

Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente
Vestiging Naaldwijk
Kruisbroekweg 5, Postbus 8, 2670 AA Naaldwijk
Tel. 0174-636700, fax 0174-636835

ISSN 1385 - 3015

WORTELVERDIKKING KOMKOMMER, ONDERZOEK 1E HELFT 1998

Modelsysteem, epidemiologie en methodisch onderzoek

Project 1405

R-J. Pittens - van der Heijden
W. Verkerke
P. Paternotte

Naaldwijk, oktober 1998

Rapport 153
Prijs f 30,00

Rapport 153 wordt u toegestuurd na storting van f 30,00 op gironummer 293110 ten name van Proefstation Naaldwijk onder vermelding van 'Rapport 153, Wortelverdikking komkommer, onderzoek 1e Helft 1998'.

INHOUD

SAMENVATTING	2
SUMMARY	2
KEYWORDS	2
1. INLEIDING	3
2. MODELSYSTEEM VOOR WORTELVERDIKKING MET VOEDINGSWATER VAN HERKOMST K	4
3. HET VERLOOP VAN DE pH TIJDENS DE OPKWEK	13
4. EPIDEMIOLOGISCH ONDERZOEK (I)	17
5. EPIDEMIOLOGISCH ONDERZOEK (II)	21
6. EPIDEMIOLOGISCH ONDERZOEK (III)	26
7. EPIDEMIOLOGISCH ONDERZOEK (IV)	28
8. METHODISCH ONDERZOEK (I)	32
9. METHODISCH ONDERZOEK (II)	34
10. MODELSYSTEEM VOOR WORTELVERDIKKING MET VOEDINGSWATER VAN HERKOMST M	36
11. DISCUSSIE	40
12. CONCLUSIES	41
LITERATUUR	41

SAMENVATTING

In dit rapport worden de proeven beschreven die zijn uitgevoerd op het PBG in de periode januari - juli 1998. Met voedingswater van een bedrijf is in een opkweekruimte een modelsysteem opgezet waarmee een aantasting met wortelverdikking kon worden opgeroepen. Als controle fungeerde een opkweekruimte met voedingswater van het PBG, waarin de planten aanvankelijk niet aangetast raakten. Aan de opkweek werden verschillende waarnemingen uitgevoerd. Met het besmette voedingswater uit het modelsysteem zijn verschillende proeven opgezet. Hierbij werd o.a. door filtreren en verhitten het betrokken agens nader gekarakteriseerd. Uit deze proeven bleek dat wortelverdikking door voedingswater kan worden overgebracht. Na verhitting tot ongeveer 40 - 60 °C geeft besmet water geen wortelverdikking meer. Het agens blijft in het residu op een bacteriefilter van 0.45 μm achter, maar voedingswater dat een filter van 0,22 μm is gepasseerd geeft ook nog een aantasting.

SUMMARY

A model system was used developed to characterize the agens that evokes thickened root syndrome (TRS). The results indicate that TRS can be spread through nutrient solution. The agens desintegrates when heated to approximately 40 - 60 °C. The agens accumulates on a filter with a mesh width of 0.45 μm , but filtered nutrient solution still can cause symptoms of TRS.

KEYWORDS

Cucumis sativus cucumber rockwool thickened root syndrome TRS, curly roots, glassiness, thickening, pH, chloramphenicol bacteria, filter, recirculation

1. INLEIDING

In september 1997 was het voor het eerst gelukt om met voedingswater van herkomst K wortelverdikking op te roepen op het PBG (Hoogerbrugge & Verkerke, 1997, proef 97.15). In december 1997 (proef 97.17) lukte het echter niet dit te herhalen met voedingswater van herkomst G. Daarom is in januari 1998 gestart met het op grotere schaal opkweken van komkommerplanten op een teeltvloer van het PBG. In dit modelsysteem werd in de opweekruimte (Kas 304) een kleine plantenkwekerij nagebootst. In een afdeling werd in de kelder een grote hoeveelheid voedingswater van een bedrijf gestort en werd de teeltvloer volgezet met aangetaste planten van dezelfde herkomst. Elke week werden er nieuwe planten gezaaid en er werd gerecirculeerd. Met het verdachte water uit dit modelsysteem zijn verschillende proeven opgezet. Het verdachte water is verhit, gefiltreerd, geaëreerd en vervoerd. Verder is onderzocht waarom de pH in potten met wortelverdikking sterk steeg. In andere experimenten is onderzocht hoe vaak contact met dit water nodig is om aantasting te krijgen. Tijdens de in dit verslag beschreven periode hebben twee andere onderzoeksgroepen gebruik gemaakt van dit modelsysteem. In februari werden aangetaste en gezonde planten onderzocht op ACC gehalte door de KUN (Pierik & Visser, 1998). Enkele komkommerplanten die gezaaid waren bij TNO Leiden hebben een paar weken in de aangetaste afdeling op de teeltvloer gestaan; tevens is er door TNO Leiden voedingswater uit afdeling 6 bemonsterd.

2. MODELSYSTEEM VOOR WORTELVERDIKKING MET VOEDINGSWATER VAN HERKOMST K

2.1 INLEIDING (Figuur 2.1)

Het voedingswater werd bij een bedrijf op de teeltvloer opgezogen en met aangetaste planten en al naar het PBG getransporteerd. De planten, komkommers en paprika's, stonden een tijd op de teeltvloer en er werd gerecirculeerd (Figuur 2.1). Iedere week werd een nieuwe partij gezaaid en op de teeltvloer gezet, zodat er steeds planten van verschillende leeftijd bij elkaar op de teeltvloer stonden. Het doel was een modelsysteem te ontwikkelen waarmee wortelverdikking kon worden opgeroepen. Met dit modelsysteem is onderzocht welke factor verantwoordelijk is voor het ontstaan van wortelverdikking (Hoofdstuk 4 - 6). Dit hoofdstuk beschrijft de periode van 26 januari tot 2 juni.

2.2 MATERIAAL EN METHODEN (Tabel 2.1, 2.2 Figuur 2.1)

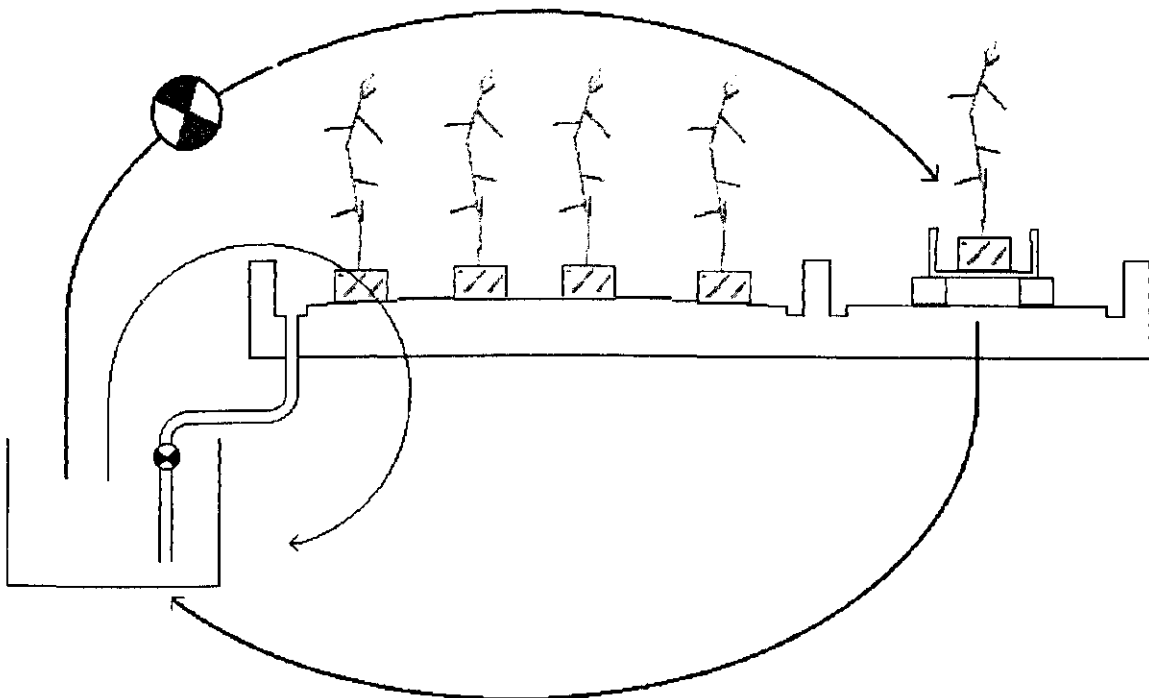
proefnummer	98.02
start proef	26 januari 1998
ras	Jessica vanaf 16 februari; daarvoor Ventura
locatie	PBG opkweekkas 304, afdeling 5 en 6, elk bestaande uit drie grote vloeren.
behandeling water	herkomst water 4000 liter verdacht water van herkomst K, bedrijf E, werd op 26 januari met een pomp van de teeltvloer opgezogen, in twee grote vaten naar het PBG vervoerd en in de kelder van kas 304 afdeling 6 gestort. De pH werd voor de eerste vloedbeurt van 7.0 teruggebracht tot 5.0 met HNO ₃ . In de controle afdeling 5 werd de kelder gevuld met onverdacht water van PBG (pH 5.5).
planten	van herkomst K werd een partij van 100 aangetaste komkommerplanten en 200 aangetaste paprikaplanten, alle in Cultilène steenwolpotten meegenomen en op de teeltvloer in afdeling 6 gezet. Vanaf 26 januari werden er in de twee afdelingen regelmatig komkommers gezaaid in Grodan (drie sterren) potten van herkomst PBG. De potten werden op de teeltvloer naast de andere planten gezet en gecodeerd met een gekleurd etiket (Tabel 2.1).
vloedbeurt	2x per week, vanaf 2 maart 3x per week en vanaf 8 april iedere dag. Voor elke vloedbeurt werd de pH gemeten en bijgesteld als deze de grenswaarde van 5.0 of 6.0 overschreed.
behandelingen	in afdeling 6 werden drie oriënterende behandelingen uitgevoerd. Van 5 maart tot 11 mei werden bij de nieuw gezaaide planten van enkele potten de wikkel verwijderd en er werden enkele potten in een petrischaal gezet. Van 7 april tot 14 mei werden twee bakken met steenwolpotten 2 dagen voor het zaaien natgemaakt.
waarnemingen	wortelverdikking, pH in de pot, zuurstofgehalte in het voedingswater en plantgroei

hygiëne

Bij de ingang van kas 304 en bij de deur van afdeling 5 en 6 was een ontsmettingsbak voor het schoeisel geplaatst. De twee afdelingen hadden elk een eigen volledige set maatbekers, spuiten, bakken, plastic e.d. Alle werkzaamheden werden altijd eerst volledig uitgevoerd in de (schone) afdeling 5. Daarna werden de handen gewassen en het schoeisel ontsmet. Vervolgens werd er pas verder gewerkt in afdeling 6; na afloop werden de handen weer gewassen. Op die dag werd afdeling 5 niet meer betreden.

bijvullen kelder
einde proef

zie Tabel 2.2
2 juni



Figuur 2.1 -

Overzicht van de recirculatie van voedingswater bij het modelsysteem op de teeltvloer in PBG kas 304. Hierbij werd volgens de kleine cirkel gerecirculeerd. Deze recirculatie verschilt van die uit de proeven van Hoogerbrugge & Verkerke (1997). Met dit modelsysteem is gezocht naar het verantwoordelijke agens, waarbij gebruikt werd gemaakt van recirculatie volgens de grote cirkel (Hoofdstuk 4 - 6).

Tabel 2.1 - Teeltgegevens van verschillende zaaisels komkommerplanten; tenzij anders vermeld werd er gezaaid in afdeling 5 en 6

nr	kleur	proef	aantal	gezaaid	uitgezet	geruimd	DNZ
1	rood	98.02	288	26/01	06/02	09/03	42
2	groen	98.02	288	16/02	26/02	16/03	28
3	geel	98.04	36	24/02	06/03,12/03	23/03	27
4	roze	98.02	192	03/03	12/03	30/03	27
5	grijs	98.06	12	28/02 ¹	09/03	23/03	23
6	blauw	98.02	192	12/03	19/03	06/04	25
7	wit	98.02	192	19/03	25/03	09/04 ² ,14/04 ³	21 ² ,26 ³
8	geel	98.02	192	26/03	01/04	20/04 ² ,21/04 ³	25,26
9	rood	98.02	192	01/04	07/04	20/04 ² ,27/04 ³	19 ² ,26 ³
10	blauw	98.02	192	08/04	14/04	20/04 ² ,04/05 ³	12 ² ,26 ³
11	groen	98.02	192	15/04	21/04	11/05 ³	26 ³
12	geel	98.02	192	23/04	28/04	18/05 ³	25 ³
13	rood	98.02	192	29/04	04/05	20/05 ³	21 ³
14	blauw	98.02	192	06/05	13/05	25/05	19
15	groen	98.02	192	14/05	18/05	na 02/06	*
16	geel	98.02	192	20/05	25/05	na 02/06	*
17	rood	98.02	192	28/05	02/06	na 02/06	*

¹: ras Janeen, gezaaid bij herkomst K, naar het PBG gehaald op 10 DNZ

²: afdeling 5

³: afdeling 6

Tabel 2.2 - Overzicht vloedbeurten, liters voedingswater bijgevoeld in de kelder, EC (mS/cm), pH en O₂ (mg/l) in het voedingswater in de kelder.

datum	vloedbeurt	kelder bijgevoeld		EC		pH		O ₂	
		afd.5	afd.6	afd.5	afd.6	afd.5	afd.6	afd.5	afd.6
26/01		4000	4000						
17/02				2.2	2.0	4.9	5.0		
24/02	x					4.6	5.4		
26/02	x			2.3	2.1	4.4	5.6	5.2 ¹	5.1 ¹
27/02	x					5.0			
02/03	x								
03/03	x			2.3	2.1	5.0	5.7		
05/03	x			2.3	2.1	4.9	5.6		
06/03	x	2000	200	2.3	2.2	4.8	5.7		
09/03	x					5.6	5.6		
12/03	x					5.5	5.8		
16/03	x			2.3	2.1	5.5	5.8		
17/03				2.3	2.3	5.2	5.6		
18/03	x		200	2.3	2.1	5.3	5.9	2.6 ²	7.3 ²
20/03	x			2.4	2.2	5.8	5.8		
23/03	x			2.3	2.3	5.3	5.8		
25/03	x		200			5.5	5.6		
27/03	x					5.6	5.6		
29/03	x								
30/03	x					5.6	5.6		
31/03				2.4	2.3	4.9	5.4		
01/04	x					5.6	5.6		
02/04	x		200						
03/04	x		200						
06/04	x					5.4	5.7		
08/04	x								
09/04	x	2000	200						
10/04	x		200						
11/04	x								
12/04	x								
13/04	x								
14/04	x					5.5	5.4		
15/04	x					5.4	5.2		
20/04	x								
22/04	x				2.5		5.1		
23/04	x						5.3		
27/04	x				2.4		5.4		
29/04	x				2.6		5.4		
04/05	x				2.7		5.5		
06/05	x	4000		2.1	2.7	5.6	5.6		
07/05	x		200		2.5		5.7		
08/05	x		200						
11/05	x				2.8		6.1		
13/05	x		500		2.3		6.0		
14/05	x			2.3	2.5	5.9	6.0		
18/05	x		200		2.9		5.7		
19/05	x		200						
20/05	x			2.3	2.8	6.1	5.8		
28/05	x		200	2.4	2.9	5.9	5.6		
29/05	x		200						

¹ op de teeltvloer resp. 5.4 en 5.7; ² op de teeltvloer resp. 2.7 en 8.4

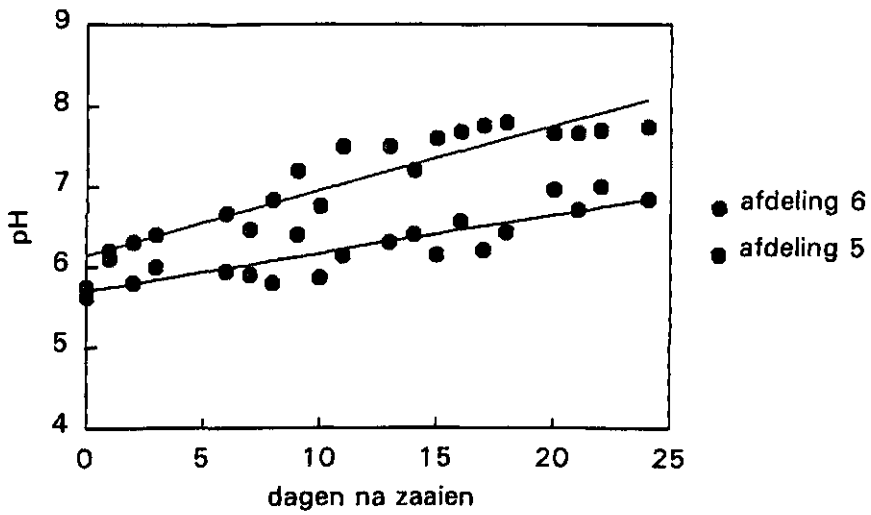
2.3

RESULTATEN (Tabel 2.3, 2.4, Figuur 2.2)

Tabel 2.3 - Plantkarakteristieken en aantasting wortelverdikking in de twee afdelingen op 16 maart (zaaisel groene labels, 28 dagen na zaaien, zie Tabel 2.1). Plantgewicht G (g), plantlengte L (cm), aantal bladeren n, diameter tweede blad D (cm), aantasting wortelverdikking: 0 = geen aantasting en 3 = zware aantasting.

	G	L	n	D	wortelverdikking
afdeling 5	94	75	6.0	27	0
afdeling 6	64	67	5.6	21	3

- Met verdacht K water werd in afdeling 6 een massale en heftige aantasting met wortelverdikking opgeroepen bij de planten op de teeltvloer, met onverdacht PBG water in afdeling 5 trad geen aantasting op.
- Aangetaste planten zijn ongeveer 30% lichter en 10% korter; ze hebben hetzelfde aantal bladeren, maar deze zijn ongeveer 25% kleiner. De aantasting (verglaasde en verdikte wortels) is duidelijk aanwezig in de pot en is onder de wikkel en aan de onderkant van de pot onmiddellijk zichtbaar.
- Het verwijderen van de wikkel tijdens de opkweek geeft geen vermindering in de aantasting in de pot en aan de onderkant van de pot, maar de aantasting is niet direct zichtbaar aan de zijkant, omdat er daar minder wortels groeien.
- De potten in een petrischaal zijn niet erger aangetast, maar de planten zijn ongeveer 10 cm korter dan planten die direct op de teeltvloer staan.
- Potten die twee dagen eerder zijn natgemaakt zijn net zo sterk aangetast als de potten die op de dag van zaaien werden natgemaakt.
- In beide afdelingen steeg de pH in de pot geleidelijk, maar in de afdeling met aangetaste planten liep de pH in de pot meer op (Figuur 2.2).
- Tot 29 mei was in afdeling 6 3100 liter PBG voedingswater bijgevoegd; op 2 juni stond er nog 1600 liter in de kelder.
- Vanaf 15 april trad er ook in afdeling 5 een sterke aantasting met wortelverdikking op.



Figuur 2.2 - Het verloop van de pH in de steenwolpot tijdens de opkweek op de teeltvloer van twee afdelingen. Data gemiddeld van verschillende zaaisels die bij elkaar op de teeltvloer stonden in de periode 6 februari - 21 maart.

Tabel 2.4 - Chemische analyse voedingswater PBG en uit afdelingen 5 en 6 op datum

element eenheid	afdeling 5 (PBG)										afdeling 6 (K)					
	17/02	17/03	25/03	31/03	20/04	06/05	02/06	17/02	17/03	25/03	31/03	20/04	06/05	02/06		
PBG water	4.91	5.15	4.78	4.87	4.76	*	5.79	5.02	5.64	5.75	5.41	5.08	5.27	5.61		
pH	2.23	2.31	2.38	2.41	2.42	*	2.57	2.04	2.27	2.28	2.29	2.52	2.71	2.91		
EC mS/cm	0.88	0.75	0.60	0.37	0.39	*	0.93	<0.05	0.12	0.16	0.19	0.19	0.06	0.20		
NH ₄	6.49	6.93	7.31	7.79	7.72	*	7.97	7.02	7.19	7.41	7.37	8.22	9.12	9.86		
K	0.53	0.61	0.61	0.63	0.62	*	0.51	1.42	1.51	1.52	1.48	1.26	1.51	1.34		
Na	3.55	3.71	3.75	3.79	3.83	*	3.85	2.46	2.67	2.89	2.96	3.54	3.89	4.87		
Ca	2.35	2.33	2.33	2.48	2.61	*	2.60	2.69	2.54	2.61	2.73	2.96	3.55	3.74		
Mg	13.74	15.17	14.71	15.48	15.58	*	16.48	10.22	11.55	11.70	12.17	14.70	15.15	19.09		
NO ₃	<0.10	0.10	0.28	0.20	0.22	*	<0.10	1.06	1.20	1.30	1.19	0.94	0.96	0.53		
Cl	2.15	3.00	2.46	2.49	2.50	*	2.61	2.80	3.51	3.20	3.18	3.25	3.60	4.43		
SO ₄	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	*	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10		
HCO ₃	1.32	1.29	1.29	1.27	1.32	*	1.58	1.22	1.22	1.20	1.21	1.43	1.43	1.36		
P	28.30	27.10	25.90	23.50	26.40	*	24.20	7.00	7.90	7.50	9.40	16.90	14.10	12.80		
Fe	12.50	10.80	12.70	11.50	11.70	*	10.40	7.80	6.10	7.70	6.80	8.90	7.20	10.20		
Mn	10.40	10.40	11.30	10.50	10.70	*	5.70	8.00	7.90	8.80	9.80	12.00	16.90	18.50		
Zn	33.00	33.00	31.00	35.00	36.00	*	41.00	27.00	31.00	29.00	33.00	35.00	42.00	49.00		
B	1.80	1.70	1.60	1.40	1.70	*	1.40	1.30	1.20	1.20	1.20	1.70	0.90	1.60		
Cu	Citraat	μmol/l		2.00				<2.00			5.00	2.00				
	Malaat	μmol/l			1											
	Oxalaat	μmol/l			1						1			1		

¹ kleiner dan de te analyseren hoeveelheid van 5 mmol/liter

- afdeling 5 heeft een hoger ammonium- en ijzergehalte, een lager natrium, chloor- en citraatgehalte.
- Op 2 juni is het NH₄⁺ gehalte hoger omdat er met nieuwe voedingsoplossing is gestart

In tegenstelling tot eerdere proeven is het gelukt om via voedingswater van K wortelverdikking op te roepen op een andere lokatie. De aantasting was massaal en heftig. In deze proef is niet alleen voedingswater, maar ook aangetast plantmateriaal van herkomst K meegenomen en op de teeltvloer in afdeling 6 gezet. Ook de recirculatie verschilde van die in eerdere proeven (Hoogerbrugge & Verkerke, 1997).

Wikkels, petrischalen en eerder natmaken - De wortels in de normale potten op de teeltvloer van afdeling 6 waren sterk aangetast. Bij de potten waar de wikkel was verwijderd waren de symptomen niet zo duidelijk zichtbaar aan de zijkant van de pot, maar aan de onderkant en binnen in de pot leek de aantasting eerder erger te zijn. Dit komt wellicht doordat er in potten zonder wikkel duidelijk minder wortels aan de zijkant van de pot zitten. Het verwijderen van de wikkel zorgt er dus voor dat er minder wortels aan de zijkant van de pot groeien, maar is geen remedie tegen de aantasting. Door enkele potten in een petrischaal te zetten hoopten we de aantasting te vergroten, maar omdat de aantasting al massaal en heftig was, kon een eventueel negatief effect nauwelijks nog worden opgemerkt. De planten in petrischalen stonden natter en hadden daardoor minder wortels aan de onderkant van de pot. Daardoor leken ze oppervlakkig gezien minder aangetast onder de pot, maar bij inspectie in de pot bleek dat er geen verschil was in aantasting. Ook het eerder natmaken van de potten heeft in dit modelsysteem niet geleid tot een vermindering van de aantasting.

pH - De sterkere pH stijging in afdeling 6 is waarschijnlijk het gevolg van de afwezigheid van NH_4^+ in het voedingswater (Tabel 2.4). Aan het oplopen van de pH werd een aparte proef gewijd (Hoofdstuk 3).

Plantgroei - Planten in afdeling 6 zijn korter, minder zwaar en hebben kleinere bladeren. Dit kan een gevolg zijn van het lage NH_4^+ gehalte in de voeding, maar ook van de aantasting met dikke wortels.

Aantasting in de controle afdeling - In de controle afdeling (afdeling 5) was na drie maanden recirculeren op 15 april wortelverdikking opgetreden. Er is geen duidelijke verklaring voor dit "overslaan" van de aantasting. Er waren verschillende maatregelen genomen om te voorkomen dat een besmetting zou kunnen overslaan. Deze maatregelen zijn normaal gesproken ruim voldoende om verspreiding van een biologisch agens te voorkomen (zie hygiëne, 2.2). Het is niet te achterhalen waarom afdeling 5 besmet is geraakt, maar wellicht heeft het herhaaldelijk recirculeren toch ook een rol gespeeld.

Fluctuatie aantasting in het seizoen - Hoewel er steeds meer PBG voedingswater moest worden bijgemengd bleef er de hele tijd een aantasting in afdeling 6. Vanaf 23 april was het soms wat minder duidelijk. Omdat we de aantasting zo optimaal mogelijk wilden houden zijn er enkele aanpassingen doorgevoerd. De planten bleven langer op de teeltvloer staan, de plantdichtheid werd verhoogd, het kasdek werd gekrijt, de kelder werd elke week volledig gevuld en het water werd gekoeld tot 21 °C.

- Met voedingswater van herkomst K kon wortelverdikking worden opgeroepen op een teeltvloer van het PBG.
- Wortelverdikking kon de eerste drie maanden niet met PBG water worden opgeroepen.
- De recirculatie van voedingswater in een teeltsysteem met een teeltvloer en een kelder (Figuur 2.1) is een modelsysteem waarmee het mogelijk is om epidemiologisch onderzoek uit te voeren.
- Aangetaste planten in deze proef zijn korter, lichter en hebben kleiner blad, wellicht ook door het ontbreken van NH_4^+ in de voedingsoplossing.
- De pH in de pot in afdeling 6 is hoger, waarschijnlijk door het lage NH_4 gehalte in de voeding.
- Het verwijderen van de wikkels tijdens de opkweek gaf geen afname van de aantasting.
- Het eerder natmaken van de potten gaf in dit modelsysteem geen afname van de aantasting.

3. HET VERLOOP VAN DE pH TIJDENS DE OPKWEK

3.1 INLEIDING

Op de teeltvloer loopt de pH op (Hoofdstuk 2). Dit verschijnsel wordt in deze proef aan een nader onderzoek onderworpen. Er is geteeld in plantenkwekersbakken, zodat de planten los stonden van de teeltvloer. Ter controle werd ook de pH gevolgd in potten die wel een gietbeurt kregen, maar waar geen planten in groeiden.

3.2 MATERIAAL EN METHODEN (Tabel 3.1, 3.2)

proefnummer	98.03
zaaidatum	9 maart 1998
locatie	PBG opkweekkas 304; afdeling 5 en 6
opkweek	in bakken
ras	Jessica
potten	Grodan drie sterren
factoren	herkomst water, toevoegen NH_4^+ , plantgroei (Tabel 3.1)
natmaken	in het voedingswater in de kelders van afdeling 5 en 6 werd de pH precies op 5.6 gesteld, waarna per afdeling 48 potten werden natgemaakt.
zaaien	24 potten per afdeling en afgestrooid met vermiculiet. De potten werden in bakken gezet en bleven in de afdeling waar het water van werd betrokken.
controle	24 potten per afdeling zonder plant, maar wel afgestrooid met vermiculiet.
watergift	in het begin 2x per week, later 3x per week; voor het gieten werd de pH steeds exact op 5.6 gesteld (Tabel 3.2)
toevoegen NH_4	vanaf 14 dagen na zaaien kregen sommige potten een vloedbeurt met voedingswater waaraan per 12 l voedingswater 12 ml NH_4NO_3 was toegevoegd, zodat de concentratie in het voedingswater gelijk was aan die in het water van afdeling 5.
metingen	een half uur na elke watergift werd de pH in de pot gemeten aan vloeistof die met een injectiespuit was opgezogen. Daarna werd 1x per week een plant per bak en beoordeeld op symptomen van wortelverdikking.
grootte proef	2 afdelingen x 4 bakken x 6 planten + 2 afdelingen x 4 bakken x 6 potten.

Tabel 3.1 -

Overzicht van de behandelingen en aantasting met wortelverdikking. Herkomst water (afdeling 5 onverdacht PBG, afdeling 6 verdacht K); 14 DNZ werd de ammonium toegevoegd aan potten waar wel of geen plant in groeide; aantal herhalingen (bakken) h, aantal potten (planten) per bak n, aantasting wortelverdikking WVD, waarbij 3 = zwaar aangetast, 0 = niet aangetast.

nr	afd.	herkomst water	plant	h	n	WVD
1	6	K	met	2	6	3.0
2	6	K + NH ₄ NO ₃ (14 DNZ)	met	2	6	3.0
3	6	K	zonder	2	6	-
4	6	K + NH ₄ NO ₃ (14 DNZ)	zonder	2	6	-
5	5	PBG	met	4	6	0.0
6	5	PBG	zonder	4	6	-
			p			***
			LSD 5%			1.0

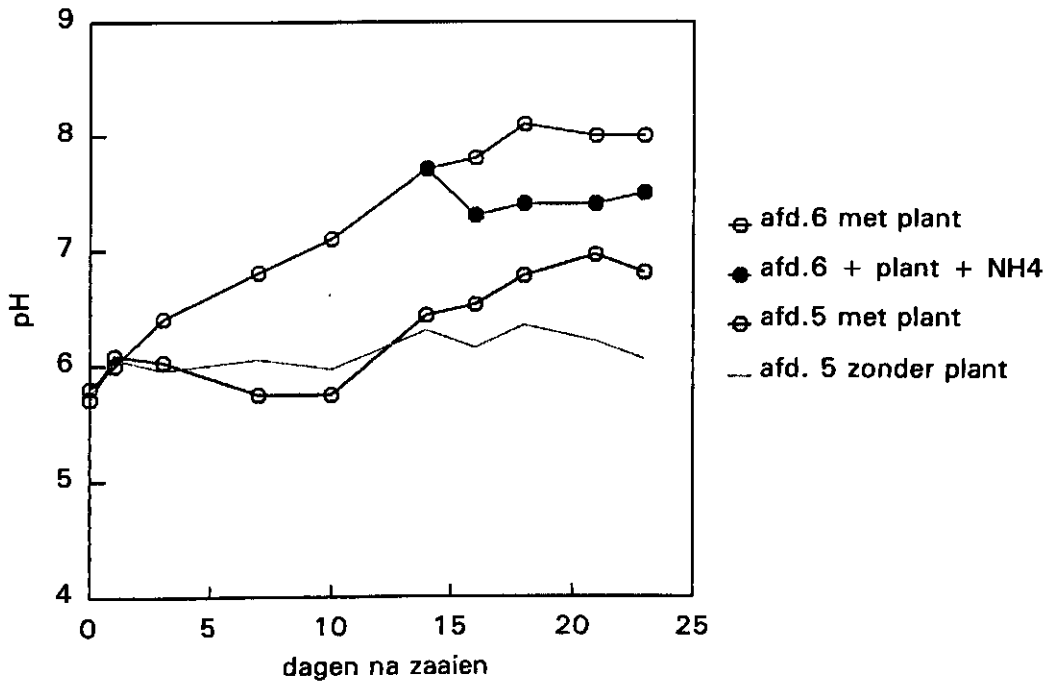
Tabel 3.2 -

Overzicht watergift en pH metingen

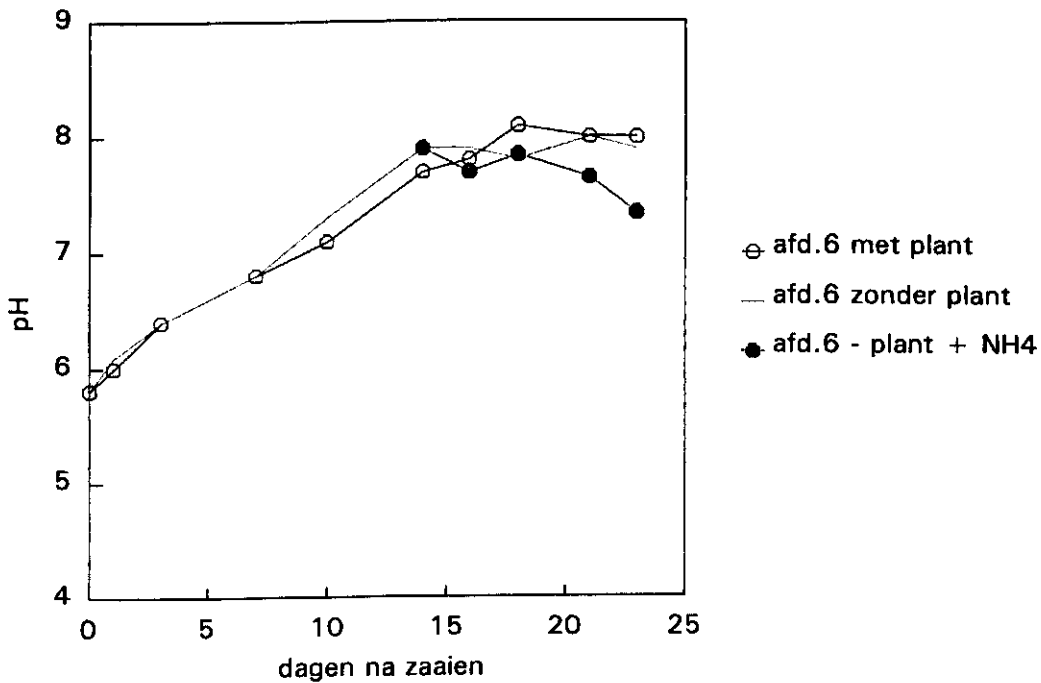
meetdata	9/3, 10/3, 12/3, 16/3, 19/3, 23/3, 25/3, 27/3, 30/3, 1/4
vloedbeurt	9/3, 16/3, 19/3, 23/3, 25/3, 27/3, 30/3, 1/4

3.3 RESULTATEN (Tabel 3.1, Figuur 3.1, 3.2)

- Ook bij de opkweek in bakken treedt er met water uit afdeling 6 wortelverdikking op (Tabel 3.1); met PBG water uit afdeling 5 niet.
- Met voedingswater van afdeling 6 stijgt de pH in de pot (Figuur 3.1), ook in potten zonder planten (Figuur 3.2).
- Toedienen van ammonium op 14 dagen na zaaien geeft een verlaging van de pH (Figuur 3.1), ook in potten zonder planten (Figuur 3.2).
- Met voedingswater uit afdeling 5 blijft de pH tot 15 dagen na zaaien stabiel, maar daarna loopt in de potten met planten de pH iets op (Figuur 3.1).



Figuur 3.1 - Het verloop van de pH in de pot tijdens de opkweek bij water van afdeling 5 (PBG) en 6 (herkomst K).



Figuur 3.2 - Het verloop van de pH in de pot tijdens de opkweek met water van afdeling 6 (herkomst K).

3.4

DISCUSSIE (Tabel 2.4, Figuur 3.1, 3.2)

In Hoofdstuk 2 en uit deze resultaten bleek dat de pH in de potten bij gebruik van water uit afdeling 6 sterk opliep, terwijl dit met het water uit afdeling 5 niet optrad. Uit analyse van het voedingswater bleek dat in het voedingswater uit afdeling 6 geen NH_4^+ aanwezig was (Tabel 2.4).

Normaal wordt door opnameprocessen van de wortels in aanwezigheid van ammonium de pH verlaagd; bij afwezigheid van ammonium in het voedingswater loopt de pH op. Planten in een vegetatief stadium zoals de opkweek hebben een grote stikstofbehoefte. Bij afwezigheid van NH_4^+ gaat de plant stikstof in de vorm van anionen opnemen en wordt de totale anionenopname groter dan de som van de kationenopname. Als gevolg daarvan gaat de plant anionen uitwisselen, waardoor de pH in de pot oploopt. Daarom is in een evenwichtige voedingsoplossing altijd een hoeveelheid NH_4^+ nodig om de balans tussen kat- en anionenopname in evenwicht te houden (Voogt, 1993). In afdeling 6 is het gehalte NH_4^+ nul, omdat in de gebruikte voedingsoplossing van herkomst K ammonium was weggelaten als mogelijke remedie tegen wortelverdikking.

De pH in de pot loopt met voedingswater van afdeling 6 op (Figuur 3.1). Dat de pH stijging ook optreedt in potten zonder planten (Figuur 3.2) komt waarschijnlijk door de activiteit van micro-organismen (Voogt, pers. meded.). Om te controleren of het lage NH_4^+ gehalte de oorzaak van de pH verschillen was, is in deze proef vanaf 14 DNZ ammonium aan het voedingswater uit afdeling 6 toegevoegd, waarna de pH daalde (Figuur 3.1). Er zijn dus sterke aanwijzingen gevonden dat de pH stijging direct gerelateerd is met de afwezigheid van ammonium in de voeding. Als gevolg van de aantasting groeien de planten en de wortels slechter, en dit zou ook kunnen leiden tot een hogere pH.

3.5

CONCLUSIE

- De pH stijging in afdeling 6 wordt waarschijnlijk niet veroorzaakt door de aantasting met dikke wortels, maar door het lage ammoniumgehalte in het voedingswater uit afdeling 6 en door de mindere groei als gevolg van het slechte wortelgestel.

4. EPIDEMIOLOGISCH ONDERZOEK (I)

4.1 INLEIDING (Figuur 2.1)

Het doel van deze proef is het vinden van de factor in het water van afdeling 6 die verantwoordelijk is voor het ontstaan van wortelverdikking in proef 98.02 (Hoofdstuk 2). Met het water uit afdeling 5 en 6 werden planten opgekweekt in bakken met folie (Hoogerbrugge & Verkerke, 1997), waarbij het water werd gerecirculeerd (Figuur 2.1). Het verdachte voedingswater werd op verschillende manieren behandeld om aanwijzingen te vinden of een biologisch dan wel een chemisch agens verantwoordelijk is voor het ontstaan van wortelverdikking.

4.2 MATERIAAL EN METHODEN (Tabel 4.1, Figuur 2.1)

proefnummer	98.04
ras	Tyria
locatie	PBG opkweekkas 304, afdeling 5 en 6
opkweek	in bakken met folie (97.17) en op de teeltvloer (98.02).
zaaidatum	24 februari 1998
factoren	type opkweek, type water, type pot, autoclaveren, filtreren.
potten	als extra controle zijn ook potten van herkomst K (Cultifène, beh. 2) vergeleken met die van herkomst PBG (Grodan, beh. 1, 3 - 10).
opkweek	in bakken en op de teeltvloer; de planten van behandelingen 8 - 10 werden bij proef 98.02 op de teeltvloer gezet. De controles 8 en 9 waren op de teeltvloer niet ruimtelijk van elkaar gescheiden. Ter controle werd ook water van de ene afdeling naar de andere gebracht via een speciale emmer (beh. 3 en 7, "verhuisd" voedingswater)
water	PBG water uit afdeling 5 (5, 7, 10) en verdacht water van herkomst K uit afdeling 6 (1 - 4, 6, 8, 9, Tabel 4.1).
filtreren	voor behandeling 4 werd 12 liter voedingswater uit afdeling 6 gemonsterd in een jerrycan en gefiltreerd over een bacteriefilter met een maaswijdte van 0,45 μm (Schleicher & Schuell BA 85 membraan oppervlakte filter 401-112) door vacuüm te zuigen. De werkzaamheden werden uitgevoerd in het botanisch laboratorium. Het gefiltreerde water werd in twee schone emmers gedaan, afgedekt met aluminiumfolie en teruggebracht naar kas 304. Op 24 februari werden de potten gedompeld in dit water, waarna er werd gezaaid en afgestrooid met vermiculiet. Voor de vloedbeurten tijdens de opkweek werd telkens 7 liter water gefiltreerd; er werd alleen een ander merk filter met dezelfde maaswijdte gebruikt (Millipore, HAWP 04700).
residu	voor behandeling 5 werden op 24 februari de potten natgemaakt met PBG water uit afdeling 5. Alle 12 gebruikte bacteriefilters werden in 12 driehoekige stukjes geknipt en in een steriele petrischaal gelegd. In elk plantgat werd een driehoekig filterstukje en een pit gelegd, waarna er werd afgestrooid met vermiculiet. Voor toediening van het residu tijdens de opkweek werden de 12 gebruikte filters met 120 ml voedingsoplossing uit afdeling 5 enkele minuten op een magneetroerder geroerd tot de filters "schoon" waren. De planten kregen eerst PBG voedingswater uit afdeling 5, waarna in het plantgat 10 ml van de residu-vloeistof werd gepipetteerd.

autoclaveren	voor behandeling 6 werd het voedingswater gedurende 30 minuten geautoclaveerd bij 120 °C, in steriele glazen 3 l kolven gegoten, afgesloten met een steriele wattenprop en teruggebracht naar kas 304.
grootte proef	10 behandelingen x 2 herhalingen x 6 planten per herhaling = totaal 120 planten (een bak is 1 herhaling)
werkvolgorde	eerst werden alle handelingen in afdeling 5 uitgevoerd, daarna pas in afdeling 6. Daar werd eerst geautoclaveerd water gegeven, daarna het gefiltreerde water, het water van afdeling 6 en tenslotte het residu.
watergift	op 10, 14 (ook wijd gezet), 17, 21 en 24 DNZ werd 3 l voedingswater per bak toegediend. Na een half uur werd de bak scheef gezet, het stopje uit het gat getrokken en het water in een emmer opgevangen. Al het water werd teruggestort in de kelder van afdeling 6.
onderzoekers	Riek-Jan van der Heijden, Monica Kersten, Pim Paternotte, Wouter Verkerke

Tabel 4.1 - Overzicht van de behandelingen in proef 98.04. Type voedingswater, opkweek in bak in bijbehorende afdeling tenzij anders vermeld, herkomst pot, aantal herhalingen H, aantal planten per herhaling n, aantal planten per behandeling N.

nr	behandeling	water	opkweek	pot	H	n	N
1	K water	K	bak	PBG	2	6	12
2	K water, pot van K	K	bak	K	2	6	12
3	K water verhuisd	K	bak, afd. 5	PBG	2	6	12
4	Gefiltreerd K water 0.45 μm	K	bak	PBG	2	6	12
5	Residu K water 0.45 μm	PBG + R	bak	PBG	2	6	12
6	Geautoclaveerd K water	K	bak	PBG	2	6	12
7	PBG water verhuisd	PBG	bak, afd.6	PBG	2	6	12
8	K water vroeg (6/3)	K	vloer	PBG	2	6	12
9	K water laat (12/3)	K	vloer	PBG	2	6	12
10	PBG water (6/3)	PBG	vloer, afd.5	PBG	2	6	12

Verwachting - Als het lukt om de aantasting niet alleen op de teeltvloer te krijgen maar ook in de bakken geeft 1 aantasting; als de pot niet uitmaakt zit het in 1 en 2; als het met water wordt overgebracht zit het ook in 3; als het niet door de lucht verspreidt geeft 7 geen aantasting; als het er uit gefiltreerd wordt zit het niet in 4 maar wellicht wel in 5; wellicht verdwijnt het na autoclaveren in 6. We verwachten aantasting in controles 8 en 9, maar niet in 10

4.3 RESULTATEN (Tabel 4.2)

Tabel 4.2 - Het effect van de verschillende behandelingen op plantkarakteristieken, het optreden van wortelverdikking bij komkommer (27 DNZ). Opkweek in bakken, in afdeling 6, met steenwolpotten van herkomst PBG, tenzij anders vermeld. Plantlengte L in cm, plantgewicht G in g, aantal bladeren n, breedte tweede blad B in cm, Relatieve plantgrootte RPG (= plantgewicht / plantlengte) in g/cm, Aantasting met wortelverdikking WVD. Score wortelverdikking: 0 = geen aantasting, 3 = zwaar aangetast.

nr	behandeling	L	G	n	B	RPG	WVD
1	K water	37	47	5.3	22	1.30	3.0
2	K water, pot van K	36	49	5.2	22	1.37	3.0
3	K water in afdeling 5	34	44	5.3	22	1.28	3.0
4	Gefiltreerd K water 0.45 μ m	37	47	4.9	23	1.27	3.0
5	Residu K water in PBG water 0.45 μ m	47	59	5.4	25	1.28	3.0
6	Geautoclaveerd besmet water	45	62	5.9	24	1.37	0.0
7	PBG water in afdeling 6	58	81	6.5	26	1.39	0.0
	p	*	***	NS	*	NS	***
	LSD 5%	13	11		2		1.0
8	besmet water, teeltvloer 10 DNZ	43	44	5.2	21	1.02	3 ¹
9	besmet water, teeltvloer 16 DNZ	44	58	5.8	23	1.32	3
10	PBG water, teeltvloer 10 DNZ	72	88	6.4	28	1.22	0

* = $p < 0.05$; *** = $p < 0.001$; NS = niet significant

¹ aantasting iets heftiger dan in behandeling 9.

- Met besmet water wordt wortelverdikking opgeroepen in bakken en op de teeltvloer, met PBG water niet.
- De herkomst van de pot maakt geen verschil.
- Door besmet water naar een bak in een andere afdeling te brengen kan ook aantasting worden opgeroepen.
- Gefiltreerd besmet water geeft wortelverdikking, maar het residu ook. Bij de behandeling met residu is de aantasting duidelijk vanuit het plantgat begonnen.
- Geautoclaveerd besmet water geeft geen wortelverdikking.
- Aantastende planten zijn gemiddeld 35 % lichter dan gezonde planten.
- Het hier gebruikte modelsysteem met bakken en recirculatie werkt. De aantasting sloeg niet over van de ene naar de andere bak en van de ene naar de andere afdeling.

4.4

DISCUSSIE

De aantasting trad op in de bakken en op de teeltvloer (behandeling 1 - 3, 8 en 9). De besmetting van de planten vindt in deze proef exclusief plaats via het voedingswater en niet via de lucht. Planten die groeiden op PBG water kregen geen wortelverdikking (behandeling 10), ook niet als ze in een aangetaste afdeling stonden (behandeling 7). - Planten die groeiden op besmet water kregen wel wortelverdikking (behandeling 1, 2, 8, 9) ook als ze in een niet-aangetaste afdeling stonden (behandeling 3). Wortelverdikking trad op in potten van zowel herkomst PBG als herkomst K (behandeling 1, 2).

Filtreren en autoclaveren - Bij gefiltreerd besmet water (behandeling 4) trad er wortelverdikking op door de hele pot, net als in de controles (behandeling 1, 8 en 9). Wanneer het residu van besmet water werd opgelost in PBG water en bij planten gepipetteerd die groeiden op PBG water (behandeling 5) trad er ook wortelverdikking op. De aantasting was hier echter duidelijk vanuit het plantgat begonnen. Bij geautoclaveerd water (behandeling 6) trad geen wortelverdikking op.

Biologische of chemische oorzaak - Met deze resultaten kan de betrokkenheid van een biologisch of chemisch agens nog niet worden uitgesloten. Als er een organisme betrokken is, dan is het kennelijk klein genoeg om het filter van $0,45 \mu\text{m}$ te passeren, maar kan het ook achterblijven in het residu op de filters, dat bestaat uit stof en andere fijne deeltjes. Het is echter ook mogelijk dat metaboliëten van organismen wel het filter passeren, maar het organisme zelf niet. Als het om een niet-biologisch agens gaat, dan gaat het om een stof die verdwijnt door autoclaveren, die het filter kan passeren, maar ook in het residu kan achterblijven.

pH - Net als op de teeltvloer en in de bakken (Hoofdstuk 2 en 3) steeg de pH in de pot bij gebruik van besmet water. Voor discussie over dit verschijnsel wordt verwezen naar Hoofdstuk 3.

4.5

CONCLUSIES

- Wortelverdikking wordt door water verspreid.
- De oorzaak van wortelverdikking verdwijnt uit het water door autoclaveren.
- Het agens blijft in het residu op een bacteriefilter van $0.45 \mu\text{m}$ achter, maar voedingswater dat het filter is gepasseerd geeft ook nog een aantasting.
- Het modelsysteem met recirculeren op de teeltvloer en in bakken werkt goed.

5. EPIDEMIOLOGISCH ONDERZOEK (II)

5.1 INLEIDING

Het water uit afdeling 6 waarmee wortelverdikking kan worden opgeroepen was oorspronkelijk afkomstig van herkomst K, maar werd in loop der tijd steeds verder verdund met PBG water en wordt hierna korthedshalve aangeduid als besmet water. In proef 98.04 was gebleken dat het betrokken agens uit het water verdwijnt door autoclaveren. Verder blijft het agens in het residu achter op een bacteriefilter van 0.45 μm , maar voedingswater dat het filter is gepasseerd geeft ook nog een aantasting. In deze tweede epidemiologische proef proberen we proef 98.04 te herhalen en in aanvullende behandelingen het agens verder te karakteriseren door het water te filtreren met een nog fijner bacteriefilter en tot andere temperaturen te verhitten.

5.2 MATERIAAL EN METHODEN (Tabel 5.1)

proefnummer	98.08
ras	Jessica
locatie	PBG opkweekkas 304, afdeling 5 en 6
opkweek	in bakken, nasibakjes en op de teeltvloer
zaaidatum	8 april 1998
potten	Grodan drie sterren
factoren	type water, type opkweek, verhitten en filtreren
water	PBG water uit afdeling 5 (behandeling 1 - 3 en 11 - 13) en besmet water uit afdeling 6 (behandeling 4 - 10 en 14 - 16; Tabel 5.1)
filtreren	voor behandeling 9 en 10 werd 7 liter besmet voedingswater uit afdeling 6 gemonsterd in een jerrycan en gefiltreerd over een bacteriefilter met een maaswijdte van 0,45 μm en 0,22 μm (Millipore filter HAWP 04700) door vacuüm te zuigen. De werkzaamheden werden uitgevoerd in het botanisch laboratorium. Het gefiltreerde water werd in twee schone maatbekers van 4 liter gedaan. De potten werden gedompeld in dit water, waarna er werd gezaaid en afgestrooid met vermiculiet. Voor de vloedbeurten tijdens de opkweek werd telkens 1 liter water per behandeling gefiltreerd, zodat door elk filter maar 200 ml besmet water ging. In proef 98.04 werd 6 liter besmet water gefiltreerd en werden de filters net zolang gebruikt totdat ze dicht zaten. Het gedeelte waar het filter op lag werd voor elke nieuwe filtratie afgespoeld met handwarm kraanwater.
verhitten	besmet water werd 's morgens in twee jerrycans van 30 liter gegoten, naar het lab gebracht en gedurende 30 minuten verhit in een 6 liter snelkookpan bij verschillende temperaturen (Tabel 5.1). De temperatuur werd met de thermometer op de deksel van de pan gecontroleerd.
residu	na de filtratie werden de filters met residu in een 250 ml glazen fles met 100 ml PBG water gedaan, waardoor het residu weer in water werd opgenomen (= residu-vloeistof). In deze proef werden bij behandeling 11-13 de 8 zaden een paar tellen in de 100 ml residu-vloeistof gedompeld en daarna in het plantgat gelegd. Vervolgens werd in het plantgat een scheutje residu gegoten, vermiculiet gestrooid en de rest van het residu over de vermiculiet gegoten. Bij behandeling 11 en 13

	<p>werden de filters in stukjes geknipt en in het plantgat gestopt; bij behandeling 12 is dit achterwege gelaten. De uitvoering van deze behandelingen verschilt dus in enkele details van die in proef 98.04; in die proef werden de filters in driehoekige stukjes geknipt en in het plantgat gelegd; de pitten werden niet in het residu gedompeld.</p>
bactericide	<p>bij behandeling 13 werd aan de 100 ml residu-vloeistof 10 ml stockoplossing (0,03 gr/100ml = 300 ppm) chloramphenicol (CAP) toegevoegd. Van deze oplossing werd, nadat de planten een vloedbeurt met onverdacht PBG water hadden gekregen, 10 ml in elk plantgat gepipetteerd. Gesteld dat het middel homogeen over de pot verdeeld zou worden, hetgeen niet waarschijnlijk is, zou de concentratie CAP in de pot 6 ppm zijn.</p>
natmaken	<p>na afkoeling in de snelkookpan werd het water in een maatbeker gegoten. De potten werden op het water gelegd en zogen zichzelf naar beneden; daarna werden de potten in een plantenkwekersbak gezet.</p>
grootte proef	<p>10 behandelingen in 2 herhalingen met elk 4 planten, 4 behandelingen in 3 herhalingen met elk 1 plant, en 2 behandelingen in 1 herhaling met elk 11 planten = totaal 114 planten.</p>
werkvolgorde	<p>volgens de nummering van de behandelingen, tussendoor handen wassen.</p>
watergift	<p>drie keer per week; te beginnen bij het uitzetten van de planten op dinsdag 14 april. Per bak per vloedbeurt werd 2 liter voedingswater gegeven; in de nasibakjes ging per vloedbeurt 300 ml.</p>
onderzoekers	<p>Riek-Jan van der Heijden, Pim Paternotte, Wouter Verkerke.</p>

Tabel 5.1 -

Overzicht van de verschillende behandelingen. De behandelingen zijn genummerd in de werkvolgorde; opkweek in afdeling 6, tenzij anders vermeld; aantal herhalingen H, aantal planten per herhaling n en totaal aantal planten N.

nr	behandeling	type water	opkweek	H	n	N
1	controle	PBG	bak, afd.5	2	4	8
2	controle	PBG	nasibakje, afd.5	3	1	3
3	controle	PBG	teeltvloer, afd.5	1	10	10
4	verhitten tot 120 °C, 30'	besmet	bak	2	4	8
5	verhitten tot 100 °C, 30'	besmet	bak	2	4	8
6	verhitten tot 80 °C, 30'	besmet	bak	2	4	8
7	verhitten tot 60 °C, 30'	besmet	bak	2	4	8
8	verhitten tot 40 °C, 30'	besmet	bak	2	4	8
9	filtreren 0,22 μm	besmet	nasibakje	3	1	3
10	filtreren 0,45 μm	besmet	nasibakje	3	1	3
11	residu filter 0,22 μm	PBG + residu	bak	2	4	8
12	residu filter 0,45 μm	PBG + residu	bak	2	4	8
13	residu filter 0,45 μm met bactericide	PBG + residu + bactericide	bak	2	4	8
14	controle	besmet	bak	2	4	8
15	controle	besmet	nasibakje	3	1	3
16	controle	besmet	teeltvloer	1	10	10

Verwachting - In 1 - 3 verwachten we geen aantasting (controle water); analoog aan proef 98.04 verwachten we geen aantasting in 4; afhankelijk van de thermolabiliteit treedt er aantasting op in 4 - 8; als het agens een virus/viroïd is kan aantasting optreden bij 6 - 10 en in de controles 14 - 16; in 10 - 12 en 14 - 16 verwachten we analoog aan proef 98.04 een aantasting; als het agens een filter van 0,22 μm kan passeren dan treedt aantasting op in 9; blijft de factor op het filter achter dan treedt aantasting op in 11; is het een bacterie, maar kunnen de metabolieten door het filter, dan treedt aantasting op in 9 en 11; als het agens een bacterie is die op het filter achterblijft, dan geen aantasting in 13.

Verloop van de proef - Op 15 april bleek dat in de controle afdeling 5 met PBG water ook een massale aantasting was opgetreden. Vanaf dat tijdstip is als controle geen water meer uit de controle afdeling gebruikt, maar nieuw aangemaakt voedingswater. De behandelingen 1 - 3 en 11 - 13 hebben dus alleen met het natmaken en bij de eerste vloedbeurt het water uit de nu ook besmet geraakte controle afdeling gehad; daarna werd steeds nieuw, niet-gerecirculeerd water gebruikt.

5.3 RESULTATEN (Tabel 5.2)

Tabel 5.2 - Het effect van de verschillende behandelingen op aantasting met wortelverdikking WVD (19 DNZ) waarbij 0 = geen aantasting, 1 = licht aangetast, 3 = zwaar aangetast. Behandelingen 3 en 16 (op de teeltvloer) zijn buiten de Anova gehouden, omdat die in enkelvoud waren aangelegd.

nr	behandeling	type water	opkweek	WVD
1	controle	PBG	bak, afd.5	3.0
2	controle	PBG	nasibakje, afd.5	3.0
3	controle	PBG	teeltvloer, afd.5	3
4	verhitten tot 120 °C, 30'	besmet	bak	0.0
5	verhitten tot 100 °C, 30'	besmet	bak	0.0
6	verhitten tot 80 °C, 30'	besmet	bak	0.0
7	verhitten tot 60 °C, 30'	besmet	bak	0.0 ¹
8	verhitten tot 40 °C, 30'	besmet	bak	0.0
9	filtreren 0,22 µm	besmet	nasibakje	1.0
10	filtreren 0,45 µm	besmet	nasibakje	1.0
11	residu filter 0,22 µm	PBG + residu	bak	3.0
12	residu filter 0,45 µm	PBG + residu	bak	3.0 ²
13	residu filter 0,45 µm met bactericide	PBG + residu + bactericide	bak	3.0 ³
14	controle	besmet	bak	3.0
15	controle	besmet	nasibakje	3.0
16	controle	besmet	teeltvloer	3
			p	***
			LSD 5%	1.0

¹ aan de buitenkant van de pot is geen aantasting zichtbaar, maar binnen in de pot werd een enkel dun gekringeld worteltje gevonden.

² in 1 herhaling is de aantasting duidelijk vanuit het plantgat begonnen.

³ van de totaal 8 planten is er 1 niet aangetast en 7 wel.

- Besmet water geeft wortelverdikking, zowel in bakken (14), nasibakjes (15) als op de teeltvloer (behandeling 16), maar de controles met PBG water (1 - 3) ook.
- Alle temperatuurbehandelingen van besmet water (4 - 8) geven geen aantasting; alleen bij 60 °C treedt een zeer lichte vorm van kringeling op (behandeling 7).
- Er kunnen geen uitspraken worden gedaan over de effecten van de behandelingen met residu (behandeling 11 - 12), omdat die ook een vloedbeurt met PBG water hadden gekregen en dit water bleek later ook besmet te zijn.
- Gefiltreerd besmet water geeft een lichte aantasting, zowel met een maaswijdte van 0,22 en 0,45 µm (behandeling 9 en 10).

- Toedienen van het bactericide CAP geeft kleinere planten en iets gelige bladeren, maar geen remming van de aantasting (behandeling 13).
- Opkweek in nasibakjes geeft iets kleinere planten.
- Ongefiltreerd en gefiltreerd besmet water geeft kleinere planten dan verhit besmet water.

5.4 DISCUSSIE

Aantasting in PBG water - In deze proef trad wortelverdikking op in zowel besmet als in PBG water. De planten uit de controle afdeling met PBG water waren op donderdag 9 april nog niet aangetast. Op dinsdag 14 april kregen alle planten in proef 98.08 de eerste vloedbeurt. Op woensdag 15 april werd bij planten op de teeltvloer in afdeling 5 met PBG water wortelverdikking geconstateerd. Behandeling 1 - 3 en 11 - 13 hebben vanaf die dag nieuw voedingswater gekregen. Toch bleken deze behandelingen aan het einde van de proef aangetast met dikke wortels. De potten kunnen aangetast zijn door het natmaken bij het begin van de proef en door de eerste vloedbeurt. Twee keer besmetten is dus voldoende om wortelverdikking op te roepen. Of dit werkelijk voldoende is om altijd aantasting te krijgen zal in een methodische proef worden onderzocht, want het kan een hoop werk schelen in volgende proeven.

Residu - Of residu nu wel of niet een aantasting met dikke wortels geeft kunnen we niet concluderen uit deze proef, want de behandelingen met residu kregen ook een vloedbeurt met PBG water en dit water bleek ook een aantasting te geven.

Verhitten - Verhitten helpt tegen de verspreiding van wortelverdikking via water. In de vorige proef (98.04) bleek al dat autoclaveren hielp; in deze proef blijkt dat door verhitten tot lagere temperaturen ook al geen wortelverdikking meer optreedt. Het agens dat wortelverdikking veroorzaakt verdwijnt dus door verhitting. Het zou kunnen gaan om een organisme, of om een thermolabele stof die door een organisme wordt geproduceerd, of om een thermolabele chemische verbinding. De temperatuur waarbij het agens uit het water verdwijnt kan met deze resultaten nog niet precies worden bepaald, omdat het onzeker is of de thermometer op de snelkookpannen de goede temperatuur heeft aangegeven. Waarschijnlijk is de gerealiseerde temperatuur ongeveer 5° hoger geweest dan de geregistreerde temperatuur.

Niveau van aantasting - De aantasting in behandeling 9 en 10 was duidelijk minder dan in andere behandelingen met wortelverdikking, wellicht doordat het filtreren de concentratie van het agens heeft verlaagd, of slechts een fractie van het agens werd doorgelaten. De planten van deze twee behandelingen stonden echter in nasibakjes, zodat de vergelijking wellicht niet helemaal eerlijk is.

5.5 CONCLUSIES

- Het agens verdwijnt in deze proef al uit het verdachte voedingswater door een half uur verhitten bij ongeveer 40 °C.
- Water dat een filter van 0,22 en 0,45 μm is gepasseerd geeft ook nog aantasting.
- Twee keer besmetten (door natmaken pot en een eerste vloedbeurt) met water is genoeg om wortelverdikking op te roepen.
- Het opwekken van wortelverdikking bij komkommer lukt ook bij opkweek in nasibakjes.

6. EPIDEMIOLOGISCH ONDERZOEK (III)

6.1 INLEIDING

Het doel van deze proef is het vinden van de factor in het water van afdeling 6 die verantwoordelijk is voor het ontstaan van wortelverdikking. In de vorige epidemiologische proef (Hoofdstuk 5) was gebleken dat het agens uit het water verdwijnt door verhitten. In deze derde proef herhalen we een gedeelte van proef 98.08 en proberen in aanvullende behandelingen het agens verder te karakteriseren.

6.2 MATERIAAL EN METHODEN (Tabel 6.1)

proefnummer	98.10
ras	Jessica
locatie	PBG opkweekkas 304 in afdeling 5 en 6.
opkweek	in bakken.
zaaidatum	7 mei 1998
potten	Grodan drie sterren
factoren	herkomst water, verhitten, aëreran, vervoeren
water	PBG water uit afdeling 5 (behandeling 1) en besmet water uit afdeling 6 (behandeling 2 - 13; Tabel 6.1)
verhitten	besmet water uit afdeling 6 werd 's morgens in twee jerrycans van 30 l gegoten, naar het botanisch lab gebracht, uit een jerrycan in een maatbeker gegoten, in een 6 l snelkookpan gebracht en gedurende 30, 15 of 6.5 minuten verhit bij verschillende temperaturen (Tabel 6.1). De temperatuur werd gecontroleerd met een thermometer op de deksel van de snelkookpan en een extra thermometer in het water.
aëreran	voor het natmaken werd 6 liter besmet voedingswater in een emmer een half uur doorborreld met perslucht in het chemisch lab. Voor een vloedbeurt werd dit met 2 liter uitgevoerd.
natmaken	het behandelde water werd in een jerrycan en een maatbeker gegoten om af te koelen. Nadat het water was afgekoeld werden de potten op het water gezet en zogen zichzelf naar beneden. Daarna werden de potten in een plantenkwekersbak gezet.
grootte proef	13 behandelingen in 2 herhalingen met elk 4 planten = totaal 108 planten.
werkvolgorde	behandeling 1-9-10-6-7-8-3-4-5-2-11-12-13, tussendoor handen wassen
watergift	voor het zaaien werden de potten natgemaakt; daarna kregen de planten 3x per week water, te beginnen bij het uitzetten van de planten op woensdag 13 mei. Per bak per vloedbeurt werd 2 liter voedingswater gegeven.
onderzoekers	Riek-Jan van der Heijden, Pim Paternotte, Wouter Verkerke.

Tabel 6.1 - Overzicht van de verschillende behandelingen in proef 98.10, opkweek in bakken; type water, afdeling, aantal herhalingen H, aantal planten per herhaling n, totaal aantal planten N.

nr	behandeling	herkomst water	afdeling	H	n	N
1	controle	PBG	5	2	4	8
2	kamertemperatuur, 30'	besmet	6	2	4	8
3	verhitten tot 30 °C, 30'	besmet	6	2	4	8
4	verhitten tot 30 °C, 15'	besmet	6	2	4	8
5	verhitten tot 30 °C, 7.5'	besmet	6	2	4	8
6	verhitten tot 40 °C, 30'	besmet	6	2	4	8
7	verhitten tot 40 °C, 15'	besmet	6	2	4	8
8	verhitten tot 40 °C, 7.5'	besmet	6	2	4	8
9	verhitten tot 50 °C, 15'	besmet	6	2	4	8
10	verhitten tot 50 °C, 7.5'	besmet	6	2	4	8
11	aëreeren, 30'	besmet	6	2	4	8
12	in jerrycan vervoeren	besmet	6	2	4	8
13	controle	besmet	6	2	4	8

verwachting - we verwachten in behandeling 1 geen aantasting, afhankelijk van de thermolabiliteit een aantasting in 2 - 10, wellicht zijn er effecten in 11 en 12; in 13 verwachten we zeker aantasting.

6.3 RESULTATEN EN DISCUSSIE

- 26 Dagen na zaaien was in geen enkele behandeling aantasting opgetreden.
- De aantasting op de teeltvloer was tijdens deze proef minimaal. Voor deze verminderde aantasting is geen verklaring (zie paragraaf 2.4). Als de aantasting weer toeneemt herhalen we deze proef.

6.4 CONCLUSIE

- Deze proef wordt herhaald als er weer meer aantasting op de teeltvloer van het modelsysteem is.

7. EPIDEMIOLOGISCH ONDERZOEK (IV)

7.1 INLEIDING

In proef 98.10 was geen aantasting opgetreden en op de teeltvloer in afdeling 6 was de aantasting ook minder duidelijk. Toen eind juni de aantasting op de vloer weer duidelijker werd konden we proef 98.10 herhalen. Het doel van deze proef is het vinden van de factor in het water van afdeling 6 die verantwoordelijk is voor het ontstaan van wortelverdikking. In proef 98.08 was gebleken dat het agens uit dit water verdwijnt door verhitten. In deze vierde epidemiologische proef proberen we een gedeelte van de tweede proef te herhalen en in aanvullende behandelingen het agens verder te karakteriseren.

7.2 MATERIAAL EN METHODEN (Tabel 7.1)

proefnummer	98.13
ras	Jessica
locatie	PBG opkweekkas 304 in afdeling 5 en 6.
opkweek	in bakken
zaaidatum	25 juni 1998
potten	Grodan drie sterren
factoren	type water, verhitten, aërereren, vervoeren
water	PBG water uit kuip 36; niet recirculeren (behandeling 1) en besmet water uit afdeling 6; wel recirculeren (behandeling 2 - 13; Tabel 7.1)
verhitten	besmet water uit afdeling 6 werd 's morgens in twee jerrycans van 30 l gegoten, naar het lab gebracht, in een maatbeker gegoten, in een 6 l snelkookpan gebracht en gedurende 30, 15 of 7.5 minuten verhit bij verschillende temperaturen (Tabel 7.1). De temperatuur werd gecontroleerd met een thermometer op de deksel van de snelkookpan en een extra thermometer in het water.
afkoelen	het verhitte water werd in een jerrycan gegoten en in een bak met koud stromend water afgekoeld tot ongeveer 25 °C.
aërereren	voor het natmaken werd 6 liter besmet voedingswater in een emmer een half uur doorborreld met perslucht in het chemisch lab. Voor een vloedbeurt werd dit met 2 liter uitgevoerd.
natmaken	na afkoelen werd het behandelde water in een maatbeker gegoten. De potten werden op het water gezet en zogen zichzelf naar beneden. Daarna werden de potten in een plantenkwekersbak gezet.
watergift	na het natmaken werd 3x per week water gegeven, te beginnen bij het uitzetten van de planten op donderdag 2 juli uitzetten. Per bak werd 2 liter voedingswater per vloedbeurt gegeven.
grootte proef	13 behandelingen in 2 herhalingen met elk 4 planten = totaal 108 planten.
werkvolgorde	volgens de nummering van de behandelingen, tussendoor handen wassen
onderzoekers	Riek-Jan van der Heijden, Pim Paternotte, Dick Klinkspoor.

Tabel 7.1 - Overzicht van de verschillende behandelingen. Opkweek in bakken. Type water, opkweek afdeling, aantal herhalingen H, aantal planten per herhaling n, totaal aantal planten N.

nr	behandeling	type water	afdeling	H	n	N
1	controle	PBG kuip 36	5	2	4	8
2	verhitten tot 50 °C, 15 ¹	besmet	6	2	4	8
3	verhitten tot 50 °C, 7.5 ¹	besmet	6	2	4	8
4	verhitten tot 40 °C, 30 ¹	besmet	6	2	4	8
5	verhitten tot 40 °C, 15 ¹	besmet	6	2	4	8
6	verhitten tot 40 °C, 7.5 ¹	besmet	6	2	4	8
7	verhitten tot 30 °C, 30 ¹	besmet	6	2	4	8
8	verhitten tot 30 °C, 15 ¹	besmet	6	2	4	8
9	verhitten tot 30 °C, 7.5 ¹	besmet	6	2	4	8
10	kamertemperatuur, 30 ¹	besmet	6	2	4	8
11	aëreran, 30 ¹	besmet	6	2	4	8
12	in jerrycan vervoeren	besmet	6	2	4	8
13	controle	besmet	6	2	4	8

verwachting - we verwachten in behandeling 1 geen aantasting, afhankelijk van de thermolabiliteit een aantasting in 2 - 10, wellicht zijn er effecten in 11 en 12; in 13 verwachten we zeker aantasting.

7.3 RESULTATEN (Tabel 7.2)

Tabel 7.2 - Het effect van de verschillende behandelingen op aantasting met wortelverdikking WVD (27 DNZ) waarbij 0 = geen aantasting, 1 = licht aangetast, 2 = matig aangetast en 3 = zwaar aangetast.

nr	behandeling	type water	opkweek	WVD
1	controle	PBG kuip 36	bak, afd.5	0.0
2	verhitten tot 50 °C, 15 ¹	besmet	bak	1.0
3	verhitten tot 50 °C, 7.5 ¹	besmet	bak	1.0
4	verhitten tot 40 °C, 30 ¹	besmet	bak	1.0
5	verhitten tot 40 °C, 15 ¹	besmet	bak	1.0
6	verhitten tot 40 °C, 7.5 ¹	besmet	bak	2.0 ¹
7	verhitten tot 30 °C, 30 ¹	besmet	bak	3.0
8	verhitten tot 30 °C, 15 ¹	besmet	bak	3.0
9	verhitten tot 30 °C, 7.5 ¹	besmet	bak	3.0
10	kamertemperatuur, 30 ¹	besmet	bak	3.0
11	aërerem, 30 ¹	besmet	bak	2.0 ¹
12	in jerrycan vervoeren	besmet	bak	3.0
13	controle	besmet	bak	3.0
			p	**
			LSD 5%	2.0

¹ een herhaling was licht aangetast, de andere herhaling was zwaar aangetast

- Besmet water geeft een zware aantasting, PBG water niet (behandeling 1, 13).
- Besmet water verhitten tot 50 °C voor 15' en 7.5' geeft nog een lichte aantasting (behandeling 2, 3).
- Besmet water verhitten tot 40 °C voor 30' en 15' geeft een lichte aantasting (behandeling 4, 5).
- Besmet water verhitten tot 40 °C voor 7.5' geeft een matige aantasting (behandeling 6).
- Besmet water verhitten tot 30 °C voor 30' en 15' en 7.5' geeft geen vermindering in aantasting (behandeling 7, 9).
- Besmet water 30' bij kamertemperatuur laten staan geeft geen vermindering in aantasting (behandeling 10).
- Besmet water aërerem geeft geen vermindering in aantasting (behandeling 11).
- Besmet water vervoeren in een jerrycan geeft geen vermindering in aantasting (behandeling 12).

7.4

DISCUSSIE (Tabel 7.2)

In tegenstelling tot proef 98.10 (Hoofdstuk 6) was er in deze periode wel aantasting op de teeltvloer en kon er een proef met temperatuur trappen worden uitgevoerd.

Verhitten - De uitkomsten stemmen niet precies overeen met die van proef 98.08 (Hoofdstuk 5). In die proef werden de verschillende temperatuur trappen voor een periode van 30 minuten aangehouden, waarna het verhitte besmette water in een jerrycan werd gegoten en niet geforceerd werd afgekoeld. In de huidige proef werden drie temperaturen in combinatie met verschillende tijden aangehouden en werden de ingestelde temperaturen beter gerealiseerd. Het verhitte besmette water werd in een jerrycan gegoten en met koud stromend water afgekoeld tot ongeveer 25 °C. Bij behandeling 2 en 3 duurde het afkoelen ongeveer 60 minuten, bij behandeling 4, 5 en 6 ongeveer 45 minuten en bij behandeling 7, 8 en 9 ongeveer 30 minuten.

Verhitten van besmet water tot 50 °C (voor 15 en 7.5 minuten) en 40 °C (voor 30 en 15 minuten) geeft nog steeds een duidelijke, maar lichte aantasting (Tabel 7.2). Het omslagpunt ligt ongeveer bij 40 °C en 7.5 minuut. Verhitten van besmet water tot 30 °C (voor 30, 15 en 7.5 minuten) en laten staan bij kamertemperatuur geeft nog steeds een zware aantasting.

Aëreren - aëreren van besmet water geeft geen significante vermindering in de aantasting. Als het agens een gas zou zijn, zou het door het aëreren wellicht uit het besmette water kunnen verdwijnen, maar dit gebeurde in deze proef niet.

Transport in jerrycan - het vervoeren van besmet water in een jerrycan gaf geen vermindering in de aantasting. Dit biedt perspectieven voor het uitvoeren van proeven of analyses op andere locaties.

7.5

CONCLUSIES

- Het agens dat wortelverdikking veroorzaakt verdwijnt in deze proef niet uit besmet water door een kwartier verhitten tot 50 °C.
- Een kwartier verhitten tot 50° geeft wel een vermindering in de aantasting.
- Een half uur verhitten van besmet water tot 30° geeft geen vermindering in de aantasting.
- Door aëreren verdwijnt het agens niet uit het besmette water.
- Door vervoer in een jerrycan verdwijnt het agens niet uit het besmette water.

8. METHODISCH ONDERZOEK (I)

8.1 INLEIDING

In proef 98.08 was in de controle behandelingen ook een aantasting opgetreden. Deze planten waren natgemaakt met PBG water uit afdeling 5 en hadden nog één vloedbeurt gehad met dit water, dat later ook besmet bleek te zijn. Het doel van deze proef is na te gaan hoe vaak er contact met besmet water nodig is om een aantasting met wortelverdikking te krijgen. Dit is van belang voor het zo economisch mogelijk opzetten van vervolproeven. Aanvullend is als controle nog een filterproef uitgevoerd.

8.2 MATERIAAL EN METHODEN (Tabel 8.1)

proefnummer	98.11
ras	Jessica
locatie	PBG opkweekkas 304 in 6
opkweek	in bakken
zaaidatum	11 mei 1998
potten	Grodan drie sterren
factoren	aantal keren contact met besmet water uit afdeling 6, filtreren.
filter	0.22 μm (Millipore); vanaf woensdag 20 mei 0.20 μm (Schleicher & Schuell)
herkomst water	PBG water uit groene ton; vanaf woensdag 27 mei uit kuip 36 (behandeling 1); besmet water uit afdeling 6 (behandeling 2 - 5; Tabel 8.1)
natmaken	voor behandeling 1 werden de steenwolpotten in de groene ton op het wateroppervlak gezet; ze zogen zichzelf naar beneden en werden daarna in een plantenkwekersbak gelegd. Voor het natmaken in behandeling 2 werd eerst 6 liter besmet water uit afdeling 6 gefilterd en in een emmer verzameld; daarna werden de potten op dezelfde manier natgemaakt als in behandeling 1. Voor behandeling 3 - 5 werden de potten in een plantenkwekersbak gelegd en in de kelder van afdeling 6 gedompeld.
watergift	natmaken, daarna 3x per week, te beginnen bij het uitzetten van de planten op maandag 18 mei. Per bak werd 2 liter behandeld voedingswater per vloedbeurt gegeven.
grootte proef	5 behandelingen in 2 herhalingen met elk 4 planten = totaal 40 planten.
werkvolgorde	volgens de nummering van de behandelingen
onderzoekers	Riek-Jan van der Heijden, Pim Paternotte

Tabel 8.1 - Overzicht van de behandelingen in proef 98.11. Proefnummering in werkvolgorde; opkweek in bakken. Aantal herhalingen H, aantal planten per herhaling n, totaal aantal planten N.

nr	behandeling	bak in afdeling	H	n	N
1	PBG water	5	2	4	8
2	gefiltreerd besmet water 0,22 μm	6	2	4	8
3	natmaken met besmet water, vloedbeurten met PBG water	6	2	4	8
4	natmaken & 1 ^e vloedbeurt met besmet water, daarna PBG water	6	2	4	8
5	besmet water	6	2	4	8

verwachting - Er treedt geen aantasting in controle behandeling 1, wel in alle andere

8.3 RESULTATEN EN DISCUSSIE (Tabel 8.2)

Tabel 8.2 - Het effect van de verschillende behandelingen op aantasting met wortelverdikking WVD op 22 DNZ; 0 = geen aantasting, 1 = licht aangetast, 2 = matig aangetast.

nr	behandeling	WVD
1	PBG water	0.0
2	gefiltreerd besmet water 0,22 μm	1.5
3	natmaken met besmet water, vloedbeurten met PBG water	0.0
4	natmaken & 1 ^e vloedbeurt met besmet water, daarna PBG water	0.0
5	besmet water	1.5
	P	**
	LSD 5%	1.0

- PBG water geeft geen aantasting.
- De aantasting in de controle met besmet water was licht tot matig, maar duidelijk.
- Gefiltreerd besmet water geeft net zoveel aantasting als de controle met ongefiltreerd besmet water.
- Alleen natmaken met besmet water geeft in deze proef geen aantasting
- Natmaken & 1 vloedbeurt geeft geen aantasting.
- Als de aantasting op de teeltvloer weer sterker is herhalen we deze proef

8.4 CONCLUSIES

- Het agens dat wortelverdikking veroorzaakt kan een filter van 0,22 μm passeren.
- Alleen natmaken met besmet water en natmaken met 1 vloedbeurt met besmet water geeft in deze proef geen wortelverdikking.
- Proef herhalen als er meer aantasting op de teeltvloer is.

9. METHODISCH ONDERZOEK (II)

9.1 INLEIDING

In proef 98.11 was er 22 DNZ slechts een lichte tot matige aantasting in de controle opgetreden. Op de teeltvloer in afdeling 6 was de aantasting in die periode ook duidelijk minder. Eind juni leek de aantasting op de vloer weer wat meer te worden. Daarom is proef 98.11 herhaald. Het doel van deze proef is nagaan hoe vaak contact met besmet water uit afdeling 6 nodig is om wortelverdikking te krijgen.

9.2 MATERIAAL EN METHODEN (Tabel 9.1)

proefnummer	98.14
ras	Jessica
locatie	PBG opkweekkas 304 in 6
opkweek	in bakken
zaaidatum	22 juni 1998
potten	Grodan drie sterren
factoren	aantal keren contact met besmet water uit afdeling 6.
water	PBG water uit kuip 36; niet recirculeren (behandeling 1) en besmet water uit afdeling 6 (behandeling 2 - 5; Tabel 9.1)
natmaken	de steenwolpotten voor behandeling 1 werden in kuip 36 natgemaakt door de potten op het water te zetten. De potten zogen zichzelf naar beneden. Daarna werden ze in een plantenkwekersbak gezet. De steenwolpotten voor behandeling 2 - 4 werden in een plantenkwekersbak gedaan en in de kelder van afdeling 6 natgemaakt.
watergift	natmaken, daarna drie keer per week, te beginnen bij het uitzetten van de planten. Maandag 22 juni zaaien dan maandag 30 juni uitzetten en eerste watergift. Per bak wordt 2 liter voedingswater per vloedbeurt gegeven.
grootte proef	4 behandelingen in 2 herhalingen met elk 4 planten = totaal 32 planten.
werkvolgorde	volgens de nummering van de behandelingen
onderzoekers	Riek-Jan van der Heijden en Dick Klinkspoor

Tabel 9.1 - Overzicht van de verschillende behandelingen. Proefnummering in werkvolgorde; opkweek in afdeling 6 in plantenkwekersbakken. Aantal herhalingen H, aantal planten per herhaling n, totaal aantal planten N.

nr	behandeling	H	n	N
1	PBG water kuip 36	2	4	8
2	natmaken besmet water, rest PBG water	2	4	8
3	natmaken & 1 ^e vloedbeurt besmet water, rest PBG water	2	4	8
4	altijd besmet water	2	4	8

9.3 RESULTATEN EN DISCUSSIE

Tabel 9.2 - Het effect van de verschillende behandelingen op aantasting met wortelverdikking WVD (24 DNZ), waarbij 0 = niet aangetast, 2 = matig aangetast.

nr	behandeling	WVD
1	PBG water	0.0
2	natmaken besmet water, rest PBG water	0.0
3	natmaken & 1 ^e vloedbeurt besmet water, rest PBG water	2.0
4	altijd besmet water	2.0
	p	***
	LSD 5%	1.0

- Twee keer contact met besmet water is in deze proef voldoende om aantasting met dikke wortels te krijgen. De aantasting is matig maar duidelijk.

9.4 CONCLUSIES

- PBG water geeft geen aantasting met wortelverdikking
- Besmet water geeft een matige aantasting.
- Alleen natmaken met besmet water geeft nog geen aantasting.
- Natmaken & 1 vloedbeurt met besmet water geeft een matige aantasting.

10. MODELSYSTEEM VOOR WORTELVERDIKKING MET VOEDINGSWATER VAN HERKOMST M

10.1 INLEIDING

Om voldoende besmet water te hebben en om proef 98.02 te herhalen is in deze proef opnieuw voedingswater en een hoeveelheid aangetaste planten van een bedrijf opgehaald. Op dit bedrijf (herkomst M) zijn in begin 1998 problemen met dikke wortels opgetreden, hoewel er niet gerecirculeerd werd. In deze proef proberen we weer wortelverdikking op het PBG op te roepen met voedingswater en aangetaste planten van herkomst M. In afdeling 4 werd de kelder gevuld met voedingswater van herkomst M en in de middelste kuip werden 72 aangetaste planten van dit bedrijf neergezet. Dit hoofdstuk beschrijft de periode van 24 maart tot 17 juli.

10.2 MATERIAAL EN METHODE (Tabel 10.1, 10.2, 10.3)

proefnummer	98.07
ras	Jessica
locatie	PBG opkweekkas 304, afdeling 4
behandeling	herkomst water
water	het water is bij herkomst M één keer op de teeltvloer gezet bij aangetaste planten en toen afgevoerd naar de bezinkput. Met een pomp is vervolgens dit water uit de bezinkput gepompt in drie bakken van 1 kubieke meter en vervoerd naar het PBG en in de kelder van afdeling 4 gepompt. Analyses van het water zijn genomen toen het water nog op de teeltvloer stond en uit de bezinkput. De totale inhoud van de kelder is 4425 liter.
vloedbeurt	planten hebben dinsdag 24 maart voor de eerste keer een vloedbeurt gehad, daarna drie keer per week en vanaf 8 april iedere dag.
waarnemingen	wortelverdikking en pH op verschillende dagen na zaaien bij de verschillende generaties planten op de teeltvloer
voortgang	elke week werden er 96 planten gezaaid zodat er steeds planten van verschillende generaties op de teeltvloer staan. Vanaf maandag 22/06 zijn er twee keer per week 72 planten gezaaid, zodat het aantal planten op de vloer geleidelijk toenam.

Tabel 10.1 - Teeltgegevens van verschillende generaties komkommerplanten

nr	kleur	aantal	gezaaid	uitgezet	geruimd	DNZ
1	zonder label	72	**	24/03	06/04	**
2	rood	96	01/04	07/04	23/04	22
3	blauw	96	08/04	14/04	27/04	19
4	groen	96	15/04	22/04	07/05	22
5	geel	96	23/04	28/04	14/05	20
6	rood	96	29/04	04/05	20/05	21
7	blauw	96	06/05	13/05	25/05	19
8	groen	96	14/05	18/05	04/06	21
9	geel	96	20/05	25/05	12/06	23
10	rood	96	28/05	02/06	22/06	25
11	blauw	96	04/06	09/06	30/06	26
12	wit	96	11/06	16/06	07/07	26
13	oranje	96	19/06	23/06	10/07	21
14	groen	72	22/06	29/06	17/07	25
15	groen	72	26/06	03/07	17/07	21
16	geel	72	29/06	07/07	17/07	18
17	blauw	72	03/07	10/07	17/07	14
18	wit	72	06/07	13/07	17/07	11
19	rood	72	10/07	*	17/07	7
20	bruin	72	13/07	*	17/07	4

Tabel 10.2 - Aantal liters voedingsoplossing, EC in mS/cm en pH in de kelder

datum	aantal liters voedingsoplossing bijgevoeld	EC	pH
24/03	3000	2.9	5.0
27/03			5.3
01/04			5.4
06/04			5.5
14/04			5.5
15/04			5.2
22/04		3.2	5.2
27/04		3.3	5.1
29/04		3.3	5.6
04/05		3.3	5.4
06/05		3.4	5.1
14/05		3.6	5.4
25/05	500		
28/05		3.9	5.2
04/06			5.9
11/06		3.5	5.7
19/06	500	2.9	5.3
29/06		3.5	5.2
03/07		3.1	5.6
10/07		3.3	5.4
13/07	1000		

- tot 17 juli was er 2000 liter PBG voedingsoplossing toegevoegd en zat er ongeveer 1850 liter in de kelder.

Tabel 10.3 - Chemische analyse voedingswater PBG, bedrijf M, en uit afdeling 4 van verschillende monsterdata.

element	eenheid	PBG water	Bedrijf M 24/03 vloer	Bedrijf M afdeling 4 24/03 bezinkput	afdeling 4 06/05	afdeling 4 02/06	afdeling 4 09/06
pH		5.50	5.16	4.95	5.04	5.74	5.86
EC	mS/cm	2.90	3.33	2.88	3.30	3.32	3.46
NH ₄	mmol/l	1.00	1.22	1.04	0.72	0.71	0.69
K	mmol/l	6.53	9.28	7.98	9.39	10.11	10.80
Na	mmol/l	0.00	0.61	0.57	0.75	0.87	0.97
Ca	mmol/l	3.86	7.00	6.08	6.73	6.26	6.63
Mg	mmol/l	2.38	2.78	2.59	3.28	3.72	3.85
NO ₃	mmol/l	14.71	23.53	20.05	22.46	23.33	23.31
Cl	mmol/l	0.00	0.41	0.35	0.33	0.34	0.30
SO ₄	mmol/l	2.06	2.64	2.32	2.72	3.51	3.40
HCO ₃	mmol/l	0.00	0.22	<0.10	< 0.10	< 0.10	<0.10
P	mmol/l	1.18	2.26	1.82	1.94	1.82	1.73
Fe	μmol/l	25.00	60.30	49.20	17.00	20.50	19.50
Mn	μmol/l	10.00	26.30	23.00	22.10	18.50	17.70
Zn	μmol/l	5.00	6.90	5.60	7.60	7.30	7.50
B	μmol/l	35.00	48.00	40.00	47.00	53.00	54.00
Cu	μmol/l	1.00	1.70	1.50	1.40	2.30	1.60

10.3 RESULTATEN

- De planten die waren meegenomen herstelden op het PBG zeer snel en vormden veel nieuwe witte wortels.
- Met voedingswater van herkomst M kon tot 17 juli geen wortelverdikking worden opgeroepen.

10.4 DISCUSSIE

Verschillen tussen de twee proeven - In tegenstelling tot proef 98.02 is het in deze proef niet gelukt om met voedingswater van herkomst M wortelverdikking op te roepen op het PBG. Tussen de twee proeven (98.07 en 98.02) bestonden echter wel enkele verschillen. Bij de start van 98.07 stonden er slechts 72 aangetaste planten op te teeltvloer; in proef 98.02 stond de teeltvloer helemaal vol met aangetaste komkommer- en paprikaplanten. De EC in het voedingswater was in 98.07 2.4 - 3.9; in proef 98.02 was dit ongeveer 1 punt lager. Het voedingswater voor 98.07 was uit een bezinkput gepompt, het voedingswater uit proef 98.02 was van een teeltvloer met aangetaste planten opgezogen.

De afstand van bedrijf M tot het PBG was beduidend groter dan de afstand van bedrijf K naar het PBG. Proef 98.02 lag in kas 304 afdeling 6, proef 98.07 lag in dezelfde kas maar dan in afdeling 4. De klimaatsinstellingen waren in de twee afdelingen hetzelfde, maar de proeven werden niet in precies dezelfde tijd van het jaar uitgevoerd.

Aantasting - Bij het ruimen van de planten werden de wortels beoordeeld op wortelverdikking. Een week nadat de aangetaste planten van herkomst M op de teeltvloer waren gezet trad er een sterke regeneratie op. De planten kregen erg veel witte en gezonde wortels. Van de nieuw gezaaide planten die vanaf 25 mei geruimd werden, waren er wel enkele twijfelgevallen maar deze vertoonden slechts in lichte mate kringeling die nooit doorzette tot wortelverdikking, ook niet toen er meer planten op de teeltvloer stonden.

Aantasting op bedrijf - Bij herkomst M werd het voedingswater niet gerecirculeerd, maar toch waren er problemen met wortelverdikking. Kennelijk kunnen er ook zonder recirculatie van het voedingswater problemen met wortelverdikking optreden.

10.5 CONCLUSIE

- Met voedingswater van herkomst M kon geen wortelverdikking worden opgeroepen op het PBG.

11. DISCUSSIE

Het modelsysteem dat is opgezet met voedingswater van herkomst K gaf ook bij nieuw gezaaide planten een duidelijke aantasting met dikke wortels. Ook toen de oorspronkelijke hoeveelheid water al verdund was doordat er regelmatig met PBG water was aangevuld, bleek het voedingswater in die afdeling nog een heftige aantasting te kunnen oproepen in komkommerplanten. De recirculatie van voedingswater is waarschijnlijk een belangrijke factor in dit modelsysteem. In eerdere proeven was de aantasting steeds veel minder zwaar (Hoogerbrugge & Verkerke, 1998) en in die proeven werd niet gerecirculeerd. Het modelsysteem maakt het mogelijk om het agens verder te karakteriseren. Het bleek dat wortelverdikking door voedingswater kan worden verspreid; besmetting via de lucht lijkt niet op te treden.

Filtreren - Het agens kan zowel een filter van 0,45 μm als van 0,22 μm passeren. Wat door het filter gaat zou een metabool van een organisme kunnen zijn, maar het kan ook om een chemische stof gaan.

Verhitten - Door verhitting verdwijnt het agens uit het water. Uit de eerste twee temperatuur proeven werd geconcludeerd dat vanaf een half uur verhitten tot 40 °C het agens niet meer actief is. In de volgende proef bleek dat een kwartier verhitten tot 50 °C en een half uur verhitten tot 40 °C een vermindering van de aantasting gaven, en dat bij een half uur verhitten tot 30 °C geen vermindering van de aantasting optrad. Hoewel het agens dus duidelijk thermolabiel is kan de exacte temperatuur en tijdsduur waarbij het agens niet meer actief is dus nog niet precies worden aangegeven.

Biologische of chemische oorzaak - Met deze resultaten kan de betrokkenheid van een biologisch of chemisch agens nog niet worden uitgesloten. Als er een organisme betrokken is, dan is het kennelijk klein genoeg om het filter van 0,45 en 0,22 μm te passeren, maar kan het ook achterblijven in het residu op de filters, dat bestaat uit stof en andere fijne deeltjes. Het is echter ook mogelijk dat metaboolieten van organismen wel het filter kunnen passeren, maar het organisme zelf niet. Organismen die gezien deze resultaten het meest in aanmerking komen zijn bacterien. Een behandeling met bactericide (Hoofdstuk 5) gaf geen vermindering in aantasting, maar in de eerste PBG proeven met matten was wel een duidelijk effect van bactericide en stomen gevonden (Paternotte, 1994). Als het om een niet-biologisch agens gaat, dan gaat het om een stof die verdwijnt door autoclaveren, die het filter kan passeren, maar ook in het residu kan achterblijven.

Toepasbaarheid - De behandelingen waarbij de aantasting verminderde leveren nog geen praktijkoplossing voor wortelverdikking, maar werken alleen in het modelsysteem. Voor toepassing op praktijkschaal is meer onderzoek nodig.

12. CONCLUSIES

- Met voedingswater van herkomst K kon wortelverdikking worden opgeroepen bij opkweek op een teeltvloer van het PBG, maar ook bij een opkweek in plantenkwekersbakken en in nasibakjes; de herkomst van de steenwol maakte geen verschil.
- Wortelverdikking kon in een controle afdeling waarin PBG water werd gerecirculeerd de eerste drie maanden niet worden opgeroepen. Op 15 april bleek die afdeling echter ook aangetast.
- De recirculatie van voedingswater in een teeltsysteem met een teeltvloer en een kelder is een modelsysteem waarmee het mogelijk is om epidemiologisch onderzoek uit te voeren.
- Aangetaste planten zijn korter, minder zwaar en hebben kleiner blad, wellicht mede door het ontbreken van NH_4^+ in de voedingsoplossing van K. De pH in de pot is hoger, waarschijnlijk door het lage NH_4 gehalte in de voedingsoplossing.
- Het verwijderen van de wikkels tijdens de opkweek of het eerder natmaken van de potten gaf geen afname van de aantasting.
- Wortelverdikking wordt door water verspreid en niet door de lucht.
- De oorzaak van wortelverdikking verdwijnt uit het besmette water door autoclavieren (een half uur verhitten tot 120 °C).
- Een kwartier verhitten tot 50° C en een half uur verhitten tot 40 °C van besmet water gaf in een proef een kleine vermindering in de aantasting; in een andere proef gaf een half uur verhitten tot 40 °C geen aantasting meer.
- Een half uur verhitten van besmet water tot 30° geeft geen vermindering in de aantasting.
- Door aëren of vervoer in een jerrycan verdwijnt het agens niet uit het besmette water.
- Het agens blijft op een bacteriefilter van 0.45 μm achter.
- Besmet water dat een filter van 0,22 en 0,45 μm is gepasseerd geeft ook nog aantasting.
- Natmaken & 1 vloedbeurt met besmet water is genoeg om een aantasting met dikke wortels te krijgen.
- Met voedingswater van herkomst M kon geen wortelverdikking worden opgeroepen op het PBG.

LITERATUUR

- Hoogerbrugge, E. & W. Verkerke - Epidemiologie van wortelverdikking bij komkommer. PBG Rapport 122 (1997).
- Hoogerbrugge, E. & W. Verkerke - Wortelverdikking komkommer, onderzoek 1e helft 1997. PBG Rapport 133 (1998).
- Paternotte, P. - Stomen voorkomt wortelverdikking. Groenten & Fruit 22: 25 (3 juni 1994).
- Pierik, R. & E.J.W. Visser - Effecten van ethyleen en laag zuurstof op de groei en ontwikkeling van komkommerwortels in relatie tot wortelverdikking. Rapport Katholieke Universiteit Nijmegen in opdracht van de Stuurgroep Wortelverdikking (september 1998).
- Voogt, W. - Plantevoeding in de glastuinbouw, PBG Brochure 87, 3^e druk (1993).

De resultaten van dit onderzoek zijn gedeeltelijk gepubliceerd als:

- Gastel, T. van - Membraanfilter houdt 'dikke-worteloorzaak' tegen. Groenten & Fruit/Vakdeel Glasgroenten 37: 20 - 21 (11 september 1998).