

Ecologie en biologische bestrijding van bitterzoet (*Solanum dulcamara*) II

Resultaten van onderzoek in 1998

N. van Dijk¹, M. Wenneker², R.M.W. Groeneveld¹ &
C. Kempenaar¹



plantenziektenkundige
dienst

ab-dlo

¹) AB-DLO

²) PD

DLO-Instituut voor Agrobiologisch en Bodemvruchtbaarheidsonderzoek (AB-DLO)

AB-DLO is een moderne, marktgerichte onderzoeksorganisatie die resultaten van wetenschappelijk onderzoek vertaalt naar maatoplossingen voor klanten. Kennis van processen in plant, gewas en bodem benut AB-DLO voor het sturen van de kwaliteit van land- en tuinbouwproducten in de keten en voor het duurzaam en landschappelijk aantrekkelijk maken van plantaardige productiesystemen. Integratie van kennis in operationele modellen geeft meerwaarde aan de onderzoeksproducten van AB-DLO.

De klantenkring omvat bedrijfsleven, land- en tuinbouw, inrichters van de groene ruimte, nationale en regionale overheden, en internationale organisaties.

AB-DLO beschikt over unieke expertise op het gebied van plantenfysiologie, gewas- en productie-ecologie, bodemchemie en -ecologie en systeemanalyse.

Het instituut heeft geavanceerde faciliteiten voor onderzoek aan fysiologische processen, planten, gewassen en eco-systemen:

- goed geoutilleerde laboratoria
- verschillende typen klimaatruimten
- het 'Wageningen Phytolab'
- het 'Wageningen Rhizolab'
- Open-Top kamers
- proefbedrijven op verschillende grondsoorten

De producten die AB-DLO op de markt brengt zijn gegroepeerd in drie productgroepen:

Plantaardige productie en productkwaliteit

- Geïntegreerde en biologische productiesystemen
- Onkruidbeheersingssystemen
- Precisielandbouw
- Groene grondstoffen en inhoudsstoffen
- Innovatie glastuinbouw
- Kwaliteit van plant, gewas en product

Bodem-plant-milieu

- Bodem- en luchtkwaliteit
- Klimaatverandering
- Biodiversiteit

Multifunctioneel en duurzaam landgebruik

- Nutriëntenmanagement
- Rurale ontwikkeling en voedselzekerheid
- Agro-ecologische zonerings
- Multifunctionele landbouw
- Agrarisch natuurbeheer

Adres : Bornsesteeg 65, Wageningen
: Postbus 14, 6700 AA Wageningen
Tel. : 0317-475700
Fax : 0317-423110
E-mail : postkamer@ab.dlo.nl
Internet : <http://www.ab.dlo.nl>

Plantenziektenkundige Dienst (PD)

De PD is de uitvoerende en beleidsvoorbereidende eenheid van de Directie GewasBescherming (DGB). De dienst is sinds 1994 een intern verzelfstandigde dienst binnen het ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij (LNV).

De PD heeft als doel ziekten en plagen in de plantaardige sector te weren en waar mogelijk te helpen beheersen en bestrijden. Daarbij gelden als beginselen duurzame, concurrerende en veilige land- en tuinbouw, het voorkomen van beperkingen ten aanzien van het agrarische handelsverkeer en behoud van het Nederlands landschap.

De PD heeft als zelfstandig opererende dienst zijn eigen taken en verantwoordelijkheden. Deze taken zijn per afdeling verdeeld. Deze kunnen als volgt worden onderverdeeld:

Inspecties

- importinspecties
- exportinspecties
- internationale bemiddeling

Fytosanitaire acties

- weren en beheersen van ziekten en plagen
- internationale aspecten

Fytofarmaceutische aangelegenheden

- erkenning van organisaties
- advisering College voor Toelating van Bestrijdingsmiddelen
- vergunning gewasbescherming
- regulering grondontsmetting

Informatievoorziening

- PD Nieuwsbrief
- Annual report (Diagnostisch centrum)
- Summary of Plant Health Regulations
- Gewasbeschermingsgids

Expertise en faciliteiten

Frequent wordt een beroep gedaan op de kennis en expertise van de PD als het gaat om ontwikkeling en uitvoering van het gewasbeschermingsbeleid. Het betreft het leveren van advies, het geven van cursussen, het beschikbaar stellen van faciliteiten en het uitvoeren van veldwerk.

Diagnose en identificatie

Het Diagnostisch Centrum van de PD stelt diagnoses en verricht identificaties ten behoeve van uitvoerende activiteiten van de dienst. Identificatietaken worden door verschillende secties (bacteriologie, entomologie, mycologie, nematologie en virologie) van de afdeling Diagnostiek verzorgd:

Onderzoeksinstellingen, voorlichtingsbureaus, keuringsdiensten en bedrijfsleven kunnen gebruik maken van kennis en expertise van het Diagnostisch Centrum.

Adres: Mansholtlaan 15 (tijdelijk); vanaf juni '99 Geertjesweg 15, Wageningen
 Postbus 9102, 6700 HC Wageningen
Telefoon: 0317 496911
Telefax: 0317 421701

Inhoudsopgave

	pagina
1. Inleiding	1
2. Uitvoering	3
2.1. Demografisch onderzoek	3
2.2. Interacties tussen bruinrotbacterie en (bitterzoet) planten	4
2.2.1. Overleving en overwintering van de bacterie in bitterzoetplanten	4
2.2.2. Infectie van bitterzoetplanten door de bacterie	4
2.2.3. Plaats van infectie in de plant	5
2.2.4. Waardplanten	5
2.3. Biologische bestrijding	6
2.3.1. <i>Chondrostereum purpureum</i> (loodglansschimmel) en glyfosaat	6
2.3.2. <i>Chondrostereum purpureum</i> (loodglansschimmel) en bruinrotbacterie	7
2.4. Data-analyse	7
3. Resultaten en discussie	9
3.1. Demografisch onderzoek	9
3.1.1. Correlaties tussen waterbesmetting en bitterzoetdichtheid	9
3.1.2. Correlaties tussen bitterzoetdichtheid en omgevingsfactoren	11
3.1.3. Correlaties tussen besmette bitterzoetplanten en waterbesmetting	14
3.2. Interacties tussen bruinrotbacterie en (bitterzoet)planten	15
3.2.1. Overleving van de bacterie in bitterzoetplanten	15
3.2.2. Infectie van bitterzoetplanten door de bacterie	16
3.2.3. Plaats van infectie	17
3.2.4. Waardplanten	18
3.3. Biologische bestrijding	19
3.3.1. <i>Chondrostereum purpureum</i> (loodglansschimmel) en glyfosaat	20
3.3.2. <i>Chondrostereum purpureum</i> (loodglansschimmel) en bruinrotbacterie	21
4. Conclusies	23
5. Samenvatting en aanbevelingen	25
6. Referenties	27
7. Nawoord	29
Bijlage I	2 pp.

1. Inleiding

In het najaar van 1995 werd voor het eerst bruinrot geconstateerd in een aantal partijen Nederlands aardappelpootgoed bestemd voor de export (De Koning, 1996; Janse et al. 1998). Tot dat moment was bruinrot niet op grote schaal aangetoond in Nederland. In Brabant, in het grensgebied met België, was het enkele jaren eerder al aangetoond. Bruinrot is een quarantaineziekte die veroorzaakt wordt door de bacterie *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*. Een partij aardappelpootgoed met een quarantaineziekte is ongeschikt voor export en de binnenlandse markt.

Om de belangen van de aardappelpootgoedsector veilig te stellen werd kort na het uitbreken van de ziekte een uitgebreid onderzoeksprogramma ('Onderzoek naar de detectie en ecologie van *Pseudomonas solanacearum*, de veroorzaker van bruinrot van aardappel, en naar de epidemiologie van de ziekte') rondom bruinrot opgestart. Binnen het 'ecologie'-deel richt de Plantenziektenkundige Dienst (PD) zich vooral op de toegepaste ecologie van de bacterie op veldniveau terwijl het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (IPO-DLO) zich vooral richt op de fundamentele aspecten van de ecologie van de bacterie. Het in dit rapport beschreven onderzoek heeft raakvlakken met en is afgestemd op het 'ecologie'-deel van het Bruinrotprogramma.

In 1996 werd duidelijk dat in een aantal gebieden in Noord- en West-Nederland het oppervlaktewater besmet was met *R. solanacearum*. Het volgende populatiedynamische beeld werd geconstateerd in watergangen in Noord-Nederland: in het late voorjaar neemt de bacteriedichtheid in het water sterk toe, blijft hoog tijdens de zomer, neemt weer af in de herfst en is laag, maar niet nul, in de winter (Wenneker et al., 1999). Uit Zweeds onderzoek is bekend dat bitterzoetplanten (*Solanum dulcamara*) een belangrijke rol speelden bij de overleving van *R. solanacearum* in het stroomgebied van een regionaal riviertje (Olsson, 1976).

Om meer te weten te komen over bitterzoet in Nederland in relatie tot *R. solanacearum* in oppervlaktewater werd begin 1997 een 'Bitterzoetwerkgroep' opgericht met als doel kennis te verzamelen waarin niet voorzien was in het reeds lopende 'Bruinrotprogramma'. Binnen de werkgroep heeft het Praktijkonderzoek voor de Akkerbouw en de Vollegrondsgroenteteelt (PAV) onderzoek gedaan naar chemische en mechanische bestrijding van bitterzoet en AB-DLO naar ecologie en biologische bestrijding van bitterzoet.

Op grond van literatuuronderzoek en één seizoen aan waarnemingen (AB-DLO) is het volgende beeld van bitterzoet langs watergangen duidelijk geworden (Kempenaar et al., 1997):

- bitterzoet is een algemeen voorkomende plant,
- is meestal niet dominant binnen vegetaties,
- meerjarig plantenweefsel zorgt grotendeels voor de regeneratie,
- vegetatie(beheer) heeft grote invloed op de dichtheid,
- vegetatieve delen van bitterzoet langs watergangen zorgen grotendeels voor de verspreiding, en
- voor biologische bestrijding lijkt alleen Biochon™ in aanmerking te komen.

Over de interactie tussen bitterzoet en *R. solanacearum* is nog weinig bekend. Hierdoor was het nog niet mogelijk om tot een gericht lokaal beheersadvies te komen. Daarom is in 1998 door het AB-DLO in samenwerking met de PD onderzoek gedaan naar de volgende onderwerpen:

- correlatief onderzoek naar effecten van oever- en vegetatiebeheer op de aanwezigheid van bitterzoet,
- correlatief onderzoek naar de aanwezigheid van *R. solanacearum* en bitterzoet langs watergangen in de periode dat de bacteriedichtheid in het water stijgt,
- interactie tussen *R. solanacearum*, bitterzoet en andere waardplanten, en
- biologische bestrijding van bitterzoet.

Door de samenwerking tussen AB-DLO en de PD hebben we ook meer aandacht kunnen besteden aan de interactie tussen de bacterie en planten onder veldomstandigheden, d.w.z. aan:

- overleving van de bacterie in besmette bitterzoetplanten langs watergangen,
- infectie in de plant, en
- andere waardplanten.

In dit gezamenlijke rapport van AB-DLO en PD wordt verslag gedaan van bovengenoemd onderzoek.

2. Uitvoering

Globaal was er in dit gezamenlijke onderzoek van AB-DLO en PD de volgende verdeling: het AB-DLO inventariseerde de begroeiing langs en de omgeving van de oevers op een groot aantal plekken, nam monsters van planten en water en voerde een kasproef uit. De PD nam watermonsters, toetste water en planten op aanwezigheid van de bacterie en voerde een kasproef uit. De verantwoordelijkheid van het project ten opzichte van de financier lag bij AB-DLO.

2.1. Demografisch onderzoek

In 1998 zijn er in het noorden van het land op ruim 70 plaatsen in het voorjaar waarnemingen gedaan aan situatie op of langs de oever van watergangen en de aanwezigheid van bitterzoet. Voor een groot deel zijn dit waterbemonsteringspunten van de PD. Het belangrijkste PD-criterium voor de bemonsteringspunten was in eerste instantie dat het water in de buurt ligt van een gebied waar aardappels of tomaten geteeld worden. Andere criteria waren: ligging aan hoofdwatergangen, makkelijk toegankelijk en aanwezigheid van bitterzoet aan de waterkant. Om een groter gebied te kunnen bekijken is er een aantal punten bijgekozen. De lijst met waarnemingspunten staat in tabel 1.1 van Bijlage I. Dit zijn allemaal punten aan hoofdwatergangen.

Bij elk waarnemingspunt werd een oevertraject van 50 m (van 10 m voor tot 40 m na het waterbemonsteringspunt, verdeeld in stukken van 10 m) geïnventariseerd. De volgende waarnemingen werden gedaan: de bedekking van de oever door planten, het percentage bitterzoet dat in de vegetatie stond, het aantal meters bitterzoet op de grens van water en oever, het percentage brandnetel dat in de vegetatie stond en een beschrijving van de rest van de vegetatie. Ook werden op de waarnemingspunten de volgende factoren waargenomen: de breedte van het water, de aanwezigheid van een beschoeiing, de soort beschoeiing, het onderhoud aan de beschoeiing, het grondgebruik van de aanliggende percelen, het maaien van de oever.

Op de waarnemingspunten werden twee keer (in juni en in september) watermonsters genomen (in duplo: A en B) die getoetst (Wenneker et al., 1999) zijn op aanwezigheid van de bruinrotbacterie.

Om de relatie tussen het aantal geïnfecteerde bitterzoetplanten en de mate van besmetting van het water door *R. solanacearum* te onderzoeken zijn uit de ruim 70 bemonsteringspunten in Noord-Nederland 10 meetvakken gezocht met gemiddeld 10% bedekking door bitterzoet en een verschillend besmettingsniveau door de bruinrotbacterie van het water. Op elk van deze 10 punten zijn 10 bitterzoetmonsters genomen en is de infectie van de planten door de bacterie bepaald (Wenneker et al., 1999). Alle bemonsterde planten stonden op de grens van water en oever.

2.2. Interacties tussen bruinrotbacterie en (bitterzoet) planten

2.2.1. Overleving en overwintering van de bacterie in bitterzoetplanten

In oktober 1997 en april 1998 zijn bitterzoetplanten gelabeld, bemonsterd en getoetst op aanwezigheid van de bruinrotbacterie. Deze gelabelde planten zijn in juni 1998 opnieuw bemonsterd en getoetst. Dit geeft aanwijzingen over de overleving en overwintering van de bacterie in bitterzoetplanten. Van de in april bemonsterde planten werden wortels, stengelbasis en stengel op ca. 50 cm van de basis getoetst op de aanwezigheid van de bacterie. Op deze wijze werd inzicht verkregen in de verspreiding van de bacterie binnen een plant.

2.2.2. Infectie van bitterzoetplanten door de bacterie

Om meer te weten te komen over de infectiekans van bitterzoetplanten is een kasexperiment uitgevoerd met twee *R. solanacearum* isolaten en natuurlijk geïnfecteerd water. Hierbij is zowel stengelinoculatie als wortelinoculatie toegepast.

Bitterzoet-stengeldelen zijn beworteld in kraanwater. Plastic containers werden gevuld met 25 liter kraanwater. De containers werden afgesloten met een deksel met 32 gaten. Per container werden 8 bitterzoetstekken geplaatst, 2 herhalingen per behandeling. De containers zijn continu belucht en er werd een aantal keren gedurende het experiment voedingsoplossing ('Steineroplossing') toegevoegd. De containers stonden in de kas (25/23°C dag/nacht, 14 uur licht, 75% RV).

Voor het experiment zijn twee *R. solanacearum* isolaten gebruikt, één van aardappel (PD 2762) en één van bitterzoet (PD 3101). De isolaten zijn vermeerderd (48-72 uur bij 28°C) op YPG-(Yeast Peptone Glucose) agar. Voor het natuurlijk geïnfecteerde water is water verzameld uit zwaar besmette watergangen.

De stengelinoculaties zijn uitgevoerd door 10-50 µl bacteriesuspensie (10^7 cfu/l in 0,01 M fosfaatbuffer) in de houtige delen van de stengel en in de laagste uitgelopen groene scheuten te injecteren. De wortelinoculaties werden uitgevoerd door 25 ml bacteriesuspensie (10^{10} cfu/l in 0,01 M fosfaatbuffer) aan het water in de containers toe te voegen. Het natuurlijk geïnfecteerd water (10^4 cfu/l) werd tien maal verdund.

Aan het eind van het experiment werd gekeken of de bruinrotbacterie in de bitterzoetplanten aanwezig was.

2.2.3. Plaats van infectie in de plant

Een deel van de gemerkte (zie 2.2.1) geïnfecteerde bitterzoetplanten ($n = 6$) werd in het najaar van 1998 in zijn geheel verzameld om na te gaan waar de bacterie zich in de plant bevindt om een antwoord te kunnen geven op de vraag welke plantendelen bij kunnen dragen aan de verspreiding van de bacterie. Deze bemonsterde planten waren 100–200 cm lang en hadden een verhoutte stengelbasis. Vier planten bestonden uit twee hoofdstengels. Van de planten werden wortels (ontsmet en niet-ontsmet) en stengeldelen op onderlinge afstand van ca. 50 cm getoetst op het voorkomen van de bruinrotbacterie.

2.2.4. Waardplanten

In Noord-Europa is tot nu toe van de overblijvende onkruiden alleen bitterzoet (*Solanum dulcamara*) als waardplant van de bruinrotbacterie bekend. Ook zwarte nachtschade (*Solanum nigrum*) is een waardplant; dit is echter een eenjarige soort en zal voor de overwintering van de bacterie van ondergeschikt belang zijn. Er zijn geen aanwijzingen dat de bacterie zonder waardplant langdurig in de bodem kan overleven.

Op dit moment wordt de bruinrotbacterie in grote delen van Nederland in het oppervlaktewater gevonden, waarbij bitterzoet een grote rol speelt in de overleving en overwintering. In door de PD gehouden inventarisaties werd geïnfecteerde bitterzoet door geheel Nederland aangetroffen.

Elphinstone (1996) noemt, op basis van inoculatie-experimenten, verschillende Europese onkruidsoorten, o.a. koninginnekruid (*Eupatorium cannabinum*), klein hoefblad (*Tussilago farfara*) en blaartrekkende boterbloem (*Ranunculus sceleratus*), als potentiële waardplant van de bacterie. Onder natuurlijke omstandigheden zijn er geen geïnfecteerde planten van de genoemde soorten aangetroffen.

In het onderzoeksgebied 'de Poffert' langs het Hoendiep werden op de grens van water en oever de volgende soorten verzameld: bitterzoet ($n = 12$), grote brandnetel ($n = 14$), watermunt ($n = 15$), wolfsfoot ($n = 12$) en zwart tandzaad ($n = 15$). De planten werden onderzocht op de aanwezigheid van verhoogde aantallen bacteriën op de wortels en op inwendige infecties.

Daarnaast werden verspreid over Nederland oeveronkruiden verzameld die door Elphinstone (1996) als potentiële waardplant worden beschouwd en soorten die op locaties groeiden waar hoge aantallen bruinrotbacteriën in het oppervlaktewater werden waargenomen. Dit laatste onderzoek werd deels uitgevoerd in het kader van het langlopend nationaal onderzoeksproject Bruinrot.

2.3. Biologische bestrijding

Uit onderzoek uit 1997 bleek:

- Biochon™ (werkzame schimmel *Chondrostereum purpureum*) lijkt op basis van kasproeven met stobbenbehandeling perspectief te hebben als biologisch middel tegen bitterzoet.
- De effectiviteit van Biochon™ werd versterkt via een invert-emulsie formuleringstechniek. In het veld zou de effectiviteit vergroot kunnen worden door een betere timing van het behandelingstijdstip of door toevoeging van een synergist (speculatief).

Om meer te weten te komen over de bestrijdende werking van Biochon™ onder veldomstandigheden is in oktober 1997 en mei 1998 op kleine schaal een proef uitgevoerd op het AB-terrein. In oktober werd van 20 planten en in mei van 16 planten de bovengrondse biomassa verwijderd en werden bij de helft van de planten de stobben behandeld met Biochon™. In de loop van de tijd werd gekeken naar de mate van uitlopen van de stobben en naar de maximale lengte van de plant.

Omdat eerder bleek dat via een invert-emulsie formuleringstechniek de effectiviteit van Biochon™ werd verhoogd, is er verder gekeken naar 'formuleringen' waarbij het wondvlak minder snel uitdroogt en de schimmel meer kans krijgt de stobbe binnen te groeien. Daarom is in de vervolg-kasproeven de schimmel *C. purpureum* vermeerderd op mout-agar. Door een schijfje agar (met schimmel) op het wondvlak te leggen bleef het wondvlak langer vochtig en kreeg de schimmel meer kans om het houtige weefsel in te groeien.

In 1998 is het onderzoek naar biologische bestrijding met *Chondrostereum purpureum*, loodglansschimmel, voortgezet. Hierbij is in één proef gekeken naar de mogelijke synergistische werking van lage glyfosaat-concentraties en *C. purpureum* (AB-DLO) en in een andere proef naar de mogelijke interactie tussen *C. purpureum* en de bruinrotbacterie (PD, quarantainekas). Stekmateriaal voor beide proeven werd eind mei in de buurt van Wageningen verzameld.

2.3.1. *Chondrostereum purpureum* (loodglansschimmel) en glyfosaat

De bewortelde stekken zijn op 5 juni opgepot in 4,7-liter potten en verder in de kas (20/16°C dag/nacht, 75% RV) opgekweekt. Op 20 augustus werd de bovengrondse biomassa verwijderd. Het snijvlak van de stobben werd niet behandeld of bedruppeld met 20 µl 1%, 0,1% of 0,01% glyfosaat (zonder uitvloeier). De volgende dag werd op de helft van de stobben een stukje agar met de schimmel *Chondrostereum purpureum* gelegd. De stobben werden enkele dagen afgedekt met parafilm om de schimmel meer kans te geven in het weefsel van de bitterzoet te groeien.

In de proef lagen de volgende behandelingen:

1. niet behandeld (controle),
2. inoculatie met *C. purpureum*,
3. 1% glyfosaat,
4. 0,1% glyfosaat,

5. 0,01% glyfosaat,
6. 1% glyfosaat + inoculatie met *C. purpureum*,
7. 0,1% glyfosaat + inoculatie met *C. purpureum*, en
8. 0,01% glyfosaat + inoculatie met *C. purpureum*.

In de loop van de tijd werd regelmatig naar de reactie van de planten gekeken en naar het aantal nieuwe uitlopers. Op 10 december werd de eindbeoordeling uitgevoerd en werd het bovengrondse drooggewicht bepaald. De proef lag in een blokkenproef in 20 herhalingen. Binnen een blok waren de 8 objecten geward.

2.3.2. *Chondrostereum purpureum* (loodglansschimmel) en bruinrotbacterie

De bewortelde stekken zijn begin juni opgepot in 5-liter potten en verder in de kas (20/16°C dag/nacht, 75% RV) opgekweekt. Half augustus is de helft van de planten geïnoculeerd met de bruinrotbacterie door het injecteren van een bacteriesuspensie in de hoofdstengel op enkele cm boven het grondoppervlak. Een week later is de bovengrondse biomassa verwijderd. Bij een deel van de planten werd een schijfje agar met de schimmel *Chondrostereum purpureum* op het snijvlak van de stobbe gelegd.

In de proef lagen de volgende behandelingen:

1. niet behandeld (controle),
2. inoculatie met bruinrotbacterie,
3. inoculatie met *C. purpureum*, en
4. inoculatie met bruinrotbacterie en *C. purpureum*.

In de loop van de tijd werd regelmatig naar de reactie van de planten gekeken en naar het aantal nieuwe uitlopers. Half december werd de eindbeoordeling uitgevoerd. De proef lag in een blokkenproef in 20 herhalingen. Binnen een blok waren de 4 objecten geward.

2.4. Data-analyse

Voor het correlatief onderzoek is gebruik gemaakt van het Genstat-pakket. Dit is grotendeels beperkt gebleven tot analyse via lineaire regressie. Bij de beschrijving van de resultaten wordt daar waar relevant de R^2 (determinatie coëfficiënt; fractie verklaarde variantie) in de tekst genoemd. Genstat geeft een R^2 -adj (d.w.z. houdt rekening met het aantal vrijheidsgraden, terwijl het programma (Excel) waarmee de grafieken gemaakt zijn werkt met R^2). Met Genstat is ook gekeken of de relatie significant was. Bij $F\text{-pr} < 0,05$ is de relatie significant.

Waar nodig is een factoriële analyse toegepast. De sem (standard error of the mean, standaard fout van het gemiddelde) is in de figuren als een balkje weergegeven. Deze resultaten zijn niet statistisch uitgewerkt met Genstat. Globaal kan hierbij gezegd worden dat twee factoren verschillend zijn als geldt: hoogste waarde - (sem₁ + sem₂) > laagste waarde.

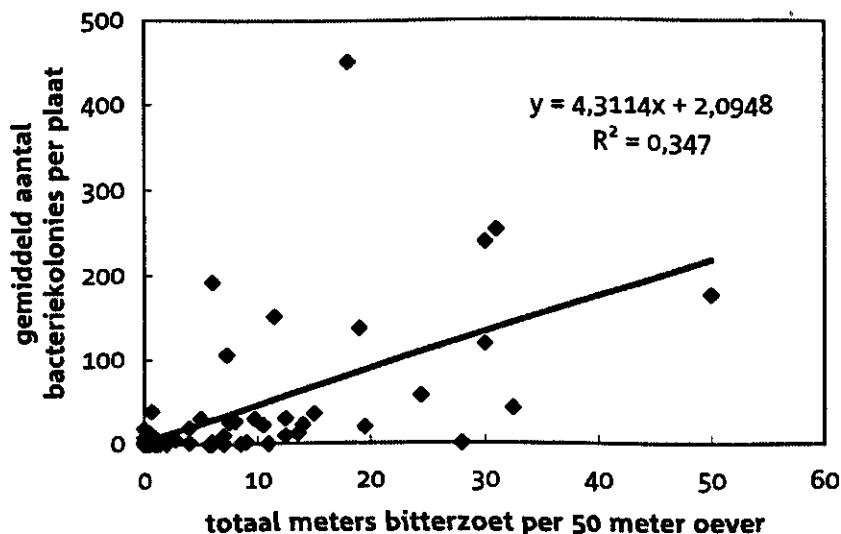
3. Resultaten en discussie

3.1. Demografisch onderzoek

Bij het demografisch onderzoek is gezocht naar relaties tussen de waterbesmetting en de hoeveelheid voorkomende waardplanten (bitterzoet) en mogelijke waardplanten (brandnetel). Ook is er gezocht naar relaties tussen de hoeveelheid bitterzoet of brandnetel en diverse oevereigenschappen bij de ruim 70 waarnemingspunten.

3.1.1. Correlaties tussen waterbesmetting en bitterzoetdichtheid

Omdat de brandnetel ook als waardplant genoemd wordt (De Koning, 1996; PD, 1998) is er naast de relaties van waterbesmetting en bitterzoet ook gekeken naar relaties van waterbesmetting en brandneteldichtheid. In Figuur 1 is de relatie tussen aanwezigheid van bitterzoet op de oever (op de grens met het water) en de besmetting van het water weergegeven. Het betreft de relatie die statistisch gezien de grootste R^2 gaf ten opzichte van de andere onderzochte relaties. De andere relaties worden in Tabel 1 weergegeven.



Figuur 1. De relatie tussen het gemiddeld aantal bacteriekolonies in het water en het aantal meters bitterzoet per 50 meter oever. Eén kolonie op de plaat komt overeen met 250 cfu/l water.

Het totaal aantal meters bitterzoet op de oever verklaart maar voor een deel de besmetting van het water (Figuur 1). Op plekken waar geen bitterzoet op de grens van water en oever stond werd soms toch een lage besmetting van het water gevonden.

Tabel 1. Overzicht van de relaties van besmet water met een aantal omgevingsfactoren.

Relatie	R ² -adj	F-pr	
Gem. aantal kolonies/plaat – aantal meters bitterzoet	0,335	< 0,001	
Aantal kolonies/plaat in juni – aantal meters bitterzoet	0,222	< 0,001	
Aantal kolonies/plaat in sept. – aantal meters bitterzoet	0,207	< 0,001	
Gem. aantal kolonies/plaat - gem. % bitterzoet	0,172	< 0,001	
Aantal kolonies/plaat in juni – gem. % bitterzoet	0,117	0,001	
Aantal kolonies/plaat in sept – gem. % bitterzoet	0,093	0,004	
Gem. aantal kolonies/plaat – gem. % brandnetel	0,081	0,007	
Aantal kolonies/plaat in juni – gem. % brandnetel	0,052	0,026	
Aantal kolonies/plaat in sept – gem. % brandnetel	0,044	0,038	
Gem. aantal kolonies/plaat – gem. % (brandn. + bitterz)	0,215	< 0,001	
Aantal kolonies/plaat in juni – aantal kolonies/plaat in sept.	0,036	0,053	n.s.
Aantal kol. plaat B in juni- aantal kol. plaat A in juni	0,539	< 0,001	
Aantal kol. plaat B in sept. – aantal kol. plaat A in sept.	0,14	< 0,001	
Aantal kol/plaat in juni – watertemp. bij monstername	0,201	0,003	

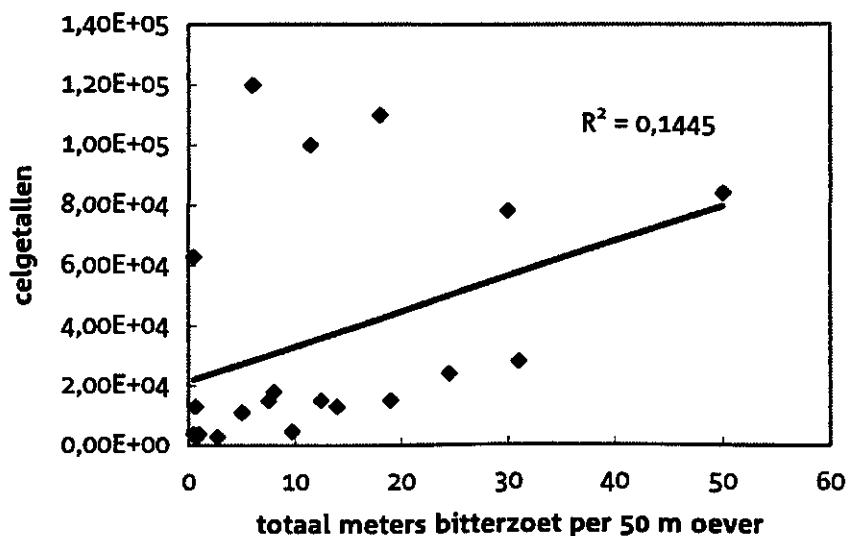
Het aantal bacteriekolonies wordt maar voor een vrij klein deel (33,5%) verklaard door het aantal meters bitterzoet op de grens van water en oever. Het gemiddelde aantal kolonies van de twee waarnemingstijdstippen gaven een hogere R² dan van de twee waarnemingstijdstippen afzonderlijk. Het percentage bitterzoet in de vegetatie gaf een minder goede verklaring dan het aantal meters bitterzoet.

Bij de relatie percentage brandnetel dat op de oever voorkomt en de waterbesmetting ligt de verklaarde variantie (R²-adj = 0,08) nog lager dan bij de relatie bitterzoet en waterbesmetting.

De relatie met de rest van de vegetatie en de besmetting van het water is niet verder uitgewerkt, omdat er bij bitterzoet en brandnetel geen duidelijke relaties gevonden zijn. De rest-vegetatie bestaat uit planten die niet bekend zijn als waardplant van de bruinrotbacterie (zie ook 3.2.4: Waardplanten). Er zal dan ook zeer waarschijnlijk geen relatie zijn tussen deze planten en de waterbesmetting.

De relatie tussen het aantal kolonies in juni en in september is ook vrij laag. Hieruit blijkt wel dat het moeilijk is om van maar 1 of 2 waarnemingen uit te gaan en dat het moment in het jaar waarop het monster genomen is een grote invloed heeft. Ook tussen de duplo-bepalingen (A en B) op één tijdstip kan nogal verschil zitten. Hieruit blijkt dat de hoeveelheid bacteriën in het water niet door een enkele factor bepaald wordt en dat de aanwezige variatie het moeilijk maakt om duidelijke relaties aan te tonen.

De PD heeft in 1998 op de 20 monsterpunten bij het Kommerzijlsterriet wekelijks watermonsters genomen en daarin de hoeveelheden bacteriën (celgetallen = aantal cfu/l) bepaald. In Figuur 2 is de relatie weergegeven tussen het gemiddelde celgetal (periode 23-6 t/m 10-9-1998) en het totaal aantal meters bitterzoet per 50 meter oever op deze 20 punten.



Figuur 2. Relatie tussen het gemiddelde celgetal (= aantal cfu/l) in het water bij het Kommerzijlsterriet en het totaal aantal meters bitterzoet per 50 m oever.

De gemiddelde waterbesmetting over een langere periode bij het Kommerzijlsterriet wordt maar voor een heel klein deel (14%) verklaard door het aantal meters bitterzoet langs de oever. De relatie tussen percentage bitterzoet ($R^2 = 0,14$) of percentage brandnetel ($R^2 = 0,09$) en de celgetallen over de genoemde periode was gelijk of nog lager dan de relatie tussen aantal meters bitterzoet langs de oever en de celgetallen. In het genoemde gebied is er zelfs als je kijkt naar meerdere watermonsters geen duidelijke relatie tussen de mate van waterbesmetting en de aanwezigheid van bitterzoet. Bitterzoet is de belangrijkste factor, maar niet de enige. Het is nog niet duidelijk wat de andere factoren zijn.

3.1.2. Correlaties tussen bitterzoetdichtheid en omgevingsfactoren

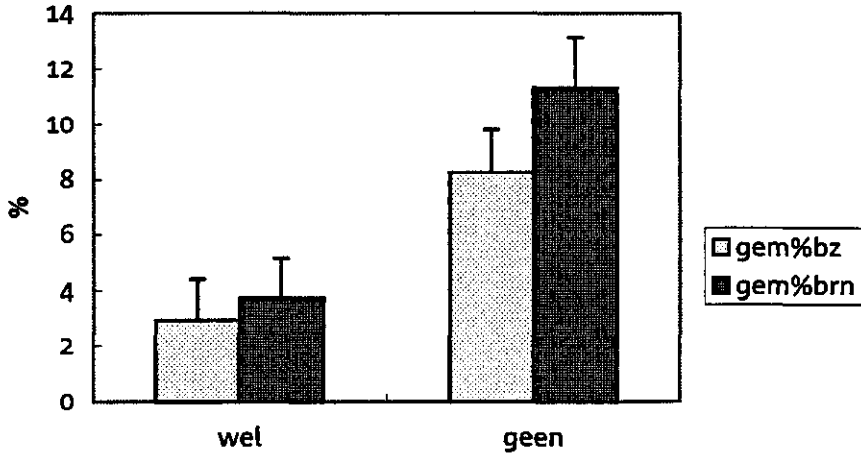
Er is gekeken of er relaties zijn tussen de hoeveelheid bitterzoet die langs de oever voorkomt en de gemiddelde bedekking door vegetatie, breedte van het water. Er zijn hier geen duidelijke relaties naar voren gekomen; daarom worden de resultaten alleen weergegeven in Tabel 2.

Tabel 2. Overzicht van de relaties van het voorkomen van bitterzoet met de totale bedekking en met de breedte van het water.

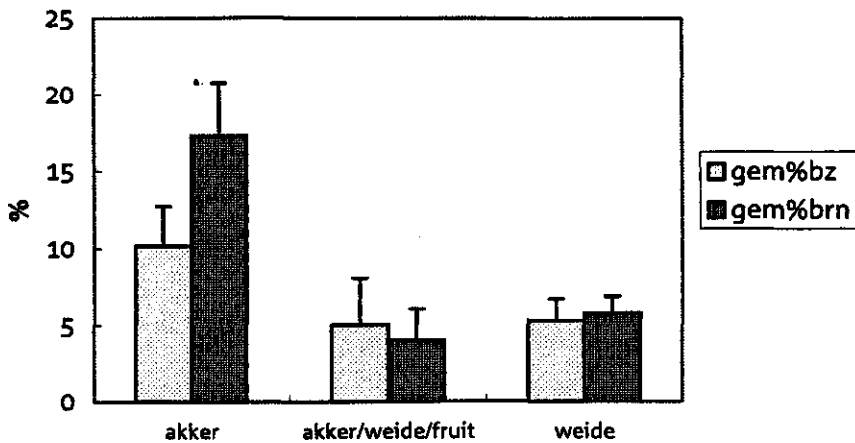
Relatie	R^2 -adj	F-pr	
Gem. % bitterzoet – gem. bedekking door vegetatie	0	0,313	n.s.
Gem. % bitterzoet – breedte van het water	0,102	0,026	
Aantal meters bitterzoet – breedte van het water		0,842	n.s.

De breedte van het water heeft geen of nauwelijks invloed op de aanwezigheid van bitterzoet op de oever. Uit deze gegevens komt ook geen relatie met de bedekking door vegetatie en het percentage bitterzoet dat in die vegetatie voorkomt.

Het effect van oevereigenschappen op de hoeveelheid bitterzoet en brandnetel langs de oever zijn hieronder weergegeven. De meest duidelijke effecten staan ook in de Figuren 3 en 4, de rest is alleen in de Tabellen 3 t/m 5 weergegeven.



Figuur 3. Het percentage bitterzoet (gem%bz) en brandnetel (gem%brn) bij wel en geen beschoeiing langs de oever.



Figuur 4. Het percentage bitterzoet (gem%bz) en brandnetel (gem%brn) in de oevervegetatie bij verschillend grondgebruik van de aanliggende percelen.

Tabel 3. De invloed van het aanwezig zijn van een beschoeiing op de begroeiing.

Beschoeiing	Ja (n = 22)		Nee (n = 55)	
	gem ¹	sem ²	gem	sem
Gem. bedekking	88,6	5,8	87,1	2,3
Gem. % bitterzoet	2,9	1,5	8,3	1,6
Aantal m bitterzoet	1	0,6	8,8	1,5
Gem. % brandnetel	3,7	1,4	11,3	1,8

¹gem: gemiddelde²sem: standaard afwijking van gemiddelde

Tabel 4. De invloed van oever(beschoeiing)onderhoud op de begroeiing van de oever.

Onderhoud oever	Ja (n = 6)		Nee (n = 31)	
	gem ¹	sem ²	gem	sem
Gem. bedekking	75,5	14,4	94,1	2,2
Gem. % bitterzoet	4,3	2,1	4,8	1,9
Aantal m bitterzoet	4,5	2	2,9	1,1
Gem. % brandnetel	1,1	0,5	6,2	1,4

¹gem: gemiddelde²sem: standaard afwijking van gemiddelde

Tabel 5. De invloed van het grondgebruik op de begroeiing van de oever.

Grondgebruik	Akker (n = 24)		Gemengd (n = 6)		Weide (n = 46)	
	gem ¹	sem ²	gem	sem	gem	sem
Gem. bedekking	90,9	2,3	92,2	2,5	87	3,2
Gem. % bitterzoet	10,2	2,6	5	3,1	5,3	1,4
Aantal m bitterzoet	11,8	2,7	5,1	3,2	4,3	1,1
Gem. % brandnetel	17,3	3,4	4	2	5,8	1,1

¹gem: gemiddelde²sem: standaard afwijking van gemiddelde

Bij geen beschoeiing staat er meer bitterzoet, zowel in meters als procentueel, en brandnetel op de oever staat dan bij wel een beschoeiing. De bedekking van de oever door een vegetatie is gelijk. Bij geen onderhoud uitvoeren (beschoeiing vernieuwen of versterken) aan de oever staan er meer brandnetels. Bij de bemonsterde punten was er geen verschil in bedekking door een vegetatie en de hoeveelheid bitterzoet bij wel en geen onderhoud. Er moet hierbij wel

rekening gehouden worden met het feit dat er maar bij weinig punten onderhoud gepleegd was.

Het grondgebruik maakt geen verschil voor de bedekking van de oever, maar bij akkerbouw staat er een hoger percentage bitterzoet dan bij weidegrond. Ook staat er bij akkerbouw een hoger percentage brandnetel en meer meters bitterzoet dan bij weidegrond en gemengd grondgebruik.

De hoeveelheid bitterzoet wordt beïnvloed door de aanwezigheid van een beschoeiing en door het grondgebruik grenzend aan de oever.

Bij de waarnemingspunten die we bekeken hebben was maar één punt waar de vegetatie op de oever gemaaid werd. Bij de andere punten werd niet gemaaid. Uit deze gegevens is dus niets te zeggen over de invloed van maaien op de aanwezigheid van en/of de hoeveelheid bitterzoet.

Ook lagen de bemonsteringspunten langs de grotere watergangen en niet langs kleine sloten, maar ook niet in de meren.

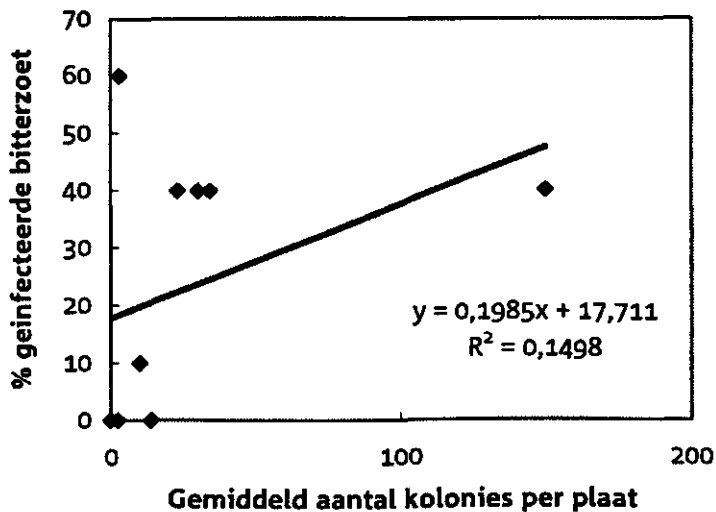
Om hier meer over te zeggen moet je bij de keuze van de punten meer letten op verschil in maaien, op verschil in verkaveling en op type watergang. Dit is nu niet gebeurd omdat we gebonden waren aan de punten waar door de PD watermonsters genomen werden.

Er zijn geen duidelijke relaties gevonden tussen de mate van waterbesmetting en de aanwezigheid van bitterzoet of een aantal andere oevereigenschappen. Bitterzoet speelt zeker een rol, maar er zijn meer factoren die een rol spelen; het is echter nog onduidelijk welke.

Het idee dat bitterzoet het moeilijker krijgt door maaien van de oevervegetatie en door concurrentie van riet blijft staan.

3.1.3. Correlaties tussen besmette bitterzoetplanten en waterbesmetting

In Noord-Nederland is van 10 meetvakken met gemiddeld 10% bedekking door bitterzoet en een verschillende besmettingsgraad van het water het infectiepercentage van de bitterzoetplanten bepaald. Er werd verwacht dat er een relatie gevonden kon worden tussen het aantal geïnfecteerde planten en de mate van besmetting van het water. De gevonden relatie staat in Figuur 5.



Figuur 5. Percentage geïnfecteerde bitterzoetplanten in relatie met de waterbesmetting. Eén kolonie op de plaat komt overeen met 250 cfu/l water.

Uit Figuur 5 blijkt dat het aantal kolonies op de plaat (en dus in het water) maar voor een klein deel (15%) verklaard wordt door het percentage geïnfecteerde bitterzoetplanten langs de oever. Er moeten andere factoren zijn die een rol spelen. Het is nog onduidelijk welke dit zijn. Mogelijke factoren zijn: de stroomsnelheid van het water, andere waardplanten, de overleving/vermeerdering van de bacterie in het water en de spreiding van de waarden bij de gevonden waterbesmetting.

3.2. Interacties tussen bruinrotbacterie en (bitterzoet)planten

3.2.1. Overleving van de bacterie in bitterzoetplanten

De in oktober 1997 en april 1998 gelabelde planten zijn in juni 1998 weer teruggevonden en er is opnieuw een monster van deze planten meegenomen voor toetsing op de aanwezigheid van de bruinrotbacterie. In Tabel 6 staat de infectie van de planten op de verschillende momenten en het verloop in de tijd.

Tabel 6. Infectie van 22 bitterzoetplanten in gebieden met besmet oppervlaktewater op verschillende momenten in de tijd (- = geen infectie, + = wel infectie).

Groeiplaats	Plantnummer	Infectie winter '97-'98	Infectie zomer '98	Verloop in de tijd
Kommerzijl 8	1	-	-	-/-
	2	-	-	-/-
	3	+	+	+/+
	4	+	+	+/+
Kommerzijl 9	2*	-	+	-/+
	3	-	-	-/-
	4	+	+	+/+
Kommerzijl 17	1	+	+	+/+
	2	-	-	-/-
	3	-	-	-/-
	4	-	-	-/-
Zwarte Tille	2*	-	-	-/-
	3	-	-	-/-
	4	-	-	-/-
De Poffert	1	+	-	+/-
	2	-	-	-/-
	3	-	-	-/-
	4	-	-	-/-
Hoendiep	1	-	-	-/-
	2	-	+	-/+
	3	-	-	-/-
	4	+	+	+/+

*Plant 1 is niet beoordeeld

Percentage geïnfecteerde planten	27%	32%	
Percentage +/+ geïnfecteerde planten			23%
Percentage -/+ geïnfecteerde planten			9%
Percentage +/- geïnfecteerde planten			5%

Het grootste deel van de planten dat besmet was bleef ook later besmet. Er kwamen maar weinig nieuwe besmettingen bij. In de periode dat er naar de besmettingen gekeken is veranderde er niet veel. Het zou interessant zijn om ook in 1999 nog naar deze planten te kijken.

3.2.2. Infectie van bitterzoetplanten door de bacterie

Om iets meer te kunnen zeggen over de infectiekans van bitterzoetplanten is op de PD een kasproef uitgevoerd. In Tabel 7 staan de resultaten van de infectie van de planten na stengel- en wortelinoculatie met twee *R. solanacearum* isolaten.

Tabel 7. Aantal geïnfecteerde bitterzoet-planten na wortel- of stengel-inoculatie met *R. solanacearum*.

		Symptomen*	Latent*	Percentage geïnfecteerd
Wortel-inoculatie	PD 2762	2	1	19
	PD 3101	1	1	13
	Geïnfec. opp. water	0	0	0
Stengel-inoculatie	PD 2762	16	-	100
	PD 3101	15	1	100
Controle		0	0	0

* totaal van 16 stekken (8 stekken per herhaling).

De controle-planten groeiden normaal en er werd geen bacterie-infectie gevonden.

Stengel-inoculatie: groene scheuten die met *R. solanacearum* geïnoculeerd zijn toonden binnen een week verwelking, wat soms tot het afsterven van de scheut leidde. In alle gevallen kon de bacterie uit het houtige gedeelte van de stengel dat geïnoculeerd was, geïsoleerd worden. Veel van de planten die met isolaat PD 3101 geïnoculeerd zijn, hadden meer dan één scheut. De niet geïnoculeerde scheuten vertoonden geen symptomen en slechts in enkele gevallen kon in deze scheuten de bacterie aangetoond worden. Dit duidt op geen of een langzame verspreiding van de bacterie in de plant.

Wortel-inoculatie: slechts een paar scheuten die met *R. solanacearum* geïnoculeerd zijn vertoonden symptomen (verwelking, eventueel gevolgd door het doodgaan van de scheuten); bij enkele was de bacterie latent aanwezig. Bij inoculatie met natuurlijk geïnfecteerd oppervlakte water kon geen bacterie-infectie aangetoond worden.

Bij blootstelling van de wortels van bitterzoet aan met bruinrotbacteriën besmet water is de kans op infectie van de plant laag (13-19%). Deze percentages zijn vergelijkbaar met in het veld gevonden percentages (10-20%) in 'gunstige' gebieden, d.w.z. gebieden met zwaar besmet water. Bij het inspuiten van de bacterie in de stengel wordt 100% van de planten ziek.

3.2.3. Plaats van infectie

In totaal 12 geïnfecteerde plantendelen (bemonsterd in voorjaar 1998) werden nader bekeken. In alle gevallen werd de bacterie in de stengelbasis aangetoond. Bij 7 van deze 12 plantendelen kon de bruinrotbacterie niet of in lage aantallen in de wortel aangetoond worden. Daarbij moet worden opgemerkt dat in een aantal gevallen weinig wortels aanwezig waren. De bacterie werd geen enkele maal in het stengeldeel boven de basis aangetroffen.

In twee van de zes gemerkte planten, die in het najaar 1998 in hun geheel waren verzameld, werd de bruinrotbacterie niet aangetroffen. Bij twee planten werd de bacterie slechts in een van de twee hoofdstengels aangetoond. In totaal werden vijf hoofdstengels geïnfecteerd bevonden;

van deze stengels bleken alleen de wortels en stengelbasis geïnfecteerd. De bacterie werd niet in hogere plantendelen of scheuten aangetoond.

De bruinrotbacterie lijkt zich niet door de gehele bitterzoetplant te verspreiden; de bacterie wordt voornamelijk in de stengelbasis en wortels gevonden.

3.2.4. Waardplanten

De bruinrotbacterie was op het moment van bemonsteren niet meer aantoonbaar in het oppervlaktewater. De bacterie werd niet aangetoond in of op de wortels van watermunt, wolfspoot en zwart tandzaad. Op de wortels van de bitterzoetplanten en grote brandnetelplanten werd de bacterie wel aangetoond. In twee bitterzoetplanten werd tevens een inwendige infectie aangetroffen. In Tabel 8 staan de aantallen besmette planten die gevonden zijn.

Tabel 8. Detectie van besmettingen met *R. solanacearum* in oever- en waterplanten.

Plantensoort	Bruinrotbacteriën aangetoond op/in	
	niet-ontsmette wortels	ontsmette wortels of stengel
Bitterzoet (n = 12)	12	2
Grote brandnetel (n = 14)	13	0
Watermunt (n = 15)	0	0
Wolfspoot (n = 12)	0	0
Zwart tandzaad (n = 15)	0	0

Naar aanleiding van de resultaten uit bovengenoemd onderzoek werd een groot aantal brandnetelplanten onderzocht. Hierbij werd tweemaal een inwendige infectie aangetoond. Het aantal geïnfekteerde bitterzoetplanten lag tienmaal zo hoog (Tabel 9). In de overige onderzochte plantensoorten werden geen inwendige infecties waargenomen. Opgemerkt moet worden dat hierbij geringe aantallen planten per soort werden onderzocht.

Voorlopig lijkt bitterzoet de voornaamste overblijvende waardplant (PD, 1998; Wenneker et al., 1999) van de bruinrotbacterie. Grote brandnetel kan onder voor de bacterie gunstige condities (hoge temperatuur en gestresste planten) ook geïnfecteerd worden. Deze plantensoort lijkt een grotere rol te spelen in de vermeerdering van de bacterie in oppervlaktewater dan in de overwintering van het organisme.

Op locaties met zeer hoge aantallen bruinrotbacteriën in het oppervlaktewater werden alleen geïnfekteerde bitterzoetplanten waargenomen. In geen van de andere bemonsterde plantensoorten die op deze locaties groeiden werd de bacterie aangetroffen. De verwachting is dat als er ergens nieuwe waardplanten gevonden worden dit in een gebied met zwaar besmet water zal zijn.

Tabel 9. Aanwezigheid van de bruinrotbacterie (*Ralstonia solanacearum*) in water- en oeverplanten uit gebieden met besmet oppervlaktewater in Nederland (1997/1998).

Plantensoort	Latijnse naam	Aantal bemonsterd	Aantal inwendig geïnfecteerd
Bitterzoet	<i>Solanum dulcamara</i>	302	61 (20%)
Grote brandnetel	<i>Urtica dioica</i>	102	2 (2%)
Moerasandoorn	<i>Stachys palustris</i>	13	0
Riet	<i>Phragmites australis</i>	11	0
Koninginnekruid	<i>Eupatorium cannabinum</i>	9	0
Watermunt	<i>Mentha aquatica</i>	8	0
Gele waterkers	<i>Rorippa amphibia</i>	8	0
Boterbloem-achtige	<i>Ranunculus</i> spp.	7	0
Lisdodde	<i>Typha</i> sp.	6	0
Kalmoes	<i>Acorus calamus</i>	4	0
Melkdistel	<i>Sonchus</i> spp.	4	0
Wolfspoot	<i>Lycopus europaeus</i>	4	0
Zevenblad	<i>Aegopodium podagraria</i>	3	0

3.3. Biologische bestrijding

Bij de beide 'veldproeven' met Biochon™-behandelingen werd bij de in oktober aangelegde proef in het voorjaar twee keer een beoordeling gegeven over de mate van hergroei van nieuwe scheuten op een schaal van 0 tot 10, waarbij 1 = weinig hergroei en 10 = veel hergroei. Later werd bij beide proeven de maximale lengte per plant gemeten.

Tabel 10. De mate van hergroei en de gemiddelde maximale lengte per plant na afknippen van de bovengrondse biomassa en wel of geen stobbenbehandeling met Biochon™.

Tijdstip behandeling	Biochon™	Hergroei* (0-10)		Max. lengte (cm)	
		21-4-1998	15-5-1998	9-7-1998	28-8-1998
10-10-1997	niet (n= 10)	6,5	7,1	57	69
	wel (n= 10)	8,3	8,1	123	135
26-5-1998	niet (n= 8)			-	80
	wel (n= 8)			-	69

* 0 = geen hergroei, 1 = weinig hergroei en 10 = veel hergroei

Bij alle planten trad hergroei op; er was geen bestrijdende werking van Biochon™.

3.3.1. *Chondrostereum purpureum* (loodglansschimmel) en glyfosaat

In een kasproef is gekeken naar het effect van *C. purpureum* als biologisch bestrijdingsmiddel en tegelijkertijd is er gekeken naar een mogelijke synergistische werking van *C. purpureum* met lage (1%, 0,1% en 0,01%) glyfosaat-concentraties. In de loop van de tijd werd er gekeken of er symptomen van glyfosaat (kleine, spitse, gekrulde bladeren) of loodglansschimmel (bladval) waren. Ook werden het aantal en de lengte van de scheuten gemeten en werd aan het einde van de proef het drooggewicht van de bovengrondse biomassa bepaald.

Na toediening van 1% glyfosaat vertoonden 31 (van de 40) planten glyfosaat-symptomen, bij 0,1% waren dit er 7, bij 0,01% slechts 3 en bij geen toediening van glyfosaat waren er geen glyfosaat-symptomen. Zowel bij wel als geen toediening van *C. purpureum* waren er 7 planten met bladval.

Het aantal scheuten, de lengte van de scheuten en het drooggewicht van de bovengrondse biomassa staan in de Tabellen 11-13. Significante verschillen ($p = 0,05$) zijn met verschillende letters achter de getallen weergegeven.

Tabel 11. Effect van glyfosaat en *C. purpureum* op het totaal aantal scheuten bitterzoet per pot.

Glyfosaat	<i>C. purpureum</i>		Gemiddeld
	Ja	Nee	
1 %	6,55	6,85	6,70 b
0,1 %	4,85	5,30	5,07 a
0,01 %	3,80	4,85	4,32 a
O	3,55	4,80	4,17 a
Gemiddeld	4,69	5,45	5,07

Er is een significant glyfosaat-effect: Lsd = 1,24. Er is geen effect van *C. purpureum*.

Tabel 12. Effect van glyfosaat en *C. purpureum* op de gemiddelde lengte (cm) van het totaal aantal scheuten bitterzoet.

Glyfosaat	<i>C. purpureum</i>		Gemiddeld
	Ja	Nee	
1 %	13,78	15,46	14,62 a
0,1 %	20,57	18,24	19,41 b
0,01 %	20,56	20,19	20,37 b
O	19,51	18,30	18,91 b
Gemiddeld	18,61	18,05	18,33

Er is een significant glyfosaat-effect: Lsd = 3,822. Er is geen effect van *C. purpureum*.

Tabel 13. Effect van glyfosaat en *C. purpureum* op het drooggewicht (g) van de bovengrondse biomassa bitterzoet:

Glyfosaat	<i>C. purpureum</i>		Gemiddeld
	Ja	Nee	
1 %	2,49	2,74	2,61
0,1 %	2,87	2,74	2,80
0,01 %	2,44	2,35	2,40
O	2,29	2,55	2,42
Gemiddeld	2,52	2,59	2,56

Er zijn geen significante effecten van glyfosaat en ook niet van *C. purpureum*.

Uit deze proeven blijkt geen effect van *C. purpureum*. De 'hoogste' glyfosaat-concentratie geeft symptomen en meer, maar kortere stengels. Op het totale bovengrondse drooggewicht heeft glyfosaat geen effect. Er is geen synergistische werking van *C. purpureum* en glyfosaat gevonden.

3.3.2. *Chondrostereum purpureum* (loodglansschimmel) en bruinrotbacterie

In een kasproef werd gekeken naar het effect van *C. purpureum* als bestrijdingsmiddel bij wel en niet met bruinrotbacterie geïnoculeerde bitterzoetplanten. Er werd gelet op loodglanssymptomen en het aantal en de lengte van de scheuten werd bepaald.

Twee weken na terugsnoeien was er bij zowel de onbehandelde als bij de met loodglans behandelde bitterzoetplanten hergroei waarneembaar.

Bij behandeling met de loodglansschimmel vertoonden 6 planten bladval; bij de controleplanten vertoonden 4 planten bladval. Bij geen enkele plant werd (scheut-)sterfte waargenomen. Het aantal en de lengte van de scheuten bij de eindbeoordeling staan in Tabel 14.

Tabel 14. Aantal scheuten en scheutlengte (cm) bij bitterzoetplanten die wel of niet geïnoculeerd zijn met loodglansschimmel.

	Onbehandeld	Loodglansschimmel
Gemiddeld aantal scheuten	8,2	7,2
Gemiddelde scheutlengte (cm)	15,10	17,65

Er werd geen effect van *C. purpureum* gevonden op bitterzoetplanten die niet met de bruinrotbacterie geïnoculeerd waren.

De bitterzoetplanten die met de bruinrotbacterie geïnoculeerd waren vertoonden geen hergroei. Aan het eind van het experiment waren er geen scheuten aan de planten, ook geen wortelopslag. Uit deze behandelingen kan geen conclusie worden getrokken over het effect van de loodglansschimmel op met bruinrot geïnfecteerde bitterzoet. Een verklaring voor het totale afsterven (ook de wortels waren afgestorven) van deze planten kan zijn dat het kort na het inoculeren bijzonder warm was en de bacterie ongeremd vermeerderde (eventueel wegvallen resistentie van de plant) of dat de planten na snoei zeer gestresst waren.

In eerdere kasproeven was wel een werking van Biochon™/ *C. purpureum* gevonden. Nu is er zowel in de veldproeven als in de kasproeven geen bestrijdende werking van de schimmel gevonden. De omstandigheden waaronder Biochon™ wordt toegepast spelen waarschijnlijk een grote rol of de schimmel een bestrijdend effect heeft op bitterzoet of niet. Maar zelfs in de kasproeven, waar de omstandigheden voor de schimmel gunstig gemaakt waren (agar, parafilm), was er geen bestrijdende werking van *C. purpureum*. We kunnen zeggen dat er nauwelijks perspectief is om *C. purpureum* tot bestrijdingsmiddel tegen bitterzoet te ontwikkelen.

4. Conclusies

Ecologie/demografie op basis van correlatief onderzoek

- Er is geen duidelijke relatie tussen de mate van besmetting van het water met *R. solanacearum* en de hoeveelheid bitterzoet of brandnetel op de oever, noch met andere onderzochte factoren.
- Er is geen duidelijke relatie tussen de besmettingsgraad van het water en het percentage geïnfecteerde bitterzoetplanten.
- De hoeveelheid bitterzoet blijkt de sterkste relatie te hebben met de mate van besmetting van het water in vergelijking met de andere onderzochte factoren.
- Het wel of niet aanwezig zijn van een beschoeiing heeft invloed op de hoeveelheid bitterzoet- en brandnetel langs de oever.
- Er is veel variatie in de besmetting van het water: in de tijd, tussen de monsterpunten (op relatief korte afstand) en bij individuele monsterpunten (tussen duplo-bepalingen).
- Het niet vinden van duidelijke relaties komt waarschijnlijk enerzijds door aanwezige natuurlijke variatie en anderzijds door een aantal niet te kwantificeren factoren als stroming van het water en populatie-dynamica van de bacterie.

Interactie bacterie, bitterzoet en andere planten

- In zwaar besmet water is maar een deel (gemiddeld 20%) van de bitterzoetplanten geïnfecteerd met de bruinrotbacterie; lokaal kan tot 60% van de bitterzoetplanten geïnfecteerd zijn. Blootstelling van bitterzoetplanten aan besmet water leidt niet zonder meer tot infectie.
- Uit een kasproef blijkt dat bij wortel-inoculatie maar een deel (13-19%) van de planten besmet raakt. Bij stengel-inoculatie (in de stengel injecteren) worden alle planten besmet.
- De bruinrotbacteriën lijken zich niet door de gehele bitterzoetplant te verspreiden. De bacterie wordt voornamelijk in de stengelbasis en wortels gevonden.
- De bacterie kan onder veldomstandigheden in bitterzoetplanten overwinteren.
- Bij grote brandnetel zijn verhoogde aantallen bruinrotbacteriën op de wortels aangetoond. Daarnaast zijn er enkele planten met een inwendige infectie aangetroffen. De rol van grote brandnetel in de overwintering van de bacterie is nog onduidelijk.
- Andere waardplanten van de bruinrotbacterie zijn niet gevonden. Van enkele soorten wordt de mogelijkheid van rhizosfeer-ophoping nog verder onderzocht.

Biologische bestrijding

- Er is nauwelijks perspectief om *Chondrostereum purpureum* (loodglansschimmel) tot bestrijdingsmiddel tegen bitterzoet te ontwikkelen.
- Er is geen synergistische werking tussen *C. purpureum* en hele lage doseringen glyfosaat gevonden.
- Een mogelijke synergistische werking tussen de loodglansschimmel en de bruinrotbacterie kon niet aangetoond worden vanwege het letale effect van de bruinrot-inoculaties.

5. Samenvatting en aanbevelingen

Het onderzoek dat beschreven is in dit rapport heeft het inzicht in de ecologie van bitterzoet en de bruinrotbacterie vergroot, maar er blijkt ook dat het systeem zijn geheimen niet makkelijk prijsgeeft. In 1998 is vrij uitgebreid gekeken naar factoren die de mate van besmetting van het water met de bruinrotbacterie of de dichtheid van bitterzoet langs de oever kunnen verklaren. Er is geen duidelijke relatie tussen de mate van besmetting van het water en de hoeveelheid bitterzoet of brandnetel op de oever. Bij hoge celgetallen in het water werd vrijwel altijd geïnfecteerde bitterzoet gevonden. Een relatie met aantallen (besmette) bitterzoet en de mate van waterbesmetting werd niet aangetoond. De populatiedynamiek van de bacterie in het water lijkt aan grote schommelingen onderhevig, zowel in de tijd als in de ruimte. De consequentie is dat er binnen een gebied nauwelijks richtlijnen zijn te geven om gericht in te grijpen.

In gebieden met besmet oppervlaktewater is maar een deel (ongeveer 20%) van de bitterzoetplanten geïnfecteerd. Op specifieke locaties kan tot 60% van de planten besmet zijn. Ook in een kasproef raakt maar een deel (13-19%) van de planten geïnfecteerd via de wortels. De infectie zit in de stengelbasis of wortels van de plant. Als een stengeldeel eenmaal geïnfecteerd is, zal dat waarschijnlijk zo blijven (overwintering). Mogelijk sterven stengeldelen af onder voor de bacterie gunstige omstandigheden (bv. hoge temperatuur). Daarnaast kunnen binnen een plant verschillende stengels wel of niet geïnfecteerd raken. Bij bemonstering van een deel van een plant kan het geïnfecteerde deel verwijderd worden.

Bij de brandnetel zijn verhoogde aantallen bacteriën aangetroffen op de wortels die in contact stonden met besmet oppervlaktewater. Een enkele keer is de bacterie ook in het vaatweefsel van de wortels aangetoond. Het is nog onduidelijk welke rol de brandnetel bij de vermeerdering van de bruinrotbacterie speelt. Andere waardplanten zijn onder veldomstandigheden niet gevonden, maar het is bekend dat de resistentie met de temperatuur en de lichtintensiteit kan verschuiven.

Biologische bestrijding met *Chondrostereum purpureum* (loodglansschimmel) werkt onvoldoende tegen bitterzoet. Er is nauwelijks perspectief om *C. purpureum* tot bestrijdingsmiddel tegen bitterzoet te ontwikkelen. Chemische en de meeste mechanische bestrijdingsmethoden werken ook onvoldoende tegen bitterzoet (PAV-onderzoek, pers. mededeling). Uittrekken van de planten werkt vaak voldoende, maar moet vaak herhaald worden en is erg arbeidsintensief. De bestrijding van bitterzoet blijft moeilijk. In een aantal lokaal uitgevoerde (praktijk)bitterzoetverwijderingsacties blijkt de bruinrotbacterie niet meer aantoonbaar in het oppervlaktewater. De mate waarin een actie succesvol is, is afhankelijk van de efficiëntie waarmee het (geïnfecteerde) bitterzoet verwijderd is.

Er is nog te weinig bekend over de overleving en vermeerdering van de bacterie in het oppervlaktewater onder veldomstandigheden. Ook is het onbekend in welke mate één of enkele bitterzoetplanten het oppervlaktewater kunnen besmetten. Daarnaast is het nog onbekend over welke afstand de bacterie zich vanuit een (punt)besmetting kan verplaatsen. Daarom blijft voorlopig het advies om niet met oppervlaktewater te beregenen geldig.

In een situatie van onzekerheden kan een systeemanalytische benadering verhelderend werken. Er zijn simulaties uitgevoerd met een model dat gebaseerd is op drie compartimenten: bitter-

zoetplanten op de oever, waterkolommen die in serie geschakeld zijn en een bodem onder iedere waterkolom. Stroming van water en bacteriën door de kolommen kan met het model gesimuleerd worden. Berekeningen met het model geven aan dat we waargenomen situaties redelijk kunnen simuleren, maar ook dat we van een aantal zaken onvoldoende kennis hebben om de waargenomen situaties te kunnen verklaren. Er is meer kennis nodig over o.a. de vermeerdering en afgifte van de bacteriën in bitterzoet of andere planten en de overleving en vermeerdering van de bacterie in het oppervlaktewater (Kempenaar et al., 1998).

Voor vervolgonderzoek bevelen wij, op basis van de huidige kennis, de volgende onderzoeks-
onderwerpen aan:

- Friese meren; deze zijn tot nu toe buiten de water- en bitterzoetbemonstering gebleven. Het is niet bekend of hier geïnfecteerde bitterzoetplanten aanwezig zijn.
- Monitoring begin mei; herhaaldelijk is vastgesteld dat in de eerste weken van de maand mei een snelle toename van het aantal bruinrotbacteriën in het oppervlaktewater plaatsvindt. De oorzaken hiervan zijn onbekend.
- Rivier de Dommel; in de Dommel worden relatief hoge dichtheden bacteriën in het water aangetroffen over een traject waar geen bitterzoet wordt gevonden. Via intensievere waterbemonstering zou achterhaald kunnen worden wat hier de oorzaak van is. Mogelijk is er sprake van andere waardplanten dan bitterzoet, of zijn er grote aantallen geïnfecteerde bitterzoetplanten aan de bovenloop.
- Overleving bruinrotbacterie onder praktijkomstandigheden; om een inschatting te kunnen maken van de overleving (eventueel vermeerdering) van de bacterie in oppervlaktewater wordt voorgesteld om een aanzienlijke hoeveelheid besmet water ter plekke vast te leggen (bv. grote plastic bakken) en gedurende een aantal weken de populatiedynamica te volgen.
- Geïnfecteerd bitterzoet; van een aantal locaties in Nederland is bekend waar geïnfecteerde bitterzoetplanten staan. Deze locaties zijn uitermate geschikt voor het verrichten van belangrijke waarnemingen als:
 1. verspreiding bacterie vanuit een besmettingsbron,
 2. verwijderen van bitterzoet en monitoren van het effect op bacteriepopulatie.
 Dit zijn ook belangrijke parameters in het model dat nog verder ontwikkeld moet worden.

Daarnaast kan waardevolle informatie verkregen worden door het begeleiden en monitoren tijdens bitterzoetverwijderingsacties zoals het bitterzoetbestrijdings-project Binnenmaas.

Op basis van Werkgroepoverleg kan aan bovenstaande punten het ontsmetten van oppervlaktewater toegevoegd worden. De wens van de praktijk om oppervlaktewater te kunnen gebruiken voor beregening van aardappelen blijft groot.

6. Referenties

- Elphinstone, J.G., 1996.
Survival and possibilities for extinction of *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith in cool climates. *Potato Research* 39: 403-410.
- Janse, J.D., Araluppan, F.A.X., Schans, J., Wenneker, M. & Westerhuis, W., 1998.
Experiences with bacterial brown rot *Ralstonia solanacearum* biovar 2, race 3 in the Netherlands. In: P. Prior, C. Allen & J. Elphinstone (Eds.), *Bacterial wilt disease: molecular and ecological aspects*. Springer Publishing, Berlin, pp. 146-152.
- Kempenaar, C., Groeneveld, R.M.W., Scheepens, P.C., van der Zweerde W. & Lotz L.A.P., 1997.
Ecologie en biologische bestrijding van bitterzoet (*Solanum dulcamara*). AB-DLO, rapport 86, Wageningen, NL.
- Kempenaar, C., Groeneveld, R.M.W., Lotz, L.A.P., Wenneker, M. & Janse, J.D., 1998.
Ecologie en beheersing van bitterzoet in relatie tot bruinrot. *Gewasbescherming* 29 (4): 119-123.
- Koning, N.P.J. de, 1996.
Epidemiologie, ecologie en bestrijding van *Pseudomonas solanacearum* race 3.
Literatuurstudie & prioriteiten voor onderzoek. Wageningen, NL
- Olsson, K., 1976.
Experience of brown rot caused by *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith in Sweden. *EPPO Bulletin* 6: 199-207.
- PD, 1998.
Bruinrot in grote brandnetel, *Oogst Landbouw* 10 juli 1998: 12.
- Wenneker, M., Verdel, M.S.W., Groeneveld, R.M.W., Kempenaar, C., van Beuningen, A.R. & Janse J.D., 1999.
Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum race 3 (biovar 2) in surface water and natural weed hosts: first report on stinging nettle (*Urtica dioica*). *European Journal of Plant Pathology* (accepted).

7. Nawoord

De resultaten van dit onderzoek zijn tot stand gekomen door een goede en plezierige samenwerking tussen AB-DLO en PD. Naast de auteurs van dit verslag was nog een aantal mensen betrokken bij dit bitterzoet-onderzoek: Monique Verdel en Jaap Janse van de PD, Wolter van der Zwerde, Piet Scheepens en Bert Lotz van het AB-DLO.

Tijdens de werkzaamheden in 1998 is er diverse malen contact geweest met derden. Het betreft hier medewerkers van de regionale vestigingen van de Plantenziektenkundige Dienst in Groningen en Hoorn. Medewerkers van de PD Groningen hebben watermonsters genomen. De opstellers van dit rapport zijn zeer erkentelijk voor de openhartige contacten en de plezierige samenwerking.

Het onderzoek werd uitgevoerd binnen de werkgroep Bitterzoet, waarin het Praktijkonderzoek voor de Akkerbouw en de Vollegrondsgroenteteelt (PAV), de Plantenziektenkundige Dienst (PD) en het Hoofdproductschap Akkerbouw vertegenwoordigd zijn. De Landbouwuniversiteit (LUW-TPE), het Centrum voor Landbouw en Milieu (CLM) en de Universiteit Nijmegen (KUN) zijn agendalid. Het Hoofdproductschap Akkerbouw heeft gezorgd voor de financiële ondersteuning van de activiteiten van AB-DLO. Zonder namen te noemen zijn de opstellers van dit rapport de werkgroep en de financier erkentelijk voor hun bijdragen aan de in dit rapport beschreven resultaten.

Bijlage I

Tabel I-1. Waarnemingspunten demografisch onderzoek:

Code	Naam	Water	PD-code
1	Lemmer	Margrietkanaal	
2	Grote Brekken	Grote Brekken	
3	Spannenburg	Margrietkanaal	
4	St Nicolaasga	Margrietkanaal	
5	Langweer	Margrietkanaal	
6	Uitwellingera N	Margrietkanaal	
7	Uitwellingera Z	Margrietkanaal	
8	Terhorne	Margrietkanaal	
9	Irnsum	Margrietkanaal	545
10	Gotum	Margrietkanaal	630
11	Warga	Margrietkanaal	
12	Wartena	Margrietkanaal	
13	Suameer	Margrietkanaal	
14	Bergum	Margrietkanaal	887/551
15	Zwarte Tille	Kuikhornstervaart	562
16	Broeksterwoude	Kuikhornstervaart	886
17	Dokkum	Stroobossertrekvaart	819
18	Westergeest	Petsloot	868
19	Oudwoude Z	Stroobossertrekvaart	869
20	Oudwoude N	Stroobossertrekvaart	
21	Buitenpost	Stroobossertrekvaart	
22	Kootstertille	Margrietkanaal	62
23	Blauwverlaat	Margrietkanaal	61
24	Gerkesklooster M	Margrietkanaal	
25	Gerkesklooster T	Stroobossertrekvaart	
26	Strobos	Margrietkanaal	60
27	Sarabos	Lauwers	
28	Visvliet	Lauwers	059-1
29	Eibersburen	Visvliederdiep	
30	Gaarkeuken N	Van Starckenborghkanaal	58
31	Gaarkeuken Z	Van Starckenborghkanaal	
32	Hoerddiep	Hoerddiep	056-1
33	Zuivering	Van Starckenborghkanaal	056-2
34	Niezijlsterdiep	Niezijlsterdiep	055-3
35	Luxemburg	Van Starckenborghkanaal	
36	Hoendiep	Hoendiep	
37	De Poffert	Hoendiep	
38	Engwierum1	Dokkumerdiep	802
39	Engwierum2	Nieuwe Zwemmer	
40	Engwierum3	Nieuwe Zwemmer	

Code	Naam	Water	PD-code
41	Engwierum4	Dokkumergrootdiep	
42	Engwierum5	Dokkumergrootdiep	
43	Engwierum6	Dokkumerdiep	
44	Engwierum7	Dokkumerdiep	
45	Engwierum8	Dokkumergrootdiep	
46	Engwierum9	Dokkumerdiep	
47	Engwierum10	Dokkumerdiep	
48	Niehoofsterdiep1	Lauwers	402
49	Niehoofsterdiep2	Zijldiep	
50	Niehoofsterdiep3	Zijldiep	
51	Niehoofsterdiep4	Lauwers	
52	Niehoofsterdiep5	Oude Riet	
53	Niehoofsterdiep6	Niehoofsterdiep	
54	Niehoofsterdiep7	Niehoofsterdiep	
55	Niehoofsterdiep8	Niehoofsterdiep	
56	Niehoofsterdiep9	Niehoofsterdiep	
57	Niehoofsterdiep10	Niehoofsterdiep	
58	Kommerzijl1	Reitdiep	401
59	Kommerzijl2	Reitdiep	
60	Kommerzijl3	Kommerzijlsterriet	
61	Kommerzijl4	Kommerzijlsterriet	
62	Kommerzijl5	Kommerzijlsterriet	
63	Kommerzijl6	Kommerzijlsterriet	
64	Kommerzijl7	Kommerzijlsterriet	
65	Kommerzijl8	Kommerzijlsterriet	
66	Kommerzijl9	Kommerzijlsterriet	
67	Kommerzijl10	Kommerzijlsterriet	
68	Kommerzijl11	Kommerzijlsterriet	
69	Kommerzijl12	Kommerzijlsterriet	
70	Kommerzijl13	Kommerzijlsterriet	
71	Kommerzijl14	Kommerzijlsterriet	
72	Kommerzijl15	Kommerzijlsterriet	
73	Kommerzijl16	Kommerzijlsterriet	
74	Kommerzijl17	Kommerzijlsterriet	
75	Kommerzijl18	Kommerzijlsterriet	
76	Kommerzijl19	Kommerzijlsterriet	
77	Kommerzijl20	Kommerzijlsterriet	