

Aanzet tot een betrouwbare populatiedichtheid bepaling van wratziekte (*Synchytrium endobioticum*)

Thomas Been & Jan Lamers





Aanzet tot een betrouwbare populatiedichtheid bepaling van wratziekte (*Synchytrium endobioticum*)

Thomas Been¹ & Jan Lamers²

¹ Plant Research International

² Praktijkonderzoek Plant & Omgeving (Akkerbouw, Groene ruimte en Vollegrondsgroenten)

© 2007 Wageningen, Plant Research International B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Plant Research International B.V.

Exemplaren van dit rapport kunnen bij de (eerste) auteur worden besteld. Bij toezending wordt een factuur toegevoegd; de kosten (incl. verzend- en administratiekosten) bedragen € 50 per exemplaar.



Plant Research International B.V.

Adres : Droevendaalsesteeg 1, Wageningen
: Postbus 16, 6700 AA Wageningen
Tel. : 0317 - 47 70 00
Fax : 0317 - 41 80 94
E-mail : info.pri@wur.nl
Internet : www.pri.wur.nl



Akkerbouw, Groene ruimte en Vollegrondsgroenten

Adres : Edelhertweg 1, 8219 PH Lelystad
: Postbus 430, 6700 8200 AK Lelystad
Tel. : 0320 - 291111
Fax : 0320 - 230479
E-mail : infoagv.ppo@wur.nl
Internet : www.pri.wur.nl

Inhoudsopgave

	pagina
Inleiding	1
1. Spoel- en telfout zonale centrifuge	2
2. Kleinschalige verdeling wratziekte	5
Conclusie	8
Bijlage I	1
Bijlage II	1

Inleiding

Bij de bepaling van de populatiedichtheid van een bodemgebonden organisme hangt de betrouwbaarheid van de uiteindelijk aangetoonde aantallen af van twee belangrijke foutbronnen:

- 1) Het verzamelen van het te onderzoeken monster van het perceel, plot of partij.
- 2) De verwerking van het monster in het lab.

Onder punt 1 moet worden bewezen dat het verzamelde monster een goede weerspiegeling is van wat er werkelijk in het veld aanwezig is. Een van de belangrijkste onderzoeksvragen die hiervoor moeten worden beantwoord is hoe de ruimtelijke verdeling van het organisme in het veld eruit ziet. Hier verstaan we onder:

- De kleinschalige verdeling (bijvoorbeeld binnen een m^2) van het organisme.
- De eventuele middenschalige verdeling van het organisme, zoals die ontstaat door actieve en passieve verspreiding. Hierbij moet worden gedacht aan de 'hotspot' of besmettingshaard die bij een bodemgebonden organisme vaak is waar te nemen.
- De grootschalige verdeling van het organisme over het perceel – bijvoorbeeld ten gevolge van het aan elkaar groeien van afzonderlijke besmettingshaarden in de tijd of ten gevolge van een snelle verspreiding over het perceel.

Deze ruimtelijke verdeling bepaalt uiteindelijk de volgende karakteristieken van een bemonsteringsmethode:

- Wat zijn de dimensies van het bemonsteringsgrid
- Welke steekgrootte moet worden gehanteerd
- Wat is de maximale oppervlakte waarover het bulkmonster moet of mag worden verzameld.

Onder punt 2 vallen alle handelingen die worden uitgevoerd nadat het monster is verzameld. Met andere woorden de handelingen die worden uitgevoerd in het laboratorium om het monster te analyseren. Hierbij kunnen de volgende punten bij wratziekte worden onderscheiden:

- Het mengen van de grond (de oorspronkelijke, meestal geaggregeerde verdeling gaat verloren en een Poisson verdeling gaat gelden)
- Het sub-bemonsteren van de grond (er wordt een binomiale fout toegevoegd)
- Het opspoen van de grond met de zonale centrifuge (opspouwfout inherent aan gebruikte procedure en apparatuur)
- Het maken en sub-bemonsteren van de resulterende suspensie (Poisson of binomiale fout toegevoegd afhankelijk van grootte submonster ten opzichte van de gehele suspensie)
- Het tellen van de sporangia aanwezig in de suspensie (telfout door apparaat of menselijke telfout)

Het bepalen van de distributiepatronen van een organisme heeft enkel zin als de laboratoriummethoden voor het verwerken van een bodemmonster betrouwbaar zijn. Labfouten zullen de bepaling van de parameters van, bijvoorbeeld, de kleinschalige verdeling beïnvloeden. In dit pilot project betreffende wratziekte is daarom eerst gekeken hoe groot de fout is van de zonale centrifuge, die gebruikt wordt om de sporangia van de grond te scheiden. Pas als de methodiek redelijk betrouwbaar is, heeft het zin om een eerste stap te zetten richting de distributiepatronen van wratziekte in het veld. Vooral de kleinschalige verdeling is hierbij prioritair omdat aan de hand van deze verdeling, en de bijbehorende parameters, de wetenschappelijke bemonsteringsmethode voor kleine plots kan worden ontwikkeld. Deze bemonsteringsmethode wordt dan gebruikt voor het wetenschappelijke onderzoek, onder andere om de midden- en grootschalige verdelingspatronen op betrouwbare wijze in kaart te brengen.

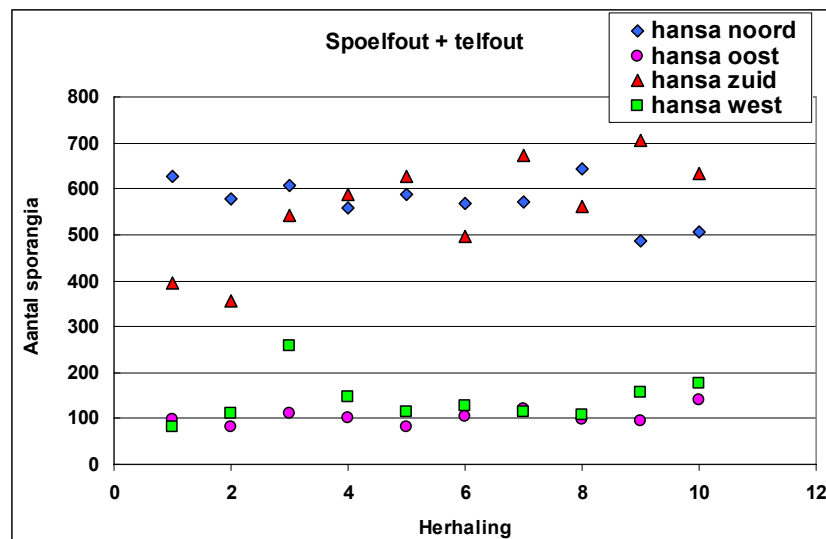
Momenteel is er niets of weinig bekend van de verdeling in het veld van de veroorzaker van wratziekte behalve dat er indicaties zijn dat ook dit organisme in het veld opduikt met patronen die op hotspots lijken (PPO-agv data). Ook wat betreft de betrouwbaarheid van de gehanteerde opspouftechniek is nog te weinig bekend. Het onderzoek in onderhavig project spitst zich dan ook toe op twee onderdelen:

1. Aanzet tot bepaling van de laboratoriumfout
2. Een eerste aanzet voor bepaling van de kleinschalige verdeling.

1. Spoelfout- en telfout zonale centrifuge

Om een indicatie te verkrijgen van de spoelfout (inclusief de menselijke telfout) die met de zonale centrifuge wordt gemaakt zijn op verschillende plekken, op drie percelen met een aangetoonde besmetting, lokaal bodemmonsters genomen. Hierbij is op 15 locaties, verdeeld over 3 proefvelden, een groot bulkmonster verzameld van meer dan 10 kg grond dat in het laboratorium eerst zorgvuldig is gemengd en daarna is opgesplitst in 10 sub-monsters van ongeveer 1 kg. De oorspronkelijke geaggregeerde verdeling in het veld is door het mengen van het bulkmonster veranderd in een Poisson verdeling. De te verwachten variatiecoëfficiënt is dan afhankelijk van de dichtheid van het organisme per eenheid grond.

Nadat van elke monsterplek 2 herhalingen waren opgespoeld zijn 4 monsterplekken gekozen waarvan alle 10 sub-monsters zijn verwerkt. De getalsmatige resultaten (aantal getelde sporangia per 1 ml suspensie) zijn weergegeven in Figuur 1, waar voor elk van de vier monsterplekken de resultaten van de 10 bepalingen zijn weergegeven.



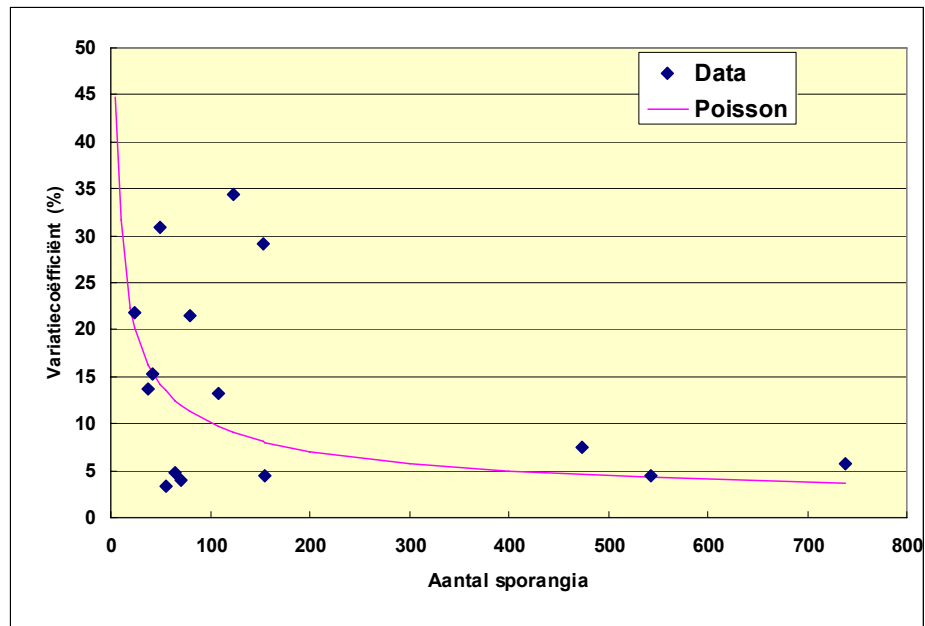
Figuur 1. Resultaten van de analyse van 10 sub-monsters uit de goed gemengde bulkmonster van 4 locaties binnen het veld IJsselstein. Per sub-monster is de telling van 1 ml suspensie weergegeven. Zie bijlage 1 voor meer informatie.

*Tabel 1. Per locatie is weergegeven de gemiddelde monstergrootte die is verwerkt, het gemiddelde aantal sporangia dat daadwerkelijk is geteld (gemiddelde van de 10 herhalingen), de standaard deviatie en de variatiecoëfficiënt van de bepaling. De verwachte variatiecoëfficiënt volgens de Poisson verdeling is berekend; de overblijvende variatiecoëfficiënt (kolom Toegevoegd (%)) is het resultaat van de zonale centrifuge inclusief de menselijke telfout. * Aangepaste waarde na weglating van 1 herhaling die als outlier wordt beschouwd.*

Locatie	Monster grootte	Gemiddelde	Standaard deviatie	Variatie coëfficiënt (%)	Verwachte variatie coëfficiënt	Toegevoegd (%)
noord	1010,9	574,0	47,8	8,32	4,17	7,20
oost	1005,3	103,3	17,5	16,91	9,84	13,75
zuid	1009,9	558,5	114,6	11,35*	4,23	10,53
west	1018,0	126,9	28,8	22,67	8,88	20,86

Het verschil tussen de gemeten variatiecoëfficiënt en de te verwachten variatie coëfficiënt volgens de Poisson verdeling kan worden berekend via de Taylor reeks en is zichtbaar gemaakt in de laatste kolom van Tabel 1 onder 'Toegevoegd'. Dit is dus de variatiecoëfficiënt van de zonale centrifuge plus de telling. Over het algemeen kan deze variatie niet nul zijn omdat er altijd een fout door zowel machinerie als mens wordt toegevoegd. Over het algemeen is een totale variatiecoëfficiënt van tussen de 14 – 17% redelijk. Met behulp van de monstergrootte die men verwerkt, eigenlijk het aantal daadwerkelijk getelde sporangia, kan men de variatiecoëfficiënt minimaliseren tot het niveau dat inherent is aan de gebruikte methodiek. De totale variatiecoëfficiënt ligt in deze pilot tussen de 8 en 23% en lijkt bij de hoger aantallen vergelijkbaar met de gangbare methodiek voor het opspoelen van aardappelcystealen en veel lager dan bij *Meloidogyne* spp. Wel moet worden opgemerkt dat 4 bepalingen te beperkt zijn om de spoelfout van de zonale centrifuge betrouwbaar vast te stellen; met het onderhavige project is enkel een eerste aanzet voor het kwantificeren van de labfout bereikt.

In principe kunnen ook de 15 uitgevoerde dubbelbepalingen op de drie proefvelden uit het vooronderzoek, waaruit de 4 locaties zijn geselecteerd, worden gebruikt om informatie betreffende de variatie van de spoelmethode te leveren. Hiervoor wordt gekeken hoe groot de variatiecoëfficiënt van de paren afwijkt van de verwachte variatiecoëfficiënt volgens de Poisson verdeling. Deze data zijn weergegeven in Figuur 2. Opvallend is dat de variatiecoëfficiënten bij lagere tellingen, tot 150 sporangia, zeer wisselend is met flinke uitschieters. De variatiecoëfficiënt is laag bij de hogere tellingen. Het hele middentraject aan tellingen (150 ~ 500 sporangia) ontbreekt. Bij een paren analyse wordt de betrouwbaarheid bepaald door de beschikking van zeer veel data wat hier niet het geval is. Het is daarom betrouwbaarder de getallen uit Tabel 1 aan te houden.



Figuur 2. Resultaten van de analyse van 2 sub-monsters uit de goed gemengde bulkmonsters van 15 locaties binnen de velden IJsselstein, Bellingwolde en een derde proefveld bij IJsselstein. Per sub-monster is de telling van 1 ml suspensie weergegeven.

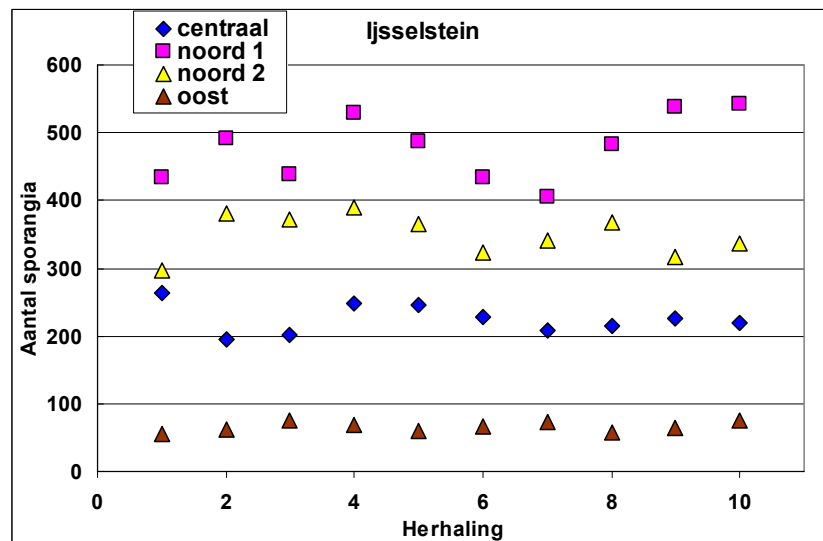
Interessant zou zijn om de spoelfout van de zonale centrifuge en de telfout van de labmedewerker van elkaar te scheiden en na te gaan welke component de meeste invloed uitoefent op het uiteindelijke resultaat. Nu wordt de gevonden toegevoegde fout aan de zonale centrifuge toegeschreven en is de labmedewerker als bron van variatie onzichtbaar. Hiervoor zouden aan verschillende medewerkers, dezelfde suspensies, met een bekende hoeveelheid sporangia, moeten worden aangeboden om te tellen.

2. Kleinschalige verdeling wratziekte

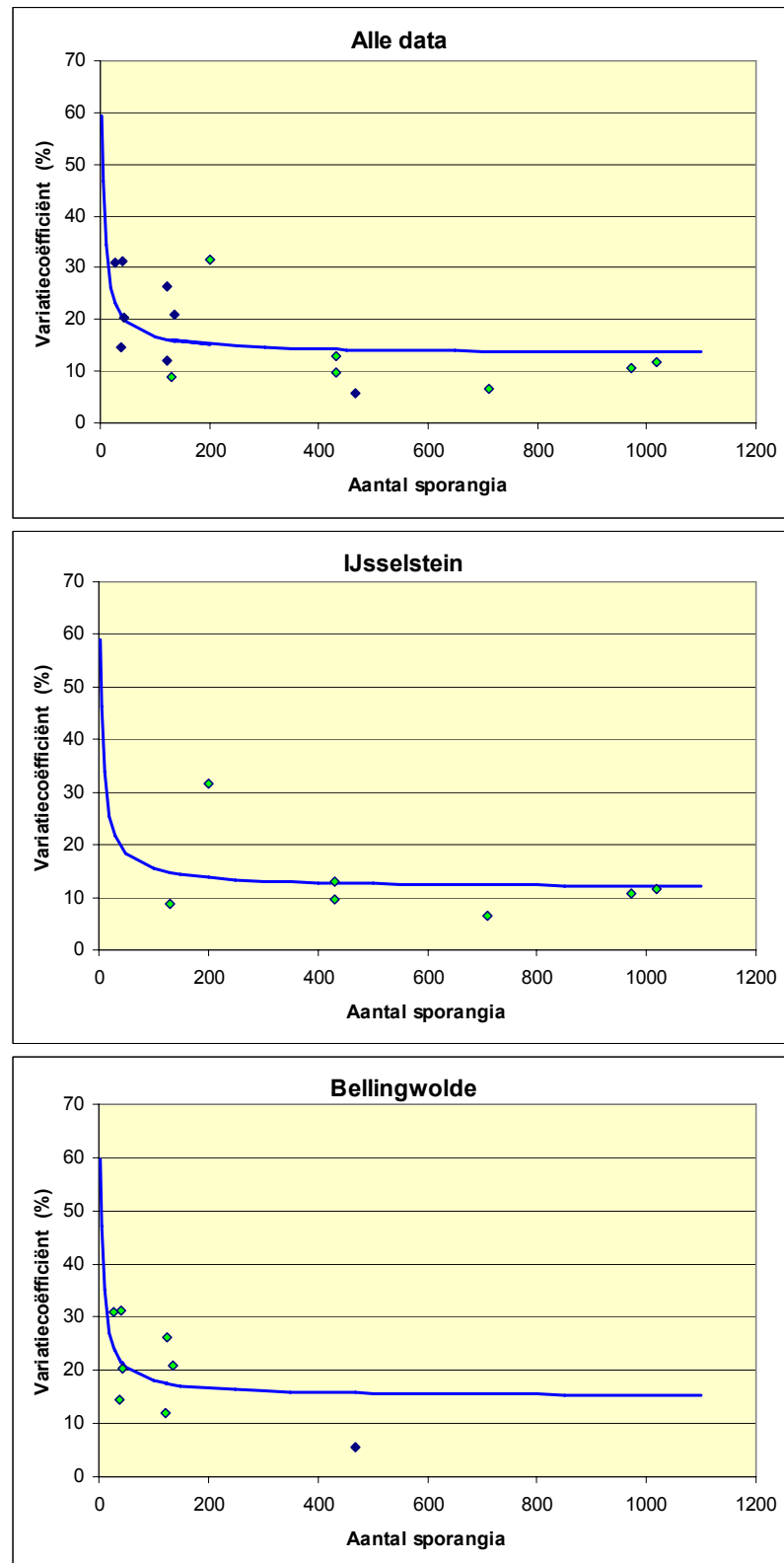
De kleinschalige verdeling van bodemorganismen – het distributiepatroon binnen een vierkante meter - is meestal afhankelijk van de reproductie van het organisme op het wortelsysteem van de waardplant. De waardplanten staan in een patroon over het veld met vaste afstanden in en tussen de rij. Aggregatie treedt op bij de plant; menging vindt plaats bij de oogst. Voor veel bodemgebonden organismen is de resulterende verdeling beschreven als zijnde een negatief binomiale verdeling. Deze verdeling kent een aggregatiefactor die de clustering van het organisme in de grond aangeeft. Deze factor is afhankelijk van het bemonsterde oppervlak en de grootte van het verzamelde monster. Met kennis van deze parameter kan de grootte van een bodemmonster worden aangepast om een vereiste betrouwbaarheid te bereiken. Normaliter verschilt deze factor enigszins van veld tot veld en ook binnen het veld; het is immers een biologische parameter. Door informatie te verzamelen over een scala van velden die representatief worden geacht, kan een aggregatie factor worden verkregen die bruikbaar is voor een generieke benadering (*common k*).

In 2006 waren er 2 geschikte percelen beschikbaar: IJsselstein en Bellingwolde. Op verschillende plekken op ieder perceel zijn per vierkante meter 10 monsters van ongeveer 1500 tot 1700 g versgewicht verzameld. Van elk monster is een monster van 1000 g genomen en verwerkt en uiteindelijk 50% van de suspensie opgespoeld/gecentrifugeerd. Een gedeelte van de resulterende suspensie, afhankelijk van de plaatselijke populatiedichtheid, is geteld. Voor de gepresenteerde analyse zijn de resultaten van de tellingen van de eerste 2 ml gebruikt.

Wanneer er geen enkel ruimtelijk patroon aanwezig zou zijn, zouden uit elk van de 10 monsters ongeveer dezelfde aantallen sporangia moeten worden geëxtraheerd. Uit de spreiding die wordt gevonden kan de kleinschalige verdeling worden afgeleid. In totaal zijn er van 15 plots 10 herhalingen verwerkt. Een voorbeeld van deze 10 herhalingen wordt gegeven in Figuur 3.



Figuur 3. Aantallen werkelijk getelde sporangia per herhaling (10 herhalingen) in 4 verschillende plots in het proefveld IJsselstein.

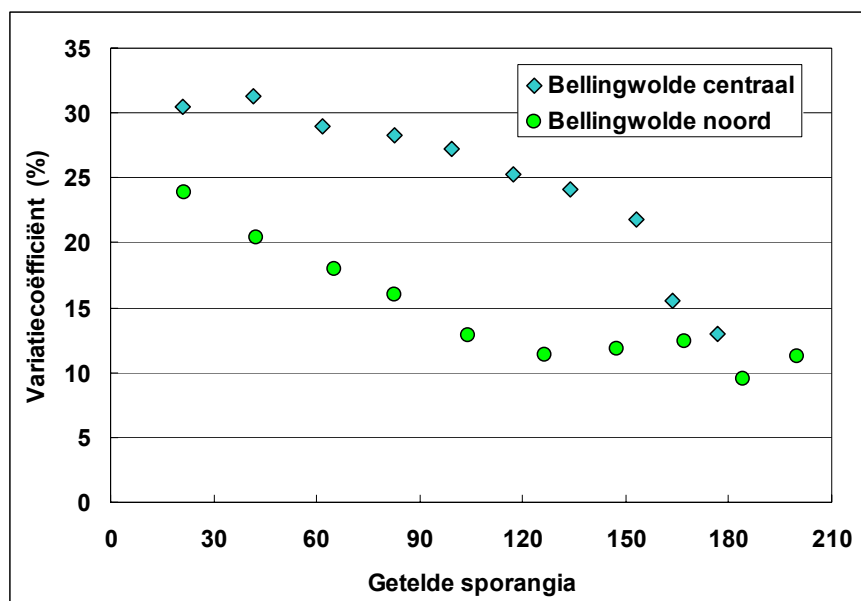


Figuur 4. Relatie tussen het daadwerkelijke aantal getelde sporangia en de variatiecoëfficiënt van de dichtheidsbepaling en de variatiecoëfficiënt volgens de negatief binomiale verdeling met k-factor van 56, 72 en 44 voor een 1500g monster (versgewicht) voor respectievelijk 'Alle data', proefveld 'IJsselstein' en proefveld 'Bellingwolde'.

Van alle plots is de variatiecoëfficiënt van de werkelijk getelde aantallen sporangia bepaald en gefit aan de variatiecoëfficiënt van de negatief binomiale verdeling. De hieruit berekende aggregatiefactor (k - factor) had een waarde van 56, 72 en 44 voor een 1500g monster (versgewicht) respectievelijk voor 'Alle data', proefveld 'IJsselstein' en proefveld 'Bellingwolde'.

Voor IJsselstein, waar een brede reeks dichtheden is gevonden, resulteert het tellen van 200 organismen al in een zeer acceptabele variatiecoëfficiënt die beneden de 15% ligt (zie Figuur 4). Voor Bellingwolde, waar de tellingen (per ml) op één na allemaal beneden de 200 lagen, is de fit van het model zeer onbetrouwbaar; het ene datapunt boven de 200 sporangia heeft maar weinig invloed op het model. De aggregatiefactor voor Bellingwolde is hierdoor laag (meer aggregatie) maar niet betrouwbaar. Het ene monster boven de 200 sporangia heeft een variatiecoëfficiënt van 12%, die op zich zeer goed is. Het lijkt erop dat de fout sneller oploopt naarmate tellingen lager zijn dan volgens het model mag worden verwacht; zie grafiek 'Alle data' waar alle datapunten onder de 200 sporangia boven het model liggen en alle datapunten boven de 200 sporangia onder het model.

Het lijkt erop dat, onder voorbehoud van een klein gehouden labfout, een redelijk goede populatiedichtheid bepalingen kan worden uitgevoerd, mits minimaal 200 sporangia worden geteld. Men kan, zoals eerder vermeldt, de variatiecoëfficiënt bij lagere populatiedichtheden stabiliseren door meer ml suspensie te tellen en dus het daadwerkelijke aantal getelde organismen op te hogen. In Figuur 5 is dit zichtbaar gemaakt. Voor twee plekken, afkomstig van de locatie Bellingwolde, waarvan uiteindelijk 10 ml suspensie moesten worden geteld om de 200 sporangia te kunnen benaderen zijn op de x-as de cumulatieve tellingen uitgezet en op de y-as de dalende variatiecoëfficiënt.



Figuur 5. Cumulatieve aantallen sporangia van 10 tellingen van 1 ml op de x-as zijn uitgezet tegen variatiecoëfficiënt van de tien herhalingen per locatie per cumulatieve telling. Door meer ml te tellen en daardoor het aantal getelde sporangia te verhogen kan de variatiecoëfficiënt van de dichtheidsbepaling worden gestabiliseerd op een lager niveau.

Een 'common k' afleiden op basis van twee velden is te voorbarig. Het onderzoek heeft echter aangetoond dat er duidelijk mogelijkheden zijn om populatiedichtheden van wratziekte (sporangia) te kwantificeren. Het onderzoek zou moeten worden gecontinueerd door op een groter aantal velden, met per veld 3 plots, additionele data te verzamelen om een 'common k' af te leiden.

Conclusie

Gebaseerd op de 4 herhalingen kan voorzichtig worden gesteld dat de labfout - zonale centrifuge plus tellen – voor wratziekte redelijk is en duidelijk veel beter wanneer deze wordt vergeleken met de prestaties van de zonale centrifuge bij het opspoelen van *Meloidogyne* spp. Gezien de zonale centrifuge nog enkele blinde vlekken kent, bijvoorbeeld de nauwkeurigheid van de geautomatiseerde sub-bemonstering van de suspensie van het opgespoelde monster - 50% wordt opgezogen voor de centrifugatie stap - is er waarschijnlijk nog ruimte tot verdere verbetering van de prestaties van dit apparaat en het uiteindelijke resultaat. 4 herhalingen van de labfout zijn echter te weinig om deze fout te modelleren en een zekere uitspraak te doen betreffende het verloop van de fout bij een reeks van populatie dichtheden, c.q. getelde sporangia. Hiervoor zijn meer gegevens noodzakelijk.

Positief is dat de resultaten betreffende de kleinschalige verdeling reden geven om te concluderen dat betrouwbare dichtheidsbepalingen mogelijk zijn. Vooral wanneer voldoende sporangia worden geteld, is het mogelijk de monsterfout te stabiliseren. Afhankelijk van de dichtheid kan door het tellen van meer suspensie of het verzamelen van meer grond de variatiecoëfficiënt worden gestabiliseerd op een gewenst niveau. Met de beperkte gegevens die nu beschikbaar zijn, lijkt het erop dat met een bemonsteringsmethode waarbij minimaal 200 sporangia worden geteld een variatiecoëfficiënt van 15% kan worden gerealiseerd. De gehanteerde bemonsteringsmethode bestaat uit het verzamelen van 1500 g grond, bouwvoor diep, met behulp van een kleine boor waarmee 80 steken worden verzameld in een gestratificeerd grid patroon over een oppervlak van maximaal 1 m². Hiermee kan de stap richting bemonstering voor wetenschappelijk onderzoek worden gezet en kunnen ook de andere ruimtelijke patronen in kaart worden gebracht.

Een verdere studie naar de kleinschalige verdeling lijkt nodig om een betere inschatting van de aggregatiefactor te verkrijgen. Er is een duidelijk verschil tussen de twee percelen en er zou nu moeten worden gekeken naar de variabiliteit tussen percelen en minder naar de variabiliteit binnen percelen. Alleen door uitbreiding van de data-set kan er een algemeen toepasbare 'common k' worden bepaald.

Gezien de grootte van de gevonden labfout, die natuurlijk doorwerkt in de bepaling van de aggregatiefactor van de kleinschalige verdeling (aggregatiefactor kleiner = clustering groter) lijkt het erop dat de kleinschalige verdeling van wratziekte in de buurt komt van die van *Globodera* spp en veel gunstiger is (minder geaggregeerd) dan die van *Meloidogyne* spp. Een verdere verbetering van de labfout betekent een hogere aggregatiefactor k (minder clustering) en zal uiteindelijk leiden tot kleinere bodemonsters met behoud van betrouwbaarheid.

Bijlage I

Totaal aantal sporangia in de 1 kg monsters perceel Hansa (spoe- en telfout).

Her.	Hansa noord		Hansa oost		Hansa zuid		Hansa west	
	sporangia	volume*	sporangia	volume*	sporangia	volume*	sporangia	volume*
1	49435,8	29,6	7059,7	31,1	42411,6	29,7	5195,4	34,2
2	42953,8	29,3	6422,0	26,0	30179,0	29,3	6010,3	36,0
3	43729,6	36,2	7717,2	38,8	40310,4	40,1	13146,2	40,1
4	40355,8	35,8	6661,2	42,7	43668,7	26,4	8405,6	23,2
5	42470,0	38,8	6690,3	31,4	46473,6	37,6	6593,5	26,5
6	40961,1	38,2	7678,3	31,3	36886,2	47,3	8003,7	27,4
7	41336,7	34,1	8562,4	30,6	49895,0	41,5	7476,4	25,4
8	46479,2	38,5	7161,4	34,4	41764,4	39,7	6698,6	23,7
9	35181,0	39,1	6707,2	38,8	52179,6	38,9	8686,4	23,0
10	36587,9	41,1	9081,2	33,5	46943,2	40,3	9736,5	25,7
gem	41949,1	36,1	7374,1	33,9	43071,2	37,1	7995,3	28,5

* *Volume geeft de ml suspensie aan die ter beschikking stond voor het tellen. Vanwege de hoge dichtheden op deze locatie is meestal maar 1 ml van de suspensie daadwerkelijk geteld. Omdat de zonale centrifuge 50% van de beschikbare suspensie opzuigt en centrifugeert is het, met behulp van het volume berekende aantal sporangia in de totale suspensie. met een factor twee opgehoogd - uitgaande van de aanname dat de sporangia goed zijn verdeelt tijdens het opzuigen - om de aantallen per kg te berekenen.*

Bijlage II

Totaal aantal sporangia in de 1 kg monsters perceel IJsselstein en Bellingwolde.

Her.	IJsselstein centraal		IJsselstein noord 1		IJsselstein noord 2		IJsselstein noord 3	
	sporangia	volume*	sporangia	Volume*	sporangia	volume*	sporangia	volume*
1	24537,5	40,8	27627,8	21,7	29905,7	50,9	17461,5	49,9
2	18223,1	47,2	31259,6	23,6	38357,2	50,5	17563,0	46,7
3	18929,7	46,2	27915,1	24,5	37311,6	50,2	24451,7	50,5
4	23093,3	49,8	33650,0	25,0	39217,6	52,4	18384,6	47,1
5	22885,5	52,3	30920,2	22,9	36707,0	52,7	23291,6	51,5
6	21344,2	50,3	27539,0	22,6	32493,8	50,3	17874,0	49,7
7	19459,1	50,9	25719,2	24,7	34221,1	49,7	23565,8	50,1
8	20142,9	52,7	30732,0	49,3	37020,0	49,4	28262,7	50,7
9	21088,1	50,5	34125,6	53,0	31865,1	51,3	21983,8	48,2
10	20406,4	26,8	34453,1	50,4	33718,1	45,3	18089,4	51,1
gem	21011,0	46,7	30394,2	31,8	35081,7	50,3	21092,8	49,6

Her.	IJsselstein oost		IJsselstein zuid		IJsselstein west		sporangia	volume*
	sporangia	volume*	sporangia	Volume*	sporangia	volume*		
1	3913,6	48,9	47258,3	47,1	6716,4	23,2		
2	4397,6	47,8	56049,3	46,6	4549,0	21,1		
3	5386,0	49,9	48545,2	50,2	3137,0	20,4		
4	4932,0	49,3	45954,0	51,1	2810,6	21,6		
5	4299,6	45,7	62298,7	49,7	3405,6	23,7		
6	4719,5	22,9	50155,2	48,6	2776,6	20,1		
7	5207,8	24,1	46997,0	49,2	3998,8	21,3		
8	4161,2	20,6	44999,9	52,6	4965,0	20,0		
9	4680,0	23,4	44736,8	44,5	4282,5	23,5		
10	5420,3	26,6	44381,1	44,5	4377,8	22,1		
gem	4711,7	35,9	49137,5	48,4	4101,9	21,7		

Her.	Bellingwolde centraal		Bellingwolde noord 1		Bellingwolde noord 2		Bellingwolde noord 3	
	sporangia	volume*	sporangia	Volume*	sporangia	volume*	sporangia	volume*
1	684,0	13,7	364,5	11,4	1484,8	11,6	516,8	15,2
2	564,0	12,3	388,6	11,4	1268,1	13,5	748,2	13,4
3	630,0	12,6	752,8	17,1	1759,8	12,6	569,4	13,0
4	589,7	14,0	472,3	12,4	2055,8	10,8	482,7	16,1
5	948,5	13,6	584,4	14,6	1895,9	15,5	495,6	16,5
6	552,5	11,6	535,5	12,2	1835,2	14,8	478,4	12,6
7	358,5	12,0	772,8	11,0	1800,7	14,8	733,0	13,1
8	522,0	14,5	582,9	15,3	1581,7	16,1	542,2	15,1
9	414,0	13,8	571,7	11,9	2002,0	16,4	534,7	16,7
10	383,0	16,0	564,0	14,1	1511,2	15,4	812,8	21,4
gem	564,6	13,3	559,0	13,2	1719,5	14,2	591,4	15,3

Her.	Bellingwolde noord 4		Bellingwolde oost		Bellingwolde zuid		Bellingwolde west	
	sporangia	volume*	sporangia	Volume*	sporangia	volume*	sporangia	volume*
1	612,9	16,1	1417,0	12,4	1158,7	14,1	5746,0	13,0
2	375,5	13,4	1309,7	12,8	1468,2	11,8	6168,8	14,0
3	496,4	13,8	2326,3	14,4	1247,0	14,5	6902,4	14,4
4	445,1	13,1	1732,5	11,3	1379,5	14,4	6745,8	15,9
5	208,8	13,1	2203,2	13,8	1130,8	12,0	5832,2	12,1
6	353,1	12,6	1444,4	15,7	2714,9	14,1	6616,3	12,4
7	233,2	10,6	2530,8	14,1	1882,1	13,1	6526,8	13,3
8	309,2	15,5	2279,2	16,3	1909,2	12,9	6166,2	12,0
9	371,2	11,6	1933,7	16,7	2124,7	13,6	6899,5	19,5
10	294,0	12,3	1665,6	12,4	1853,7	13,6	6865,0	13,7
gem	369,9	13,2	1884,2	14,0	1686,9	14,4	6446,9	14,0