

Symptomen opwekken in planten, overmatige wortelgroei.

Februari 2012



Groen Agro Control
LABORATORIUMONDERZOEK & ADVIES



Symptomen opwekken in planten, overmatige wortelgroei.

Opdrachtgever: **Productschap  Tuinbouw**

Looptijd project: november 2011 – februari 2012

COLOFON:

Contactpersoon: Ines van Marrewijk

Adres: Groen Agro Control
Distributieweg 1
2645 EG Delfgauw
Tel: 015 2572511
Fax: 015 2572522

Datum: 2 februari 2012
Titel Rapport: Symptomen opwekken in planten, overmatige wortelgroei
Opdrachtgever: Productschap Tuinbouw
Kernwoorden: Tomaat, aubergine, komkommer, overmatige wortelgroei, crazy roots, opwekken symptomen, inoculatie bacteriën, symptomen in relatie tot infectiedruk, incubatietijd, root mat disorder, Agrobacterium rhizogenes

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotokopie, microfilm, elektronisch of op geluidsband of op welke andere wijze ook en evenmin in een retrieval systeem worden opgeslagen zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de opdrachtgevers.



INHOUDSOPGAVE

INHOUDSOPGAVE	3
SAMENVATTING	4
1. INLEIDING	5
2. PLAN VAN AANPAK	6
3. RESULTATEN	11
3.1 Relatie tussen symptomen en aangelegde omstandigheden	11
3.2 Relatie tussen symptomen en infectiedruk aan bacteriën	12
3.3 Relatie tussen infectiedruk aan bacteriën en aangelegde omstandigheden	14
4. CONCLUSIES	15
BIJLAGE	16



SAMENVATTING

De ziekte, overmatige wortelgroei (crazy roots) wordt veroorzaakt door een bacterie, *Agrobacterium rhizogenes*. Het doel van dit onderzoek is erop gericht om de ziekte reproduceerbaar op te roepen. Daarmee kan onderzoek naar de effectiviteit van maatregelen getest worden op zieke planten.

Er is een methode ontwikkeld waarmee planten besmet worden én symptomen ontwikkelen. Door diverse invloedsfactoren aan te brengen werd duidelijk wat het effect is van diverse factoren op de mate van symptoomontwikkeling. De ziekteverwekkende bacterie *Agrobacterium rhizogenes* (A.r.) is steeds aangebracht in en rondom de wortels van jonge planten.

De meeste planten in alle besmette behandelingen geven 46 dagen na besmetting duidelijk wortelsymptomen van de ziekte overmatige wortelgroei. Met uitzondering van de behandeling zonder infectie en met lage infectiedruk hebben steeds minimaal 9 van de 10 planten symptomen ontwikkeld. Bij een zéér hoge infectiedruk bij besmetting zijn er nauwelijks meer wortelsymptomen zichtbaar. De behandelingen met een droger blok, met toevoeging van niet schadelijke microbiologie bij de start, met een gift van 4 en 5 pH en met extra wortelbeschadiging blijven elk afzonderlijk qua hoeveelheid wortelsymptomen achter ten opzichte van de standaard.

Bij inoculatie 1 week en 3 weken na oppotten is het aantal bacteriën in de wortels ten opzichte van de dezelfde behandeling die direct na oppotten werden geïnoculeerd, duidelijk lager na 46 dagen. Dit was niet zichtbaar aan de symptomen, die waren vergelijkbaar.

Alle behandeling met infectie hebben na 46 dagen grote hoeveelheden aan bacteriën in de wortels. Bij een lagere besmetting is na 46 dagen slechts 17% van het aantal bacteriën ten opzichte van de standaard meetbaar in de wortels. De behandelingen met een gift van pH 4 en 5 blijven ook achter qua hoeveelheid bacteriën in de wortels ten opzichte van de standaard. Dit geldt ook voor de symptomen.

De meeste behandelingen blijken steeds bij meer wortelsymptomen ook meer bacteriën in de wortels te hebben. Er lijkt dus een verband tussen de mate van wortelsymptomen en de hoeveelheid bacteriën in de wortels.



1 INLEIDING

Ziekteverwekker *Agrobacterium rhizogenes*

De ziekte wordt veroorzaakt door een zeer besmettelijke bacterie, *Agrobacterium rhizogenes*. Deze bacterie heeft een cirkelvormige DNA-element (het Ri-plasmide) en kan een fragment hiervan aan de plant overdragen. Dit DNA-element verstoort de hormoonhuishouding in de plantwortels.

Afgelopen jaar is het probleem van overmatige wortelgroei steeds meer opgetreden. Op dit moment treedt het door heel Nederland op, met de meeste bedrijven in de tomatenteelt. In aubergine lijkt de schade het grootst te zijn. Het blijkt in de praktijk zeer lastig voor bedrijven om van de ziekte af te komen en om voldoende grip op de gevolgen van de ziekte in de teelt te krijgen.

Probleemstelling

In eerder onderzoek naar middelen is het niet gelukt om overmatige wortelgroei (OWG) bij komkommer- en tomatenplanten goed op te roepen. Daardoor kon de effectiviteit van de middelen niet getest worden. Voor verder onderzoek is het dus essentieel om planten ziek te kunnen maken. Eerst dient de ziekte reproduceerbaar opgeroepen te kunnen worden onder proefomstandigheden voordat de effectiviteit van maatregelen getest kan worden.

Doelstellingen

Er wordt een test ontwikkeld waarmee planten besmet worden én symptomen ontwikkelen. Door diverse invloedsfactoren aan te brengen wordt duidelijk wat het effect is van deze factoren op het ziek worden van planten en op de mate van symptomontwikkeling. De ziekteverwekkende bacterie *Agrobacterium rhizogenes* (A.r.) wordt daarbij steeds aangebracht. Voorwaarde is steeds dat planten symptomen van overmatige wortelgroei (OWG) vertonen.



2 PLAN VAN AANPAK

Symptomen van OWG opwekken in planten

Er wordt een test ontwikkeld waarmee planten na infectie de symptomen geven. Voorwaarde is dat de plant na infectie de symptomen van overmatige wortelgroei (OWG) laat zien (incubatietijd is ca. 6 weken). Een redelijk gedeelte van de planten dient na besmetting symptomen van OWG te laten zien.

Bij het incuberen op door Groen Agro Control ontwikkelde methode worden verschillende omstandigheden aangelegd. Hiermee wordt bepaald of het % zieke planten daarmee toe- of afneemt.

Aangelegde omstandigheden in tomatenplanten.

1. **Watergehalte:** steenwolblok (Cultilene Pc) van 10x10x6,5. Standaard is een hoog watergehalte aangehouden.
 - Nat: hoog watergehalte (65-95%), watergift van blok bij gewicht <400 gram
 - Droog: laag watergehalte (40-95%), watergift van blok bij gewicht <250 gram
2. **Moment van inoculatie:** de bacteriën worden respectievelijk 1, 2 en 4 weken na enten ingebracht. Standaard zijn de planten in week 1 na enten geïnoculeerd.
Van zaai tot enten duurt ca. 18 dagen, en van enten naar oppotten 7 dagen. De planten vanaf het opkweekbedrijf waren ca. 25 dagen oud, vanaf het zaaien van de onderstam geteld.
3. **Micro-organismen** in het substraatblok bij het oppotten. Het voedingswater is al dan niet ontsmet via ozonbehandeling. De blokken zijn standaard met ontsmet voedingswater vol gezet.
 - Toepassen van ontsmet voedingswater bij de start van de proef.
 - Toepassen van niet ontsmet voedingswater bij de start van de proef.Er wordt een breed pakket aan micro-organismen gebruikt zoals die voorkomt in de pluggen vanaf het opkweekbedrijf. In 10 liter voedingswater is 500ml drainwater uit gebruikte opkweekpluggen (paprikaplanten) gevoegd. Daarmee werd een 4 keer hoger bacteriegetal en een iets hogere schimmelpopulatie aan het steenwolblok toegevoegd. Het water is gecontroleerd op pathogene micro-organismen. Die zaten er niet in, zoals ook de opzet was.
4. **pH omstandigheden** van het voedingswater. Het opkweekschema van tomaat is standaard ingesteld met een gift-pH van 6 zonder NH_4 . In twee andere behandelingen is respectievelijk een gift-pH van 5 en 4 gegeven door toevoeging van zuur en respectievelijk 1 en 2 NH_4 .



5. **Infectiedruk** aan Agrobacterium-bacteriën per plant. Standaard werd 1ml suspensie van een hoge infectiedruk (10^8 tot 10^9) toegevoegd per plant.
 - hoge infectiedruk aan bacteriën bij inoculatie (1 ml per plant)
 - lage infectiedruk aan bacteriën bij inoculatie (1 ml van 1000x-verdunde standaardsuspensie per plant)
 - zeer hoge infectiedruk aan bacteriën bij inoculatie (3 ml van standaardsuspensie per plant)
 - controlebehandeling zonder infectie (1ml demiwater per plant)

6. **Hoeveelheid verwonding** van wortels bij inoculatie. Standaard werd de suspensie in de plug gespoten met een injectienaald waarbij de wortels en stengelbasis onder de entplaats zo'n 4 keer werden ingeprikt.
 - Niets doen, waarbij enige kneuzing van wortels altijd plaats vindt
 - Wortels worden bij inoculatie extra gekneusd.



Foto1: Inoculatie met injectienaald



Foto2: Overzicht van proef op tafel

Elke behandeling krijgt als standaard de behandelingen zoals die onderstreept zijn. De planten zijn op drie momenten teruggetopt, steeds allen tegelijk. Op 24 november, 19 december en op 6 januari zijn de planten getopt.



Materiaal en methoden

Elke behandeling wordt in tweevoud uitgevoerd, waarbij de invloed van de plaats op de tafel wordt uitgesloten. Hoewel het niet de verwachting is dat 'plaats' van invloed is op de ontwikkeling van het ziektebeeld in het wortelgestel.

Totaal zijn er 130 tomatenplanten in de proef opgenomen in de vorm van dertien behandelingen, twee herhalingen en vijf planten per behandeling.

Alle planten zijn tegelijkertijd bij GAC aangeleverd in pluggen. Het ras Tourance op onderstam Optifort is gebruikt. De planten zijn 1 week na enten opgepot op 11 november 2011. Elke plant komt met het steenwolblok in een bakje van ca. 13x18 cm te staan, welke per herhaling bij elkaar op de tafel gezet worden. De proef is gestart met de eerste inoculatie op 11 november 2011 en de laatste waarneming op 17 januari 2012.

Bij inoculatie wordt gebruik gemaakt van een isolaat uit de praktijk waarvan bekend is dat die pathogeen is. Bij inoculatie is steeds het kiemgetal van levende A.r. bepaald en na drie weken is in de proef via analyse bepaald dat er levende A.r. aanwezig was. Inoculatie gebeurt in de ochtend, door het aanbrengen en inbrengen van een zekere hoeveelheid suspensie van steriel demiwater met bacteriën. A.r. bacteriën zijn eerst op voedingsmedium opgekweekt.

De planten zijn gegroeid onder omstandigheden die zoveel mogelijk de opkweek van tomaat in de kas simuleren. Alle planten krijgen gelijke behandeling tenzij onderdeel van de aangelegde omstandigheden.

Steeds 46 dagen na inoculatie zijn de wortelsymptomen vastgelegd. Het resultaat is dan het aantal besmette planten per behandeling en de mate van wortelsymptomen in de vorm van een cijferbeoordeling en foto's.

Onderdeel van de proef is dat aan het eind van de proef per behandeling de infectiedruk aan A.r. bacteriën wordt vastgesteld via de methode van kwantitatieve DNA analyse. De analyse is uitgevoerd op een mengmonster aan wortels per behandeling.

Aanvullende informatie

Een aanwijzing uit een ander onderzoek in de UK gaf aan dat jonge planten (ongeveer 4 weken) het meest vatbaar zijn. In de praktijk zijn in sommige gevallen al kort na uitplanten symptomen waargenomen. De literatuur zegt verder dat de bacterie een wondje nodig heeft om de wortel binnen te dringen. Dit en andere factoren worden als basis genomen bij het besmetten van planten.

Te bereiken resultaten

Een redelijk gedeelte van de planten dient na besmetting symptomen van OWG te laten zien. Er zijn verschillende omstandigheden aangelegd waarmee duidelijk wordt welke factoren van belang zijn bij het ziek worden van planten en het tot uiting komen van de wortelsymptomen. Door de infectiedruk aan bacteriën te bepalen wordt tevens inzicht verkregen in de relatie tussen infectiedruk aan bacteriën en de ernst van de symptomen.



Behandelingen in schema

In het onderstaand schema is onderstreept aangegeven wat de standaard van alle behandelingen is geweest.

Nr	Herhaling	Inoculatie in week	Infectie druk	Water gehalte	Water bij start	pH gift	Wortel bij inoculatie
	a	<u>1</u>	<u>hoog</u>	<u>Nat</u>	<u>Ontsmet</u>	<u>pH 6</u>	<u>Normaal</u>
	b	2	zéér hoog	Droog	Niet ontsmet	pH 5	Extra schade
		4	laag niet			pH 4	
1	1a en 1b	1	niet	Nat	Ontsmet	pH6	Normaal
2	2a en 2b	1	laag	Nat	Ontsmet	pH6	Normaal
3	3a en 3b	1	hoog	Nat	Ontsmet	pH6	Normaal
4	4a en 4b	1	hoog	Droog	Ontsmet	pH6	Normaal
5	5a en 5b	1	hoog	Nat	Niet ontsmet	pH6	Normaal
6	6a en 6b	1	hoog	Nat	Ontsmet	pH5	Normaal
7	7a en 7b	1	hoog	Nat	Ontsmet	pH4	Normaal
8	8a en 8b	1	hoog	Nat	Ontsmet	pH6	Extra schade
9	9a en 9b	2	zéér hoog	Nat	Ontsmet	pH6	Normaal
10	10a en 10b	2	hoog	Nat	Ontsmet	pH6	Normaal
11	11a en 11b	4	zéér hoog	Nat	Ontsmet	pH6	Normaal
12	12a en 12b	4	hoog	Nat	Ontsmet	pH6	Normaal
13	13a en 13b	1	zéér hoog	Nat	Ontsmet	pH6	Normaal

In het onderstaand schema is aangegeven welke inoculaten gebruikt zijn voor de besmetting van de verschillende behandelingen. Zo is te zien in welke orde van grootte het aantal bacteriën per plant is geweest bij inoculatie in week 1, 2 en 4.

Gebruikt inoculaat	kve/ml	ml/plant	bacteriën/plant	Nr
Demiwater 11/11/11	0	1	0	1
Inoculaat 11/11/11	$2,5 \cdot 10^9$	1	2.500.000.000	3 t/m 8
Inoculaat 11/11/11	$2,5 \cdot 10^9$	3	7.500.000.000	13
Inoculaat 11/11/11	$2,5 \cdot 10^6$	1	2.500.000	2
Inoculaat 18/11/11	$2,8 \cdot 10^8$	3	840.000.000	9
Inoculaat 18/11/11	$2,8 \cdot 10^8$	1	280.000.000	10
Inoculaat 01/12/11	$1,1 \cdot 10^9$	3	3.300.000.000	11
Inoculaat 01/12/11	$1,1 \cdot 10^9$	1	1.100.000.000	12



Opwekken van symptomen, overmatige wortelgroei

In het onderstaand schema is weergegeven hoe de behandelingen verspreid op de tafel stonden. Behandelingen 1a en 1b, zonder besmetting, zijn bewust achterin de kas langs de rand van de tafel gezet om besmetting via spatwater te voorkomen.

1a	1a	1a	1a	1a	1b	1b	1b	1b	1b
2a	2a	2a	2a	2a	7b	7b	7b	7b	7b
3a	3a	3a	3a	3a	8b	8b	8b	8b	8b
4a	4a	4a	4a	4a	9b	9b	9b	9b	9b
5a	5a	5a	5a	5a	10b	10b	10b	10b	10b
6a	6a	6a	6a	6a	11b	11b	11b	11b	11b
7a	7a	7a	7a	7a	12b	12b	12b	12b	12b
8a	8a	8a	8a	8a	2b	2b	2b	2b	2b
9a	9a	9a	9a	9a	3b	3b	3b	3b	3b
10a	10a	10a	10a	10a	4b	4b	4b	4b	4b
11a	11a	11a	11a	11a	5b	5b	5b	5b	5b
12a	12a	12a	12a	12a	6b	6b	6b	6b	6b
13a	13a	13a	13a	13a	13b	13b	13b	13b	13b



3 RESULTATEN

3.1 Relatie tussen symptomen en aangelegde omstandigheden

De meeste planten in alle besmette behandelingen geven na 46 dagen duidelijk wortelsymptomen van de ziekte overmatige wortelgroei. Daarmee is één doel bereikt, namelijk het ziek maken van planten mét zichtbare symptomen, onder geconditioneerde omstandigheden.

De mate van wortelgroei op het blok 46 dagen na inoculatie is vastgelegd in de vorm van een cijfer en door middel van foto's. Cijfers van 0 tot en met 5 geven aan dat er geen (0) tot veel symptomen (tot 5 cm in diameter) op het blok zichtbaar zijn. De waarnemingen van de 2 herhalingen gaven hetzelfde resultaat, er bleek dus geen plaatseffect te zijn. Vandaar dat de resultaten van de twee herhalingen samengevoegd zijn. De foto's met de corresponderende beoordeling van de symptomen zijn opgenomen in bijlage 1.

Resultaten van waarnemingen van wortelsymptomen

Met uitzondering van de behandeling zonder (1) en met lage infectiedruk (2) hebben steeds minimaal 9 van de 10 planten symptomen ontwikkeld 46 dagen na inoculatie. Na een lage besmetting (2) zijn duidelijk minder planten met symptomen zichtbaar. Na een hoge besmetting zijn er nauwelijks (tot 12%) meer wortelsymptomen zichtbaar (13 versus 3, 9 versus 10, en 11 versus 12).

De behandelingen met een droger blok, met microbiologie bij de start, met een gift van pH 4 en 5 en met extra wortelbeschadiging blijven allen achter qua hoeveelheid wortelsymptomen ten opzichte van de standaard. De één iets meer dan de ander. Bij inoculatie 1 week na oppotten (9 en 10), zijn de wortelsymptomen ten opzichte van de dezelfde behandeling die direct na oppotten werden geïnoculeerd, duidelijk minder (resp. 71 en 65%). Wanneer 3 weken na oppotten wordt geïnoculeerd zijn de symptomen gelijk aan de standaard (105 en 98%), maar daar zijn bij inoculatie meer bacteriën toegevoegd.

Vroeg of laat inoculeren gaf steeds 100% zieke planten, met gelijke mate van wortelsymptomen.

Resultaten van waarnemingen van wortelsymptomen													
Nr	1	2	13	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Inoculatie (wk)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	4	4
Behandeling	Geen	Infectie laag	Infectie hoog	Standaard	Blok droog	Micro bij start	Gift pH5	Gift pH4	Extra schade	Infectie hoog	Infectie normaal	Infectie hoog	Infectie normaal
Symptomen gemiddeld (0-5)	0	1,6	4,1	4,0	2,5	3,2	2,7	3,1	3,8	2,9	2,6	4,3	3,9
% met symptomen	0%	60%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	90%	100%	100%
Symptomen t.o.v. standaard	0%	40%	103%	<u>100%</u>	63%	80%	68%	78%	95%	112%	<u>100%</u>	110%	<u>100%</u>
S: t.o.v. inoculatie in week1			103%	<u>100%</u>						71%	65%	105%	98%
Vergelijking wordt gemaakt t.o.v. de onderstreepte referentie													
* Inoculatie in week 2 en 4 wordt vergeleken met dezelfde behandeling in week1													



3.2 Relatie tussen infectiedruk aan bacteriën en aangelegde omstandigheden

Er zijn wortelmonsters van de behandelingen 1 tot en met 13 genomen, waarbij van elk blok de wortels die onder het blok groeiden zijn verwijderd. Dit is voor alle behandelingen gedaan 46 dagen na inoculatie. Vervolgens is per behandeling middels een directe PCR-methode de infectiedruk aan bacteriën vastgesteld. Van enkele behandelingen is ook een watermonster uit de blokken geanalyseerd ter indicatie van infectiedruk in water.

Resultaten van infectiedruk aan bacteriën in wortels en water

Met uitzondering van de behandeling zonder (1) en met lage infectiedruk (2) hebben alle behandelingen relatief grote hoeveelheden aan bacteriën in de wortels.

Bij een lage besmetting (2 is met ca. 2,5 miljoen bacteriën per plant geïnoculeerd) zijn na 46 dagen slechts 17% van het aantal bacteriën van de standaard meetbaar in de wortels.

Bij een hoge besmetting zijn er wisselende resultaten. Bij 13 en 9 (resp. in week 1 en 2) geeft dat duidelijk meer bacteriën ten opzichte van de normale besmetting. Maar bij 11 (inoculatie in week 4) zijn er bij hoge besmetting veel minder bacteriën meetbaar. Dit is niet verklaarbaar.

De behandelingen met een droger blok geeft meer bacteriën in de wortels (153%).

Op het blok waren hier juist minder symptomen zichtbaar.

De behandelingen met toevoeging van niet schadelijke micro-organismen bij de start en met extra wortelbeschadiging zijn gelijk aan de standaard.

De behandelingen met een gift van 4 en 5 pH blijven achter qua hoeveelheid bacteriën in de wortels ten opzichte van de standaard.

Bij inoculatie 1 week na oppotten (9 en 10) is het aantal bacteriën in de wortels ten opzichte van de dezelfde behandeling die direct na oppotten werden geïnoculeerd, duidelijk lager (resp. 67 en 47%). Bij inoculatie 3 weken na oppotten (11 en 12) zijn na 46 dagen zelfs nog minder bacteriën in de wortels meetbaar (resp. 22 en 51%).

Op dag 67 na inoculatie is nogmaals het aantal bacteriën in de wortels van behandeling 13 en 3 bepaald. Die zijn dan beide zeer hoog. Mogelijk is op dat moment een verzadigingspunt bereikt.

Resultaten van infectiedruk aan bacteriën in wortels en water													
Nr	1	2	13	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Inoculatie (wk)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	4	4
Behandeling	Geen	Infectie laag	Infectie hoog	Standaard	Blok droog	Micro bij start	Gift pH5	Gift pH4	Extra schade	Infectie hoog	Infectie normaal	Infectie hoog	Infectie normaal
Bacteriën per g wortel (46d)	0	2,9 mio	20,3 mio	17,2 mio	26,4 mio	16,4 mio	11,6 mio	13,2 mio	17,0 mio	13,7 mio	8,1 mio	4,5 mio	8,8 mio
Bacteriën per g wortel (67d)			126,8 mio	117,6 mio									
Bacteriën per ml water (46d)		2.780	11.284	5.155	37.928	11.092	2.960	25.709					
Bacteriën in wortel t.o.v. standaard	0%	17%	118%	<u>100%</u>	153%	95%	67%	76%	99%	169%	<u>100%</u>	51%	<u>100%</u>
B: t.o.v inoculatie in week 1			118%	<u>100%</u>						67%	47%	22%	51%
Vergelijking wordt gemaakt t.o.v. de onderstreepte referentie													
* Inoculatie in week 2 en 4 wordt vergeleken met dezelfde behandeling in week 1													



Opwekken van symptomen, overmatige wortelgroei

Uit de metingen van bacteriën in het uitgeknepen drainwater uit de blokken komen wisselende resultaten. Dit wordt waarschijnlijk verklaard doordat het watergehalte van de blokken bij monsternamen zeer wisselend was. Bij de droge behandeling (4) is te zien dat de concentratie aan bacteriën zéér hoog is. Uit die blokken was nauwelijks water te knijpen, waardoor de bacteriën per ml uitgeknepen water hoger werd. In dit onderzoek wordt verder geen waarde gehecht aan de metingen in het uitgeknepen drainwater.



Foto7: Wortels onder een blok



Foto8: Wortels voor analyse



3.3 Relatie tussen symptomen en infectiedruk aan bacteriën

In de tabel worden de relatieve resultaten van de wortelsymptomen op het blok vergeleken met de infectiedruk aan bacteriën in de wortels. Met als doel te beoordelen of er een vergelijkbare trend (gelijk) in zit of niet (niet gelijk).

Relatieve resultaten van wortelsymptomen en infectiedruk aan bacteriën in wortels

De meeste behandelingen blijken steeds bij meer wortelsymptomen ook meer bacteriën in de wortels te hebben. Er lijkt dus een verband tussen de mate van wortelsymptomen en de hoeveelheid bacteriën in de wortels. Er lijkt daar een verband tussen de infectiedruk en de hoeveelheid bacteriën in de wortels. Deze vergelijking gaat echter niet op voor de behandelingen met een droger blok (4) en bij een hoge infectie in week 4 (11).

Resultaten van wortelsymptomen en infectiedruk in procent													
Nr	1	2	13	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Inoculatie (wk)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	4	4
Behandeling	Geen	Infectie laag	Infectie hoog	Standaard	Blok droog	Micro bij start	Gift pH5	Gift pH4	Extra schade	Infectie hoog	Infectie normaal	Infectie hoog	Infectie normaal
Bacteriën in wortel t.o.v. standaard	0%	17%	118%	<u>100%</u>	153%	95%	67%	76%	99%	169%	100%	51%	100%
B: t.o.v. inoculatie in week 1 (*)			118%	<u>100%</u>						67%	47%	22%	51%
Symptomen t.o.v. standaard	0%	40%	103%	<u>100%</u>	63%	80%	68%	78%	95%	112%	100%	110%	100%
S: t.o.v. inoculatie in week1 (*)			118%	<u>100%</u>						71%	65%	105%	98%
Symptomen t.o.v. bacteriën	gelijk	gelijk	gelijk	=	niet gelijk	gelijk	gelijk	gelijk	gelijk	gelijk	=	niet gelijk	=
<i>Vergelijking wordt gemaakt t.o.v. de onderstreepte referentie</i>													
<i>* Inoculatie in week 2 en 4 wordt vergeleken met dezelfde behandeling in week1</i>													



4 CONCLUSIES

De meeste planten in alle besmette behandelingen geven na 46 dagen duidelijk wortelsymptomen van de ziekte overmatige wortelgroei. Daarmee is één doel bereikt, namelijk het ziek maken van planten mét zichtbare symptomen, onder geconditioneerde omstandigheden.

In alle besmette behandelingen gaven steeds minimaal 9 van de 10 planten symptomen na 46 dagen na inoculatie. Bij een hoge besmetting zijn er nauwelijks meer wortelsymptomen zichtbaar dan bij de standaard.

Vroeg of laat na oppotten inoculeren met een injectienaald gaf steeds 100% zieke planten, met gelijke mate van wortelsymptomen.

Resultaten van infectiedruk aan bacteriën in wortels en water

Alle besmette behandelingen hebben relatief grote hoeveelheden aan bacteriën in de wortels na 46 dagen. Bij een veel lagere besmetting zijn na 46 dagen slechts 17% van het aantal bacteriën meetbaar in de wortels ten opzichte van de standaard.

De behandelingen met een gift van pH 4 en 5 blijven achter qua hoeveelheid bacteriën in de wortels ten opzichte van de standaard.

Bij inoculatie 1 week en 3 weken na oppotten is het aantal bacteriën in de wortels ten opzichte van de dezelfde behandeling die direct na oppotten werden geïnoculeerd, duidelijk lager.

67 dagen na inoculatie is nogmaals het aantal bacteriën in de wortels van twee behandeling bepaald. Dan is het aantal bacteriën in de wortels van lage en hoge besmetting zeer hoog, maar gelijk. Mogelijk is op dat moment een verzadigingspunt bereikt.




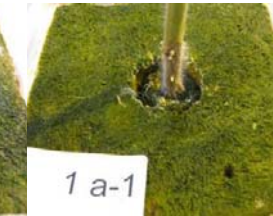

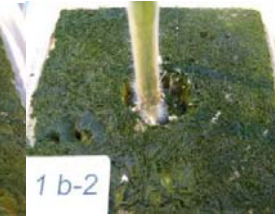









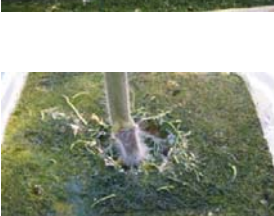

Relatieve resultaten van wortelsymptomen en infectiedruk aan bacteriën in wortels

De meeste behandelingen blijken steeds bij meer wortelsymptomen ook meer bacteriën in de wortels te hebben. Er lijkt dus een verband tussen de mate van wortelsymptomen en de hoeveelheid bacteriën in de wortels. Deze vergelijking gaat echter niet op voor de behandelingen met een droger blok en bij een hoge infectie 3 weken na oppotten.



Bijlage

Foto's en waarnemingen van planten die in week 1 geïnoculeerd zijn (3pag)

					Score	Nr
					0	5
					0	4
					0	3
					0	2
					0	1
					0	5
					0	4
					0	3
					0	2
					0	1
					1	5
					0	4
					5	3
					0	2
					2	1
					0	5
					0	4
					3	3
					2	2
					3	1
					3	5
					5	4
					4	3
					3	2
					3	1
					3	5
					5	4
					4	3
					5	2
					5	1



Opwekken van symptomen, overmatige wortelgroei



Score Nr
2 5
3 4
2 3
3 2
3 1



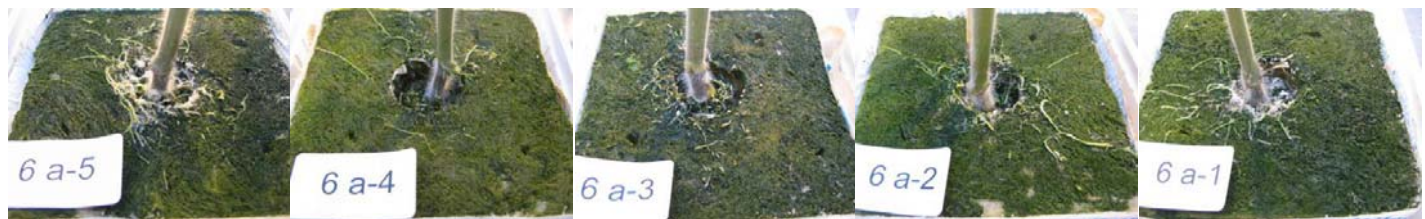
2 5
2 4
3 3
2 2
3 1



3 5
4 4
4 3
3 2
2 1



3 5
2 4
3 3
3 2
5 1





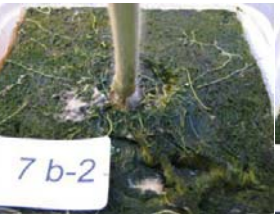











4 5
2 4
2 3
3 2
2 1



3 5
2 4
2 3
3 2
4 1



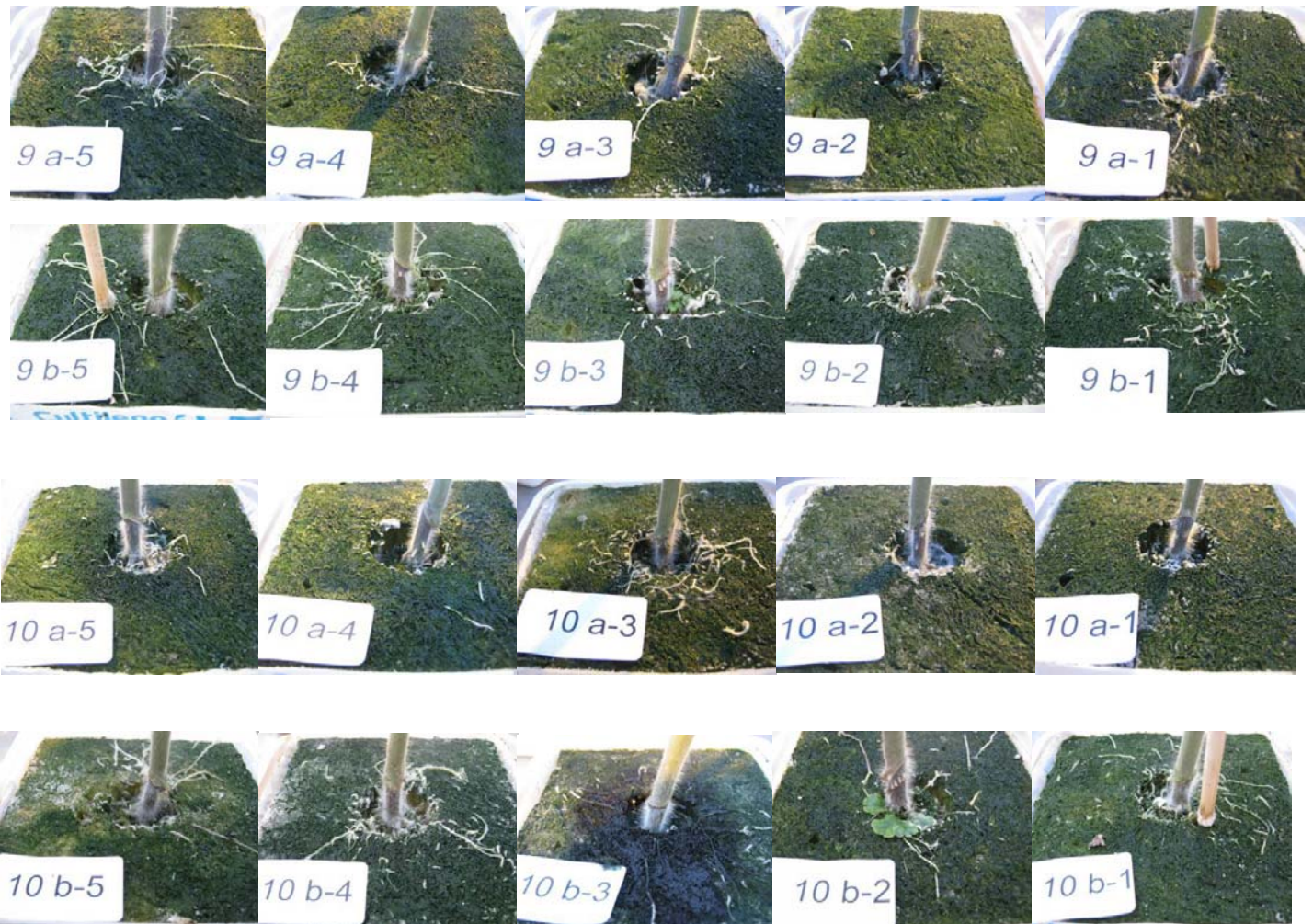
Opwekken van symptomen, overmatige wortelgroei

					Score Nr
					3 5 2 4 2 3 1 2 2 1
					4 5 4 4 5 3 4 2 4 1
					4 5 5 4 4 3 3 2 2 1
					5 5 4 4 3 3 3 2 5 1
					4 5 3 4 4 3 4 2 4 1
					4 5 4 4 5 3 5 2 4 1



Opwekken van symptomen, overmatige wortelgroei

Foto's en waarnemingen van planten die in week 2 geïnoculeerd zijn (1 pag)



Score Nr

4 5
1 4
2 3
1 2
2 1

4 5
5 4
2 3
3 2
5 1


















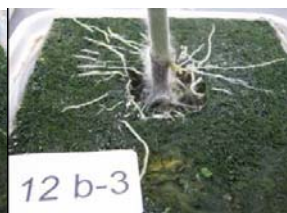


1 5
1 4
4 3
1 2
0 1

4 5
5 4
3 3
3 2
4 1



Opwekken van symptomen, overmatige wortelgroei

Foto's en waarnemingen van planten die in week 4 geïnoculeerd zijn (1 pag)

					Score	Nr
					4	5
					4	4
					3	3
					5	2
					3	1
					5	5
					5	4
					4	3
					5	2
					5	1
					5	5
					4	4
					3	3
					4	2
					2	1
					5	5
					5	4
					4	3
					5	2
					2	1