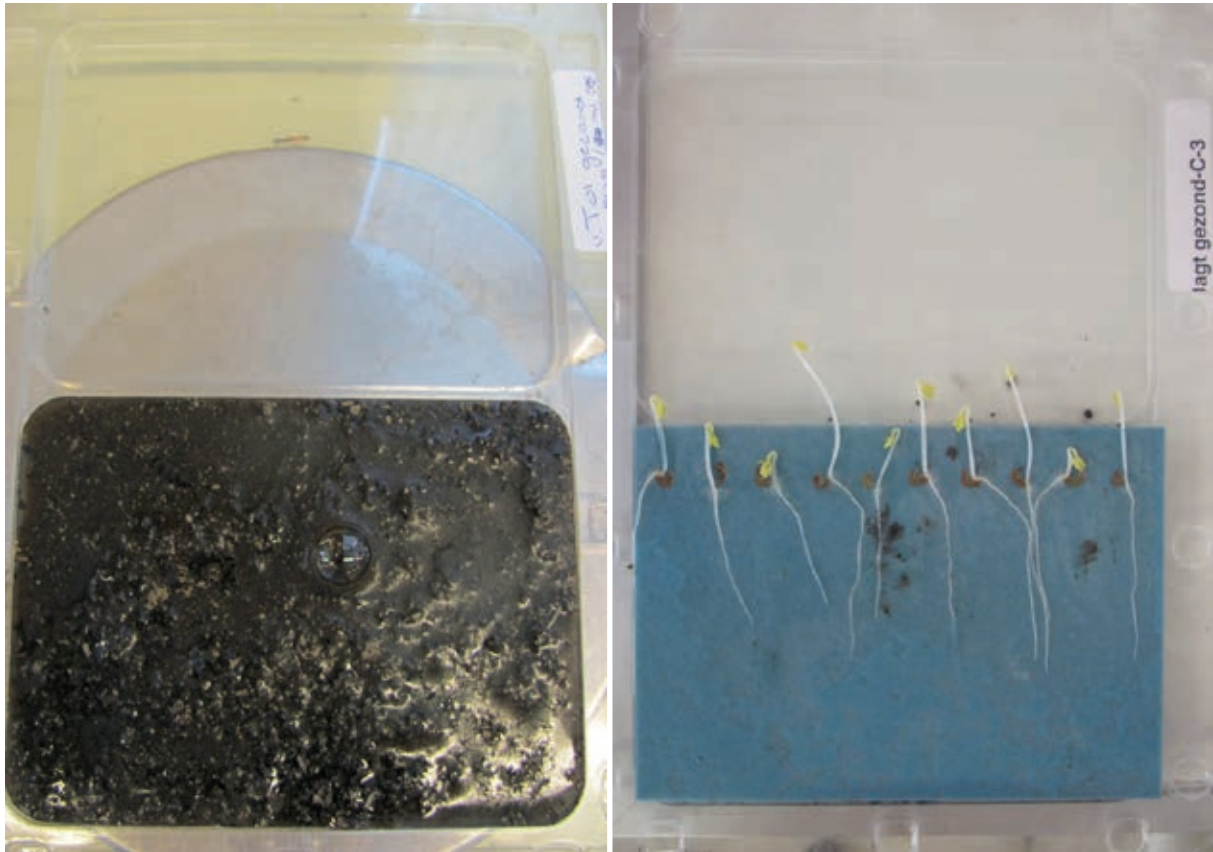


Foto 11: Fytotoxkit gevuld met gedroogd grondmonster, na verzadiging met demiwater (links) en fytotoxkit met tuinkers kiemplanten (rechts).

Per behandeling zijn 4 Fytotoxkits ingezet, elk met 10 zaden. Na een incubatieperiode van 3 dagen bij 25 °C is de wortel- en spruitlengte van de zaailingen opgemeten (Foto 11-rechts).

Tabel 1. Coderingen gebruikt bij deze fytotoxtoets

Code	Behandeling
Std K	Standaard komkommervoeding (laboratorium versie, EC=0.6, pH=5.5)
A goed	Bedrijf A mengmonster 'goede' plek
A slecht	Bedrijf A mengmonster 'slechte' plek
B goed	Bedrijf B mengmonster 'goede' plek
B slecht	Bedrijf B mengmonster 'slechte' plek

2.6.2 Resultaten analyses grondmonsters

Bij de grondmonsters van teler A waren EC en pH lager dan bij teler B (Tabel 2.). Bij teler A was de grond vochtiger en het organische stofgehalte hoger dan bij teler B. Echter, tussen grondmonsters genomen op goede en slechte plekken waren geen duidelijke verschillen zichtbaar, die de verschillen in groei van de Viburnum planten zouden kunnen verklaren. Ook uit een analyse van de voedingselementen kwamen geen duidelijke verschillen naar voren.

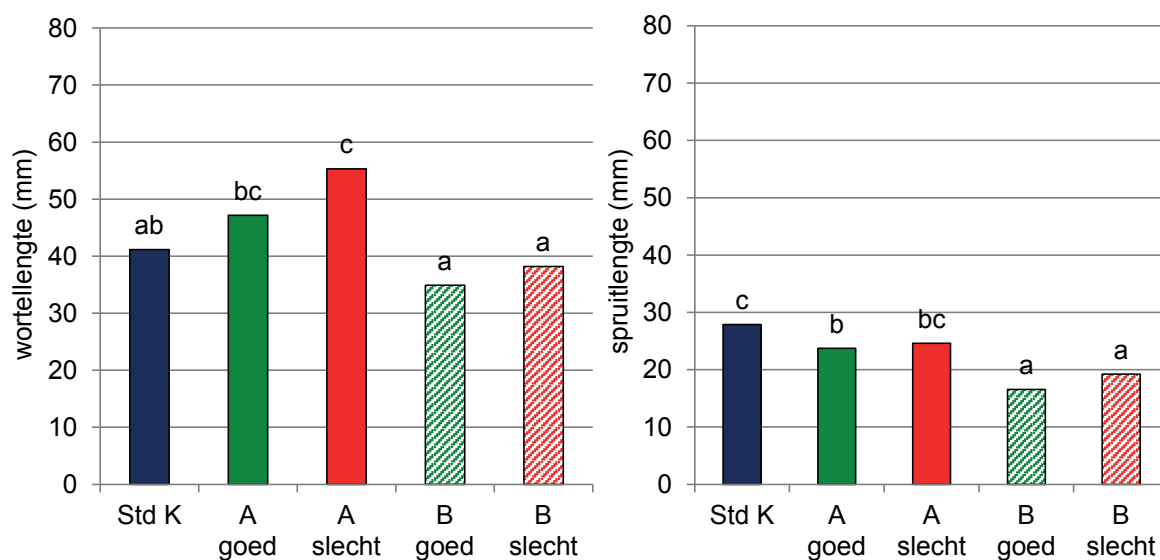
Tabel 2. Analyseresultaten van de oorspronkelijke monsters.

Code	pH	EC bodemvocht	Vochtgehalte (%)	Organisch stofgehalte (%)	EC in Fytotoxkit
A goed	6.7	0.6	49	23	0.6
A slecht	5.4	0.8	40	21	0.5
B goed	7.6	1.3	33	10	0.4
B slecht	7.4	1.6	30	14	0.7

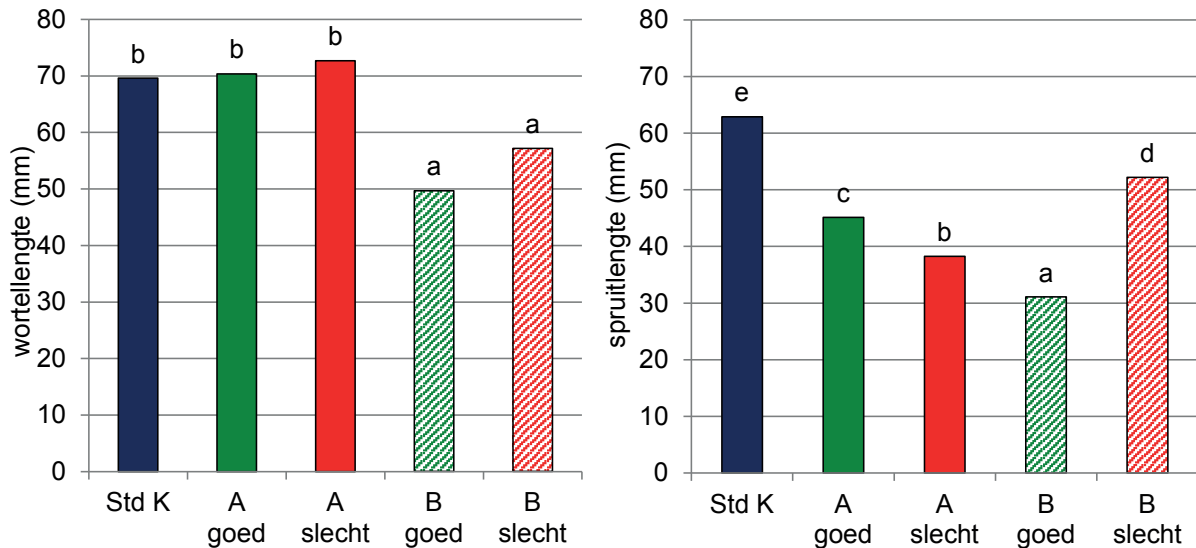
Voor het inzetten van de biotoets zijn de grondmonsters verzadigd met demiwater. Hierdoor was de EC van het vocht in de Fytotoxkit over het algemeen lager dan de EC van het bodemvocht (Tabel 2, rechterkolom).

2.6.3 Resultaten biotoets

Bij beide telers was er geen significant verschil tussen monsters van goede en slechte plekken wat betreft de wortel- en spruitlengte van tuinkers (Figuur 1.) en de wortellengte van mosterd (Figuur 2-links). Bij de spruitlengte van mosterd was er sprake van significante verschillen, maar deze waren bij teler A en B tegengesteld. Bij teler A was de spruitlengte bij de monsters van de slechte plekken korter, maar bij teler B was de spruitlengte bij de monsters van de slechte plekken juist langer (Figuur 2-rechts). Bij teler B was de kieming van tuinkers bij het monster uit de goede plekken ook opvallend slecht: 68% van de zaden was goed gekiemd. Bij de overige monsters was deze minimaal 90%. Het monster van de goede plek van teler B had de laagste EC in de Fytotoxkit (Tabel 2.). Het is niet uitgesloten dat dit heeft bijgedragen aan de mindere kieming van tuinkers en de mindere groei van mosterd. In eerdere testen is gevonden dat een lagere EC een negatief effect heeft op de kieming van tuinkers (percentage kieming was 93% bij EC=2.2 en 84% bij EC=0.1) en op de lengte van de spruiten (spruit van mosterd was 68% korter bij EC=0.1 dan bij EC=2.2).



Figuur 1: Gemiddelde wortel- en spruitlengte voor tuinkers (gelijke letters verschillen niet significant (LSD 5%).



Figuur 2: Gemiddelde wortel- en spruitlengte voor gele mosterd (gelijke letters verschillen niet significant (LSD 5%)).

2.6.4 Discussie biotoets

2.6.4.1 Aanpak en methode

Er is bij dit experiment gekozen om de standaard methode aan te houden en de grond te zeven, zodat delen groter dan 2 mm uit het grondmonster worden verwijderd. Er is hiervoor gekozen omdat grotere delen kunnen zorgen voor oneffenheden op het oppervlak en daardoor plaatselijk uitdroging van het zaadtestpapier kunnen veroorzaken. Bovendien kan worden verwacht dat vooral de kleinere delen met het grootste oppervlak en niet de grotere delen de meeste groeiremming veroorzaken. In een proefexperiment voorafgaand aan het in 2.6 beschreven experiment is het Fytotox systeem getest met de grondmonsters van teler A. Van elk van de monsters (goede en slechte grond) is één Fytotoxkit ingezet met 5 tuinkers en 5 mosterd zaden. Hierbij is de standaard werkwijze gevolgd, met uitzondering van het verwijderen van de delen groter dan 2 mm. Het proefmonster is bij een temperatuur van 105 °C gedroogd in plaats van de temperatuur van 60 °C volgens het protocol. In dit proefexperiment waren de kiemplanten bij de 'slechte' grond 20-50% korter dan bij de 'goede' grond. Hoewel dit proefexperiment niet in voldoende herhalingen is uitgevoerd om uitsluitel te kunnen geven, bestaat de mogelijkheid dat de delen groter dan 2 mm in dit geval wel een effect hebben gehad op de groei. Onderstaand een Foto (Foto 12.) van de verwijderde delen groter dan 2 mm, bij goede en slechte grond van beide telers.

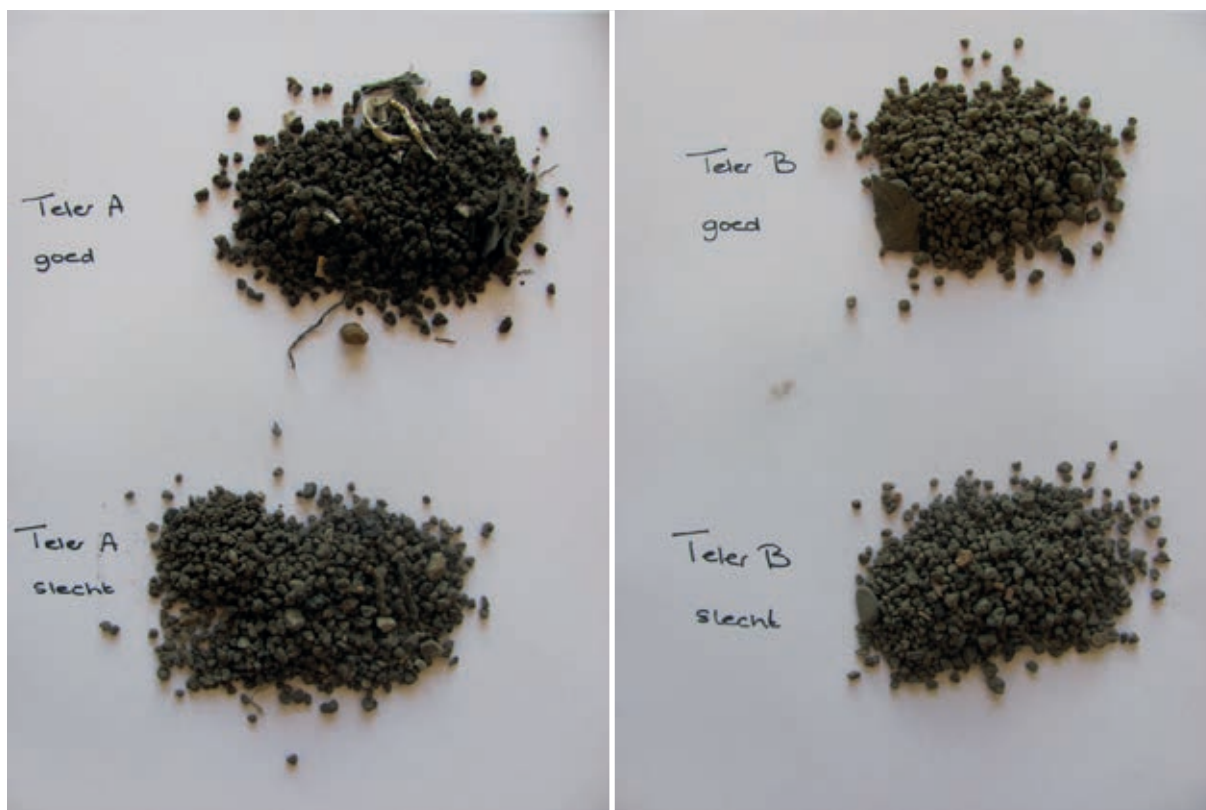


Foto 12: grove delen groter dan 2 mm uit grond van teler A (links) en uit grond van teler B (rechts).

2.6.4.2 Bemesting

Ten aanzien van de resultaten van de meststoffen analyses (Tabel 3) zijn geen opmerkelijke verschillen waargenomen. Bij teler A zijn wel sporen elementen aanwezig, maar bij teler B zijn sporen elementen nauwelijks te detecteren. De EC is erg laag in beide gevallen. Uit EC metingen in relatie tot vatbaarheid weten we met grote zekerheid dat plekken met zeer lage EC leiden tot slecht groeiende en ziektegevoelige planten, lang voor de groei bovengronds zichtbaar achter blijft. Teler B heeft een veel te hoge pH, in de substraatteelten kost een dergelijke pH opbrengst.

Op basis van de bemestingsanalyses en ondanks dat telers gewend zijn om weinig plantenvoeding te geven om de lengte (scheut) groei te beperken en de plant te stimuleren om bloemen aan te maken in plaats van blad, is bemesting wel een punt van aandacht. Bemesting is waarschijnlijk niet de verklaring voor de goede en slechte planten (met symptomen) vanwege het feit dat de analyses in beide gevallen zeer lage waarden laten zien. Door te weinig voeding zal echter vroeg of laat wel een omslagpunt worden bereikt waarbij de planten ook niet meer zullen groeien door gebrek aan essentiële voedingsstoffen.

Tabel 3: Resultaten voedingsanalyse

	A goed	A slecht	B goed	B slecht
NH ₄ (mmol)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
K(mmol)	0.2	0.3	0.1	0.5
Na(mmol)	0.2	0.2	0.2	0.3
Ca(mmol)	0.4	0.4	0.9	1.1
Mg(mmol)	0.1	0.1	0.1	0.1
Si(mmol)	0.2	0.4	0.3	0.3
NO ₃ (mmol)	0.3	0.3	0.2	0.4
Cl(mmol)	0.1	0.2	0.2	0.3
SO ₄ (mmol)	0.2	0.2	0.1	0.2
HCO ₃ (mmol)	0.3	< 0.1	0.8	0.9
P(mmol)	< 0.05	0.05	< 0.05	< 0.05
Fe(μmol)	35.4	28.4	3	3.8
Mn(μmol)	0.6	2.4	< 0.1	< 0.1
Zn(μmol)	0.7	1.9	< 0.1	0.2
B(μmol)	7	10	< 4	4
Cu(μmol)	0.3	1.4	0.2	0.2
Mo(μmol)	0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1

2.6.5 Conclusie biotoets

Uit analyse van pH, EC, voedingselementen, percentage vocht en organische stofgehalte van grondmonsters uit goede en slechte plekken in het gewas komen bij beide telers geen grote verschillen naar voren. Opvallend is dat de EC en algehele voedingstoestand op beide bedrijven erg laag is. Bij andere gewassen is bekend dat plekken met zeer lage EC leiden tot slecht groeiende en ziektegevoelige planten, lang voor de groei bovengronds zichtbaar achter blijft. In de biotoets was bij teler A de spruitlengte van de mosterd kiemplanten bij het monster uit de slechte plekken korter dan bij het monster uit de goede plekken. Bij teler B was dit echter juist andersom. Bij de wortellengte van de mosterdplanten en bij de spruit- en wortellengte van de tuinkers kiemplanten was er geen betrouwbaar verschil. Samengevat kan worden geconcludeerd dat er geen duidelijke aanknopingspunten zijn gevonden die de gevonden groeiremming in het Viburnum gewas kunnen verklaren.

3 Conclusie

Aan de hand van dit onderzoek is een primaire oorzaak moeilijk aan te wijzen. Er is geen sprake van allelopatische effecten op basis van de fyto-tox-testen en ook één overtuigend pathogeen is niet aan te wijzen. Echter als we alle resultaten interpreteren lijkt er toch aanleiding om te denken dat een ziekteverwekker verantwoordelijk is voor de teruglopende groei van het gewas.

Opmerkelijk is dat op beide percelen sprake is van zeer arme gronden. De voedingstoestand in de bemonsterde grond zal resulteren in een zwakker gewas. Dit gegeven samen met het feit dat in de gewasmonsters van alle drie bedrijven *Cylindrocarpon destructans* is aangetoond in combinatie met een lichte aantasting van het plant parasitaire wortelzieaaltje (*Pratylenchus penetrans*), leidt tot de veronderstelling dat de symptomen waarschijnlijk meerdere oorzaken hebben en dat de combinatie van pathogeen, parasiet en stand van het gewas leidt tot een terugloop in groei van *Viburnum opulus*.

Ook onderschatting van het pathogeen *Cylindrocarpon destructans* behoort tot de mogelijkheden. Als er gekeken wordt naar de literatuur en de daarin beschreven ernstige en vergelijkbare symptomen bij een brede waardplantenreeks kan er sprake zijn dat er op basis van de bestaande kennis, een onderschatting van de rol en pathogeniteit van deze schimmel plaats vindt bij *Viburnum opulus*. Het feit dat alle monsters verrottingsverschijnselen in het merg en vaatstelsel onder in de plant vertoonden geeft aan dat er sprake moet zijn van een infectie en bevestigt een mogelijke onderschatting van de pathogeniteit.

Om uitsluitel te geven of *Cylindrocarpon destructans* de symptomen kan veroorzaken of dat één van de genoemde andere (deel)oorzaken de symptomen veroorzaken zullen in een vervolgonderzoek de 'postulaten van Koch' moeten worden toegepast. Dat betekent dat moet worden vastgesteld of dat de individueel waargenomen ziekten en plagen onder verschillende condities in staat zijn om *Viburnum opulus* te infecteren en de waargenomen symptomen kunnen veroorzaken.

4 Literatuur

- Boerema, G. H., & Griffin, M. J. (1974). Phoma species from Viburnum. Transactions of the British Mycological Society, 63(1), 109-114.
- Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L. and Zurcher, E.J. (eds.) (1996 onwards). 'Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Version: 20th August 1996.'
URL <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>
- Cedeño, L., Carrero, C., Quintero, K., Pino, H., & Espinoza, W. (2004). *Cylindrocarpon destructans* var. *destructans* AND *Neonectria discophora* var. *rubi* associated with black foot rot on blackberry (*Rubus glaucus* Benth.) in Mérida, Venezuela. *Interciencia*, 29(8), 455-460.
- Chou, C. H. (2006). Introduction to allelopathy. *Allelopathy*, 1-9.
- C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 148, issue no. 15, 1967. *Nectria radicola*. CAB Abstracts 1998
- Eppo quarantine pest (1996), prepared by CABI and EPPO for the EU under contract 90/399003 data sheets on quarantine pests: Satsuma dwarf 'nepovirus'
- Halleen, F., Schroers, H. J., Groenewald, J. Z., Rego, C., Oliveira, H., & Crous, P. W. (2006). *Neonectria liriodendri* sp. nov., the main causal agent of black foot disease of grapevines. *Studies in Mycology*, 55(1), 227-234.
- Hoog, J. de (1998). Teelt van kasrozen, Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente, Aalsmeer, The Netherlands.
- Miyakawa, T. & Roistacher, C.N. Citrus Satsuma dwarf, internet site.
URL <http://ecoport.org/ep?SearchType=slideshowViewSlide&slideshowId=61&slideId=1210>
- Oregon State University. Viburnum (*Viburnum* sp.) with leaf mosaic (Alfalfa mosaic virus), internet site.
URL http://www.science.oregonstate.edu/bpp/Plant_Clinic/images/viburnum_amv.htm
- Plešše, N., & Miličić, D. (1971). Luzernemosaik-Virus in *Viburnum tinus*. *Journal of Phytopathology*, 72(3), 219-224.
- Slootweg, G. (2010). Herinplantziekte bij pioenrozen: Verlenging grondproef. Lisse : PPO Bloembollen en Bomen. PPO-Projectnummer 32 361140 00.
- Smith, S. 2008. CMV in *Salvia*. University of Arkansas Plant Health Clinic. Internet site.
URL <http://plantpathology.uark.edu/6832.htm>
- Traquair, J. A., & White, G. P. (1992). *Cylindrocarpon* rot of fruit trees in cold storage. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 14(4), 310-314.
- Vreeburg, P.J.M.; Korsuize, C.A.; Lemmers, M.E.C.; Pham, K.T.K. (2012). Meer bekend over het optreden van Lissers bij hyacint. *BloembollenVisie* 2012 (245). - p. 24 - 25.

