

Opsporen oorzaak zwarte spikkels in radijs

Jan Janse, Pim Paternotte (PPO) & Frans Zoon (voorheen PRI/PP0)

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Glastuinbouw
augustus 2006

Projectnr.: 3241708500

© 2006 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

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



Projectnummer PPO : 3241708500
Projectnummer PT : 12328

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Glastuinbouw

Adres : Kruisbroekweg 4, Naaldwijk
: Postbus 8, 2670 AA Naaldwijk
Tel. : 0174 - 63 67 00
Fax : 0174 - 63 68 35
E-mail : info.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.wur.nl

Samenvatting

Een aantal radijstelers heeft vooral in de langere teelten last van zwarte spikkels op de knollen. Vaak blijven de knollen achter in groei en hebben bossige wortels. Dit kan voor de betreffende telers een flinke schadepost betekenen.

In een onderzoek is nagegaan waardoor dit verschijnsel wordt veroorzaakt en mogelijk kan worden voorkomen. Het onderzoek bestond ondermeer uit een literatuurstudie, enquête onder telers en adviseurs, analyse van grondmonsters op aaltjes en een aantal teeltproeven om de oorzaak van het verschijnsel te achterhalen. Het onderzoek is uitgevoerd in opdracht van het Productschap Tuinbouw.

In het onderzoek zijn sterke aanwijzingen verkregen dat het vrijlevende aaltje *Rotylenchus uniformis* betrokken is bij het ontstaan van zwarte spikkels. Vermoedelijk prikken de aaltjes met hun goed ontwikkelde mondstekel de knollen aan en ontstaan later onder bepaalde, hoogstwaarschijnlijk vochtige omstandigheden, op de aanprikplaatsen zwarte spikkels. De verkleuring zelf is waarschijnlijk fysiologisch van aard. Ziekteverwekkende schimmels en bacteriën lijken hierbij geen rol te spelen. Veelal konden namelijk uit de zwarte spikkels geen ziekteverwekkers worden geïsoleerd. In enkele gevallen konden wel schimmels en bacteriën in spikkels worden aangetoond, maar het lukte niet om hiermee het verschijnsel bij radijs op te wekken.

Bij weinig of geen *Rotylenchus*-aaltjes in de grond is de kans op zwarte spikkels niet groot. Droog telen tijdens de periode van knolvorming is zeer effectief in het tegengaan van zwarte spikkels. Door in deze fase spaarzaam te zijn met water, werd het aantal spikkels op de knollen in een proef met zo'n 85% verminderd. Dit wordt ondersteund door ervaringen van telers. De knollen kunnen hierdoor wel wat kleiner blijven. De schadegrens van *Rotylenchus* ligt bij radijs waarschijnlijk rond de 500 aaltjes per 100 ml grond, maar zal in korte en lange teelten respectievelijk hoger en lager liggen. In grondmonsters genomen van radijsbedrijven zijn tot bijna 1300 *Rotylenchus*-aaltjes per 100 ml aangetroffen.

Rotylenchus kan worden bestreden door middel van stomen en hoogstwaarschijnlijk ook door het toepassen van biologische grondontsmetting. Om zwarte spikkels zoveel mogelijk te voorkomen zal tijdens de periode van knolvorming geen of slechts spaarzaam water gegeven moeten worden.

SAMENVATTING.....	3
1 INLEIDING	7
2 MOGELIJKE PATHOGENEN BETROKKEN BIJ ZWARTE SPIKKELS	9
2.1 Rotylenchus.....	9
2.2 Schimmels	10
3 INVENTARISATIE PRAKTIJKBEDRIJVEN.....	11
3.1 Materiaal en methoden.....	11
3.2 Resultaten en discussie	11
4 ANALYSE GRONDMONSTERS VAN PRAKTIJKBEDRIJVEN	15
4.1 Materiaal en methoden.....	15
4.2 Resultaten.....	15
4.3 Discussie en conclusies	18
5 EXPERIMENTELE BEHANDELINGEN MET BESMETTE GROND	19
5.1 Labonderzoek naar ziekteverwekkers als veroorzakers van zwarte spikkels	19
5.1.1 Materiaal en Methoden	19
5.1.2 Resultaten en discussie.....	19
5.2 Eerste kasproef met besmette grond in containers	20
5.2.1 Materiaal en methoden.....	20
5.2.2 Resultaten en discussie.....	21
5.3 Tweede kasproef met besmette grond in containers.....	21
5.3.1 Materiaal en methoden.....	21
5.3.2 Resultaten.....	22
5.3.3 Discussie	23
6 ISOLATIE VAN MOGELIJKE PATHOGENEN IN ZWARTE SPIKKELS	25
6.1 Materiaal en methoden.....	25
6.2 Resultaten en discussie.....	25
7 REPRODUCTIE ZWARTE SPIKKELS MET ISOLATEN UIT RADIJS	27
7.1 Materiaal en methoden.....	27
7.2 Resultaten en discussie	27
8 DISCUSSIE EN CONCLUSIES	29
LITERATUUR.....	31

1 Inleiding

Op verschillende radijsbedrijven komen in vooral de wat langere teelten, namelijk in de herfst, winter en het voorjaar, zwarte spikkels op de radijsknollen voor. Bij ernstige aantasting worden de knollen hierdoor onverkoopbaar en moeten eruit worden geselecteerd. Vooral bij het machinaal bossen is dit uitermate lastig en kost dit de betreffende telers veel arbeid en geld.

Het knolletje dat later zwarte spikkels vertoont, blijft veelal aanvankelijk achter in groei. Later heeft het meestal een warrige pruik met wortels: vaak ontbreekt de hoofdwortel en zijn er veel haarwortels aanwezig. Bij eerdere analyses van radijsknollen door een zaadbedrijf konden er geen relaties worden gelegd tussen zwarte spikkels en bepaalde schimmels of bacteriën. Op één bedrijf dat last had van spikkels op de knollen is in 2003 en 2004 regelmatig grond getest op plantenparasitaire wortelaaltjes. Er leek hierbij een relatie te zijn tussen het optreden van de spikkels op de knollen en de aanwezigheid van het vrijlevende aaltje *Rotylenchus* (Zeeuw, 2003). Soms komen er echter ook spikkels voor, terwijl het betreffende aaltje niet in de grond kan worden aangetoond.

De hypothese is dat dit aaltje met zijn mondstekel plantencellen aanprikt. Bij een ernstige aantasting zijn de beschadigde cellen waarschijnlijk later op de knol zichtbaar als zwarte of bruine spikkels. Mogelijk spelen verschillende factoren een rol bij het optreden van het verschijnsel, zoals grondsoort, vochtigheid van de grond, klimaat, en dergelijke.

In een onderzoek is getracht om de oorzaak van zwarte spikkels in radijs op te sporen. Het onderzoek bestond uit verschillende onderdelen, waaronder:

- Analyse van grondmonsters op vrijlevende aaltjes van plaatsen op bedrijven met wel en geen spikkels.
- Inventarisatie van teeltmaatregelen, rassen en dergelijke in situaties met en zonder problemen.
- Oproepen van symptomen in kas of laboratoriumsituatie
- Experimentele behandelingen in containers met besmette grond
- Isolatie en mogelijke determinatie van potentiële ziekteverwekkers
- Uitvoeren van proef naar het ziekteverwekkend vermogen van geïsoleerde schimmels of bacteriën al dan niet in combinatie met aaltjes.

Daarnaast is er ook in de literatuur gezocht naar mogelijke effecten van *Rotylenchus* bij radijs of andere gewassen en is de beschikbare kennis op een rijtje gezet. Eveneens is in de literatuur gezocht naar schimmels die het verschijnsel mogelijk ook zouden kunnen veroorzaken.

2 Mogelijke pathogenen betrokken bij zwarte spikkels

Omdat er aanwijzingen waren dat het vrijlevende aaltje *Rotylenchus* mogelijk te maken had met het optreden van zwarte spikkels in radijs, is in de literatuur en op het internet informatie verzameld over dit aaltje. Daarnaast is er nog informatie opgezocht over eventuele schimmels als kandidaat-veroorzaker. Hieronder staan enkele belangrijke gegevens over het betreffende aaltje en een aantal schimmels.

2.1 Rotylenchus

Rotylenchus uniformis (= *R. robustus*) is een vrijlevend plantenparasitair aaltje dat vanaf de buitenkant de wortels aanprijkt en zich voedt met de celinhoud (een zogenaamde ecto-parasiet). *Rotylenchus*-aaltjes hebben een goed ontwikkelde mondstekel van 41 – 50 μm lang en kunnen urenlang op één plek aan de wortel of knol zuigen. De symptomen zijn vaak onduidelijk en bestaan onder andere uit slechte groei, vertakte, bossige of stoppelige wortels en soms wortelrot (Stemerding en Kuiper, 1968; Bongers, 1988; Castillo en Vovlas, 2005).

Het is met een lengte van 1-2 mm een tamelijk groot aaltje dat een voorkeur heeft voor een lichte zandige grond. De overleving over een braakperiode van een half jaar bedraagt gewoonlijk circa 50%.

Rotylenchus uniformis heeft een relatief lange generatietijd (100 dagen bij 23 °C). Bij een geschatte drempel van 5 °C komt dat op een temperatuursom van $DD_5 = 1800$ graaddagen. De eiperiode duurt ruim twee weken en de helft van de generatieduur wordt ingenomen door het 4^e juveniele stadium. De hoogste populatiedichtheid zou doorgaans gevonden worden rond augustus-september (CIH, 1972; Bongers, 1988; Boag en Neilson, 1996).



Figuur 1: Rotylenchus-aaltje zuigend aan een plantenwortel.

In de volgende tabel wordt voor een aantal gewassen de besmettingsgraad en symptomen weergegeven.

Tabel 1: Gewassen met schade door Rotylenchus en de globale schadeniveaus per 100 ml grond

gewas	besmetting		Symptoom	referentie
	Licht	Zwaar		
Aardbei	<75	>300		Anonymus, 1981
Lelie (alluviaal zand)	<30	>100		Anonymus, 1981
Gladiool (alluviaal zand)	<300	>600		Anonymus, 1981
Zaai-Freesia (alluv. zand)	<200	>600		Anonymus, 1981
Coniferen	<100	>400	Wortelrot, 'late wortelbrand'	Anonymus, 1981
Vaste planten	<250	>750		Anonymus, 1981
Peen	<100	>500	Gestopte of vertakte penwortel	Anonymus, 1981

Sla			Dwerggroei en groeireductie	Lear et al, 1969
Andijvie			Wortelrot en slechte groei	Stemerding et al, 1968
Schorseneer				Oomen et al, 1999
Radijs			Bossige wortels, slechte groei	PD archief; Zeeuw, 2003
Biet	?	?		Molendijk, 2000
Erwt			Wortelrot, interactie met <i>Fusarium</i>	Ouden en Labruyere, 1959

Peen is een goede waardplant en daarnaast tamelijk gevoelig, mede doordat kwaliteitsschade ontstaat als gevolg van het vertakken van de wortel. Bij peen bleek de schadedrempel afhankelijk van de temperatuur. Bij 8 °C was er al schade vanaf 45 *Rotylenchus*-aaltjes per 100 ml, maar bij 20 °C pas vanaf 1050 per 100 ml (omgerekend uit Seinhorst persoonlijke mededeling; in Potter & Olthof, 1993). Ook de grondsoort zal waarschijnlijk van invloed zijn op de schade: bij zand meer schade en een hoog gehalte klei geeft minder schade. De rol van organische stof is niet bekend.

Ook in sla kan schade ontstaan, terwijl ook vermeerdering optreedt (Lear et al, 1969).

Bij radijs treedt vertakking van de wortels en groeireductie op (v.d. Sommen PD, persoonlijke mededeling, 2005).

2.2 Schimmels

De vraag is voornamelijk of *Rotylenchus* bijdraagt aan 'spikkel'-symptomen bij radijs in de langere teelten. Mogelijk is een ander pathogeen de veroorzaker van spikkels, met name onder koude en natte omstandigheden. Onder de schimmels zijn verschillende kandidaat-veroorzakers die enigszins vergelijkbare symptomen geven op radijs.

Eén van de mogelijke veroorzakers van spikkels in radijs is *Rhizoctonia solani* (Oomen et al, 1999). De gevonden symptomen komen deels overeen met de beschrijving in de Gewasbeschermingsgids: "Op de knol ingezonken, grijsbruin tot zwart gekleurde, rotte plekken, die deels bovengronds en deels ondergronds te vinden zijn". Gezien de natte en koude omstandigheden waarbij veel spikkels optreden zou het moeten gaan om een 'koude' stam van *Rhizoctonia*, maar ook lijkt een mogelijke rol van de oömyceten *Pythium* of *Aphanomyces* niet geheel uitgesloten.

Aphanomyces raphani kan radijs in elk stadium infecteren. Vroege aantasting geeft wegval van zaailingen met zwartverkleuring van wortels en hypocotyl. Latere infectie geeft kratervormige plekkjes. Koude en natte gronden stimuleren de aantasting. Gebruik van opgehoogde bedden, goede drainage, rotatie en sanitatie worden genoemd als maatregelen. Fungiciden zijn althans in de USA niet beschikbaar (TPDH, 2004). Volgens sommige bronnen is voor *Aphanomyces raphani* juist een hoge temperatuur en vochtigheid bevorderlijk (Kühn, 2006).

Andere kandidaten zijn *Alternaria* spp., waaronder *A. raphani* Groves & Skolko (= *A. Japonica* Yoshii = *A. mattiola*) de meest pathogene is. Deze schimmel is vooral bekend op blad en peulen met overeenkomende gezwollen kleine infecties die later invallen en zwartgrijs gaan sporuleren (Mc Lean, 1947), maar ook op de knollen van rettich (= *R. sativus*) in koude bewaring met name na verwonding (Su et al, 2005). Dit zou een aanwijzing kunnen zijn naar een interactie met verwonding en/of groeischeurtjes door aaltjes. De verwante *Alternaria brassicae* houdt van vocht en is bij wat hogere temperatuur actief (Seeds of SVS, 2006). Deze schimmels gaan over via gewasresten en zaad.

Een synergistische interactie van *Rotylenchus* met bodemschimmels (*Fusarium*) is waargenomen bij wortelrot in erwt (Ouden en Labruyere, 1959) en bij coniferen. Het is mogelijk dat *Rotylenchus* of andere ectoparasitaire aaltjes vergelijkbaar bijdragen aan het optreden van spikkels bij radijs.

3 Inventarisatie praktijkbedrijven

Op praktijkbedrijven die last hadden van zwarte spikkels zijn de telers ondervraagd om mogelijke aanknopingspunten te vinden voor de oorzaken van dit verschijnsel.

3.1 Materiaal en methoden

Aan de telers zijn verschillende vragen gesteld. Verder is ook contact opgenomen met adviseurs van zaadbedrijven, omdat zij op veel radijsbedrijven komen. De gesprekken op de bedrijven vonden meestal gelijktijdig plaats met het nemen van grondmonsters. De letters achter de telers corresponderen met de letters in tabel 2 in Hoofdstuk 4.

3.2 Resultaten en discussie

Hieronder wordt puntsgewijs een overzicht gegeven van mogelijke oorzaken/aanknopingspunten van het optreden van zwarte spikkels die naar voren kwamen in gesprekken met telers en vertegenwoordigers van zaadbedrijven.

Periode van optreden

De ervaring van veel telers is dat zwarte spikkels vooral in de periode voorkomen dat de uitgroeiduur van de radijs relatief lang is, dus in de herfst, winter en (vroeg) voorjaar.

Volgens teler M zou het 20 jaar geleden ook al zijn opgetreden. Zo'n 80% van de radijs zou toen in het voorjaar onder de spikkels hebben gezeten.

Grondsoort

De indruk is dat zwarte spikkels vooral in radijs geteeld op zandgronden te zien zijn.

Vochtigheid grond/watergift

Verschillende telers (ondermeer Z, H, V en M) gaven aan dat het verschijnsel voornamelijk optreedt op vochtige plaatsen. Dit kan mede veroorzaakt worden door structuurproblemen in de grond of een hoger humusgehalte. Veel watergeven in het fase van knolvorming zou het verschijnsel stimuleren. Hoewel dit groei kan kosten, geeft ondermeer teler H daarom bewust weinig water in deze fase van de teelt. Hiermee kan hij problemen met spikkels grotendeels voorkomen.

Sinds teler M de bovenlaag van de grond vrij droog houdt, heeft hij nauwelijks problemen meer met zwarte spikkels.

Omdat de eerste kap langs de gevel extra water kan krijgen door een dubbele regenleiding, kan deze ook vochtiger zijn en spikkels geven. Dit werd genoemd door V: in twee verschillende kassen van V was dit op twee tijdstippen het geval. Bij één ondervraagde teler die jaren geleden last had van zwarte spikkels, traden de problemen op toen hij de drainput had afgesloten, dus toen het grondwater hoger kwam te staan en de grond vochtiger werd. Andere telers gaven echter aan dat zwarte spikkels niet persé op vochtige plaatsen voorkomen.

In de zomer zouden er minder problemen met zwarte spikkels optreden omdat de bovenlaag dan gauw droog is (teler H).

Grond blank zetten/doorspoelen

Z had de ervaring dat op één plaats waar hij per ongeluk de regenleiding aan had laten staan, in de volgende teelt geen zwarte spikkels waren opgetreden en op andere plaatsen in de kas wel.

Bemesting.

Teler Z heeft enkele jaren geleden spoorelementen toegediend, maar zag daarvan geen effect. Hij is daarna

hiermee gestopt, mede omdat er in slotwater al voldoende spoorelementen zitten. Door calcium toe te dienen zouden de celwanden sterker kunnen worden. Bij teler Z leek na het strooien van kalk (150 kg/are) er wat minder problemen op te treden.

Grondbewerking

De ervaring van teler Z is dat er na spitten van de grond de aantasting van zwarte spikkels wordt gereduceerd. Toen teler M op zijn zandgrond de grond ging spitten in plaats van frezen, waren de problemen met zwarte spikkels over. Mogelijk komt dit door het sneller opdrogen van de bovengrond of het naar diepere lagen werken van de ziekteverwekker. Teler H heeft goede ervaringen met het lostrekken van de grond met behulp van een woeltand achter de tractor. Dit duidt toch op het effect van het droger worden van de bovenste laag.

Ras

De meeste telers en adviseurs hadden niet de indruk dat er verschillen in rasgevoeligheid waren in het optreden van zwarte spikkels. Volgens M zouden de problemen echter meer optreden bij het ras Corox met dan bij Janox. Volgens H zou het ras Ultimar gevoeliger zijn dan andere rassen.

Voorvrucht

Eén teler die startte in een nieuw gebouwde kas met als voorvrucht suikerbieten, kreeg ook last van zwarte spikkels. Van suikerbieten is bekend dat deze *Rotylenchus*-aaltjes en ziekteverwekkende schimmels zoals *Rhizoctonia* vermeerderen (zie Hoofdstuk 2). Nadat de betreffende teler de grond had gestoomd, heeft hij geen radijs meer met zwarte spikkels gevonden.

Aaltjes

Teler Z heeft sterk de indruk dat de slechtere groei, vorming van veel zijwortels en zwarte spikkels (mede) veroorzaakt worden door *Rotylenchus*-aaltjes. In de afgelopen jaren heeft hij verschillende monsters laten nemen om te toetsen op vrijlevende aaltjes. Veelal kwam het betreffende aaltje in vrij hoge concentraties voor op de plaatsen met achterblijvende groei, bossige wortels en zwarte spikkels. Het aaltje zou de knol aanpakken en aan de wortels zuigen. Een andere geïnterviewde teler die enkele jaren geleden veel last had van spikkels en achterblijvende groei, gaf aan dat ook bij hem veel *Rotylenchus*-aaltjes waren gevonden op de meestal vochtige plekken met problemen. Nadat hij van de aaltjes af was, waren de problemen over.

Schimmels en bacteriën

Enkele zaadbedrijven en de voorlichtingsdienst hebben in het verleden radijsknollen met zwarte spikkels verschillende malen onderzocht op pathogenen (onder andere *Rhizoctonia*), maar hebben geen schimmel of bacterie als primaire veroorzaker kunnen vinden. Een geïnterviewde teler gaf aan dat er in het verleden bij hem geen relatie kon worden gelegd tussen het pleksgewijs optreden van zwarte spikkels en schimmels en/of (vrijlevende) aaltjes.

Jaarrondeelt

Op veel bedrijven wordt jaren achterelkaar continu radijs geteeld zonder te stomen. Zo wordt op bedrijf D al sinds 1991 vrijwel onafgebroken radijs geteeld zonder te stomen. Sinds circa 8 jaar had men daar last van achterblijvende groei en zwarte spikkels. Op dit bedrijf was het aantal *Rotylenchus*-aaltjes ook erg hoog (zie tabel 2 in Hoofdstuk 4).

Stomen

Volgens teler Z is goed stomen (indien mogelijk met onderdruk) erg belangrijk. Na het stomen is men enige tijd (één jaar?) vrij van spikkels, maar het verschijnsel komt later weer terug. Bij één teler trad het probleem niet meer op na één keer stomen. Dit duidt hoogstwaarschijnlijk op een pathogeen als veroorzaker van zwarte spikkels. In de radijsteelt wordt echter steeds minder gestoomd in verband met de komst van fusariumresistente rassen en de hoge kosten. Teler H had echter geen positieve ervaring met stomen: volgens hem hielp stomen niets.

Middelen

Met uitzondering van dazomet (Basamid), zijn bestrijdingsmiddelen tegen aaltjes in radijs niet toegestaan. Savitan (soort plantversterker) van Deruned zou bij Z de problemen wat verminderd hebben. Op labschaal blijkt dit middel repellent voor aaltjes, maar Savitan doodt ze niet (getoetst bij 10 x zo hoge concentratie als geadviseerd).

Verspreiding

De ervaring van teler Z is dat zwarte spikkels op de radijs pleksgewijs begint en later over het gehele bedrijf voorkomt. De mogelijke ziekteverwekker zou door gebruik van grondbewerkings- en oogstmachines worden verspreid.

4 Analyse grondmonsters van praktijkbedrijven

Gedurende het onderzoek zijn in 2005 van verschillende bedrijven grondmonsters genomen waarin het aantal en soort vrijlevende aaltjes is bepaald.

4.1 Materiaal en methoden

De adressen van bemonsterde bedrijven zijn verkregen naar aanleiding van herhaalde oproepen in nieuwsbrieven radijs LTO-Groeiservice, via verzonden brieven naar radijstelers, leden landelijke radijscommissie en adviseurs zaadbedrijven. Een aantal bedrijven is in de loop van de tijd verschillende keren bezocht en er zijn grondmonsters genomen.

Indien mogelijk zijn zowel monsters genomen van de grond op plekken waar radijs stond met zwarte spikkels als in kasgedeeltes met radijs zonder zwarte spikkels. Omdat de problemen hoogstwaarschijnlijk in de bovenste grondlaag ontstaan, zijn de monsters vrij ondiep genomen (circa bovenste 10 cm). De analyses op aaltjes zijn steeds uitgevoerd door het BLGG.

4.2 Resultaten

Tijdens de onderzoeksperiode zijn in totaal 23 monsters genomen afkomstig van acht verschillende bedrijven.

In tabel 2 zijn per monsternamen de gevonden symptomen en hoeveelheid aaltjes per soort weergegeven en wordt enige achtergrondinformatie gegeven.

Tabel 2: Aantal gevonden vrijlevende aaltjes in grondmonsters genomen op verschillende radijsbedrijven en tijdstippen van monstername.

Bedrijf	Datum	Symptoom	<i>Rotylenchus</i>	<i>Tylenchorhynchus</i>	Opmerkingen
D	050405	enige spikkels, groei problemen in voortelt peen	840	180	voorvrucht peen
D	050405	enige spikkels, dwerggroei, bossige wortels radijs	1280	320	voorvrucht peen
D	050405	geen zichtbare afwijking	875	145	voorvrucht peen
Z	200105	spikkels en groeiachterstand	935	0	meestal op vochtige plekken
Z	200105	gezond	0	25	
Z	101005	'zuigplekjes', niet zwart verkleurd	695	0	extra water: overlapping in watergeven i.v.m. verschil in zaaitijdstip
Z	101005	geen afwijkingen	165	0	
H	nov 04	groeiachterstand en enige spikkels	700	0	
H	030205	enige spikkels; geen groeiachterstand	35	0	
H	030205	gezond	0	55	
H	250305	spikkels	35	0	achterin kas
H	250305	gezond	0	5	bij pad
H	050405	veel spikkels, groeiachterstand, vergroeiing	0	40	veel water gegeven; ook 5 Heteroderidae jnv.
H	050405	enige spikkels	0	0	weinig water gegeven: drogere plek; 5 <i>P.crenatus</i>
B	voorjaar 05	groeiachterstand	560		
J	220405	knollen met enkele spikkels	0	0	vochtige plek met relatief veel organische stof
J	220405	gezond	0	0	droger
M	080405	enkele spikkels	0	0	recent water gegeven
M	080405	gezond	0	0	niet recent water gegeven, droge plek
V	150605	zwarte spikkels bij 2% van knollen	80	0	vooral langs gevel met dubbele sproeiers: nat
V	071205	veel en grote zwarte spikkels in vrijwel alle knollen	820	0	langs gevel erg nat i.v.m. dubbele regenleiding
Y	051005	spikkels en slechte wortels	825	0	
Y	051005	gezond	110	0	

Verschillende malen was de hoeveelheid *Rotylenchus*-aaltjes hoog op de plaatsen in de kas met radijs met spikkels, terwijl er op de plek in de kas met weinig of geen problemen relatief weinig of geen *Rotylenchus*-aaltjes zijn gevonden. Dit was ondermeer het geval op bedrijf Z op 20 januari en 10 oktober en op bedrijf Y op 5 oktober. Bij H waren de aantallen *Rotylenchus*-aaltjes veel lager, maar ze kwamen uitsluitend voor op plekken met spikkels.

Hoge aantallen aaltjes zijn ook gevonden op probleemplekken bij V (7 december), H (11 april), B en in mindere mate bij V op 15 juni. Bij D waren de aaltjes op alle onderzochte plekken in de kas erg hoog. Hier werden ook veel *Tylenchorhynchus*-aaltjes aangetroffen. Op dit bedrijf werd sinds 1991 vrijwel continu radijs geteeld zonder te stomen. Alleen de laatste twee jaar werd in de winter peen geteeld.

In sommige gevallen (bedrijf J en M) werden er zowel op de plekken in de kas waar de radijs enige spikkels had als op plekken zonder spikkels géén vrijlevende aaltjes aangetroffen.

Van de radijs met spikkels afkomstig van een aantal telers zijn verschillende foto's gemaakt. Hieronder zijn een aantal verschillende stadia van zwarte spikkels weergegeven.



Figuur 2: Radijs met zwarte spikkels, soms wat ingevallen.



Figuur 3: Variatie in grootte van zwarte spikkels. Soms ontstaan scheurtjes op de spikkels.



Figuur 4: Radijs met veel zwarte spikkels



Figuur 5: Zeer ernstig aangetaste knol.



Figuur 6: Close up-opname van wat grotere en lichter gekleurde plekjes.



Figuur 7: Lichtgekleurde plekjes, waarschijnlijk ontstaan als gevolg van aanprikken aaltje in jong stadium, maar niet zwart verkleurd.

4.3 Discussie en conclusies

Uit de inventarisatie lijkt naar voren te komen dat de vrijlevende *Rotylenchus*-aaltjes betrokken zijn bij het optreden van zwarte spikkels. Soms komt echter radijs met spikkels voor, terwijl er geen *Rotylenchus*-aaltjes in de grond konden worden aangetoond. Er lijken dus niet altijd *Rotylenchus*-aaltjes nodig te zijn om zwarte spikkels te veroorzaken. Opvallend is dat het verschijnsel meestal optreedt op plaatsen die vrij vochtig waren. Dit kan bijvoorbeeld veroorzaakt worden door structuurverschillen in de grond of door teveel water geven, onder andere langs de gevel met een dubbele regenleiding. Dit was ondermeer het geval bij teler V (figuur 5).

Soms zijn de spikkels niet zwart, maar wat bruinig verkleurd (figuur 6) of zijn alleen zichtbaar als licht gekleurde vlekjes (figuur 7). De lichtgekleurde vlekjes zijn waarschijnlijk het gevolg van het aanprikken en zuigen van het vrijlevende aaltje in een jong stadium. Het aantal *Rotylenchus*-aaltjes was namelijk ook hoog bij deze herkomst, namelijk zo'n 700 aaltjes per 100 ml grond.

Op de meeste bedrijven werd jaarrond radijs geteeld. Door continu hetzelfde gewas te telen, zou het probleem verergerd kunnen worden.

Ondanks veel inspanningen viel het aantal bedrijven dat reageerde op de oproepen via brieven en de nieuwsbrief radijs tegen. Niet alle benaderde telers met zwarte spikkels wilden ook meewerken aan het onderzoek. Soms werd het verschijnsel door telers niet echt als een groot probleem ervaren, waarschijnlijk mede omdat er bij de keur niet altijd evengoed op gelet wordt.

5 Experimentele behandelingen met besmette grond

Uit de inventarisaties onder praktijkbedrijven lijkt naar voren te komen dat het vrijlevende *Rotylenchus*-aaltje betrokken is bij het ontstaan van zwarte spikkels. Om te onderzoeken of dit aaltje inderdaad een rol speelt en of hierbij ook één of meerdere schimmels in het spel zijn, is eerst op het Plant Research International (PRI) op labschaal een proef uitgevoerd. Daarna zijn op het PPO op grotere schaal twee onderzoeken in grote containers gedaan. Daarbij is getracht om met behulp van een aantal (bestrijdings)middelen bepaalde schimmels of juist aaltjes uit te schakelen. Hieronder worden deze proeven beschreven.

5.1 Labonderzoek naar ziekteverwekkers als veroorzakers van zwarte spikkels

Door de Franse student Romain Roye is onder begeleiding van Frans Zoon op het PRI op labschaal een onderzoek uitgevoerd om na te gaan welke ziekteverwekkers (pathogenen) een rol spelen bij het ontstaan van zwarte spikkels. Ook is het effect van de temperatuur tijdens het knolstadium bekeken, omdat de problemen vooral optreden in de langere teelten als de temperaturen relatief laag zijn. In dit hoofdstuk wordt in het kort ingegaan op de proefopzet en resultaten.

5.1.1 Materiaal en Methoden

Door selectieve toevoeging of uitschakeling is getracht om het pathogeen dat mogelijk zwarte spikkels veroorzaakt, op te sporen.

Het onderzoek is uitgevoerd in juni en juli 2005 in kleine plastic containers (8 x 4 cm) gevuld met bemest zilverzand. Per container werd er één radijsplantje ingezet. Toen de knolletjes een diameter hadden van circa 0,5 cm, is aan de plantbasis rondom de knolletjes een extra zandlaagje aangebracht met daarin al dan niet een suspensie van grond afkomstig van herkomst D (zie tabel 2). Om bepaalde groepen van pathogenen uit te schakelen werd er bij sommige behandelingen bestrijdingsmiddelen toegevoegd.

Behandelingen:

Code	Behandeling
A	Schoon zand (controle)
B	Zand + complete grondsuspensie (met alle pathogenen)
C	Zand + grondsuspensie zonder aaltjes (verwijderd via zeven)
D	Zand + grondsuspensie zonder Oömyceten via toevoeging van propamocarb (Previcur)
E	Zand + grondsuspensie zonder Hyphomyceten via toevoeging van iprodion (Rovral)

In de eerste periode is onderlangs watergegeven, in de laatste twee weken ook bovenlangs om de grond rondom het knolletje goed vochtig te houden.

De proef is uitgevoerd in een klimaatkast en klimaatkamer. De helft van de plantjes stond na de uitvoering van de behandelingen bij continu 15 °C gedurende de dag en de nacht en de andere helft bij een dag/nachttemperatuur van 12/8 °C. De daglengte was 16 uur.

Per behandeling waren er negen containers met één radijsplantje.

De zwarte spikkels zijn beoordeeld volgens een index, namelijk 1 = 1-3 spikkels, 2 = 4-9 spikkels, 3 = 10-30 spikkels en 4 = meer dan 30 spikkels per knol.

5.1.2 Resultaten en discussie

In de labproef is het gelukt om het verschijnsel van spikkels op te wekken.

In tabel 3 worden de resultaten van de beoordelingen weergegeven.

Tabel 3. Resultaten beoordeling op zwarte spikkels en lesies in labproef PRI 2005

Code	Behandeling	Spikkel index	Grote gelige lesies
A	Controle	0,4 a ¹⁾	0,0 a ¹⁾
B	Grondsuspensie compleet	1,4 b	0,1 a
C	Grondsuspensie zonder aaltjes	0,6 a	0,0 a
D	Grondsuspensie zonder Oomyceten (+ Previcur)	1,5 b	0,1 a
E	Grondsuspensie zonder Hyphomyceten (+ Rovral)	0,1 a	2,2 b

¹⁾ een verschillende letter achter de getallen betekent dat de behandelingen onderling betrouwbaar verschillen

- Twee behandelingen waarin aaltjes voorkomen (B en D) geven betrouwbaar meer zwarte spikkels dan de behandelingen zonder aaltjes (A en C).
- In behandeling E komen weliswaar ook aaltjes voor, maar op de knollen zijn in deze behandeling juist grote gelige lesies gesignaleerd. Mogelijk zijn de knollen onder de continu vochtige proefomstandigheden fytotoxisch voor de gebruikte concentratie (0,2%) aan Rovral in de grond rondom de knol.

De zwarte spikkels waren meestal klein (1 mm) en onderhuids. Ze waren in het begin veelal iets opgezwollen en later wat ingevallen in het midden. De gelige lesies in behandeling E waren groter (2-6 mm) en ingevallen. Er is geen betrouwbaar effect van de temperatuur tijdens de groei op de hoeveelheid spikkels geconstateerd.

Uit deze labproef komt dus naar voren dat aaltjes waarschijnlijk betrokken zijn bij het ontstaan van zwarte spikkels, omdat zwarte spikkels het minst voorkwamen bij de behandelingen zonder aaltjes. De labproef heeft echter geen uitsluitel gegeven of er ook een (secundaire) schimmel bij betrokken is. In grootschaliger kasproeven is dit aspect nogmaals bekeken.

5.2 Eerste kasproef met besmette grond in containers

5.2.1 Materiaal en methoden

Voor deze proef is grond verzameld bij teler Z die op verschillende plaatsen in de kas al verschillende jaren last heeft van zwarte spikkels in zijn radijs. De grond is genomen van een gedeelte in de kas waar begin oktober 2005 de eerste verschijnselen van spikkels werden waargenomen. De spikkels waren echter (nog) niet zwart verkleurd (zie figuur 7 Hoofdstuk 4). Het plekje leken sterk op zuigpuntjes. Soms waren kleine kratertjes in de schil zichtbaar of was de schil wat exceemachtig. Het aantal *Rotylenchus*-aaltjes bedroeg toen bijna 700 aaltjes per 100 ml grond.

In de proef waren de volgende behandelingen opgenomen:

Behandeling:	Dosering:	Werkzaam tegen:
Controle nat	nvt	nvt
Controle droog	nvt	nvt
Nemacur	20 g/m ²	Aaltjes
SA2-product ¹⁾	33 g/m ² (505 perlietformulering)	Aaltjes en waarschijnlijk ook schimmels
Aaterra	10 g/m ²	Phycomyceten: Pythium, Phytophthora en Aphanomyces
TMTD/Thiram	5 g/m ²	Breedwerkend schimmelmiddel
Benzamidazool/Carbendazim	250 ml/m ³	Alle schimmels behalve phycomyceten, nevenwerking tegen aaltjes

¹⁾ experimenteel middel tegen aaltjes ontwikkeld door PRI

Overige gegevens:

Kas	PPO-kas 301-1 (17 m ²)
Uitvoering behandelingen	14 november 2005
Teeltmedium	Zandgrond afkomstig van teler met veel <i>Rotylenchus</i> -aaltjes
Inhoud containers	10 l
Zaaidatum	17 november 2005
Zaaidichtheid	240 zaden/m ² , dat is circa 15 zaden per container
Ras	Donar (S&G)
Oogstdatum	17 februari 2006
Herhalingen	Per behandeling 7 containers met 15 knolletjes
Watergift	Eerst vooral bovenaf water gegeven via druppelaars en slang, later vooral via schotels onder container. Getracht is de grond goed vochtig te houden
Ziektebestrijding	Geen (er is géén Previcur tegen valse meeldauw toegepast i.v.m. verstoring proef)

Tussen de uitvoering van de behandelingen en het zaaien zat enige dagen in verband met de fytotoxiciteit van onder andere het middel SA2.

Alle behandelingen (behalve controle droog) kregen ongeveer evenveel water. Bij de droge controlebehandeling is spaarzaam water gegeven.

5.2.2 Resultaten en discussie

Bij de beoordeling op de oogstdatum zijn helaas bij geen enkele behandeling spikkels op de knollen aangetroffen. Het verschijnsel van zwarte spikkels kon in de proef dus niet worden opgewekt. Mogelijk is in het stadium van knolvorming de bovengrond toch niet nat genoeg geweest. In verband met de kans op het optreden van valse meeldauw is in dit stadium namelijk vooral via de schotels, dus onderaf, watergegeven.

Het percentage gescheurde knollen was met 13% bij de droge controlebehandeling duidelijk het laagst. Bij de overige behandelingen varieerde het percentage gescheurde knollen van 42 tot 52%.

Het aantal *Rotylenchus*-aaltjes aan het einde van de proef was bij de natte controlebehandeling, de behandeling met Nemacur en SA2 respectievelijk 335, 25 en 300 aaltjes per 100 ml grond. Nemacur heeft dus duidelijk effect gehad op het aantal aaltjes en het experimentele middel SA2 niet.

Ondanks maatregelen om het probleem op te wekken, is dit in deze proef dus niet gelukt. Daarom is de proef daarna herhaald met enkele aanpassingen: gebruik maken van grond van een andere teler met veel zwarte spikkels en aaltjes én de grond tijdens de proef nog vochtiger houden.

5.3 Tweede kasproef met besmette grond in containers

5.3.1 Materiaal en methoden

Voor de tweede proef in containers is begin december zandgrond verzameld bij teler V met een ernstige aantasting van spikkels. Het aantal *Rotylenchus*-aaltjes bedroeg toen 800 aaltjes per 100 ml grond. Omdat de proef begin maart is ingezet, is de grond in de tussentijd bewaard bij circa 6 °C. Op het moment dat de proef werd ingezet, is de grond nogmaals geanalyseerd op aaltjes. Er waren toen 820 *Rotylenchus*-aaltjes per 100 ml grond aanwezig. Het aantal aaltjes was tijdens de bewaring dus niet teruggelopen.

In de proef zijn de volgende behandelingen uitgevoerd:

<i>Behandeling:</i>	<i>Dosering:</i>	<i>Werkzaam tegen:</i>
Controle nat	nvt	nvt
Controle droog	nvt	nvt
Nemacur	20 g/m ²	Aaltjes
SA2-product ¹⁾	66 g/m ² (505 perlietformulering)	Aaltjes en waarschijnlijk ook schimmels
Aaterra	10 g/m ²	Phycomyceten: Pythium, Phytophthora en Aphanomyces
TMTD / Thiram	5 g/m ²	Breedwerkend schimmelmiddel
Benzamidazool/Carbendazim	250 ml/m ³	Alle schimmels behalve phycomyceten, nevenwerking tegen aaltjes

¹⁾ experimenteel middel tegen aaltjes ontwikkeld door PRI

De behandelingen waren hetzelfde als in de eerste proef, alleen de toegediende concentratie van SA2 was nu twee maal zo hoog.

Overige gegevens:

Kas	PPO-kas 301-1 (17 m ²)
Uitvoering behandelingen	8 maart 2006
Teeltmedium	Zandgrond afkomstig van teler met veel <i>Rotylenchus</i> -aaltjes
Inhoud containers	10 l
Zaaidatum	10 maart 2006
Zaaidichtheid	Circa 160 zaden/m ² , dat is 10 zaden per container
Ras	Suprella (NIZ)
Oogstdatum	28 april 2006
Herhalingen	Per behandeling 7 containers met 10 knolletjes
Watergift	Grond steeds erg vochtig gehouden; er is zowel bovenlangs (via slang) als onderlangs (via schotels onder pot) watergegeven
Ziektebestrijding	Geen (er is geen Previcur tegen valse meeldauw toegepast i.v.m. verstoring proef)
Waarnemingen	Aantal spikkels, aantal knollen met spikkels, aantal scheuren, aantal gescheurde knollen en de diameter
Statistische verwerking	Regressieanalyse op basis van GLM (Gegeneraliseerd Lineair Model)

5.3.2 Resultaten

In de volgende tabel zijn de resultaten weergegeven van de waarnemingen aan de knollen op de oogstdatum eind april.

Tabel 4: Waarnemingen aan knollen bij oogst van tweede proef voorjaar 2006 bij de verschillende behandelingen en het aantal aaltjes in de grond bij drie behandelingen.

Behandeling	Diameter (mm)	Gemiddeld aantal spikkels per knol	% knollen met spikkels	Gemiddeld aantal scheuren per knol	% knollen met scheuren	Aantal <i>Rotylenchus</i> -aaltjes aan einde teelt (aantal/100 ml grond)
Controle (nat)	26,7 a ¹⁾	3,2 de	54 bc	1,2 c	61 bc	305
Controle (droog)	26,2 a	0,5 a	17 a	0,2 a	11 a	.
Nemacur	29,2 bc	1,7 b	45 b	2,1 e	65 c	220
SA2-product	27,5 ab	3,8 e	64 c	0,9 b	49 b	505
Aaterra	30,0 c	3,1 d	64 c	1,6 cd	60 bc	.
TMTD / Thiram	26,6 a	3,4 de	49 bc	2,0 de	64 bc	.
Benzamidazool/Carbendazim	27,0 a	2,4 c	44 b	1,6 cd	57 bc	.

¹⁾ een verschillende letter achter de getallen betekent dat de behandelingen onderling betrouwbaar verschillen

- De knollen bij de behandeling met Aaterra zijn grover dan bij de overige behandelingen, met uitzondering van de behandeling met Nemacur.

- Droog houden geeft duidelijk de minste spikkels per knol: ten opzichte van de controle (nat) wordt het aantal spikkels gereduceerd met 85%. Namacur en Carbendazim hebben ook een betrouwbaar effect op het aantal spikkels: ten opzichte van de natte controle wordt het aantal spikkels verminderd met respectievelijk 45 en 23%. De schimmelbestrijdingsmiddelen Aaterra en Thiram hebben geen effect op het optreden van spikkels.
- Het percentage knollen wordt door droog houden van de grond met ruim tweederde verminderd. Toepassing van Namacur en Carbendazim geeft een lager percentage knollen met spikkels dan bij een behandeling met Aaterra en SA2.
- De grond droog houden geeft veel minder scheuren op de knollen dan de natte controle. Het percentage gescheurde knollen wordt door droog houden van de grond met zo'n 50% gereduceerd.
- Het SA2-product geeft eerder méér dan minder aaltjes aan het einde van de proef. Namacur verlaagde het aantal aaltjes iets.

5.3.3 Discussie

In tegenstelling tot in de eerste proef, konden in de tweede proef wél zwarte spikkels in de radijsknollen worden opgewekt. Mogelijk heeft dit te maken met het natter houden van de bovengrond en/of het gebruik van grond afkomstig van een andere herkomst. De hoeveelheid *Rotylenchus*-aaltjes lag in beide proeven bij de start echter ongeveer op een gelijk en ook hoog niveau (700 à 800 *Rotylenchus*-aaltjes per 100 ml grond).

Vooraf het drooghouden van de grond gedurende de knollingsfase was erg effectief in het reduceren van de hoeveelheid spikkels: het aantal spikkels op de knollen en het aantal knollen met spikkels werd door relatief droog houden met respectievelijk zo'n 85 en 70% verminderd ten opzichte van de controle. Door het droog houden van de grond gedurende de knollingsfase is de kans groot dat de knollen hierdoor kleiner blijven, maar dit kwam in de proef niet echt naar voren.

Dat het aantal spikkels per knol wat (zo'n 20 à 40%) lager is bij de behandelingen met Namacur en Carbendazim, wijst er ook op dat het aaltje een rol speelt bij het optreden van zwarte spikkels. Namacur is een niet toegelaten bestrijdingsmiddel tegen aaltjes en het schimmelbestrijdingsmiddel Carbendazim (niet toegelaten) is toxisch voor aaltjes. Het lijkt aannemelijk dat er bij de droge behandeling en de behandelingen met Namacur en Carbendazim minder aaltjes in aanraking konden komen met de knollen. De hypothese is dat ze hierdoor minder werden aangeprikt en er hierdoor minder spikkels konden ontstaan. Het zou achteraf interessant geweest zijn om te weten hoeveel aaltjes er bij de oogst bij de droge controle-behandeling en bij SA2 aanwezig waren, maar helaas is het aantal *Rotylenchus*-aaltjes daar niet bepaald. Het is bekend dat aaltjes zich in droge grond moeilijker kunnen verplaatsen en ook ruiken ze de stoffen die worden uitgescheiden door plantenwortels in deze situatie minder goed. Zowel in de eerste als tweede proef bleek het experimentele middel SA2 niet te werken tegen het *Rotylenchus*-aaltje. Ook het aantal spikkels was bij SA2 niet minder dan bij de natte controle.

Het lijkt zeer aannemelijk dat vooral de aaltjes in de bovenste laag grond effect hebben op de aantasting. Het grondmonster is echter uit de gehele container genomen, wat ook wordt ook aanbevolen voor het nemen van aaltjesmonsters.

Zowel in de eerste als tweede proef was het aantal aaltjes aan het einde van de teelt meer dan de helft lager dan voor de teelt. Hoewel de grond zeer voorzichtig is omgeschept tijdens het mengen met de bestrijdingsmiddelen, kan door deze handeling een bepaalde hoeveelheid aaltjes zijn gedood. Een grove groundbewerking ofwel spitten zou het aantal aaltjes in de praktijk mogelijk kunnen reduceren en de kans op spikkels kunnen verkleinen. Door radijstelers wordt aangegeven dat dit inderdaad effect heeft (zie Hoofdstuk 3). Door spitten kan de bovengrond echter ook droger zijn, waardoor het aantal spikkels ook wordt verminderd.



Figuur 7: Overzicht van kasproef met radijs in containers

6 Isolatie van mogelijke pathogenen in zwarte spikkels

Verschillende keren zijn monsters genomen van zwarte spikkels van radijs afkomstig van praktijkbedrijven en uit proeven, om de radijs te toetsen op de aanwezigheid van mogelijke ziekteverwekkende organismen (pathogenen).

6.1 Materiaal en methoden

Zes maal is radijs met zwarte spikkels afkomstig van praktijkbedrijven gecontroleerd op de aanwezigheid van ziekteverwekkers. Ook uit de proef op het PRI en het PPO is van de verschillende behandelingen materiaal met spikkels getoetst op mogelijke ziekteverwekkers. Voor de behandelingen zie respectievelijk paragraaf 5.1 en 5.3.

Voor de toetsen werden stukjes weefsel uit de spikkels op een kunstmatige voedingsbodem bestaande uit aardappeldextrose en maïsmeel-agar met en zonder antibiotica en pimarine gezet. De petrischalen werden weggezet bij een temperatuur van 20 °C en na circa 3, 7 en 14 dagen gecontroleerd op de aanwezigheid van schimmels en bacteriën. Deze gevonden schimmels en/of bacteriën zijn onder de microscoop onderzocht op de aanwezigheid van mogelijke ziekteverwekkers.

6.2 Resultaten en discussie

In slechts twee monsters vanuit de praktijk waren er mogelijk ziekteverwekkende schimmels en/of bacteriën aanwezig. Bij de ene herkomst was het een niet sporulerende schimmel, namelijk een *Phycomyces*, waartoe ook de *Pythium*-schimmel behoort. Ook was in dit monster een *Fusarium*-achtige schimmel aanwezig. Deze schimmel was echter hoogstwaarschijnlijk secundair, omdat de betreffende schimmel normaal andere schadebeelden geeft bij radijs. In het andere geval groeiden er op de voedingsbodem bacteriën, die niet nader zijn gedetermineerd, maar wel zijn meegenomen in een toets om zwarte spikkels te reproduceren (zie Hoofdstuk 7).

In onderstaande tabel zijn de resultaten van de toets op pathogenen met materiaal uit het PRI-onderzoek weergegeven.

Tabel 5: Gevonden mogelijke pathogenen in radijs met spikkels uit PRI-proef 2005.

Code	Pathogenen
A	Penicilium, Trichoderma, Fusarium, bacteriën
B	Alternaria?
C	Rhizopus, Trichoderma, Fusarium, Phycomyceten
D	Fusarium, Alternaria?, diverse andere schimmels
E	Penicilium, Fusarium, Rhizopus, bacteriën, Phycomyceten?

In de monsters met zwarte spikkels zijn verschillende schimmels en bacteriën gevonden. De vraag is echter of deze werkelijk ziekteverwekkend zijn en er dus de primaire oorzaak van zijn dat er zwarte spikkels op de radijsknollen ontstaan. Ook al omdat de ziekteverschijnselen op de knollen in de monsters niet of nauwelijks overeen kwamen met bekende ziekteverschijnselen veroorzaakt door de gevonden schimmels. Met een aantal uit zwarte spikkels geïsoleerde schimmels en bacteriën is getracht het verschijnsel op te wekken (zie Hoofdstuk 7).

In de spikkels van de tweede proef op het PPO in containers konden in het geheel geen mogelijke ziekteverwekkers worden aangetoond.

7 Reproductie zwarte spikkels met isolaten uit radijs

Op laboratoriumschaal is getracht om met behulp van schimmels en bacteriën, die waren geïsoleerd uit radijsmonsters met zwarte spikkels afkomstig van praktijkbedrijven en uit een proef op het PRI, te reproduceren in radijs.

7.1 Materiaal en methoden

Het onderzoek is uitgevoerd met drie geïsoleerde bacteriën en drie geïsoleerde schimmels afkomstig van verschillende monsters. De drie schimmels behoorden tot de Phycomyceten (hoogstwaarschijnlijk *Pythium*). Bij de toets is gebruik gemaakt van grond van praktijkbedrijf Z, welke verzameld is in oktober 2005. In deze grond waren toen zo'n 700 *Rotylenchus*-aaltjes per 100 ml grond aanwezig. De behandelingen zijn zowel uitgevoerd bij onbehandelde (=ongestoomde) als bij gestoomde grond. Daarnaast waren er controlebehandelingen ongestoomd en gestoomd, waarbij er geen schimmels of bacteriën zijn toegevoegd. In totaal waren er in de proef 14 behandelingen. De behandelingen werden uitgevoerd in drievoud.

Voor de proef werden de bacteriën en schimmels een week op het lab gekweekt en daarna overgeënt in de grond. Dit werd gedaan door de isolaten voorzichtig door de bovenlaag van de grond in kleine potjes (ø 10 cm en hoogte 6 cm) te scheppen. Per potje kwamen er 5 zaden van het ras Donar. De potjes stonden in nasibakjes. De grond is steeds goed vochtig gehouden. Er is tijdens de proef zowel onderdoor als van bovenaf water gegeven. De zaaidatum was 22 december 2005 en half maart 2006 is de radijs geogst en beoordeeld. De teelt vond plaats in een kas op het PPO.

7.2 Resultaten en discussie

In geen enkele behandeling is er een aantasting gevonden van zwarte spikkels. Geen enkele toegediende schimmel of bacterie heeft dus zwarte spikkels veroorzaakt.

Tussen de knollen gegroeid op gestoomde en ongestoomde grond waren er wel grote verschillen in knolgrootte en uiterlijk. Bij gestoomde grond waren de knollen circa drie maal zo zwaar dan bij ongestoomde grond. De knollen van ongestoomde grond waren grauw en enigszins ruw van uiterlijk. Ook hadden deze knollen meer bossige wortels (meer en kortere wortels). Dit kan het effect zijn van de aanwezigheid van *Rotylenchus* aaltjes, omdat bossige wortels en het achterblijven in groei ook in de praktijk in combinatie met *Rotylenchus* is geconstateerd (zie Hoofdstuk 3 en 4).

8 Discussie en conclusies

Hoewel in dit onderzoek niet onomstotelijk kon worden aangetoond dat het vrijlevende aaltje *Rotylenchus* de veroorzaker is van zwarte spikkels is in radijs, lijkt het echter zeer aannemelijk dat *Rotylenchus* in ieder geval een rol speelt bij het ontstaan van het verschijnsel. De aanwezigheid van veel aaltjes verhoogt sterk de kans op het optreden van dit verschijnsel. Hoogstwaarschijnlijk zuigt het aaltje met zijn lange stekels aan de wortels en het knolletje en veroorzaakt daarbij kleine beschadigingen. Onder bepaalde, vermoedelijk vooral vochtige omstandigheden, zullen er dan kleine zwarte plekkjes ontstaan. Soms zijn wel een soort zuigplekkjes op de knollen te zien, maar geen zwarte spikkels. Mogelijk dat na het aanprikken van de knollen de omstandigheden ongunstig waren om de spikkels zwart te doen verkleuren. In de verschillende onderzoeken kon niet aangetoond worden dat het verschijnsel door schimmels of bacteriën wordt veroorzaakt. In de meeste gevallen kon geen enkele schimmel of bacterie uit de zwarte spikkels worden geïsoleerd. Soms waren er wel schimmels of bacteriën aanwezig, maar hoogstwaarschijnlijk waren deze secundair. De zwarte spikkels lijken ook niet echt op de ziekteverschijnselen veroorzaakt door bekende ziekteverwekkers zoals *Pythium*, *Aphanomyces*, *Rhizoctonia* en *Fusarium*. Omdat met de geïsoleerde schimmels en bacteriën uit de zwarte spikkels het verschijnsel niet kon opgewekt, zijn de ziekteverwekkers ook niet nader gedetermineerd. Dit was oorspronkelijk wel het plan.

Opvallend is de zeer sterke afname van zwarte spikkels als gevolg van spaarzaam watergeven tijdens de knollingsfase van de radijs. Dit kwam zowel uit de proef als uit praktijkervaringen naar voren. Een droge bovenlaag van de grond is zowel voor het vrijlevende aaltje als voor eventuele schimmels en bacteriën ongunstig. Aaltjes kunnen zich immers in droge grond moeilijk bewegen en ze kunnen de plantenwortels dan ook minder goed ruiken.

Volgens de Gewasbeschermingsgids (Oomen et al., 1999) ontstaan zwarte spikkels door te nat telen en zijn ze fysiologisch van aard. Uit onze proeven komt echter naar voren dat, weliswaar onder natte omstandigheden, vooral *Rotylenchus*-aaltjes hierbij een belangrijke rol spelen. Het feit dat stomen helpt, wijst ook in de richting van een pathogeen als veroorzaker. Niet alleen uit oogpunt van zwarte spikkels, maar ook om groeireductie en bossige wortels zoveel mogelijk te voorkomen, zullen telers moeten proberen om het aantal *Rotylenchus*-aaltjes niet te hoog op te laten lopen.

Telers kunnen de hoeveelheid aaltjes drastisch terug dringen door goed te stomen, bij voorkeur met onderdruk. Dit is echter een dure methode en wordt door veel radijstelers steeds minder toegepast. Een andere mogelijkheid zou biologische grondontsmetting zijn, maar voor zover bekend zijn er in relatie tot dit aaltje nog weinig (praktijk)ervaringen. Het middel dazomet (Basamid) kan de hoeveelheid aaltjes wat reduceren. Door de grond te spitten, kan het aantal aaltjes mogelijk ook wat worden teruggebracht. De praktijkervaring is dat dit in ieder geval leidt tot minder zwarte spikkels. Een andere, zeer effectieve maatregel tegen zwarte spikkels is het droger houden van de bovenlaag in de tweede fase van de teelt (knollingsfase). Mogelijk dat in de nabije toekomst gebruik gemaakt kan worden van een magnetron-ontsmetter, die momenteel wordt ontwikkeld.

De schadedrempel is in de verschillende proeven niet onderzocht, maar praktijkwaarnemingen in 2005 geven aan dat in een winter- of vroege voorjaarsteelt problemen kunnen optreden bij dichtheden rond 500-800 *Rotylenchus* per 100 ml grond. Evenals bij peen zal de schadedrempel bij een lagere temperatuur (bijvoorbeeld in de winter) hoogstwaarschijnlijk lager liggen dan bij hogere temperaturen (zomerteelt). Bij een lage temperatuur is de groeiduur immers lang en de kans groter dat de wortels en knol aangeprikt worden door *Rotylenchus*. Er zullen in deze situatie dus minder aaltjes nodig zijn om schade te geven. Radijs is waarschijnlijk een redelijk goede waardplant, omdat in continueelten van radijs de populaties tot rond de 1000 *Rotylenchus* per 100 ml grond op kunnen lopen.

Literatuur

- Anonymus, 1981. Adviesbasis. Bedrijfslaboratorium voor Grond en Gewasonderzoek, Oosterbeek.
- Boag, B. en R. Neilson, 1996. Distribution and ecology of *Rotylenchus* and *Pararotylenchus* (Nematoda: Hoplolaimidae) in Great Britain. *Nematologica* 42: 96-108.
- Bongers, T., 1988. De Nematoden van Nederland. Natuurhistorische Bibliotheek KNNV, nr. 46. Pirola, Schoorl.
- Castillo P. en N. Vovlas, 2005. Bionomics and Identification of *Rotylenchus* Species; Nematology Monographs and Perspectives Volume 3. Leiden Brill.
- CIH, 1972. CIH Descriptions of Plant-parasitic Nematodes, Set 1, No. 11.
- Kühn, G., 2006. <http://www.biogemuese.de/kohlkrank/index.htm>
- Lear, B., D.E. Johnson en S.T. Miyagawa, 1969. A disease of lettuce associated with an ectoparasitic nematode, *Rotylenchus robustus*. *Plant Dis. Rep.* 53 (12): 952-954.
- McLean, D.M., 1947. *Alternaria* blight and seed infection a cause of low germination in certain Radish seed crops. *J. Agric. Res.* 75(2): 71-79.
- Molendijk, L.P.G., 2000. Aaltjesmanagement in de akkerbouw. Kerngroep MJP-G, Ede 36 pp+ bijlage.
- Oomen, P.A. et al., 1999. Gewasbeschermingsgids. PD, p. 303.
- Ouden, H. den en R.E. Labruyere, 1959. De betekenis van *Hoplolaimus uniformis* en *Fusarium oxysporum* bij het ontstaan van vroege vergeling in erwten. *Tijdschrift over Plantenziekten.* 65(2): 64-65.
- Potter, J.W. en Th.A. Olthof, 1993. Nematode pests of vegetable crops: In *Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture*, K. Evans et al (eds), p. 171-207.
- Stemerding, S., K. Kuiper en G. Houtman, 1968. Aaltjes in de land- en tuinbouw. N.V. Uitgeverij W.E.J. Tjeenk Willink, Zwolle.
- TPDH, 2004. Texas Plant Disease Handbook; Texas A&M University, <http://plantpathology.tamu.edu/Textlab/index.htm>.
- Seeds of SVS, 2006. The scientific- advisory Centre. <http://www.semena.org/agro/diseases-e.htm>
- Su, H. Yu, T. Zhou, X.-Z. Li en J. Gong, 2005. First report of *Alternaria raphani* causing black patches on Chinese radish during postharvest storage in Canada. *Plant Disease note* 2005.
- Zeeuw, J. de, 2003. Zwarte stippen op radijs. Nieuwsbrief radijs LTO-Groeiservice, juli 2003, p. 3-4.

