



# Internationale kennisoriëntatie op “overmatige wortelgroei” in komkommer, tomaat en aubergine

Consultancyonderzoek

Daniël Ludeking, Jan Janse

### **Abstract NL**

Dit consultancyonderzoek is uitgevoerd in opdracht van het Productschap Tuinbouw om kennis te vergaren uit wetenschappelijke literatuur en bij internationale instituten om bestaande kennis over *Agrobacterium rhizogenes* inzichtelijk te maken en de hiaten in kennis naar voren te laten komen. Duidelijk moet worden waar mogelijke oplossingen liggen voor de almaar toenemende problematiek rond 'overmatige wortelgroei'. Deze ziekte wordt veroorzaakt door *Agrobacterium rhizogenes* en speelt vooral een rol bij de gewassen aubergine, komkommer en tomaat.

De kennisinventarisatie moet leiden tot onderzoeksvragen over de mogelijke randvoorwaarden die van invloed zijn op de infectie, groei, ontwikkeling van *Agrobacterium rhizogenes* (of andere vectoren van het Ri-plasmide) onder praktijkomstandigheden.

Het consultancyonderzoek heeft geleid tot de volgende 4 thema's voor onderzoek:

1. Vatbaarheid voor *Agrobacterium rhizogenes* vroeg in de teelt
2. Weerbaar substraat
3. Screening van technieken en middelen tegen *A. rhizogenes*
4. Biologische bestrijding van *A. rhizogenes*

### **Abstract UK**

This inventory is executed on behalf of the Dutch Horticultural Board to gather knowledge out of scientific literature and (research)institutes about the pathogenic bacterium *Agrobacterium rhizogenes*. This inventory must lead to opportunities to solve the problem of root mat in cucumber, tomato and egg plant.

Based on this inventory some hypothesis are formed about possible parameters that are influencing infection, growth, development of *Agrobacterium rhizogenes* under practical circumstances.

This has led to four theme for further research on the subject:

1. Susceptibility for *Agrobacterium rhizogenes* in an early stage of the cultivation
2. A 'defensive' substrate
3. Screening of techniques and treatments
4. Biological control of *A. rhizogenes*

## **Wageningen UR Glastuinbouw**

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk  
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk  
Tel. : 0317 – 48 56 06  
Fax : 010 – 522 52 93  
E-mail : [glastuinbouw@wur.nl](mailto:glastuinbouw@wur.nl)  
Internet : [www.glastuinbouw.wur.nl](http://www.glastuinbouw.wur.nl)

# Inhoudsopgave

	pagina
Samenvatting	1
1 Inleiding	3
1.1 Probleemstelling	3
1.2 Aanpak	3
2 Bestaande kennis in literatuur over <i>Agrobacterium rhizogenes</i>	5
2.1 <i>Agrobacterium rhizogenes</i>	5
2.2 Symptomen en schade	5
2.3 Biologie en epidemiologie	6
2.3.1 <i>Agrobacterium rhizogenes</i> en de rol van het Ri-plasmide	6
2.3.2 Incubatietijd en overleving van <i>Agrobacterium rhizogenes</i> en het Ri-plasmide	8
2.3.3 Infectiebronnen	8
2.3.4 Raseffect	9
3 Resultaten	11
3.1 Inventarisatie van de internationale omvang van “overmatige wortelgroei”	11
3.2 Verspreiding <i>Agrobacterium rhizogenes</i>	11
3.3 Respons op de inventarisatie	11
3.4 Onderzoek	12
3.5 Gaten in kennis, onderzoeksvragen en oplossingsrichtingen	12
4 Geraadpleegde literatuur	15
Bijlage I. Geconsulteerde personen	1

# Samenvatting

Dit consultancyonderzoek is uitgevoerd in opdracht van het Productschap Tuinbouw om kennis te vergaren uit wetenschappelijke literatuur en bij internationale instituten om bestaande kennis over *Agrobacterium rhizogenes* inzichtelijk te maken en de hiaten in kennis naar voren te laten komen. Duidelijk moet worden waar mogelijke oplossingen liggen voor de almaar toenemende problematiek rond 'overmatige wortelgroei'. Deze ziekte wordt veroorzaakt door *Agrobacterium rhizogenes* en speelt vooral een rol bij de gewassen aubergine, komkommer en tomaat. De symptomen geven forse schade als gevolg van productieverlies en leiden in sommige gevallen uitval van het gewas. Overmatige wortelgroei wordt veroorzaakt doordat *Agrobacterium rhizogenes* een Ri-plasmide bij zich draagt. Een deel van dit extra stukje circulair DNA (het T-DNA) kan worden geïntroduceerd in het genoom van wortelcellen van het gewas. Het gevolg is dat door de plant zelf een enorme productie van wortels in gang wordt gezet.

De kennisinventarisatie moet leiden tot onderzoeksvragen over de mogelijke parameters die van invloed zijn op de infectie, groei, ontwikkeling van *Agrobacterium rhizogenes* (of andere vectoren van het Ri-plasmide) onder praktijkomstandigheden.

Het consultancyonderzoek heeft geleid tot de volgende 4 thema's voor onderzoek:

5. **Vatbaarheid voor *Agrobacterium rhizogenes* vroeg in de teelt:** Mogelijk zijn de planten het meest vatbaar voor de bacterie en de plasmide introductie in een zeer jong stadium, in de eerste weken na zaaien, en is bij een vroege infectie de kans op 'excessieve groei' het groots. Bestaat er een relatie tussen symptomen en plantenkwekers en geldt dit ook voor het enten van plantmateriaal.
6. **Weerbaar substraat:** Toevoegen van bijvoorbeeld plantenextracten (verwarring van de mechanisme), compostthee (toevoegen van antagonistische en concurrerende bacteriën en compost en plantextracten) of chitine (stimulering van bodembacteriën).
7. **Screening van technieken en middelen tegen *A. rhizogenes*:** Effectiviteitsscreening van middelen op labschaal. Snelle screening van middelen die voor de teelt, tijdens en bij teeltwisseling worden toegepast.
8. **Biologische bestrijding van *A. rhizogenes*:** met behulp van inoculatie van de jonge plant met getransformeerde stammen (Nogall, Galltrol, kans op toelating??) en of voor *Agrobacterium (rhizogenes)* specifieke antagonisten.



# 1 Inleiding

Aan het einde van de het onderzoek 'Aanpak van overmatige wortelgroei in groentengewassen' vielen de resultaten van de behandelingen in de kasproeven tegen. In de experimenten met de gewassen komkommer en tomaat, is gewerkt met een hoge en lage dosering natriumhypochloriet, waterstofperoxide en een antagonistische *Pseudomonas* stam (Proradix). De oplossing voor het beheersen van de ziekte is met behulp van dit onderzoek niet gevonden. De getoetste middelen remmen de verspreiding niet beter dan de onbehandelde controle en in sommige gevallen treedt er zelfs fytoxiciteit op van de toegepaste middelen. Daarnaast is de verspreiding van de ziekte en opbouw van de symptomen niet bevredigend geweest. Symptomen kwamen zeer laat op gang en hebben nooit de omvang van een praktijksituatie aangenomen. Ondanks tegenvallende resultaten van deze proef kan niet worden gezegd dat het toepassen van middelen tijdens de teelt, geen functie heeft. In de beschreven proef, waarin het drainwater niet is gecirculeerd, is geen direct effect op de verspreiding *in* de steenwolmat waargenomen. Echter drainwater is een grote bron van besmetting. Het is daarom van groot belang om in een kas (*tussen* de steenwolmatten) verspreiding te voorkomen door drainwater te ontsmetten alvorens het te recirculeren.

Om te komen tot oplossingen voor het probleem overmatige wortelgroei is het daarom van belang om te zoeken naar andere werkzame stoffen, methodes of een andere aanpak voor de behandeling van de bacteriën, om de groei en verspreiding voor en tijdens de teelt te kunnen beheersen.

Sinds in 2000 de eerste gevallen met overmatige wortelgroei in komkommer zich in Nederland hebben voorgedaan, is het probleem qua omvang alleen maar toegenomen. De uitbreiding van geïnfecteerde bedrijven heeft zich niet beperkt tot het Steenbergen, Westland, het Oostland (De Kring), maar heeft ook eer geïsoleerde gebieden in Noord-Holland en Friesland bereikt. Dit in tegenstelling tot de situatie in Groot Brittannië waar de symptomen sinds een piek in 2000 zich lijken te stabiliseren. Het probleem is in Engeland niet onder controle, maar een 'outbreak' is geen sprake. Ook in Frankrijk zijn de symptomen al langer aan de orde. Met name telers in Bretagne kampen met de symptomen van een *Agrobacterium rhizogenes* infectie. Ook in Bretagne is sprake van een serieuze situatie en hebben coöperaties, onderzoekstations en een laboratorium de handen ineen geslagen om de toename van het aantal geïnfecteerde bedrijven een halt toe te roepen.

In deze consultancy zal een overzicht worden gegeven van de omvang van de internationale problematiek omtrent dit fenomeen, het lopende onderzoek met overmatige wortelgroei als onderwerp en er zal op basis van een literatuurstudie geprobeerd worden om enkele onderzoeksvragen te formuleren die kunnen dienen als aanknopingspunten voor vervolgonderzoek, om te komen tot een oplossing van de problematiek in tomaat, komkommer en aubergine.

## 1.1 Probleemstelling

Wageningen UR Glastuinbouw is, op verzoek van het Productschap Tuinbouw, gevraagd een inventarisatie te doen bij internationale instituten om bestaande kennis bij deze instituten inzichtelijk te maken en waar mogelijk te gebruiken om het alsmaar toenemende probleem met "overmatige wortelgroei" op te lossen.

Er is bij deze inventarisatie getracht om:

1. Internationaal informatie te verzamelen en gaten in de bestaande kennis over "overmatige wortelgroei" inzichtelijk te maken.
2. Hypotheses te formuleren over de mogelijke randvoorwaarden die van invloed zijn op de infectie, groei, ontwikkeling van *Agrobacterium rhizogenes* (of andere vectoren van het plasmide of het plasmide) onder praktijkomstandigheden.

## 1.2 Aanpak

Er zal worden geïnventariseerd welke internationale instituten (met de nadruk op de ons omringende landen Frankrijk, Groot Brittannië, België en Duitsland) ervaring en kennis hebben het fenomeen overmatige wortelgroei.

Plan van Aanpak:

1. Bestaande kennis in Nederland inventariseren en bundelen met kennis en ervaringen uit de omliggende landen. Nationale en internationale kenners (onderzoek, veredeling en advies) zullen worden gevraagd naar hun kennis, ervaringen en denkrichting naar de oplossing van het probleem.
2. Inventarisatie van de landen waar symptomen van overmatige wortelgroei, zijn waargenomen.
3. Verzamelde bestaande kennis omzetten in nieuwe onderzoeksvragen die de telers van aubergine, tomaat en komkommer dichter bij de oplossing voor "overmatige wortelgroei" moeten brengen.

Te behalen resultaten:

1. Rapportage over bestaande kennis, internationale kennis en eventuele praktijkervaringen.
2. Overzicht van de ontbrekende kennis.
3. Formuleren van onderzoeksvragen die kunnen helpen bij het kiezen van een onderzoeksrichting die leidt tot een mogelijke oplossing van de problematiek.



## 2 Bestaande kennis in literatuur over *Agrobacterium rhizogenes*

### 2.1 *Agrobacterium rhizogenes*

Het verschijnsel van overmatige wortelgroei wordt in vrijwel alle gevallen veroorzaakt door een de bacterie *Agrobacterium rhizogenes*. De bacterie *Agrobacterium* is voor het eerst geïdentificeerd 1930 (Riker et al., 1930). Diverse soorten *Agrobacterium* komen allen in de grond voor en kunnen verschillende soorten tweezaadlobbigen planten aantasten. Het is een Gram-negatieve, staafvormige bacterie, 0,8 tot 1,5-3 µm in grootte (Conn, 1942). *Agrobacterium rhizogenes* is nauw verwant aan de bekendere *Agrobacterium tumefaciens*. *A. tumefaciens* veroorzaakt gezwellen van ongedifferentieerd weefsel, die zich voornamelijk bovengronds tonen. Vooral houtige Rosaceae worden door deze bacterie aangetast (Gelvin, 1990). Kenmerkend voor beide soorten is dat ze een plasmide dragen. Een plasmide is kleine stukje circulair DNA dat vrij in het cytoplasma van de bacterie aanwezig is. De bacteriën zijn in staat om dit extra stukje DNA zeer efficiënt te 'implanteren' in de erfelijke eigenschappen van de gastheerplant. De overdracht van DNA gebeurt bij beide *Agrobacterium* soorten op identieke wijze (Veena & Taylor 2007). *Agrobacterium rhizogenes* wordt aangetrokken door beschadigde cellen als gevolg van fenolische stoffen die door de plantcel worden uitgescheiden. Vervolgens hechten de bacteriën zich op de wond, gevolgd door het inbrengen van het stukje genetisch materiaal in de gastheer cel. Als gevolg van deze introductie van DNA in de erfelijke eigenschappen van de plant gaat de plant snel grote hoeveelheden sterk vertakte wortels produceren. De deling van de getransformeerde cellen gaat snel, net zo snel als in ongedifferentieerd callus, echter mate van differentiatie is nog steeds hoog (geproduceerde cellen zijn functioneel; het zijn echt wortelcellen) (Tepfer 1984, Veena & Taylor 2007).

Van nature kan *A. rhizogenes* slechts enkele plantsoorten infecteren. Appel, komkommer, tomaat en meloen worden genoemd (Weller et al., 2000, 2004, 2006). Echter onder laboratoriumcondities kunnen meer dan 450 planten soorten waaronder dicotylen, monocotylen en naaktzadigen (Veena & Taylor 2007). Daarbij is aangetoond dat praktisch alle plantorganen, zowel bovengronds als ondergronds, geïnfecteerd kunnen worden door *A. rhizogenes*, waarna vervolgens, nadat de organen genetisch te zijn getransformeerd, overmatige wortelgroei wordt waargenomen (Veena & Taylor 2007).

De naamgeving van de bacteriën is mede gebaseerd op de groei op een specifiek groeimedium. R De ziekteverwekkende soort van overmatige wortelgroei behoort tot het biotype of biovar 1 en bevat een Ri-plasmide ofwel pRi. Ri staat voor 'root inducing', wat staat voor 'wortelstimulerend' (Weller et al., 2000). Vanuit ziektekundig oogpunt is de classificering van minder belang omdat de bacterie slechts drager is van de symptoom bepalende plasmide. Zonder de plasmide is de bacterie onschadelijk. Weller, Stead en Young (2005) toonden aan dat een bepaalde Rhizobium stam die een cucumopine Ri-plasmide bevat, ook overmatige wortelgroei kan veroorzaken.

### 2.2 Symptomen en schade



Figuur 1 en 2: Foto's van overmatige wortelgroei bij komkommer (M. Schenk, J. Janse).



Figuur 3 en 4: Foto's van overmatige wortelgroei bij tomaat (Foto's Blgg AgroXpertus).

De symptomen zijn inmiddels ook in de praktijk bekend. Veel telers hebben de symptomen vaak ongewild met eigen ogen mogen aanschouwen. Bij zowel komkommer, als bij tomaat zijn op de pot vaak spinnenwebachtige formaties van fijne, witte wortels waarneembaar, die enkele centimeters boven de steenwolpot uit kunnen steken. De druppelaars ingroeien en inkapselen. Bij het opsnijden van het plastic is het opmerkelijk dat wortels bovenop de steenwolmat worden aangetroffen. In een later stadium kunnen zich extreme symptomen voordoen waarbij enorme massa's aan wortelmateriaal worden gevormd. Er ontstaat een wirwar aan dunne, helder witte wortels aan één of meer zijden van het steenwolblok en aan de verschillende zijden van de steenwolmat. Deze symptomen kunnen uitmonden in volle, opgezwollen matten, die nog nauwelijks indringbaar is voor het benodigde water. Daarnaast is de waterhoudende capaciteit van het steenwol in dat stadium van de symptomen ook onvoldoende om verwelking en verdroging van het gewas te voorkomen. Ook zuurstof gebrek in de mat kan een rol gaan spelen. Geïnficeerde wortels zijn lijken gevoelig te zijn voor *Pythium spp.* (Weller 2007).

Over het algemeen gaat een plant niet dood als er een infectie met *Agrobacterium rhizogenes* heeft plaats gevonden en het plasmide is overgedragen aan de gastheer. De overmatige wortelgroei heeft als gevolg dat de plant extra cytokinine gaat produceren. Een vegetatief gewas, extra scheut vorming en vol gewas met grote bladeren is daarvan het gevolg. Dit levert direct schade op als gevolg van productieverlies bij tomaat. Bij komkommer worden daarbij meer afwijkende kromme vruchten waargenomen (Weller 2000).

Engelse voorlichters schatten de opbrengstderiving bij komkommer als gevolg van overmatige wortelgroei op zo'n € 20.000 per ha. (Janse 2008). Voor tomaat kan een infectie, waarbij 90% van de planten in meer of mindere mate is geïnficeerd leiden tot een productie verlies van zo'n 3 kilogram per m<sup>2</sup>. Bij Aubergine kan een infectie van 40% van de planten leiden tot 1,5-2 kilogram per m<sup>2</sup> (Van Marwijk 2010).

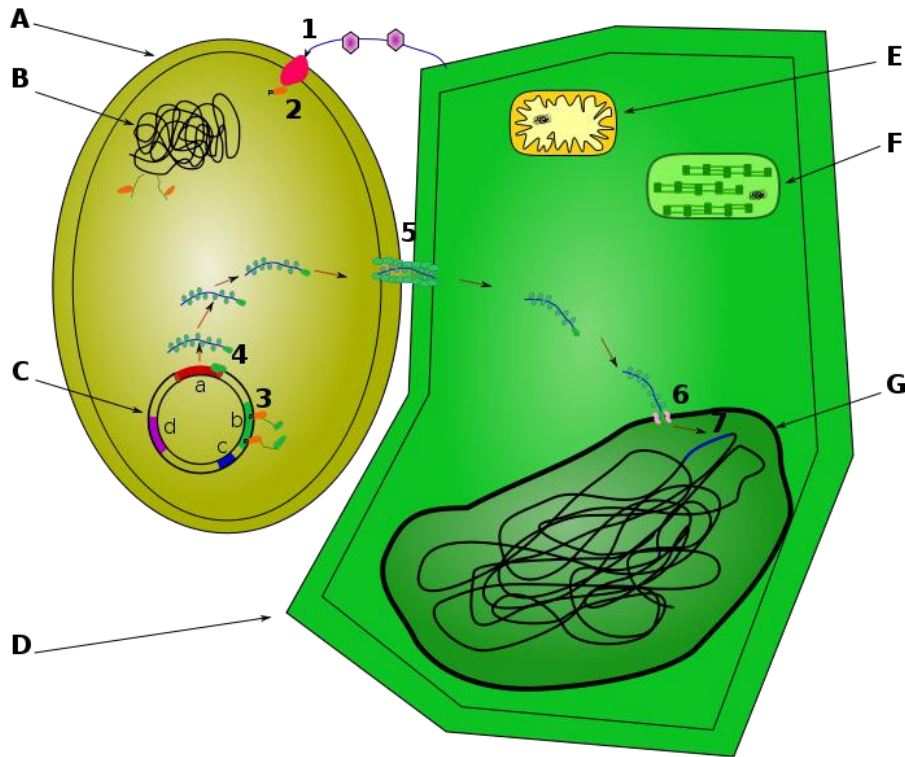
## 2.3 Biologie en epidemiologie

### 2.3.1 *Agrobacterium rhizogenes* en de rol van het Ri-plasmide

*Agrobacterium rhizogenes* treedt op als vector voor het Ri-plasmide. Om overmatige wortelgroei te kunnen veroorzaken moet de bacterie een Ri-plasmide bevatten (Weller et al., 2000). Zonder plasmide wordt de bacterie *A. radiobacter* genoemd.

De vorming van overmatige wortelgroei wordt uitsluiten bewerkstelligd door het Ri-plasmide. De bacterie wordt door de plantencel aangetrokken doordat de plantencel chemische stoffen uitscheid. De bacterie kan met behulp van een flagel (zweepstaart) actief de beschadigde cel of cellen bereiken. Vervolgens zal een deel van het DNA van de plasmide worden overgebracht naar de plantencel onder invloed van virulentie-genen die ook op de plasmide aanwezig zijn. Het deel dat wordt overgebracht van plasmide naar de erfelijke eigenschappen is het T-DNA ('transferred' DNA). De eerder genoemde virulentie-genen spelen een rol in herkenning van wondexudaten, hechting van bacterie aan plantencel en de bescherming en geleiding van het T-DNA in de gastheercel en vervolgens in de celkern van de gastheercel. Met name GALLS-genen blijken essentieel bij inductie van overmatige wortelgroei en zijn ook het grote verschil met Ti-plamides, die verantwoordelijk zijn voor ongedifferentieerde knolvorming (Hodges et

al., 2009; Veena & Taylor, 2007). GALLS genen zijn nodig voor de productie van 'trans-acting' eiwitten die belangrijk zijn voor de transformatie van de plantencel (Davioud et al., 1988; Zabel, 2005; Weller et al., 2006).



**Figuur 5:** Schematische weergave van de T-DNA overdracht: **A** *Agrobacterium rhizogenes*, **B** *Agrobacterium* genom, **C** Ri-plasmide (**a** T-DNA, **b** Vir genes, **c** replicatiestart, **d** opine afbraak), **D** Plantencel, **E** Mitochondrion, **F** Chloroplast, **G** Celkern (Bron: wikipedia).

Zodra het T-DNA in de erfelijke eigenschappen van de gastheercel is opgenomen, zetten genen op het geïntegreerde T-DNA (*rol* genes (root oncogenic loci)) de wortelcellen aan tot een overproductie aan hormonen. De cellen gaan zich hierdoor abnormaal snel vermenigvuldigen. Door andere genen op het ingebouwde T-DNA worden in de getransformeerde cellen stofwisselingsproducten aangemaakt. Deze aminozuren worden opines genoemd en dienen ondermeer als voedsel voor de betreffende bacteriën. Het aminozuur dat gevormd wordt bij overmatige wortelgroei wordt 'cucumopine' genoemd (Davioud et al., 1988, Veena & Taylor 2007, Gelvin 2003)

Weller, Stead en Young (2005) vonden dat de verschijnselen van overmatige wortelgroei in komkommerplanten ook opgewekt konden worden door een *Rhizobium* stam. Deze *Rhizobium* stam bleek een even sterke veroorzaker van overmatige wortelgroei te zijn als de ziekteverwekkende *A. radiobacter* (biovar 1) stam met cucumopine pRi. Hoogstwaarschijnlijk kan de Ri-plasmide overgedragen worden van *A. radiobacter* bacteriën naar de *Rhizobium* bacteriën en andersom. Op bedrijven met overmatige wortelgroei is de cucumopine Ri-plasmide ook gevonden in *Ochrobacterium* en *Sinorhizobium* bacteriën. Deze bacteriën konden de ziekte in planten echter niet opwekken. Toch kunnen niet ziekteverwekkende bacteriestammen die een Ri-plasmide bevatten wel een belangrijke epidemiologische rol vervullen. Ze kunnen namelijk dienen als reservoir voor Ri-plasmides, die kunnen worden overgebracht naar bacteriën met genetische eigenschappen die geschikt zijn om de plant binnen te dringen (Weller, Stead en Young, 2005).

Hoewel *Agrobacterium radiobacter* biovar 1 isolaten zonder Ri-plasmide niet geacht worden ziekteverwekkend te zijn, kan hun overvloedige aanwezigheid in steenwolmatten wel gevaarlijk zijn, omdat ze Ri-plasmiden op kunnen nemen en zo de ziekte kunnen verspreiden (Weller et al., 2000).

Het soort Ri-plasmide kan van invloed zijn op de uiting van de symptomen. In 2000 vonden Weller, Stead & Young op een tomatenbedrijf met een milde uitbraak van overmatige wortelgroei, wortels met een plasmide die niet van het cucumopine type was. Op een bedrijf één kilometer verderop, met een ernstige vorm van overmatige wortelgroei, werden wel plasmides van het cucumopine type gevonden. Op deze bedrijven is er dus een verband tussen de ernst van de symptomen en het pRi-type.

### 2.3.2 Incubatietijd en overleving van *Agrobacterium rhizogenes* en het Ri-plasmide

De incubatietijd, dat is de periode tussen infectie van de plant en het zichtbaar worden van de eerste symptomen van overmatige wortelgroei, is 5 tot 8 weken of langer (Gaag en Janse, 2000). Weller et al. (2000) zagen 5 weken na kunstmatige besmetting de eerste komkommerplanten met symptomen van overmatige wortelgroei. Na 8 weken vertoonden 17 van de 18 geïnoculeerde planten symptomen. In de geïnfecteerde wortels toonde men ook veel *A. radiobacter* met Ri-plasmiden aan. In wortels van gezonde, niet opzettelijk besmette planten vond men zeer veel *A. radiobacter*, maar dan zonder Ri-plasmide.

De bacterie en het plasmide hebben een lange levensduur. In Engeland bleek de Ri-plasmide zo'n 15 jaar vitaal te blijven zonder symptomen te geven tussen twee uitbraken van overmatige wortelgroei in komkommer. Het ontbreken van de ziekteverschijnselen kan mogelijk te maken hebben met de opbouw van een onderdrukkende microflora in grond (Weller, Stead en Young, 2006). Ook uit ander onderzoek is bekend dat *Agrobacterium* stammen erg lang kunnen overleven zonder gastheer. In een veld met alleen symptoomloze onkruiden, kon 16 jaar na het verwijderen van zieke planten in de grond de bacteriestammen met een Ti-plasmide nog worden aangetoond (Krimi et al., 2002). De bacterie kan minstens 35 dagen overleven in een voedingsoplossing voor een substraatteelt (Anonymous, 2004).

### 2.3.3 Infectiebronnen

*Agrobacterium*-soorten, inclusief de ziekteverwekkende isolaten, komen algemeen voor in de grond. In een onderzoek op een tomatenbedrijf met overmatige wortelgroei, werd de ziekteverwekker (*A. radiobacter* en de Ri-plasmide) in grond in en buiten de kas én in verschillende onkruiden, zoals muur, kruiskruid en paardenbloem gevonden. Dit geeft aan dat zowel grond als (on)kruiden een continue bron van infectie kunnen zijn. Bij de onkruiden is geen extreme wortelontwikkeling gevonden, maar de onkruiden kunnen dienen als reservoirs van de ziekmakende bacterie dienen. (Anonymous, 2004).

*Agrobacterium* biovar 1 isolaten werden door Weller et al. (2000) gevonden in ondermeer grond, steenwolpotten en steenwolmatten, wortels, de onderste 5 cm van de stengel en in drainwater. Groen Agro Control heeft in 2009 in een bronnenonderzoek de bacterie *Agrobacterium rhizogenes* kunnen detecteren in monsters van grond, wortels en drainwater uit geïnfecteerde kassen. De bacterie is niet gedetecteerd grond van buiten de kas, uitgangswater, stof op het kasdek of uit stengels van geïnfecteerde planten. Overmatige wortelgroei komt zowel voor bij de teelt in grond als op diverse substraten. In een vergelijkend onderzoek met cherrytomaten op steenwol, kokos, kokosvezels met toevoeging van Trichoderma en op boomschors, gaven alle substraten overmatig wortelgroei verschijnselen bij tomaten. Vier weken nadat de eerste symptomen waren waargenomen, was de aantasting zelfs erger in de organische substraten dan in steenwol (Anonymous, 1994). Ook in onderzoek dat in Frankrijk is uitgevoerd, komt naar voren dat het gebruik van kokos de gunstig is voor de ontwikkeling van overmatige groei (Craddock et al., 2011).

Er zijn verschillende aanwijzingen dat de infectie al zeer vroeg in de teelt plaats vindt. De symptomen worden ook ernstiger hoe eerder de infectie heeft plaats gevonden. (Weller 2011, personal communication). In Frankrijk zijn monsters genomen bij plantenkwekers, deze monsters bevestigden de hypothese dat een vroege infectie afkomstig kan zijn van plantenkwekers (Craddock et al., 2011). Teeltadviseur Derek Hargreaves stelt dat de infectie afkomstig vanuit de draingoten in eb-vloedvloeren bij plantenkwekers (Hargreaves, 2010).

Infectie bij komkommer kan ondermeer plaatsvinden tijdens de opkweek of bij het uitplanten als gronddeeltjes die met de bacterie verontreinigd zijn op de wortels worden geblazen of gespetterd. Beschadiging van de wortelpunten stimuleert hoogstwaarschijnlijk de infectie. O'Neill en Yarham (1993) denken hierbij vooral aan mechanische beschadiging door bijvoorbeeld plantstokjes, stekers of vraat van insectenlarven. Mechanische wortelbeschadiging is echter niet altijd noodzakelijk om infectie door de bacterie te verkrijgen. Weller, Stead, en Young (2005) konden zonder de komkommerplanten te beschadigen met bacteriën toch symptomen van overmatig wortelgroei opwekken. Bij wortelknobbel in roos is bekend dat voor infectie wel altijd een beschadiging noodzakelijk is (Wubben, 1999).

Niet alle komkommerplanten die op zieke steenwolmatten worden geplant, blijken te worden aangetast. In een juni-planting traden na drie, vier, vijf en zeven weken na het planten respectievelijk bij 0, 0,5, 7 en 16% van de planten aantasting van overmatig wortelgroei op. Er was toen echter nog geen productieverlies zichtbaar (O'Neill, 1994). De aanwezigheid in de steenwolmat van *A. radiobacter* met Ri-plasmide leidt dus niet altijd tot symptomen van overmatig wortelgroei. Mogelijk moet het aantal bacteriën een bepaalde drempelwaarde overschrijden voordat de plant overmatig wortelgroei gaat vertonen (Weller et al., 2000).

### 2.3.4 Raseffect

Het ras lijkt geen invloed te hebben op de mate van aantasting (Yarham en Perkins, 1978; O'Neill, 1994). Enten van komkommers op de onderstam *Cucurbita ficifolia* gaf minder overmatig wortelgroei bij een grondteelt, maar het enten zelf leidde tot een lagere productie (Yarham en Perkins, 1978). Onderzoek met onderstammen uitgevoerd door het CATE instituut (2009) gaf liet en grotere gevoeligheid voor *Agrobacterium rhizogenes* zien van onderstammen met een energieke groei (Optifort, Emperador, Maxifort) dan de minder groeikrachtige rassen (Beaufort, Unifort en Arnold). Een ras dat qua groeikracht ligt tussen beide eerder genoemde groepen Efialto was zeer gevoelig van *A. rhizogenes*. Echter de beste productiviteit werd toch toegeschreven aan Beaufort en aan de drie gevoelige, maar groeikrachtige rassen Optifort, Emperador, Maxifort. (Craddock 2011)





## 3 Resultaten

### 3.1 Inventarisatie van de internationale omvang van “overmatige wortelgroei”

Gebruik makend van het persoonlijke netwerk is er in een aantal landen navraag gedaan naar het voorkomen van de problematiek. Per mail zijn adviseurs, onderzoekers van kennisinstututen, medewerkers van laboratoria, medewerkers van toeleveranciers en medewerkers van overheden benaderd om te vragen naar het voorkomen van de symptomen in het desbetreffende land. Er is gevraagd of men bekend is met de symptomen, in welke teelten de symptomen zijn waargenomen, wat de betreffende bedrijven als remedie hebben gekozen, welke hypothese men had over de bron van de aantasting en of onderzoek wordt uitgevoerd met *A. rhizogenes* als onderwerp. Per persoon en per instantie zijn de vragen toegespitst op de persoon.

### 3.2 Verspreiding *Agrobacterium rhizogenes*

De symptomen van *Agrobacterium rhizogenes* zijn naast Nederland waargenomen in:

- België
- Ierland
- Groot-Brittannië
- Duitsland
- Canada
- Mexico
- Spanje
- Polen
- Frankrijk (Bretagne en rondom Metz)

Symptomen worden primair genoemd bij de telt van komkommer en tomaat

### 3.3 Respons op de inventarisatie

Hieronder samenvattend de reacties van de bevroegde personen:

- Er wordt er vooral nadruk gelegd op hygiëne tijdens de teeltwissel, vaak zonder afdoende resultaat.
- Verder worden ontsmetting van recirculatie water (UV, verhitting) en doseringen van middelen aan druppel(voedings)water genoemd: ECA water, Natriumhypochloriet (5 ppm aan de druppelaar), Hyperclean, Chloor met doseerpompje, pH verlagen en zelfs het doseren van chloorbleekloog in de mestbak (A bak) zonder zuurtoevoeging is genoemd (er trad wel gasvorming op).
- De gevallen in Canada zijn opmerkelijk genoeg twee incidenten geweest in 2004 en 2008. In beide gevallen ging het om een tomatengewas. In deze gevallen is hygiëne tijdens de teeltwissel afdoende geweest om symptomen niet terug te laten keren. Foto's van de symptomen zijn onmiskenbaar veroorzaakt door *A. rhizogenes*.



Figuur 6: Aantasting van overmatige wortelgroei in Canada 2008 (foto: Gillian Ferguson)

- Ook wordt een aantal keren droger telen, minder frequent gieten genoemd, waardoor matten kunnen indrogen.

- Opmerkelijk genoeg wordt bij de geen van de benaderde personen gewerkt met compostthee, concurrerende bacteriepreparaten of andere biologische bestrijding (bijvoorbeeld *A. radiobacter* stam K84).
- Martin McPherson noemt het middel Glutaaraldehyde als ontsmettingsmiddel tussen teelten. Tijdens de teelt verwacht Martin McPherson eerder een stimulans van de bacterie en de symptomen door het afdoen van antagonistische en concurrerende organismen.
- Ook Derek Hargreaves (Teeltadviseur in Groot Brittannië) noemt het middel Glutaaraldehyde in combinatie met een quaternaire ammoniumverbinding in een presentatie als goed ontsmettingsmiddel tussen teelten.
- Verschillende mensen wijzen meer of minder uitgesproken in de richting van opkweek van plantmateriaal als bron van de besmetting. Derek Hargreaves is daar vast besloten over, Simon Weller heeft aanwijzingen dat gerichte bemonstering naar 'hot spots' en door op die plekken een actieve bestrijding toe te passen en een strikte hygiëne toe te passen, op plantenopkweekbedrijven heeft bijgedragen aan de vermindering van de problematiek. In Frankrijk wordt ook gekeken en onderzoek uitgevoerd bij plantenkwekers. Ook in Nederland wordt er gespeculeerd over de rol van plantenkwekers.
- Simon Weller denkt dat een natuurlijke biologische controle heeft gezorgd voor de controle van de problemen in Groot Brittannië. Simon noemt een voorbeeld van een bedrijf waar de problemen zich in tijd van zelf oplossen door dat deze teler van gangbaar overschakelde op biologisch telen.
- Het middel Glutaaraldehyde is een kleurloos sterk geurend ontsmettingsmiddel met biocide werking. Wordt veel gebruikt als desinfectie of sterilisatiemiddel. De stof is biologisch afbreekbaar en heeft een laag potentieel voor bio-accumulatie.
- Verder wordt door diverse personen gemeld dat bij een infectie het praktisch ondoenbaar is om van de problemen af te komen. Een teeltadviseur meldde dat hij twee bedrijven kent die in 2009 tegelijkertijd met *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) en overmatige wortelgroei kampten. Cmm is in 2010 verdwenen, maar overmatige wortelgroei niet.
- Ook wordt het ontbreken van de problemen bij paprika een aantal keren genoemd.
- Simon Weller ziet de oplossing in een geduldige aanpak, waarbij gemonitord wordt bij plantenkwekers en met natuurlijke middelen wordt getracht de bacterie te voorkomen of te beheersen.
- Vanuit Scandinavië zijn bij geraadpleegde personen geen gevallen bekend. Er zijn geen Noorse, Zweedse of Deense bedrijven die te maken hebben met overmatige wortelgroei of in het verleden met deze ziekte zijn geconfronteerd. Dit geeft in ieder geval aan dat het probleem niet bestaat of in ieder geval klein is ten opzichte van de problemen in Nederland.
- Martin McPherson benadrukt dat de oplossing niet ligt in meer ontsmetten tijdens de teelt. Hij ziet eerder kansen in stimuleren van een brede antagonistische (bacterie) populatie. Doserend chloor heeft nauwelijks een effect tijdens de teelt, aldus McPherson.
- pH schokken (onder 6) bij komkommer en tomaat veroorzaken een kwetsbare wortel.
- Effect van doorgewortelde steenwolpotten die van de plantenkweker komen. Bij het plaatsen van de planten op de mat treedt er direct veel beschadiging op. Dit kunnen infectiepoorten zijn voor de bacterie.
- Ook worden enkele gevallen van een spontane verdwijning van de symptomen genoemd.
- Detectie technieken zijn niet optimaal, aldus Andrew Aspin van FERA (UK). Ideaal zou zijn om het T-DNA in de getransformeerde cel te kunnen detecteren. In dat geval een infectie direct in het plantmateriaal worden vastgesteld en kwantitatief worden gemaakt. Op zich geen nieuwe idee, maar door de recente ontwikkeling op het gebied van de genomica biedt dit een nieuwe kans. ([www.agrobacterium.org](http://www.agrobacterium.org))

## 3.4 Onderzoek

Ondanks het feit dat aan dit organisme veel onderzoek is verricht ten behoeve van de genetische modificatie. Op dit moment wordt het genoom van *Agrobacterium rhizogenes* stam A4 'gesequenced' ([www.agrobacterium.org](http://www.agrobacterium.org)). In de ons omringende landen wordt geen onderzoek gedaan aan de teeltproblematiek. Bij de proefstations en universiteiten in België lopen geen projecten. Ook in de UK zijn geen lopende onderzoeken gemeld. In Canada ziet men de noodzaak voor onderzoek vanwege het beperkte aantal incidenten op dit moment niet. Over Duits onderzoek heb ik niets gehoord of kunnen vinden. Wel wordt er in samenwerking met coöperaties (Saveol, Sica en UCPT), proefstations CATE en SECL en een laboratorium (Vegenov BBV) in Frankrijk (Bretagne) aan dit onderwerp gewerkt.

## 3.5 Gaten in kennis, onderzoeksvragen en oplossingsrichtingen

Na het lezen van de literatuur en contact te hebben gehad met diverse kenners in het veld zijn er nog veel vragen waar nog geen direct antwoord op is:



- Wanneer is het gewas gevoelig voor infectie? Kunnen we bepalen wanneer het gewas het kwetsbaarst is en daar de behandeling op focussen? In Engeland (Weller en McPherson heeft men in een kleine proef aangetoond dat het gewas het kwetsbaarst is zo'n 4 weken na zaaien? De proef is niet herhaald en McPherson geeft aan dat er geen publicatie over bestaat. Het lijkt hem zinvol om dit gegeven te valideren.
- Ligt de bron bij de plantenkwekers in het systeem?
- Wordt de infectie bespoedigd door enten? Is enten de oorzaak van de problemen? Kan *Agrobacterium rhizogenes* via enten verspreid worden?
- Is *Agrobacterium rhizogenes* zaad overdraagbaar?
- Waarom krijgt *Agrobacterium rhizogenes* op het moment zoveel kansen om te infecteren? Zijn er mogelijk andere (onbekende) bacteriën, aaltjes of andere beschadigers die wortels beschadigen voor de snelle verspreiding zorgen?
- Zijn plasmiden op dit moment virulenter? De aanwezigheid van Vir-genes en de gerelateerde introductie in de plant kan verschillend zijn.
- Heeft ontsmetten tijdens de teelt wel zin? Ook de concurrentie van *A. rhizogenes* wordt daarmee weggenomen.
- Wat is het effect van een weerbaar substraat, antagonisme en concurrentie van andere bacteriën.
- Is inoculatie met een getransformeerde stam optioneel in Nederland? Denk aan Nogall, galltrol. Martin McPherson heeft goede resultaten gezien met galltrol (ongepubliceerd onderzoek). Simon Weller geeft aan alleen effect te zien tegen *A. tumefaciens*.
- Wat zijn de effecten van waterbehandelingstechnieken zoals Aquanox, ECA water, chloordioxide en Aquahort? Ontsmetting gedurende de teelt (meedruppelen) en als ontsmetting van het recirculatiewater.
- Wat is het effect van weerbaarheidsverhogers (compostthee)? In Engeland zijn bedrijven over geschakeld een biologische teelt en de problemen met de overmatige wortelgroei namen af en verdwenen na ongeveer 3 jaar (Weller, personal communication)?
- Effecten van middelen kunnen direct op het pathogeen worden gescreend een labtest?
- Wat is het effect van vocht in en de structuur van de mat.
- Minder druppelbeurten, drogere mat, minder problemen?
- Zijn er stoffen in het drainwater die stimulerend kunnen zijn voor de ontwikkeling van de bacterie? Is de biologische of chemische samenstelling van het recirculatie water stimulerend voor de ontwikkeling van de ziekte?

Uit deze lijst aan vragen, die zeker niet volledig is, zijn 4 hoofdthema's te kristalliseren. Gezien vanuit de literatuur, de inventarisatie bij onderzoek en advies en de mogelijkheden voor een oplossing voor de problematiek van de Nederlandse glasgroenteteler zijn dit de hoofdthema's waaraan, mijns inziens, onderzoek aan zou kunnen worden gedaan:

1. **Vatbaarheid voor *Agrobacterium* vroeg in de teelt:** Mogelijk zijn de planten het meest vatbaar voor de bacterie en de plasmide introductie in een zeer jong stadium, in de eerste weken na zaaien, en is bij een vroege infectie de kans op 'excessieve groei' het groots. Bestaat er een relatie tussen symptomen en plantenkwekers en geldt dit ook voor het enten van plantmateriaal.
2. **Weerbaar substraat:** Toevoegen van bijvoorbeeld plantenextracten (verwarring van de mechanisme), compostthee (toevoegen van antagonistische en concurrerende bacteriën en compost en plantextracten) of chitine (stimulering van bodembacteriën).
3. **Screening van technieken en middelen:** Effectiviteitsscreening van middelen op labschaal. Snelle screening van middelen die voor de teelt, tijdens en bij teeltwisseling worden toegepast.
4. **Biologische bestrijding:** met behulp van inoculatie van de jonge plant met getransformeerde stammen (Nogall, Galltrol, kans op toelating??) en of voor *Agrobacterium (rhizogenes)* specifieke antagonisten.



## 4 Geraadpleegde literatuur

- Agrobacterium.org, a public web resource for the Agrobacterium research community; [www.agrobacterium.org](http://www.agrobacterium.org)
- Anonymous 1998. Root mat: tomatoes next? *Grower*, 20 augustus, p. 24.
- Anonymous 2000. Root mat. Problem disorder heads north and turns up in tomato crops. *Grower*, 17 augustus, p. 6.
- Anonymous 2004. Improved control of novel *Agrobacterium* induced diseases in hydroponic through risk assessment and biological control. Final Project Report, Department for Environment, Food and Rural Affairs (DEFRA), Central Science Laboratory, York, 23 p.
- CSL 2007. <http://www.csl.gov.uk/aboutCsl/scienceGroupsAndTeams/phg/plhd/envBacteriology.cfm>
- Cleene, M. De & Ley, J. De, 1980) The Host Range of Infectious Hairy-Root. *Botanical Review*, Vol. 47, No. 2: 147-194.
- Craddock, C., Corre, D. Le & Hamon, C. 2011. The bacterial disease known as hairy root disease has been found in greenhouse crops in Brittany, prompting regional organisations to conduct test. *Vertaald uit Réussir Fruits & Légumes* : No. 302
- Davioud, E., A. petit., M.E. Tate, M.H. Ryder en J. Pempe 1988. Cucumopine – a new T-DNA encoded opine in hairy root and crown gall. *Phytochemistry* 27: 2429-2433.
- Escobar, M.A. & Dandekar, A.M. 2003. *Agrobacterium tumefaciens* as an agent of disease. *TRENDS in Plant Science* Vol.8 No.8: 380-386.
- Gaag, D.J. en J. Janse 2000. 'Gekke wortels' geconstateerd in Nederland. *Gewasnieuws komkommer, LTO-Groeiservice* 3(4): 1.
- Gelvin, S.B. 1990. Crown Gall Disease and Hairy Root Disease. A sledgehammer and a tackhammer. *Plant Physiology* 92, 281-285.
- Gelvin, S.B. 2003. *Agrobacterium*-Mediated Plant transformation: the biology behind the "Gene-Jockeying" Tool. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. Vol. 67, No. 1: 16-37.
- Haas, J.H., L.W. Moore, W. Ream en S. Manulis 1995. Universal PCR primers for detection of phytopathogenic *Agrobacterium* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 61: 2879-2884.
- Hargreaves, D. 2010. Don't let Root Mat drive you crazy! Oral presentation, Grodan expert meeting in Amsterdam
- Hodges, L. D., Lee, L.-Y., McNett, H., Gelvin, S.B. & Ream, W. 2009. The *Agrobacterium rhizogenes* GALLS Gene Encodes Two Secreted Proteins Required for Genetic Transformation of Plants. *Journal Of bacteriology* Vol. 191, No.1: 355–364.
- IKC-AT 1992. Stomen. Technische handleiding bij het stomen van grond en substraat.
- Janse, J. 2008. Gekke wortels bij komkommers en andere vruchtgroenten. Een consultancy onderzoek. Wageningen UR Glastuinbouw, 170.
- Krimi, Z., A. Petit, C. Mougél, Y. Dessaux en X. Nesme 2002. Seasonal fluctuations and long-term persistence of *Agrobacterium* spp. in soils. *Applied Environmental Microbiology*, 68: 3358-3365.
- Marwijk, I. van 2010. Root mat disorder in tomato and cucumber from dutch perspective. Oral presentation, Grodan expert meeting in Amsterdam
- O'Neill, T.M. 1993. The cucumber root mat mystery. *Grower*, 120: 8-9.
- O'Neill, T.M. 1994. Cucumber: Investigation of root mat disease – 1993. Final Report. ADAS Cambridge, 19 p.
- Petit, A., Davis, C.Dahl, G., Ellis, J. & Guyon, P. 1983. Further Extension of the opine Concept: Plasmids in *Agrobacterium rhizogenes* cooperate for opine degradation. *Mol Gen Genet* 190: 204-214.
- Sagen, H. E., Riker, A. J., Baldwin, I.L., 1934. Studies on Certain Physiological characters of *Phytomonas tumefaciens*, *Phytomonas rhizogenes* and *Bacillus radiobacter*. 571-595.
- Smith, I.M., Dunez, J., Lelliot, R.A. Philips, D.H. en Archer, S.A. 1988. *European Handbook of Plant Diseases*, Blackwell Scientific Publications, London p 176-179.
- Starr, M. P. 1946. The Nutrition of Phytopathogenic bacteria; II. The genus *Agrobacterium*. Vol 52 187-194.
- Stijger, H. 2007. Mark Zwinkels: 'We hebben geen vervuilde druppelaars meer'. *Hyperclean voor een schoon druppelsysteem*. *Onder Glas* 4(8): 40-41.
- Tepfer, D., 1984. Transformation of Several Species of Higher Plants by *Agrobacterium rhizogenes*: Sexual Transmission of the Transformed Genotype and Phenotype. *Cell*, Vol. 37, 959-967.
- Veena, V. & Taylor, C.G. 2007. *Agrobacterium rhizogenes*: recent developments and promising applications, *In Vitro Cell. Dev.Biol.-Plant* 43: 383-403
- Vermunt, A. 2009. Aanpak van overmatige wortelgroei in groente gewassen veroorzaakt door *Agrobacterium rhizogenes*. PT rapportage 13566.
- Visser, P. 1999. 'Gekke wortels' verhinderen vruchtzetting in Engeland, *Groenten en Fruit*, 9(17): 6-7.
- Weller, S.A., D.E. Stead, T.O. O'Neill, D. Hargreaves en G. M. McPherson 2000. Rhizogenic *Agrobacterium* biovar 1 and cucumber root mat in the UK. *Plant Pathology* 49: 43-20.
- Weller, S.A., D.E. Stead, T.O. O'Neill en P.S. Morley 2000. Root mat in tomato caused by rhizogenic strains of *Agrobacterium* biovar 1 in the UK. *Plant Pathology* 49: 799.

- Weller, S. A. en D. E. Stead 2002. Detection of root mat associated *Agrobacterium* strains from plant material and other sample types by post-enrichment TaqMan PCR. *Journal of Applied Microbiology* 92(1): 118-126.
- Weller, S. A., D. E. Stead en J.P.W. Young 2004. Acquisition of an *Agrobacterium* Ri-plasmid and pathogenicity by other *Proteobacteria* in cucumber and tomato crops affected by root mat. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5): 2779-2785.
- Weller, S.A. 2005. PhD-thesis. Improved control of novel *Agrobacterium* induced diseases in hydroponic crops through risk assessment and biological control. University of York, department of Biology.
- Weller, S. A., D. E. Stead en J.P.W. Young 2005. Induction of root-mat symptoms on cucumber plants by *Rhizobium*, but not by *Ochrobactrum* or *Sinorhizobium*, harbouring a cucumopine Ri-plasmid. *Plant Pathology*, 54(6): 799-805.
- Weller, S. A., D. E. Stead en J.P.W. Young 2006. Recurrent outbreaks of root mat in cucumber and tomato are associated with a monomorphic, cucumopine, Ri-plasmid harboured by various *Alphaproteobacteria*. *FEMS Microbiology Letters* 258(1): 136-143.
- Weller, S. A., Elphinstone, J.G. Parkinson, N. & Thwaites, R. 2006. Molecular diagnosis of plant pathogenic bacteria. *Arab J. Pl. Prot.* 24:143-146
- White F. F. & Nester E. W. 1980. Hairy Root: Plasmid Encodes Virulence Traits in *Agrobacterium rhizogenes*. *Journal Of Bacteriology* Vol.141, No.3: 1134-1141.
- Wikipedia, <http://en.wikipedia.org/wiki/Agrobacterium>
- Wubben, J.P. 1999. *Agrobacterium tumefaciens*: de veroorzaker van wortelknobbel bij roos. Een literatuurstudie. Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente, Aalsmeer, 17 p.
- Yarham, D. J. en S. W. Perkins 1978. Cucumber's mystery root mat disorder still spreading. *Grower* 90(1): 18, 20, 22.
- Zabel, P. 2005. Gene technology. Laboratory of Molecular Biology, Department of Plant Sciences, Wageningen University, 144 p.

## Bijlage I.

### Geconsulteerde personen

	<b>organisatie</b>	<b>Functie</b>	<b>Nationaliteit</b>	<b>Email</b>
Bert Woudt	Syngenta Seeds	Bacterioloog	NL	<a href="mailto:bert.woudt@syngenta.com">bert.woudt@syngenta.com</a>
Jessica Oosterhof	RijkZwaan	Phytopatholoog	NL	<a href="mailto:j.oosterhof@rijkszwaan.nl">j.oosterhof@rijkszwaan.nl</a>
Ewoud van der Ven	DLV	Teeltadviseur	NL	<a href="mailto:E.vanderVen@dlvplant.nl">E.vanderVen@dlvplant.nl</a>
Andy Aspin	FERA	Bacterioloog	UK	<a href="mailto:Andrew.Aspin@fera.gsi.gov.uk">Andrew.Aspin@fera.gsi.gov.uk</a>
Brian Carter	FERA	Bacterioloog	UK	<a href="mailto:Brian.carter@fera.gsi.gov.uk">Brian.carter@fera.gsi.gov.uk</a>
Simon Weller	Defence Science and Technology Laboratory	Bacterioloog	UK	<a href="mailto:SWELLER@mail.dstl.gov.uk">SWELLER@mail.dstl.gov.uk</a>
Martin Mcpherson	Stockbridge Technology center	Onderzoeker	UK	<a href="mailto:martinmcpherson@stc-nyorks.co.uk">martinmcpherson@stc-nyorks.co.uk</a>
Karin Tifft	Greenhouse Vegetable Consultants	Teeltadviseur	USA	<a href="mailto:khtifft@cox.net">khtifft@cox.net</a>
Gillian Ferguson	Ontario Ministry of A, F & R A	GH Vegetable Specialist	CAN	<a href="mailto:gillian.ferguson@ontario.ca">gillian.ferguson@ontario.ca</a>
Andrew Lee	GRODAN	Verkoopadviseur	UK	<a href="mailto:andrew.lee@grodan.com">andrew.lee@grodan.com</a>
Justine de Witte	Proefstation Kruishoutem	Onderzoeker	BEL	<a href="mailto:Justine@proefcentrum-kruishoutem.be">Justine@proefcentrum-kruishoutem.be</a>
Lieve Wittemans	Proefstation St. Kat Waver	Onderzoeker	BEL	<a href="mailto:lieve.wittemans@proefstation.be">lieve.wittemans@proefstation.be</a>
Ilse Leenknecht	Proefstation St. Kat Waver	Onderzoeker	BEL	<a href="mailto:ilse.leenknecht@proefstation.be">ilse.leenknecht@proefstation.be</a>
Jan van der Wolf	Plant Research International	Onderzoeker	NL	<a href="mailto:jan.vanderwolf@wur.nl">jan.vanderwolf@wur.nl</a>
Bart Lievens	Scientia Terrae	Onderzoeker	BEL	<a href="mailto:bli@scientiaterrae.org">bli@scientiaterrae.org</a>
Stef van Kerckhove	Scientia Terrae	Lab medewerker	BEL	<a href="mailto:svk@scientiaterrae.org">svk@scientiaterrae.org</a>
Fons Vanachter	Scientia Terrae	Onderzoeker	BEL	<a href="mailto:fva@scientiaterrae.org">fva@scientiaterrae.org</a>
Inge Hanssen	Scientia Terrae	Onderzoeker	BEL	<a href="mailto:iha@scientiaterrae.org">iha@scientiaterrae.org</a>
Dr. Nielsen	University of Denmark	Onderzoeker	DK	<a href="mailto:steenl.nielsen@agrsci.dk">steenl.nielsen@agrsci.dk</a>
Dr. Dag-Ragnar Blystad	Bioforsk	Onderzoeker	NO	<a href="mailto:dag-ragnar.blystad@bioforsk.no">dag-ragnar.blystad@bioforsk.no</a>
Henk Kalkman	DLV	Teeltadviseur	NL	<a href="mailto:h.kalkman@dlvplant.nl">h.kalkman@dlvplant.nl</a>
Patrice Jaques	Saveol	Teeltadviseur	F	<a href="mailto:patrice.jacq@saveol.com">patrice.jacq@saveol.com</a>
Jos Beerens	Grodan	Verkoopadviseur	NL	<a href="mailto:jos.beerens@grodan.com">jos.beerens@grodan.com</a>
Rudy Devreker	DLV	Teeltadviseur	BEL	<a href="mailto:rdv@dlv.be">rdv@dlv.be</a>
Michael Brownbridge	Vineland Research	Onderzoeker	CAN	<a href="mailto:Michael.Brownbridge@vinelandresearch.com">Michael.Brownbridge@vinelandresearch.com</a>
Geert Moens	DLV	Teeltadviseur	BEL	<a href="mailto:gm@dlv.be">gm@dlv.be</a>



