

Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente  
Vestiging Aalsmeer  
Linnaeuslaan 2a, 1431 JV Aalsmeer  
Tel. 0297-352525, fax 0297-352270

ISSN 1385 - 3015

## **AGROBACTERIUM TUMEFACIENS: DE VEROORZAKER VAN WORTELKNOBBEL BIJ ROOS**

*een literatuurstudie*

Project 007-1688

J.P. Wubben  
Aalsmeer, juli 1999

Rapport 195  
Prijs f 20,00

Rapport 195 wordt u toegestuurd na storting van f 20,00 op  
banknummer 300 177 976 ten name van Proefstation Aalsmeer onder vermelding  
van 'Rapport 195, Agrobacterium tumefaciens: de veroorzaker van wortelknobbel  
bij roos'.

947956

# **INHOUD**

<b>SAMENVATTING</b>	<b>5</b>
<b>1. INLEIDING</b>	<b>7</b>
<b>2. HET PATHOGEEN</b>	<b>8</b>
<b>3. SYMPTOMEN EN SCHADE</b>	<b>9</b>
<b>4. EPIDEMIOLOGIE</b>	<b>11</b>
<b>5. DETECTIE</b>	<b>12</b>
<b>6. BESTRIJDING</b>	<b>13</b>
<b>6.1. VOORKOMEN BETER DAN BESTRIJDEN</b>	<b>13</b>
<b>6.2. CHEMISCHE BESTRIJDING</b>	<b>13</b>
<b>6.3. FYSISCH BESTRIJDING</b>	<b>13</b>
<b>6.4. BIOLOGISCHE BESTRIJDING</b>	<b>13</b>
<b>6.5. ANDERE FACTOREN VAN BELANG OM WOEKERING TE VOORKOMEN</b>	<b>14</b>
<b>7. DISCUSSIE EN CONCLUSIE</b>	<b>15</b>
<b>LITERATUUR</b>	<b>16</b>

## **SAMENVATTING**

Wortelknobbel veroorzaakt door de bacterie *Agrobacterium tumefaciens* zorgt met regelmaat voor problemen in de teelt van rozen. De aanwezigheid van wortelknobbel kan een achteruitgang in het aantal rozen dat de plant produceert veroorzaken, alsmede een afname in de gemiddelde dikte en lengte van de bloemstelen. Bestrijdingsmogelijkheden van wortelknobbelaantasting zijn beperkt. In de praktijk worden meestal de wortelknobbels verwijderd. Kosten van chemische bestrijding zijn hoog en bestrijding is alleen zinvol in de vorm van een preventieve behandeling. *A. tumefaciens* wordt wereldwijd succesvol bestreden met behulp van de biologische bestrijder *A. radiobacter* isolaat K84 in verschillende gewassen, zoals roos, perzik, appel, peer, en framboos. Onderzoek naar de mogelijkheden van deze biologische bestrijdingsmethode in teelt van rozen is gewenst. Verschil in de gevoeligheid van rozencultivars voor infectie door *A. tumefaciens* dient eveneens onderzocht te worden als onderdeel van de bestrijding van wortelknobbel in de teelt van kasrozen.

### **Trefwoorden**

wortelknobbel, kasrozen, *Agrobacterium tumefaciens*

## 1. INLEIDING

Wortelknobbel veroorzaakt door de bacterie *Agrobacterium tumefaciens* zorgt in toenemende mate voor problemen in de teelt van rozen. Voor Nederland zijn geen exacte cijfers beschikbaar met betrekking tot het voorkomen van de bacterie en mogelijke schade, maar bijvoorbeeld in Zuid-Frankrijk wordt ieder jaar 20% van het areaal geïnfecteerd (Poncet et al, 1995). De bacterie geeft met name problemen in houtige gewassen. De Franse onderzoekers wijten het ontstaan van recente problemen in de rozenteelt onder glas aan vernieuwde vermeerderingstechnieken zoals stenten (Poncet et al, 1995). Voor Nederland geldt ondermeer dat opkweek van stekmateriaal in warmere landen een verhoogd risico van besmetting met zich meebrengt. Voor zover bekend, is hier echter geen onderzoek naar verricht. Voor bestrijding van bacterieziekten in land- en tuinbouw zijn maar beperkte mogelijkheden beschikbaar. In veel gevallen vormen sanitaire maatregelen de enige bestrijding tegen verspreiding van de ziekteverwekker (het pathogeen). In de Nederlandse tuinbouw geeft wortelknobbel problemen in de fruitbomenteelt en in de rozenteelt. Curatieve bestrijding bestaat voornamelijk uit het verwijderen van de wortelknobbels.

### *Doelstelling*

De doelstelling van dit literatuuronderzoek is het verkrijgen van alle relevante informatie over het voorkomen en bestrijden van *Agrobacterium* in roos. Aan de hand van deze literatuurgegevens kunnen we adviezen geven over oplossingen en onderzoeksrichtingen.

## 2. HET PATHOGEEN

*Agrobacterium* is een gram-negatieve bodembewonende bacterie die in staat is een groot aantal verschillende dicotyle planten aan te tasten (Kerr, 1980; Horst, 1983). Naast de ziekteverwekkende soorten, komen voornamelijk niet-ziekteverwekkende soorten van *Agrobacterium* in de grond voor (Clare & McClure, 1994). Deze niet-pathogene isolaten van de bacterie worden *A. radiobacter* genoemd. De oorspronkelijke naamgeving van de verschillende *Agrobacterium*-soorten is gebaseerd op het ziekteverwekkende vermogen van de bacterie. Tumormovormende soorten, waaronder de wortelknobbelbacterie, worden *A. tumefaciens* genoemd. De soorten die woekering van wortelweefsel veroorzaken worden geclassificeerd als *A. rhizogenes*. Verder is een apart tumormovormend isolaat beschreven voor met name druif en chrysant (*A. vitis*). Parallel aan de naamgeving gerelateerd aan het ziekteverwekkend vermogen van de bacterie, is een naamgeving ontwikkeld gebaseerd op groei van de bacterie op specifiek medium. Hierbij worden drie verschillende biotypen of biovars onderscheiden, biovar 1, 2 en 3. Van de pathogene soorten bestaat *A. tumefaciens* voornamelijk uit biovar 1, *A. rhizogenes* uit biovar 2, en *A. vitis* uit biovar 3 (Clare & McClure, 1994). Voor *A. radiobacter* worden alle drie biovars beschreven. De biovar-naamgeving is geïntroduceerd omdat het ziekteverwekkend vermogen van een bacterie niet soortgebonden is, waardoor bijvoorbeeld een niet-pathogeen isolaat kan overgaan in een pathogeen isolaat.

### 3. SYMPTOMEN EN SCHADE

Een aantasting van *Agrobacterium* op roos openbaart zich in de vorm van woekeringen op zowel bovengrondse als ondergrondse delen van de plant (Fig. 1). Tumoren zijn over het algemeen rond met een ruw onregelmatig oppervlak. Ze kunnen in grootte variëren van 0,5 cm tot enkele centimeters in diameter. Jonge tumoren zijn lichtgroen tot bijna wit van kleur en het weefsel is zacht. Met het verouderen van de tumoren worden ze donkerder en hard. Deze woekeringen kunnen onbeperkt doorgroeien, waarbij de aanwezigheid van levende bacteriën niet meer nodig is (Horst, 1983).



*Figuur 1-* Wortelknobbel op roos veroorzaakt door *Agrobacterium tumefaciens*

Hoewel de aangetaste plant niet direct afsterft kan de schade als gevolg van *A. tumefaciens* groot zijn. Schade wordt met name veroorzaakt door de energiebehoefte van de groeiende tumor. De tumor onttrekt water en voedingsstoffen aan de plant. De plaats van de tumor op de plant is van invloed op het optreden van schade (Horst, 1983). Slechts een beperkte hoeveelheid informatie is beschikbaar over schade veroorzaakt door *A. tumefaciens* in roos (Poncet et al, 1995). Dit onderzoek uitgevoerd door Franse onderzoekers bij kasrozen, gaf de volgende resultaten:

- Als gevolg van aantasting door *A. tumefaciens* neemt de gemiddelde stengeldoorsnede van aangetaste planten af tot 63% van de controleplanten.
- In de opkweekfase vindt men in geïnfecteerd materiaal een uitval van 5,5% terwijl bij gezond materiaal 0,6% uitval gevonden wordt.
- De bloemproductie van gezonde planten was gemiddeld 9,7 bloemen per plant gedurende de waarnemingsperiode, terwijl in dezelfde periode de aangetaste planten 6,2 bloemen per plant produceerden.
- De totale bloemlengte bij aangetaste planten was significant lager in vergelijking met de totale bloemlengte bij gezonde planten.

Wanneer we bedenken dat in Frankrijk per jaar 20% van het areaal geïnfecteerd raakt dan hebben we te maken met een aanzienlijke economische schadepost.

Voor Nederland zijn er geen exacte gegevens beschikbaar over het voorkomen van wortelknobbel in rozen en de economische gevolgen hiervan.

## 4. EPIDEMIOLOGIE

*Agrobacterium*-soorten inclusief de ziekteverwekkende isolaten, komen algemeen voor in de grond. Aantasting van planten door *A. tumefaciens* vindt alleen plaats wanneer de plant beschadigd is en vers wondweefsel aanwezig is. Wanneer de bacterie een plant infecteert veroorzaakt het ongeremde groei van plantencellen als gevolg van een verstoorde hormoonproductie. Dit is zichtbaar in de vorm van de tumor (wortelknobbel) die gevormd wordt. Tijdens infectie vindt overdracht van genetisch materiaal (T-DNA of transfer DNA) van de bacterie naar de plantencel plaats (Clare & McClure, 1994; Hooykaas & Beijersbergen, 1994; Nester et al, 1984; Horst, 1983). Dit genetische materiaal veroorzaakt de verhoogde hormoonproductie in de plantencel. Deze DNA-overdracht kan alleen plaatsvinden wanneer het plantenweefsel beschadigd is. Het wondweefsel produceert een stof (acetosyringone) die de bacterie aanzet om de plant te infecteren (Clare & McClure, 1994; Binns & Howitz, 1994). Infectie wordt verder beïnvloed door een lage pH en de aanwezigheid van verschillende suikers in de omgeving van het wondweefsel (Binns & Howitz, 1994). De plant is gedurende een aantal dagen na de verwonding zeer gevoelig voor infectie en deze gevoeligheid neemt in de loop van de tijd af als gevolg van wondherstel. Buiten een verstoorde hormoonproductie, worden de cellen in de wortelknobbel tevens aangezet tot de productie van een aantal voedingsstoffen die alleen door bacteriën gebruikt kunnen worden (Hooykaas & Beijersbergen, 1994). Dit kan een snelle vermeerdering van de bacterie tot gevolg hebben.

Optimale groeitemperatuur voor de bacterie ligt rond 28°C. Bij deze temperatuur kan makkelijk infectie van beschadigd weefsel plaatsvinden. Verspreiding van de bacterie vindt veelal plaats door middel van besmette grond. De wortelknobbels manifesteren zich voornamelijk op de ondergrondse delen van de plant. Alleen biovar 3, die druif en chrysant kan infecteren, is in staat om zich systemisch binnen een aangetaste plant te verspreiden (Miller, 1975; Jones & Raju, 1988). In Frankrijk zijn een aantal experimenten bij roos uitgevoerd en deze laten zien dat verspreiding van aantasting binnen het teeltsysteem weinig voorkomt (Reynders-Aloisi et al, 1998). Hierbij zijn geen gegevens beschikbaar over het voorkomen van *Agrobacterium* in het teeltsysteem en het is niet bekend of *Agrobacterium* zich kan verspreiden via het drainwater, om vervolgens andere planten te infecteren. Dezelfde onderzoekers hebben gekeken naar de gevoeligheid van verschillende rozenonderstammen voor wondinoculatie door *A. tumefaciens*. Hierbij werden veertien lijnen van *Rosa indica* getest en negen lijnen van *R. multiflora*. Grote verschillen in gevoeligheid werden waargenomen. De onderzoekers concludeerden dat de gevonden resultaten het opzetten van een selectieprogramma voor resistente onderstammen zinvol maken (Reynders-Aloisi et al, 1998).



## 5. DETECTIE

De drie verschillende *Agrobacterium*-biovars kunnen door groei op selectief medium van elkaar onderscheiden worden (Lelliott & Stead, 1987). Omdat niet-pathogene isolaten van *Agrobacterium* algemeen voorkomen in de grond is het van belang onderscheid te kunnen maken tussen pathogene en niet-pathogene isolaten. Het ziekteverwekkend vermogen van een isolaat wordt meestal getest in een biotoets waarbij het vermogen van een isolaat om wortelknobbel op een plant te veroorzaken, bijvoorbeeld op tabak, bepaald wordt. De afgelopen jaren zijn echter verschillende moleculaire detectietechnieken ontwikkeld om pathogene en niet-pathogene isolaten aan te tonen en van elkaar te onderscheiden. Hierbij wordt ondermeer gebruik gemaakt van zogenaamde hybridisatie technieken. Er kan met zekerheid bepaald worden welke *Agrobacterium*-soort aanwezig is maar de mogelijkheid om kleine aantallen aan te tonen is beperkt. Verschillende onderzoekinstellingen, waaronder het IPO-DLO hebben de afgelopen jaren gewerkt aan de ontwikkeling van een detectiemethode met behulp van PCR ("polymerase chain reaction"), zie ondermeer Van der Wolf et al, 1998. Voor deze methodieken wordt een klein stukje plantenweefsel fijngemalen en hieruit wordt plantsap gehaald. Het sap wordt toegevoegd aan selectief groeimedium waardoor de aanwezige bacterie zich zal vermeerderen. DNA wordt vervolgens uit de vermeerderde bacteriën geïsoleerd. Met behulp van een PCR kan specifiek DNA van een bepaalde bacteriesoort aangetoond worden. Deze toets is zeer gevoelig en selectief voor ziekteverwekkende isolaten van *Agrobacterium*. Een belangrijk voordeel ten opzichte van de conventionele detectiemethoden is dat deze methode relatief snel is (binnen 1 week resultaat). Deze toets wordt in Nederland door de NAKB gebruikt voor het testen van plantmateriaal.

## **6. BESTRIJDING**

### **6.1. VOORKOMEN BETER DAN BESTRIJDEN**

In het geval van een bacterieziekte zoals hier beschreven geldt veelal dat voorkomen beter is dan bestrijden. De bestrijdingsmogelijkheden zijn over het algemeen zeer beperkt. Er moet uitgegaan worden van onbesmet plantmateriaal en een ontsmet teeltsysteem. Besmette grond kan door stomen ontsmet worden. De dodingstemperatuur van *Agrobacterium* ligt tussen 50 en 55°C (IKC-AT, 1992). Verder moeten tijdens de teelt maatregelen genomen worden om verspreiding van een eventueel ontstane aantasting te voorkomen. Wortelknobbels kunnen verwijderd worden waarbij de snoeimessen en scharen regelmatig ontsmet moeten worden.

### **6.2. CHEMISCHE BESTRIJDING**

Omdat de ziekte veroorzaakt wordt door een bacterie zou bestrijding door een specifiek bacteriedodend middel (bactericide) moeten plaatsvinden. Chemische bactericiden zijn in het algemeen risicovol in het gebruik (antibiotica) of schadelijk voor het milieu (koperverbindingen). De toelating van deze middelen is dan ook beperkt. Het gebruik van antibiotica is niet toegelaten voor bestrijding van *Agrobacterium* in kasrozen. Een belangrijke bijkomstigheid is dat alleen preventieve behandeling schade als gevolg van aantasting door *Agrobacterium* kan voorkomen. Wanneer een plant geïnfecteerd is groeit de wortelknobbel door, onafhankelijk van de aanwezigheid van de ziekteverwekker. Een preventieve behandeling zou uitgevoerd moeten worden met behulp van voorbehandeling van stekmateriaal, waarbij vooral het wond-/snijvlak beschermd zou moeten worden. Onderzoek heeft aangetoond dat een wond van drie tot vier dagen oud het meest gevoelig is voor bacterieïnfectie. Echter, ook hier geldt dat de mogelijke inzet van chemische middelen beperkt of niet mogelijk is.

### **6.3. FYSISCHE BESTRIJDING**

Behalve chemische bestrijding zijn er een beperkt aantal voorbeelden beschreven van fysische bestrijdingsmethoden tegen *A. tumefaciens*, onder andere door middel van warmwaterbehandeling. Aangevoerd is dat behandeling van plantmateriaal gedurende 30 minuten bij een temperatuur van 50°C voldoende is om een belangrijk deel van de aanwezige bacteriën te doden (Burr et al, 1989). Deze methode werkt echter alleen voor biovar 3-bacteriën. Biovars 1 en 2 zijn minder gevoelig voor een warmwaterbehandeling. Dit zijn met name de isolaten die ziekte veroorzaken op roos.

### **6.4. BIOLOGISCHE BESTRIJDING**

In Nieuw-Zeeland en Australië is de afgelopen 20 jaar met behulp van biologische bestrijding *A. tumefaciens* zeer succesvol bestreden in diverse teelten. Deze bestrijding is preventief. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een niet-ziekteverwekkend isolaat van *A. radiobacter* stam K84 (Kerr, 1980; Moore & Warren,

1979). Deze stam is een biovar 2bacterie die in de jaren '70 is geïsoleerd uit grond van een vruchtboomgaard. In laboratoriumproeven werd gevonden dat aanwezigheid van stam K84 een groeiremmend effect heeft op andere *Agrobacterium*-stammen. De groeiremming wordt veroorzaakt door een gifstof die door K84 geproduceerd wordt, Agrocine 84. De structuur Agrocine 84 lijkt veel op die van een van de bouwstenen van DNA (adenosine). Als werkingsmechanisme van Agrocine 84 wordt een verstoring van de DNA-synthese van *A. tumefaciens* het meest waarschijnlijk geacht met als gevolg groeiremming van de bacterie (Kerr, 1980; Roberts et al, 1977). De afgelopen 20 jaar zijn zeer veel resultaten gepubliceerd van succesvolle bestrijdingsproeven met stam K84 tegen *A. tumefaciens*. Voorbeelden hiervan zijn beschreven voor roos, chrysanthe, amandelen, perzik, appel, peer, framboos, kers, abrikoos, en anderen (Kerr, 1980; Moore & Warren, 1979; Lopez et al, 1981; Stockwell et al, 1996; Penvaiver et al, 1994; Lopez et al, 1989; Moore, 1979). Het gebruik van K84 voor bestrijding van *A. tumefaciens* is toegelaten in diverse landen zoals Australië, Nieuw-Zeeland, Canada, Verenigde Staten, Spanje en Griekenland. Bestrijding van *A. tumefaciens* met behulp van stam K84 is niet altijd succesvol (Moore & Warren, 1979; Lopez et al, 1981; Panagopoulos et al, 1979). Een mogelijke verklaring hiervoor is het voorkomen van agrocine-resistente *A. tumefaciens*-isolaten. Agrocine-resistentie van stam K84 kan overgaan op niet-resistente isolaten van *A. tumefaciens* (Stockwell et al, 1996). Om dit te voorkomen is een agrocine-producerende stam ontwikkeld, K1026, waarvan de agrocine-resistentie niet kan overgaan op *A. tumefaciens* (Jones & Kerr, 1989). Er zijn echter voorbeelden beschreven waar K84 succesvol was in de bescherming van planten tegen agrocine-resistente *A. tumefaciens*-stammen (McClure et al, 1998). Een mogelijke verklaring hiervoor is dat K84 meerdere gifstoffen produceert die actief zijn tegen *A. tumefaciens*. Hier wordt momenteel onderzoek naar uitgevoerd. In Nederland is door Van der Scheer (1978a en b) onderzocht of de biologische bestrijder K84 ingezet kan worden voor de bestrijding van wortelknobbel bij vruchtbomen. Dit leverde toen teleurstellende resultaten op.

De bestrijding van *A. tumefaciens* in roos met behulp van K84 is tot op heden niet even succesvol geweest. Hiervoor kunnen diverse oorzaken zijn. Het is beschreven dat de gastheer van invloed kan zijn op het al dan niet slagen van de biologische bestrijding (Moore & Warren, 1979). Tevens kan de vocht- en zuurhouding van de plant en de pH van de grond van belang zijn. Gegevens over inzet van stam K84 in substraatteelten zijn voor zover bekend niet beschikbaar.

## 6.5. ANDERE FACTOREN VAN BELANG OM WOEKERING TE VOORKOMEN

Uit onderzoek is naar voren gekomen dat bodemontsmetting met behulp van fungiciden een hogere wortelknobbelaantasting van planten gaf ten opzichte van planten op niet ontsmette grond (Lopez et al, 1981). Hierbij werden de planten kunstmatig besmet met *A. tumefaciens*. Dit zou te verklaren zijn door het bestaan van een natuurlijk evenwicht in de grond of bij de plant, die infectie door *Agrobacterium* remt (biologische buffering). Onderzoek zou uitgevoerd kunnen worden waarbij specifiek gekeken wordt naar biologische factoren in de grond die de infectie van planten door *A. tumefaciens* beïnvloeden. Deze factoren zouden ingezet kunnen worden ter voorkoming van aantasting door *A. tumefaciens* in besmette grond.

## 7. DISCUSSIE EN CONCLUSIE

De doelstelling van dit literatuuronderzoek was om alle relevante informatie over het voorkomen en bestrijden van *Agrobacterium* in roos goed te kunnen overwegen en aan de hand van literatuurgegevens adviezen kunnen geven over oplossingen en/of onderzoeksrichtingen.

Uit het literatuuronderzoek is niet naar voren gekomen in hoeverre *Agrobacterium* in roos een probleem is in Nederland en hoeveel schade er wordt veroorzaakt in de rozenteelt onder glas. Een inventarisatie onder de rozentelers over het voorkomen van *Agrobacterium* is gewenst. Behalve het bepalen van eventuele economische schade, zou deze inventarisatie ook inzicht kunnen geven op mogelijke infectiebronnen en verspreiding van de ziekte in een teeltsysteem.

Het tegengaan van aantasting is één van de belangrijkste manieren om schade veroorzaakt door *A. tumefaciens* binnen de perken te houden. Sinds kort is een snelle detectie van *Agrobacterium* in roos mogelijk. Hierdoor kan besmetting in stekmateriaal in een vroeg stadium aangetoond worden. Aangetast plantmateriaal in de vermeerderingsfase moet verwijderd of ontsmet worden. Zoals hierboven reeds is aangegeven, zijn de mogelijkheden voor ontsmetting echter beperkt.

Antibiotica zijn niet toegelaten en een fysische ontsmetting met behulp van warmwaterbehandeling is, voor zover bekend, niet effectief tegen *Agrobacterium*-isolaten die roos aantasten (biovar 1 en 2). Mogelijkheden voor toepassing van biologische bestrijding met behulp van *A. radiobacter* dienen verder onderzocht te worden. Hierbij moet gekeken worden naar de teelt van onderstammen en uitgangsmateriaal in de grond. Een fundamentele kant van het onderzoek zou zich kunnen richten op het mogelijk bestaan van een biologisch evenwicht in de grond welke effectief zou werken tegen infectie door *Agrobacterium*. Dit onderzoek is echter zeer complex en resultaten op korte termijn zijn niet te verwachten.

Behalve bestrijding van het pathogeen, bestaan er ook mogelijkheden voor het gebruik van resistente cultivars. Onderzoek in Frankrijk heeft aangetoond dat er variatie bestaat in gevoeligheid van verschillende rozenonderstammen voor infectie door *A. tumefaciens* (Reynders-Aloisi et al, 1995 en 1998). In een sortiments-toets zou onderzocht moeten worden wat de gevoeligheid is van verschillende rozencultivars en in Nederland gebruikte onderstammen, voor infectie door *A. tumefaciens*. Een selectie van resistente cultivars zou voor vermeerdering gebruikt moeten worden.

## LITERATUUR

- Binns, A.N. & Howitz, V.R. (1994) The genetic and chemical basis of recognition in the *Agrobacterium*: Plant interaction. In Bacterial Pathogenesis of plants and animals. ed Dangi J.L. series Current topics in microbiology and Immunology 192 pp 119-138
- Burr, T.J., Ophel, K., Katz, B.H. & Kerr, A. (1989) Effect of hot water treatment on systemic *Agrobacterium tumefaciens* biovar 3 in dormant grape cuttings. Plant Disease 73: 242-245
- Clare, B.C. & McClure, N.C. (1994) *Agrobacterium*. in Pathogenesis and host specificity in plant diseases. Volume I: Prokaryotes. Eds Singh, U.S, Singh, R.P. & Kohmoto, K. pp 221-236
- Hooykaas, P.J.J. & Beijersbergen, A.G.M. (1994) The virulence system of *Agrobacterium tumefaciens*. Annual review of Phytopathology 32: 157-179
- Horst, R.K. Diseases caused by bacteria: Crown gall. (1983) in Compendium of Rose diseases. Published by the American Phytopathological society. pp 23-25
- IKC-AT (1992) Stomen: Technische handleiding bij het stomen van grond en substraat.
- Jones, D.A. & Kerr, A. (1989). *Agrobacterium radiobacter* strain K1026: a genetically engineered derivative of strain K84, for biological control of crown gall. Plant Disease 75: 15-18
- Jones, J.B. & Raju, B.C. (1988) Systemic movement of *Agrobacterium tumefaciens* in symptomless stem tissue of *Chrysanthemum morifolium*. Plant Disease 72: 51-54
- Kerr, A. (1980) Biological control of crown gall through production of Agrocin 84. Plant Disease 64: 25-30
- Lelliott, R.A. & Stead, D.E. (1987) Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Series Methods in Plant Pathology Vol. 2. Published on behalf of the British Society of Plant Pathology, Blackwell Scientific Publications, Oxford
- López, M.M., Gorris, M.T., Salcedo, C.I., Montojo, A.M. & Miro, M. (1989) Evidence of biological control of *Agrobacterium tumefaciens* strains sensitive and resistant to Agrocin 84 by different *Agrobacterium radiobacter* strains on stone fruit trees. Applied and Environmental Microbiology 55: 741-746
- López, M.M., Miró, M., Orive, R., Temprano, F., Poli, M. (1981) Biological control of crown gall on rose in Spain. Proceedings of the fifth international conference on plant pathogenic bacteria pp 538-548
- McClure, N.C., Ahmadi, A.R. & Clare, B.G. (1998) Construction of a range of derivatives of the biological control strain *Agrobacterium rhizogenes* K84: a study of factors involved in biological control of crown gall disease. Applied and Environmental Microbiology 64: 3977-3982
- Miller, H.N. (1975) Leaf, stem, crown, and root galls induced in chrysanthemum by *Agrobacterium tumefaciens*. Phytopathology 65: 805-811
- Miller, H.J. (1993) Oriënterend onderzoek naar een strategie voor de bestrijding van wortelknobbel (*Agrobacterium tumefaciens*) in Nederland. Verslag literatuurstudie IPO-DLO, Wageningen, Nederland
- Moore, L.W. & Warren, G. (1979) *Agrobacterium radiobacter* strain 84 and biological control of crown gall. Annual review of Phytopathology 17: 163-179
- Moore, L.W. (1979) Practical use and success of *Agrobacterium radiobacter* strain 84 for crown gall control. in: Soil-Borne Plant Pathogens. Edited by B. Schippers and W. Gams. Academic Press. London. pp 553-568
- Nester, E.W., Gordon, M.P., Amasino, R.M. & Yanofsky, M.F. (1984) Crown gall: A molecular and physiological analysis. Annual review of Plant Physiology. 35: 387-413
- Panagopoulos, C.G., Psallidas, P.G & Alivizatos, A.S. 1979. Evidence of a breakdown in the effectiveness of biological control of crown gall. in: Soil-Borne Plant Pathogens. Edited by B. Schippers and W. Gams. Academic Press. London. pp 569-578
- Penvalver, R., Serra, M.T., Vicedo, B. & Lopez, M.M. (1994) Contribution of root attachment, root colonization and production of a new agrocin by *Agrobacterium*

- radiobacter* strains K84 and K1026 to biological control of crown gall. In Plant Pathogenic bacteria, Versailles France, Ed INRA Paris 1994 pp879-884
- Poncet, C., Antonini, C., Bettachini, A., Hericher, D., Pionnat, S., Simonini, L., Dessaux, D. & Nesme, X. (1995) Impact of the crown gall disease on vigour and yield of rose trees. *Acta Horticulturae* 424: 221-225
- Reynders-Aloisi, S., Pelloli, G. & Bettachini, A. (1995) Analysis of the behaviour of various rootstocks and botanical species of the genus *Rosa* towards *Agrobacterium tumefaciens*. *Acta Horticulturae* 424: 215-219
- Reynders-Aloisi, S., Pelloli, G., Bettachini, A. & Poncet, G. (1998) Tolerance to crown gall differs among genotypes of rose rootstocks. *Hortscience* 33: 296-297
- Roberts, W.P., Tate, M.E. & Kerr, A. (1977) Agrocin 84 is a 6-N-phosphoramidate of an adenine nucleotide analogue. *Nature* 265: 379-380
- Stockwell, V.O., Kawalek, M.D., Moore, L.W. & Loper, J.E. (1996) Transfer of pAgK84 from the biocontrol agent *Agrobacterium radiobacter* K84 to *A. tumefaciens* under field conditions. *Phytopathology* 86: 31-37
- Van der Scheer, H.A.Th (1978a) Onderzoek naar wortelknobbel bij vruchtbomen. *Gewasbescherming* 9: 97-101.
- Van der Scheer, H.A.Th, J.P.A. Van Dieren en H.H. Wondergem. (1978b) Onderzoek naar wortelknobbel bij vruchtbomen. *De Fruitteelt* 68: 246-248
- Van der Wolf, J.M., Ph. M. de Vries, J.R.C.M. van Beckhoven. (1998) Detectie van *Agrobacterium tumefaciens* bij siergewassen, in het bijzonder aster en chrysant. Projectverslag, IPO-DLO, Wageningen, Nederland