

Bestrijding van wortelknobbelnematoden via defensie-elicatoren in tomaat

The control of root-knot nematodes by defense elicitors in tomato

Promotor:
Prof. Dirk De Waele
Departement Biosystemen
Afdeling Plantenbiotechniek

Masterproef voorgedragen
tot het behalen van het diploma van
Master of science in de bio-ingenieurswetenschappen:
cel- en gentechnologie

Eline Lemmens

juni 2015

Woord vooraf

Als studente bio-ingenieur ben ik van meet af aan geboeid geweest door alle aspecten van de opleiding. Vandaar dat ik de masterthesis voor mijn opleiding in de cel- en gentechnologie graag wilde inkaderen in een zo ruim mogelijk perspectief van de bio-ingenieur. Toevallig kwam ik tijdens deze zoektocht terecht in een presentatie van masterproefonderwerpen waar Ir. Nele Schouten met aanstekelijk enthousiasme over nematoden vertelde. Ik was meteen verkocht en ongelooflijk blij toen het onderwerp 'Bestrijding van wortelknobbelnematoden via defensie-elicatoren in tomaat' aan mij toegewezen werd.

Als eerste zou ik professor De Waele willen bedanken om het onderwerp beschikbaar te stellen en mij zo open te verwelkomen in de nematologie-onderzoeksgroep. Vervolgens gaat er ook grote dank uit naar Ir. Nele Schouteden, die mij vol overgave begeleidde tijdens de uitvoer van de experimenten en de verwerking van de resultaten. Zij leerde mij dat een goede ingenieur enthousiasme en doorzettingsvermogen combineert met een kritische evaluatie. Het was echt een plezier om met haar samen te mogen werken en tijdens de pauzes via haar kennis te maken met de wondere wereld van bijen, politiek en Vive La Fête. Dankzij haar steun en begrip heb ik mijn klierkoorts dit jaar net op tijd kunnen overwinnen en ben ik zowel op wetenschappelijk als op persoonlijk vlak erg gegroeid in het laatste jaar van mijn studie. Ik wens haar dan ook alle geluk toe met het verder verloop van haar doctoraat en leven. Verder zou ik ook mijn familie willen bedanken: dank aan mijn vier grootouders die altijd supporterden en vaak meer geloof hadden in mijn capaciteiten dan ikzelf; dank aan mijn ouders voor hun onvoorwaardelijke liefde en steun en om mij de kans te geven om naar de universiteit te gaan. Dank ten slotte ook aan Lize, Rosanne en Heleen om mij door de school- en uniefjaren heen te verrijken met hun vriendschap.

Ik ben zeer verheugd met het eindresultaat van mijn masterproef en ik hoop van harte dat de lezer evenveel plezier heeft aan het lezen van de resultaten, als ik had tijdens de uitvoering van de experimenten.

Samenvatting

Wortelknobbelnematoden (WKN) zijn obligate parasieten die het merendeel van de hogere planten kunnen infecteren en hierdoor een globale schade van miljarden dollars veroorzaken. Door het verbod op vele chemische nematiciden, is er dringend nood aan milieuvriendelijke alternatieven om nematoden te bestrijden. In deze masterproef werd aan de hand van twee experimenten onderzocht of het behandelen van tomatenplanten (*Solanum Lycopersicum* L. cv. Marmande) met methyljasaat (MeJA) als defensie-elicitor effectief is voor de bestrijding van de wortelknobbelnematode *Meloidogyne incognita*. Hiervoor werd het effect van MeJA op de plantenparameters (scheutlengte, scheutgroei, relatieve scheutgroei, vers en droog scheut-, wortel- en totaalgewicht) en nematodenparameters (galindex, aantal nematoden, juvenielen, adulten en eimassa's) bestudeerd. In het eerste experiment werd nagegaan of de frequentie van de behandeling invloed had op het bestrijdingseffect van MeJA. In het tweede experiment werd gecontroleerd of de inoculatie-densiteit de effectiviteit van MeJA als defensie-elicitor kon beïnvloeden. Beide experimenten toonden echter dat MeJA geen negatieve invloed had op de nematodenparameters en dat een wekelijkse spray de planten zelfs toegankelijker maakte voor meer nematoden. Nochtans zijn er wel indicaties dat MeJA zorgde voor de inductie van een systemische defensie. Zo werd bijvoorbeeld een groeireductie van de bovengrondse plantendelen waargenomen die onder meer werd toegeschreven aan een trade-off tussen groei en defensie. Deze groeireductie uitte zich als een daling van de scheutlengte en de (relatieve) scheutgroei of als een verlaging van het scheutgewicht. Een mogelijke verklaring voor het ontbreken van een bestrijdingseffect van MeJA, is dat de geïnoculeerde *M. incognita* zich heeft aangepast tot een populatie die resistent geworden is voor de genproducten van de geïnduceerde defensiegenen. Een andere mogelijkheid is dat de nematode de geïnduceerde defensiegenen uitschakelt. Verder werden ook regressieanalyses uitgevoerd, waarbij goede lineaire correlaties gevonden werden tussen het verse en droge scheut-, wortel- en totaalgewicht. Er bleek daarentegen een zwakke logaritmische correlatie te bestaan tussen de galindex en het aantal eimassa's, zeker wanneer per inoculatie-densiteit gekeken werd. Het is daarom belangrijk om bij nematoden-experimenten zowel de galindex als het aantal eimassa's te beschouwen. Tot slot werd ook een regressieanalyse uitgevoerd van het aantal eimassa's ten opzichte van de inoculatie-densiteit. Hierbij werd een matig logaritmisch verband waargenomen, wat een illustratie bleek te zijn van de grote variabiliteit die er bestaat voor plant-WKN interacties. Ook in het algemeen werd een grote spreiding van de data waargenomen. Ondanks de veelbelovende literatuur in verband met de bestrijding van WKN's via defensie-elicatoren, is er nood aan bijkomend onderzoek om o.a. te bepalen in welke cultivars wortelknobbelnematoden bestreden kunnen worden via MeJA en hoe duurzaam die elicitor-geïnduceerde defensie is.

Abstract

Root-knot nematodes (RKN) are obligate parasites that are capable of infecting the majority of the higher plants and thereby cause an overall loss of billions of dollars. Due to the banning of many chemical nematicides, there is an urgent need for environmentally friendly alternatives to control nematodes. This master thesis examined whether the treatment of tomato plants (*Solanum Lycopersicum* L. cv . Marmande) with methyl jasmonate (MeJA) as a defense elicitor is effective for fighting the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. To accomplish this, the effect of MeJA on plant parameters (shoot length, shoot growth, relative shoot growth, fresh and dry shoot, root and total weight) and nematode parameters (gall index, number of nematodes, juveniles, adults and egg masses) was studied in two experiments. The first experiment examined whether the frequency of treatment had an influence on the nematode controlling effect of MeJA. The second experiment studied whether the inoculation density could influence the effectiveness of MeJA as a defense elicitor. However, both experiments showed that MeJA had no negative impact on nematode parameters and that a weekly spray made the plants even more accessible to nematodes. Nevertheless there were signs that MeJA resulted in the induction of a systemic defense. For example, a growth reduction of the above-ground parts of the plants was observed, which was, among other things, due to a trade-off between growth and defense. This growth reduction was expressed as a decrease in shoot length and (relative) shoot growth, or as a lowering of the shoot weight. A possible explanation for these observations is that the inoculated *M. incognita* has adjusted itself to a population that has become resistant to the gene products of the induced defense genes. Another possibility might be that the nematodes are able to turn off the induced defense genes. Furthermore, regression analyses were performed, which showed a good linear correlation between the fresh and dry shoot, root and total weight. On the other hand, there appeared to be a weak logarithmic correlation between the gall index and the number of egg masses, especially when only one inoculation density was considered. It is therefore important to consider both the gall index and the number of egg masses when performing experiments with nematodes. Finally, a regression analysis of the number of egg masses relative to the inoculation density was carried out, wherein a moderate logarithmic relationship was observed. This illustrated the great variability that exists within plant-RKN interactions. Also, in general, a large spread within the data was observed. Despite promising literature about the protection of plants against RKN via defense elicitors, there is need for additional research to determine in which cultivars RKN can be combated by the use of MeJA and what the sustainability of this elicitor-induced defense would be.

Lijst met gebruikte afkortingen

ASM: acibenzolar-S-methyl

Avr-gen: avirulentiegen

BABA: β -aminoboterzuur

BTH: benzo-(1,2,3)-thiadiazool-7-carbothioaat-S-methyl

COI1: Coronatine-insensitive protein 1

ET: ethylene

GI: galindex

GST: glutathion S-transferase

ISR: geïnduceerde systemische resistentie (Engels: *induced systemic resistance*)

J1-J4: juveniele stadia 1-4 van de nematode

JA: jasmonaat

JA-Ile: jasmonyl-iso-leucine

JAZ: jasmonaat ZIM domein

MeJA: methyljasmonaat

PI: proteïnase inhibitor

PI's: proteïnase inhibitoren

PR-proteïnen: pathogenesegerelateerde proteïnen (Engels: *pathogenesis related proteins*)

R-gen: resistentiegen

SA: salicylzuur (Engels: *salicylic acid*)

SAR: systemisch verworven resistentie (Engels: *systemic acquired resistance*)

SCF: Skp, Cullin, F-box bevattend ubiquitine E3 ligase complex

WKN: wortelknobbelnematode

WKN's: wortelknobbelnematoden

Inhoudstafel

Woord vooraf.....	I
Samenvatting.....	II
Abstract.....	III
Lijst met gebruikte afkortingen.....	IV
Inhoudstafel.....	V
Context en doelstellingen.....	1
A. Literatuurstudie	2
1. Inleiding tot nematoden	2
1.1 Nematoden: veelzijdige organismen.....	2
1.2 Nematoden als parasieten	2
2. Wortelknobbelnematoden	3
2.1 Levenscyclus van de wortelknobbelnematode.....	3
2.2 Herkenning van plantsignalen door de nematode.....	4
2.3 Initiële interactie tussen plant en WKN.....	5
2.4 Wijziging van de plantenwortels door WKN.....	5
2.5 Wijziging van de genexpressie in planten door WKN.....	6
2.6 Bovengrondse symptomen van een WKN-infectie.....	6
3. Biologie van het genus <i>Meloidogyne</i>	6
4. Behandelingen tegen nematoden.....	7
4.1 Landbouwpraktijken.....	7
4.2 Chemische controle.....	8
4.2.1 Niet-fumigante nematiciden.....	8
4.2.2 Fumigante nematiciden.....	8
4.3 Biocontrole.....	8
4.4 Genetische resistentie.....	9
4.5 Controle via defensie-elicatoren.....	10
5. Defensie van de plant tegen nematoden.....	10

5.1 Algemene plantendefensie.....	10
5.2 Geïnduceerde defensie in planten.....	10
5.2.1 Inducers van defensie.....	12
5.2.2 Defensie-elicitors.....	12
5.2.2.1 Defensie-elicitors versus plantenziektes.....	12
5.2.2.2 Defensie-elicitors versus WKN's.....	14
5.2.2.3 Methyljasmonaat: rechtstreeks effect.....	15
5.2.2.4 Methyljasmonaat: Onrechtstreeks effect (geïnduceerde defensie).....	15
5.2.2.4a Methyljasmonaat versus plantenziektes.....	15
5.2.2.4b Methyljasmonaat versus WKN's.....	17
B. Materiaal en methoden.....	18
1. Biologisch materiaal.....	18
1.1 Gastheerplanten.....	18
1.2 Nematodenstock.....	18
2. Behandeling.....	18
2.1 Inoculatie met nematoden.....	18
2.2 Spray met MeJA.....	18
3. Experimenten.....	19
3.1 Experiment 1.....	19
3.2 Experiment 2.....	20
4. Resultatenverwerking.....	21
C. Resultaten.....	22
1. Experiment 1.....	22
1.1 Plantparameters.....	22
1.1.1 Algemeen overzicht.....	22
1.1.2 Scheutlengte.....	22
1.1.3 Scheutgewicht.....	23
1.1.4 Wortelgewicht.....	24
1.1.5 Totaalgewicht.....	24

1.2 Nematodenparameters.....	25
1.2.1 Algemeen overzicht.....	25
1.2.2 Galindex.....	26
1.2.3 Aantal nematoden.....	26
1.2.3.1 Totaal aantal nematoden per gram wortel.....	26
1.2.3.2 Totaal aantal nematoden per plant.....	27
1.2.4 Aantal eimassa's.....	28
1.2.4.1 aantal eimassa's per gram wortel en per plant.....	28
1.2.4.2 aantal eimassa's per adult.....	28
2. Experiment 2.....	29
2.1 Plantparameters.....	29
2.1.1 Algemeen overzicht.....	29
2.1.2 Scheutlengte.....	31
2.1.3 Scheutgroei.....	32
2.1.4 Relatieve scheutgroei.....	32
2.1.5 Vers scheutgewicht.....	33
2.1.6 Droog scheutgewicht.....	33
2.1.7 Vers wortelgewicht.....	34
2.1.8 Droog wortelgewicht.....	35
2.1.9 Vers totaalgewicht.....	35
2.1.10 Droog totaalgewicht.....	35
2.2 Nematodenparameters.....	36
2.2.1 Algemeen overzicht.....	36
2.2.2 Galindex.....	37
2.2.3 Aantal eimassa's.....	38
2.2.3.1 Aantal eimassa's per gram wortel.....	38
2.2.3.2 Aantal eimassa's per plant.....	38
D. Discussie.....	40
1. Plantparameters.....	40
1.1 Scheutlengte en (relatieve) scheutgroei.....	40

1.2 Scheutgewicht.....	41
1.3 Wortelgewicht.....	43
1.4 Totaalgewicht.....	44
2. Nematodenparameters	45
2.1. Galindex.....	45
2.2 Aantal nematoden.....	48
2.3 Aantal eimassa's	49
E. Conclusie.....	52
1. Algemene bespreking	52
2. Besluit.....	54
Bibliografie.....	55
Bijlage 1: 'Diagrammic root-knot scoring chart'.....	A
Bijlage 2: Foto's van adulte en juveniele nematoden.....	B
Bijlage 3: Extra figuren bij de resultaten.....	D
Vulgariserende samenvatting.....	P

Context en doelstellingen

Wortelknobbelnematoden zijn plantparasieten die een zeer breed gastheerspectrum hebben en een enorme economische schade veroorzaken. Dit maakt, gecombineerd met het verbod op vele chemische nematiciden, dat er een grote en dringende noodzaak is aan milieu-vriendelijke manieren om wortelknobbelnematoden te bestrijden. In vele experimenten uit de literatuur werd het gebruik van methyljasmonaat (MeJA) als defensie-elicitor hiervoor doeltreffend bevonden. Er zijn echter nog veel hiaten in de kennis over de precieze omstandigheden waarin MeJA bescherming biedt en de experimentele set-up die nodig is om deze bescherming te optimaliseren. Daarom is het doel van deze masterproef om voor verschillende situaties na te gaan of MeJA geschikt is voor de bestrijding van wortelknobbelnematoden in tomatenplanten. Hiervoor zullen twee experimenten uitgevoerd worden, waarin zowel aandacht besteed zal worden aan het effect van MeJA op de fysiologie van de plant als aan de uitwerking van MeJA op de nematodenpopulatie. Meer concreet zullen de planten in het eerste experiment eenmaal of wekelijks met MeJA behandeld worden, zodat bepaald kan worden of de frequentie van de MeJA-behandeling een invloed heeft op het bestrijdingseffect. In het tweede experiment zullen planten geïnoculeerd worden met vier verschillende populatiegroottes (100, 200, 350 of 1000 nematoden) om te controleren of de inoculatie-densiteit de werking van MeJA als defensie-elicitor kan beïnvloeden.

In wat volgt zal de literatuurstudie een beschrijving geven van de levenswijze van wortelknobbelnematoden en hun interactie met de gastheer. Deze kennis is immers onontbeerlijk voor een juiste interpretatie van bestrijdingseffecten. Verder zullen de mogelijke behandelingen tegen nematoden besproken worden, met speciale aandacht voor het gebruik van defensie-elicatoren. Tot slot zal een overzicht gegeven worden van wat voorheen over de bestrijding van wortelknobbelnematoden via MeJA verschenen is in de literatuur. Alle materialen en methoden om de experimenten binnen deze masterproef uit te voeren, zullen weergegeven worden in het volgende hoofdstuk. Daarna zal een overzicht van de resultaten gegeven worden. Vervolgens zal de interpretatie van deze resultaten besproken worden. In het laatste hoofdstuk zal uiteindelijk een algemene bespreking volgen waarin de belangrijkste bevindingen herhaald worden. Hier zal ook aangetoond worden welke nieuwe inzichten en hypothesen de verkregen resultaten naar voren brengen en zullen ook interessante pistes voor verder onderzoek geformuleerd worden.

A. Literatuurstudie

1. Inleiding tot nematoden

1.1 Nematoden: veelzijdige organismen

Er zijn meer dan 25 000 soorten nematoden beschreven en het belang van deze dieren is enorm. De hoofdeigenschap die bijdraagt tot het onmiskenbare succes van nematoden is het feit dat ze in heel diverse omgevingsomstandigheden kunnen overleven. De vrijlevende nematoden worden teruggevonden in de meest uiteenlopende habitats: in bodem, zee- en zoetwater (Perry & Moens, 2011) en ze werden zelfs waargenomen in ijs op Antarctica (Cobb, 1914). Ongeacht hun habitat hebben al deze nematoden een vrij gelijkaardige externe morfologie bestaande uit een wormvormig, bilateraal symmetrisch, ongesegmenteerd lichaam. De meeste nematoden zijn minder dan 1 mm lang en hebben een doorsnede tussen de 15 en 20 micrometer. Ondanks hun bijzonder eenvoudige morfologie, kunnen enkele nematodenspecies succesvol een uitgebreid scala aan planten en dieren koloniseren. Plantinfecterende nematoden worden ook wel 'aaltjes' genoemd (Perry & Moens, 2011)

1.2 Nematoden als parasieten

In deze masterproef zullen nematoden die planten parasiteren centraal staan en wordt er in het bijzonder gefocust op wortelknobbelnematoden. Wortelknobbelnematoden (WKN's) behoren tot het genus *Meloidogyne* waarvan er 97 species beschreven zijn sinds juni 2009 (Castagnone-Sereno, et al., 2013). De meeste *Meloidogyne* species hebben een zeer breed gastheerspectrum en zijn in staat om bijna alle soorten bloeiende planten te infecteren (Perry & Moens, 2011). De vier belangrijkste soorten van WKN's zijn de tropische *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* en *M. javanica* en vervolgens ook *M. hapla*, die in een gematigd klimaat leeft. Deze zijn samen met een aantal opkomende species (vb. *M. enterolobii* en *M. chitwoodi*) verantwoordelijk voor grote oogstverliezen, wat jaarlijks zorgt voor een globale schade van vele miljarden dollars (Bird, et al., 2003) (Koening, et al., 1999). Trudgill & Blok (2001) bestempelen *M. incognita* dan ook als "... the single most damaging crop pathogen in the world". Wat betreft de bestrijding van de wortelknobbelnematoden zijn er twee knelpunten. Ten eerste moeten de telers ervan overtuigd geraken dat de problemen van hun gewas veroorzaakt worden door microscopische plantparasieten. De WKN's worden niet voor niets 'The Invisible Enemy' genoemd (Karmon, 2014). Ten tweede is er het verbod op vele chemische bestrijdingsmiddelen als gevolg van nadelige milieueffecten. Het is dus absoluut noodzakelijk dat er nieuwe strategieën voor de bestrijding van nematoden ontwikkeld en toegepast worden (Perry & Moens, 2011). In deze masterproef zal er nagegaan worden of WKN's te bestrijden zijn met defensie-

elictoren en dit wordt onderzocht aan de hand van experimenten bij de tomatenplant (*Solanum lycopersicum*).

2. Wortelknobbelnematoden

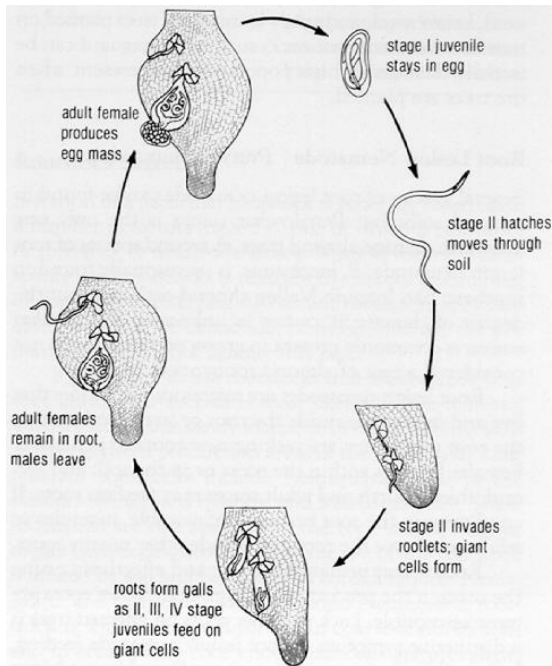
2.1 Levenscyclus van de wortelknobbelnematode

Afhankelijk van het species en de omgevingscondities neemt de levenscyclus van WKN's twee tot acht weken in beslag (Anamika, 2012) (Sharma & Triverdi, 1992) (Osunlola & Fawole, 2014). De levenscyclus bevat vier juveniele stadia (J1 tot J4) en een adult stadium van mannetjes of eitjesproducerende vrouwtjes (Figuur 1). Elk stadium wordt gescheiden van het voorgaande door een vervelling waarbij de cuticula wordt vervangen (Wyss, et al., 1992).

J2-larven (ongeveer 400 µm lang en 15 µm breed) dringen de wortels binnen ter hoogte van de elongatiezone en bewegen zich tussen de ongedifferentieerde wortelcellen zonder zichtbare schade te veroorzaken (Wyss, et al., 1992). Wanneer ze in de zone van protoxyleemontwikkeling gekomen zijn, doorboren ze een aantal celwanden met hun speerachtige stilettten om een afscheiding uit de slokdarm te injecteren. Zo wordt de vorming van de voedingsplaats geïnduceerd waarna de nematoden sedentair worden (Abad, et al., 2003) (Castagnone-Sereno, et al., 2013). Terwijl de reuzencellen en gallen worden gevormd, neemt het lichaam van de juvenielen toe in grootte naarmate deze zich meer voeden. Uiteindelijk worden de vrouwtjes rond en de mannetjes wormvormig in het adulte stadium (Taylor & Sasser, 1978). De adulte vrouwtjes zouden ook als appelvormig omschreven kunnen worden, wat de naamgeving *Meloidogyne*, Grieks voor 'gevormd als een appel', verklaart (Perry, et al., 2009). De vrouwtjes zullen sedentair blijven, terwijl de mannetjes terug motiel worden en uiteindelijk de plantenwortel verlaten (Castagnone-Sereno, et al., 2013).

De vrouwtjes duwen eimassa's, eitjes in een gelatineuze matrix, via de rectale klieren naar buiten. De gelatineuze matrix bestaat uit een onregelmatig netwerk van glycoproteïnen en dient ter bescherming van de eitjes (Sharon & Spiegel, 1993). Het eitje zelf is cilindrisch en bestaat uit drie lagen: een buitenste vitellinelaag, in het midden een chitinelaag en een binnenste glycolipidenlaag (Eisenback & Hunt, 2009). Het uitkomen van de *Meloidogyne* juvenielen is in de eerste plaats afhankelijk van de temperatuur. Bij welke temperatuur de eitjes uitkomen, verschilt naargelang de *Meloidogyne* species ingedeeld wordt bij de thermofielen dan wel bij de cryofielen, die onderscheiden worden op basis van hun vermogen om de lipide-fase-overgangen die optreden bij 10°C te overleven (Van Gundy, 1985). Thermofielen zoals *M. javanica* en *M. exigua* komen pas uit bij

temperaturen boven 15°C, terwijl cryofielen zoals *M. chitwoodi* en *M. hapla* al kunnen uitkomen bij temperaturen beneden 10°C (Curtis, et al., 2009).



Figuur 1: Levenscyclus van de wortelknobbelnematode (Nelson, 2013).

2.2 Herkenning van plantsignalen door de nematode

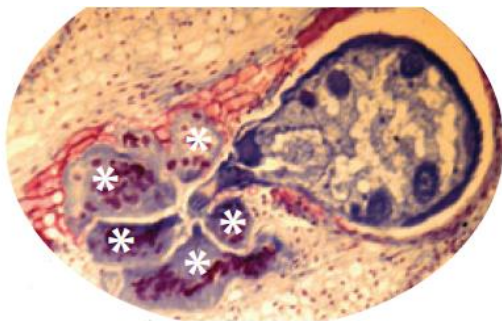
De nematode herkent signalen van de gastheer ('lokstoffen') via sensilla (Curtis, et al., 2009), organen die door hun signaalreceptie een verbinding verzorgen tussen stimulus en gedrag. De belangrijkste chemosensorische organen zijn gelegen in het hoofd en in de staart van de nematode (Eisenback & Hunt, 2009). Perry (2005) deelt de lokstoffen die waargenomen worden via de sensilla in als lange-afstand, korte-afstand en lokale lokstoffen. Lange-afstand lokstoffen zijn degene die nematoden aantrekken naar de algemene wortelzone, bijvoorbeeld bodemgassen zoals CO₂ (Robinson & Perry, 2006), de warmte die gegenereerd wordt in het metabolisch actieve gebied net achter de worteltip en plantspecifieke verbindingen zoals wortellexudaten (Perry, 2005). Voorbeelden van deze exudaten zijn: laag moleculaire verbindingen zoals fenolen, organische zuren, koolhydraten, nucleotiden, vetzuren en sterolen, maar ook hoog moleculaire verbindingen zoals slijm dat bestaat uit polysacchariden en eiwitten (Curtis, et al., 2009). Korte-afstand lokstoffen brengen de nematoden naar de wortels en lokale lokstoffen oriënteren ze naar de gewenste invasieplaats. Beide soorten bestaan uit oplosbare en hoog moleculaire verbindingen (Perry, 2005). Componenten die afgescheiden worden door micro-organismen zijn overvloediger aanwezig rond de wortels dan elders in de bodem (Russell, 1985), ook deze kunnen het gedrag van nematoden dichtbij de wortels beïnvloeden (Curtis, et al., 2009)

2.3 Initiële interactie tussen plant en WKN

Wanneer de nematode de wortel gevonden heeft, wordt het oppervlak verkend voor een geschikte penetratieplaats (Curtis, et al., 2009). Invasie van nematoden blijkt vooral voor te komen rond laterale toppen en gewonde weefsels (Prot, 1980). Zodra de nematode in de wortel is, nemen verschillende secretieorganen deel aan de moleculaire interactie met de gastheer. Afscheidingen van de cuticula zorgen voor de opbouw van een beschermlaag, waarschijnlijk om de nematode te verbergen voor de gastheer (Curtis, 2007). Bovendien scheiden wortelknobbelnematoden via de cuticula antioxidant enzymen uit die de nematode kunnen beschermen tegen de snelle en voorbijgaande productie van reactieve zuurstofspecies van de gastheer bij infectie (Jones, 2004). Er wordt ook een glutathion S-transferase (GST) geproduceerd in de klieren van de keelholte en afgescheiden door *M. incognita*. Het GST kan te maken hebben met de ontgifting van cytotoxische verbindingen die ontstaan door de oxidatieve reactie van de plant (Dubreuil, 2007). Naast het omzeilen van de verdedigingsmechanismen van de gastheerplant, moet de nematode parenchymcellen van de wortel omzetten naar gespecialiseerde reuzencellen die de nematode van voedingsstoffen zal voorzien voor de verdere ontwikkeling (Abad, et al., 2009).

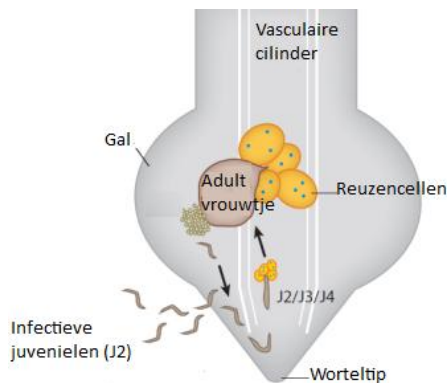
2.4 Wijziging van de plantenwortels door WKN

Wortelknobbelnematoden zorgen dat hun gastheer specifieke voedingscellen ontwikkelt, reuzencellen genaamd, die essentieel zijn voor hun groei en reproductie (Perry, et al., 2009) (Abad, et al., 2009). Deze cellen zijn metabolisch zeer actief, met een dens cytoplasma dat vele mitochondria, plastiden, ribosomen, maar ook een goed ontwikkeld Golgi-apparaat en een glad endoplasmisch reticulum bevat (Figuur 2) (Castagnone-Sereno, et al., 2013). De voedingscellen vergroten (tot 400 keer groter dan vasculaire wortelcellen) en worden multinucleair door synchrone celdelingen zonder cytokinese (Jones, 1981). Wanneer de reuzencellen volledig gedifferentieerd zijn, kunnen ze meer dan 100 polyplöide kernen bevatten (Wiggers, 1990).



Figuur 2: Lengtedoorsnede van een aangetaste wortel met een adulte vrouwelijke nematode en vijf reuzencellen, aangeduid met een asterisk (*) (Castagnone-Sereno, et al., 2013).

De hyperplasie en hypertrofie van cellen die de reuzencellen omgeven, leiden tot de typische galvorming op de wortels (Figuur 3) (Jones, 1981). Het feit dat wortelknobbelnematoden van het geslacht *Meloidogyne* duizenden plantensoorten kunnen infecteren, wordt wellicht verklaard doordat ze sterk geconserveerde signaaltransductiewegen induceren die leiden tot celcyclusactivering en essentiële herschikkingen in de opbouw van het cytoskelet (Jammes, et al., 2005).



Figuur 3: Schematische voorstelling van een wortelgal (aangepast volgens (Kyndt, et al., 2014)).

2.5 Wijziging van de genexpressie in planten door WKN

De transformatie van parenchymcellen tot voedingscellen vereist veranderingen in de expressie van een groot aantal genen. Jammes *et al.* (2005) toonde via een *Arabidopsis* transcriptoom microarray aan dat 15% van de genen een significant verschil in expressie toonde tussen ongeïnfecteerde en geïnfecteerde wortelweefsels. Dit grote aantal duidt aan hoe complex de ontstaanswijze van de voedingsplaats is. De belangrijkste verandering in de genexpressie was de onderdrukking van genen die verantwoordelijk zijn voor plantdefensiemechanismen (Jammes, et al., 2005).

2.6 Bovengrondse symptomen van een WKN-infectie

De vorming van wortelgallen leidt tot een continue verstoring van de nutriënt- en wateropname via het wortelstelsel, wat resulteert in zwakke planten en een lagere opbrengst (Castagnone-Sereno, et al., 2013). WKN-infecties hebben dan ook vele nadelige effecten op de planten zoals dwerggroei, vroege veroudering en in ernstige gevallen totaal verlies van het gewas. Deze schade veroorzaakt een aanzienlijk inkomstenverlies bij de telers (Perry & Moens, 2011).

3. Biologie van het genus *Meloidogyne*

Een opmerkelijke eigenschap van WKN's is hun uitermate grote diversiteit in reproductiewijzen. Species van dit genus kunnen immers seksueel of via verschillende manieren van parthenogenese

(meïotisch of mitotisch) voortplanten (Chitwood & Perry, 2009). Mitotische parthenogenese of apomixis is de meest voorkomende vorm van ongeslachtelijke voortplanting bij nematoden (Perry & Moens, 2011). De meeste WKN's, inclusief species die de landbouw veel schade toebrengen, zoals *M. incognita* en *M. javanica*, vermenigvuldigen dan ook via mitotische parthenogenese. Er zijn ook species die via amfimixis (seksuele voorplanting) kunnen voortplanten wanneer er mannetjes aanwezig zijn en via meïotische parthenogenese in de afwezigheid van de mannetjes. De hoeveelheid mannetjes is afhankelijk van de omgevingscondities: ze stijgt bij drukbevolkte condities en weinig nutriënten (Triantaphyllou, 1985). Voor een overzicht van de nieuwe inzichten i.v.m. de diverse voortplantingswijzen en de fylogenie van het genus *Meloidogyne*, wordt verwezen naar een interessante review door Castagnone-Sereno, *et al.* (2013).

4. Behandelingen tegen nematoden

4.1 Landbouwpraktijken

Gewasrotatie is een vaak gebruikte methode om bodemziekten te voorkomen en kan ook een effectieve aanpak vormen om wortelknobbelnematoden onder controle te houden (Nusbaum & Ferris, 1973). Voor een doeltreffende gewasrotatie worden de gewassen die het meest winstgevend zijn, maar gevoelig voor WKN's, afgewisseld met gewassen die hier niet gevoelig voor zijn, maar meestal ook minder winstgevend. Aangezien verschillende onkruiden kunnen dienen als alternatieve gastheer voor WKN's, moet gewasrotatie steeds gepaard gaan met onkruidbestrijding (Noling, 2012). Een nadeel aan het systeem van gewasrotatie is het feit dat de keuze van alternatieve gewassen beperkt is: vele van de meest effectieve gewassen dragen weinig bij aan het landbouwincome (Nusbaum & Ferris, 1973) en de juiste apparatuur voor het kweken, oogsten en verwerken van de gewassen ontbreekt (Noling, 2012).

Volgens Johnson & Campbell (1980) is het ploegen en niet bezaaien (braak laten liggen) van een veld voor minstens een seizoen een efficiëntere methode om nematoden onder controle te houden in vergelijking met gewasrotatie en het gebruik van een nematicide (Johnson & Campbell, 1980). Tijdens de braakligging zijn er niet langer directe voedingsbronnen beschikbaar, waardoor de nematoden uitgehongerd worden. Gewasrotatie en braakligging kunnen zeker hulp bieden bij de bestrijding tegen WKN's, maar zijn niet voldoende om een plantage volledig vrij van nematoden te krijgen.

4.2 Chemische controle

Een alternatief op de controle via landbouwpraktijken is de controle via nematiciden: chemische pesticiden die plantparasitaire nematoden doden.

4.2.1 Niet-fumigante nematiciden

De meeste niet-fumigante nematiciden zoals fenamifos, cadusafos en oxamyl (Giannakou & Karpouzas, 2003) moeten gelijkmatig over de bodem verspreid worden zodat de nematoden die aanwezig zijn rond de wortelzones van gewassen hiermee in contact komen (Noling, 2012). Niet-fumigante nematiciden zijn alleen doeltreffend wanneer ze preventief worden toegediend: van zodra er sprake is van wortelinfectie en plantaardige beschadiging zichtbaar is, is het niet meer mogelijk om significante opbrengstverliezen volledig tegen te gaan (Stephan & Trudgill, 1983). Een nadeel van de niet-fumigante nematiciden is dat ze toxisch zijn voor het zenuwstelsel, wat maakt dat ze ook schadelijk zijn voor de mens en andere niet-doelwitorganismen (Kennedy, 1986).

4.2.2 Fumigante nematiciden

Methylbromide werd sinds de jaren 1950 toegepast als een fumigant nematicide (Noling & Becker, 1994) en is nog steeds de meest doeltreffende manier om WKN's, plantenziekten en onkruid te bestrijden (Porter, et al., 1999). Sinds 2005 is het echter niet meer toegestaan om methylbromide te gebruiken omdat het een zeer toxisch gas is dat zorgt voor aantasting van de ozonlaag (Drewer, et al., 2008), maar dat daarenboven ook de longen, het maag-darmkanaal, de huid en de hersenen van telers kan beschadigen (de Souza, et al., 2013). Momenteel bestaat er geen enkel alternatief met een werkzaamheid die evenwaardig is aan die van methylbromide (Noling, 2012). Een nematicide wordt namelijk vaak op een redelijk grote afstand toegediend van de plaats waar het werkzaam moet zijn, aangezien WKN's verscholen zitten in de bodem of in plantenwortels. Daarbij komt nog dat het oppervlak van de nematoden impermeabel is voor de meeste organische moleculen. Bijgevolg moeten nematiciden behoorlijk giftig of vluchtig zijn om enig negatief effect te hebben op de nematoden, waardoor het erg moeilijk is om milieuvriendelijke nematiciden te vinden (Chitwood, 2002).

4.3 Biocontrole

Een andere mogelijkheid om nematoden op een doelgerichte, milieuvriendelijke en voor mensen onschadelijke manier te bestrijden, is via biocontrole: het inzetten van de natuurlijke vijanden om een bepaald organisme onder controle te houden (Hokkanen, 2011). Een van de belangrijkste potentiële biologische bestrijdingsmiddelen tegen nematoden zijn nematofage schimmels. Deze

schimmels vangen de nematoden met hun sporen of hyfen, produceren toxines of parasiteren de nematoden-eitjes of vrouwtjes (Hyde, et al., 2014). De voornaamste bacteriële antagonisten van nematoden zijn *Trichoderma spp.* en *Bacillus spp.* (Radwan, et al., 2012).

Naast nematofage schimmels en bacteriën (directe antagonisten van nematoden) zijn er ook indirecte antagonisten van nematoden zoals arbusculaire mycorrhiza fungi. Deze hebben een positieve invloed op de plantengroei en defensie van hun gastheer en zorgen zo voor een reductie van de schade bij infectie door WKN's (Barea & Jeffries, 1995) (Talavera, et al., 2001).

Hoewel de resultaten van experimenten met biocontrole-agentia veelbelovend zijn, moet er nog heel wat verder onderzoek gebeuren om de werkzaamheid in het veld te optimaliseren (Radwan, et al., 2012). Momenteel zijn er nog geen commercieel verkrijgbare biologische bestrijdingsmiddelen die met succes kunnen worden gebruikt tegen nematoden (Noling, 2012).

Een even milieuvriendelijk alternatief voor chemische nematiciden is het gebruik van nematodenresistente planten.

4.4 Genetische resistentie

Planten hebben verschillende manieren ontwikkeld om invasie van pathogenen te detecteren en te bestrijden. Een voorbeeld hiervan zijn de resistentiegenen (R-genen) waarvan de genproducten rechtstreeks of onrechtstreeks interfereren met de effectoren die gecodeerd worden door avirulentiegenen (Avr-genen) van pathogenen en die de herkenning- en defensiesystemen van de plant proberen te verstoren. Flor (1971) was de eerste die deze genetische interactie tussen parasiet en gastheer beschreef en het de naam 'Gene-for-gene resistance' gaf.

Mi-1 is het R-gen in tomaten dat zorgt voor resistentie tegen de drie WKN-soorten: *M. arenaria*, *M. incognita* en *M. javanica* (Xu, et al., 2001). In de resistente planten gebeurt geen ontwikkeling van de voedingscellen, maar vindt een hypersensitiviteitsrespons plaats: rond de invasieplaats of op de plaats waar de reuzencellen normaal zouden ontstaan, sterven de plantencellen af. De J2's kunnen hierdoor niet overleven in de wortel en sterven of migreren terug naar buiten (Paulson & Webster, 1972).

Er zijn een aantal resistente rassen op de markt, maar deze hebben slechts zelden het gewenste effect als gevolg van de grote temperatuursgevoeligheid van het *Mi*-gen: resistentie verkregen door het *Mi*-gen gaat verloren bij temperaturen hoger dan 28°C (Dropkin, 1969). Naast de moeilijkheden met warmte-instabiliteit, zijn er ook problemen wat betreft de duur van de resistentie. Het herhaaldelijk planten van resistente gewassen zorgt voor de selectie van *Meloidogyne*-populaties die

in staat zijn de resistentie van de planten te omzeilen. Zo blijkt bijvoorbeeld dat sommige virulente nematodenpopulaties reeds in enkele jaren tijd de resistentie van de tomatenplanten kunnen omzeilen (Eddaoudi, et al., 1997) (Kaloshian, et al., 1996) (Castagnone-Sereno, 2002) (Noling, 2012).

4.5 Controle via defensie-elicatoren

Rasspecifieke 'gene-for-gene'-interacties worden onderscheiden van geïnduceerde defensiereacties. Geïnduceerde defensie is de aspecifieke systemische resistentie die door een verscheidenheid aan niet-specifieke componenten ('defensie-elicatoren') de natuurlijke plantdefensiemechanismen kan opwekken (Bent, 2006). In deze masterproef zal het gebruik van defensie-elicatoren voor het bestrijden van wortelknobbelnematoden onderzocht worden, hier zal in de volgende paragrafen dan ook dieper op ingegaan worden.

5. Defensie van de plant tegen nematoden

5.1 Algemene plantendefensie

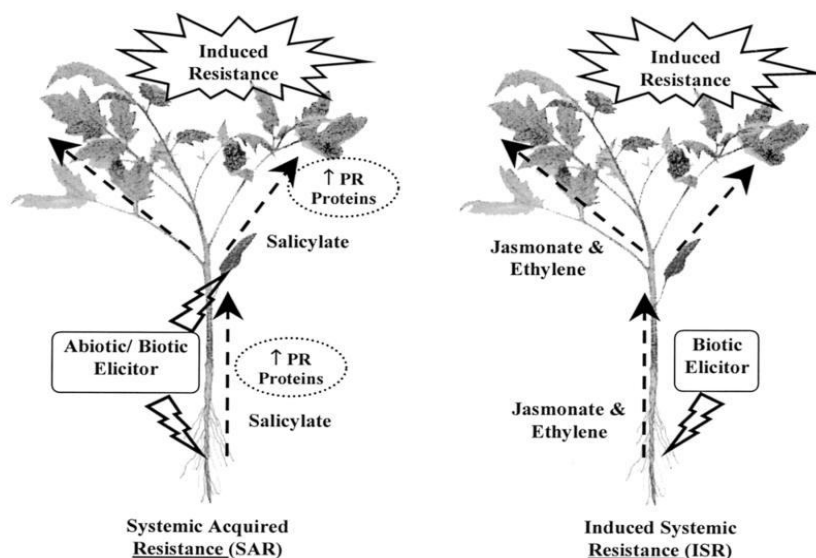
Planten hebben een hele reeks passieve en actieve defensiemechanismen om zich tegen aanvallen van buitenaf te beschermen. Passieve verdedigingsmechanismen, zoals structurele barrières en reservoirs van antimicrobiële componenten, zijn continu aanwezig in de plant. Voor de actieve defensie is daarentegen *de novo* proteïnesynthese vereist die gereguleerd wordt door complexe signaaltransductiewegen waarin de moleculen salicylzuur (Salicylic Acid, SA), jasmonaat (Jasmonic Acid, JA) en ethyleen (ET) centraal staan (Almagro, et al., 2009). Actieve resistentie wordt geïnduceerd wanneer de plant wordt aangevallen of geïnfecteerd en wordt daarom ook wel geïnduceerde defensie genoemd (Hammerschmidt, 2007).

5.2 Geïnduceerde defensie in planten

Volgens van Loon *et al.* (1998) is geïnduceerde defensie "een fysiologische toestand van verbeterde defensieve capaciteit, uitgelokt door specifieke stimuli uit de omgeving, waarbij de aangeboren resistentie van de plant versterkt wordt tegen een eventuele volgende uitdaging". De twee meest beschreven vormen van geïnduceerde resistentie zijn *systemic acquired resistance* (SAR) en *induced systemic resistance* (ISR) (Vallad & Goodman, 2004). Zoals hun naam aangeeft, zijn beide mechanismen systemisch: de weerstandrespons vindt plaats in een gedeelte van de plant dat ruimtelijk gescheiden is van de plaats van inductie. Verder wordt systemische defensie gekenmerkt door de niet-specifieke aard en de tijd die nodig is om te resistentie op te bouwen na inductie (Hammerschmidt, 2007). Systemische resistentie wordt verworven op twee niveaus. Ten eerste wordt een defensie opgewekt die continue aanwezig blijft in de systemisch geïnduceerde weefsels.

Een voorbeeld hiervan is de systemische accumulatie van *pathogenesis related (PR) proteins* die bescherming bieden tegen invasie door pathogenen (Van Loon, 1997). Ten tweede kan er priming van plantencellen gebeuren na inductie. Priming is de verbeterde capaciteit om cellulaire afweerreacties te activeren, zodat de defensierespons sneller kan opstarten wanneer dit nodig is (Conrath, et al., 2002).

Hoewel SAR en ISR leiden tot een gelijkaardige fenotypische respons, namelijk een verhoogde defensieve capaciteit (Van Loon, et al., 1998), maken ze toch gebruik van verschillende signaaltransductiewegen (Figuur 4). SAR kan zowel geïnduceerd worden door micro-organismen (biotische elicitors) als artificieel door chemicaliën (abiotische elicitors) zoals SA, benzo-1,2,3-thiadiazool-7-carbothioaat-S-methyl (BTH) (Sticher, et al., 1997), acibenzolar-S-methyl (ASM) (Walters, et al., 2013), jasmonaat (Cooper, et al., 2005) en methyljasmonaat (Fujimoto, et al., 2011). SAR wordt geassocieerd met de accumulatie van PR-proteïnen en SA in de plant (Uknes, et al., 1992), die beide nodig zijn voor een effectieve defensie (Vernooij, et al., 1994). ISR wordt geïnduceerd door plantengroei bevorderende rhizobacteriën (PGPR) bijvoorbeeld soorten van *Pseudomonas* die geen zichtbare schade aan de plantwortels veroorzaken (Van Loon, et al., 1998). Ook arbusculaire mycorrhizenschimmels zijn in staat om ISR op te wekken (Pozo, et al., 2010). ISR gaat over het algemeen niet gepaard met accumulatie van PR-eiwitten of salicylzuur, maar heeft reactiewegen waarin JA en ET een centrale rol spelen (Pieterse, et al., 1996). SAR is effectief in een breder scala aan plantensoorten dan ISR, dat maar te verkrijgen is door bepaalde micro-organismen bij specifieke plantengenotypen (Yan, et al., 2002).



Figuur 4: Schematische vergelijking tussen SAR en ISR. SAR kan zowel geïnduceerd worden door biotische als door abiotische elicitors wanneer het bladoppervlak of de wortels hiermee in contact komen. SAR is afhankelijk van signalisatie via SA en wordt geassocieerd met

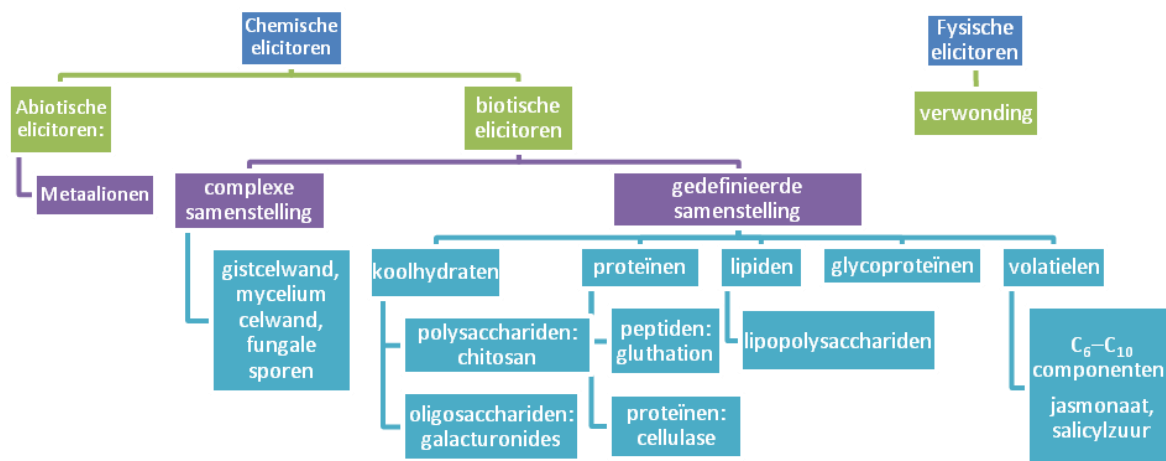
de accumulatie van PR-proteïnen. ISR wordt enkel geïnduceerd wanneer de wortels in aanraking komen met een biotische elicitor. De signalisatiepathway van ISR maakt gebruik van jamaaat en ethyleen (Vallad & Goodman, 2004).

5.2.1 Inducers van defensie

Zoals hierboven reeds aangehaald werd, kan SAR zowel door biotische als abiotische factoren geïnduceerd worden, dus zowel door pathogenen als door bepaalde chemische componenten (Lawton, et al., 1996). In de volgende paragrafen zullen verschillende van deze chemische componenten, ook defensie-elicatoren genoemd, besproken worden met de nadruk op methyljasmonaat.

5.2.2 Defensie-elicatoren

Defensie-elicatoren zijn macromoleculen die een structurele en/of biochemische defensierespons in de plant kunnen induceren. Elicatoren worden ingedeeld volgens hun afkomst en moleculaire structuur; dit wordt weergegeven in Figuur 5 (Thakur & Sohal, 2013). Plantencellen hebben specifieke receptoren om de elicatoren te detecteren. Het herkenningssignaal wordt intercellulair doorgegeven via bijvoorbeeld secundaire metabolieten en resulteert uiteindelijk in een verhoogde expressie van genen die coderen voor defensiemoleculen (Dixon, 1994) zoals reactieve zuurstofspecies, celwandversterkende moleculen en PR-proteïnen (Benhamou, 1996).



Figuur 5: Indeling van de verschillende types plantelicatoren (aangepast volgens (Thakur & Sohal, 2013))

5.2.2.1 Defensie-elicatoren versus plantenziektes

Hieronder wordt een overzicht gegeven van enkele veel gebruikte defensie-elicatoren: BTH, ASM, chitosan, BABA en (Me)JA. Tabel 1 bevat een samenvatting van experimenten waarin het negatieve effect van deze elicatoren op verschillende plantpathogenen aangetoond wordt.

Benzo-(1,2,3)-thiadiazool-7-carbothioaat-S-methyl (BTH) is een chemisch gesynthetiseerde structurele analoog van SA (Thakur & Sohal, 2013) en is in staat om SAR te induceren in vele planten. De ziekteresistentie wordt opgewekt doordat BTH de SAR-siginaaltransductieweg 'downstream' van de SA-accumulatie induceert. Dit wil zeggen dat BTH niet zorgt voor een verhoging van SA in de plant, maar door zijn gelijkaardige structuur de werking ervan overneemt (Lawton, et al., 1996) (Friedrich, et al., 1996).

Acibenzolar-S-methyl (ASM) is een afgeleide van BTH en wordt gecommmercialiseerd door Syngenta, in de Verenigde Staten onder de naam Actigard® en in Europa onder de naam Bion® (Mandal, et al., 2008). ASM activeert, net als BTH, dezelfde defensierespons als SA bij SAR (Ryals, et al., 1994). ASM-geïnduceerde defensie zorgt op die manier voor de verhoogde activiteit van defensie-enzymes en een verhoging van de fenolsynthese (Barilli, et al., 2010).

Chitosan is een β -1,4-gekoppeld polysaccharide van glucosamine dat zowel in monocotyle als dicotyle planten een defensierespons kan opwekken (El Hadrami, et al., 2010). Deze defensierespons omvat o.a. de aanmaak van reactieve zuurstofspecies (Kuchitsu, et al., 1995), de biosynthese van fytoalexinen (antimicrobiële plantmetabolieten) (Yamada, et al., 1993) en van jasmonaat (Nojiri, et al., 1996) en de expressie van defensiegerelateerde genen die bijvoorbeeld coderen voor proteïnase inhibitoren (Nishizawa, et al., 1999) (Walker-Simmons & Ryan, 1984). Er werd aangetoond dat chitosan zowel antivirale, antibacteriële als antifungale eigenschappen heeft (El Hadrami, et al., 2010).

β -aminoboterzuur (BABA) is een niet-proteïne aminozuur dat in staat is om een langdurige geïnduceerde resistentie op te wekken. BABA kan namelijk zowel op een SA-afhankelijke als op een SA-onafhankelijke manier zorgen voor een resistentie die tussen de 2 en 4 weken aanhoudt (Luna, et al., 2014a) (Luna, et al., 2014b). Bengtsson, *et al.* (2014) toonden dat een behandeling met BABA zorgt voor een sterke accumulatie van verschillende PR-proteïnen en de opregulatie van verschillende enzymen die betrokken zijn bij de biosynthese van phytoalexinen.

Ook JA en MeJA worden ingezet voor de bestrijding van verschillende plantpathogenen (Tabel 1). Omdat MeJA gebruikt werd in de experimenten van deze masterproef, wordt de geïnduceerde defensie die hierdoor veroorzaakt wordt, uitgebreid besproken in een van de volgende secties.

Tabel 1: Overzicht van experimenten waarin het bestrijdingseffect van BTH, ASM, chitosan, BABA en (Me)JA ten opzichte van verschillende plantpathogenen aangetoond wordt

Elicitor	plant	Bestreden plantpathogeen	Bron
BTH	Tarwe	<i>Blumeria graminis</i> (Poederige Meeldauw)	(Görlach, et al., 1996)
BTH	Aardappel	<i>Blumeria graminis</i> (Poederige Meeldauw)	(Bokshi, et al., 2003)
BTH	<i>Arabidopsis Thaliana</i>	Turnip Crinkle Virus (TCV), <i>Pseudomonas syringae</i> pv. tomaat en <i>Peronospora parasitica</i>	(Lawton, et al., 1996)
BTH	Tomaat	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. tomaat	(Herman, et al., 2008)
BTH	Tomaat	Cucumber Mosaic Virus (CMV)	(Anfoka, 2000)
ASM	Erwt	<i>Uromyces pisi</i> (Roest)	(Barilli, et al., 2010)
ASM	Tuinboon	<i>Uromyces viciaefabae</i> (Roest) en <i>Ascochyta fabae</i> (Bladvlekken)	(Sillero, et al., 2012)
ASM	Sla	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. vitians (Bladvlekken)	(Yigit, 2011)
Chitosan	Tabak	Tobacco mosaic virus (TMV)	(Nagorskaya, et al., 2014)
Chitosan	Boon	Alfalfa Mosaic Virus (AIMV)	(Pospieszny & Atabekov, 1989)
Chitosan	Tomaat	<i>Fusarium oxysporum</i>	(Lafontaine & Benhamou, 1996)
Chitosan	Gerst	<i>Blumeria graminis</i> (Poederige Meeldauw)	(Faoro, et al., 2008)
BABA	Aardappel	<i>Phytophthora infestans</i>	(Bengtsson, et al., 2014)
BABA	Tuinboon	<i>Acyrtosiphon pisum</i> (Erwtbladluis)	(Hodge, et al., 2005)
BABA	<i>Arabidopsis Thaliana</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	(Zimmerli, et al., 2001)
BABA	<i>Arabidopsis Thaliana</i>	<i>Peronospora parasitica</i> (Valse Meeldauw)	(Zimmerli, et al., 2000)
JA	Tomaat	<i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Bladluis)	(Cooper & Goggin, 2005b)
MeJA	Pistache	<i>Agonoscena pistaciae</i> (Bladvlooi)	(Shahabinejad, et al., 2014)
JA & MeJA	Tomaat, aardappel	<i>Phytophthora infestans</i>	(Cohen, et al., 1993)
MeJA	Gerst	<i>Blumeria graminis</i> (Poederige Meeldauw)	(Walters, et al., 2002)

5.2.2.2 Defensie-elicatoren versus WKN's

Hoewel de bestrijding van plantparasitische nematoden met een chemisch geïnduceerde weerstand nog niet zo uitgebreid bestudeerd is als die van andere plantpathogenen, zijn er in de literatuur toch voldoende artikelen te vinden die beschrijven dat BTH, ASM, chitosan, BABA en (Me)JA in staat zijn de invasie, ontwikkeling en/of reproductie van nematoden te verlagen (Vieira dos Santos, et al., 2013). Tabel 2 geeft een overzicht van experimenten waarin het negatieve effect van BTH, ASM, chitosan en BABA ten opzichte van verschillende WKN's aangetoond wordt. Voor een overzicht van artikelen waarin het bestrijdingseffect van JA en MeJA tegen WKN's aangetoond wordt, wordt verwezen naar Tabel 3 in een van de volgende secties.

Tabel 2: Overzicht van experimenten waarin het bestrijdingseffect van BTH, ASM, chitosan en BABA ten opzichte van verschillende WKN's aangetoond wordt

Elicitor	plant	Bestreden WKN	Bron
BTH	Tomaat, aardappel	<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	(Vieira dos Santos, et al., 2013)
BTH	Aardappel	<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	(Collins, et al., 2006)
BTH	Rijst	<i>Meloidogyne graminicola</i>	(Nahar, et al., 2011)
ASM	Tomaat	<i>Meloidogyne incognita</i>	(Molinari & Baser, 2010)
ASM	Ogenboon	<i>Meloidogyne javanica</i>	(Chinnasri, et al., 2003)
Chitosan	Tomaat	<i>Meloidogyne incognita</i>	(Khalil & Badawy, 2012)
Chitosan	Tomaat	<i>Meloidogyne javanica</i>	(El-Sayed & Mahdy, 2015)
Chitosan	Aubergine	<i>Meloidogyne incognita</i>	(Osman, et al., 2013)
BABA	Ananas	<i>Meloidogyne javanica</i>	(Chinnasri, et al., 2006)
BABA	Suikerriet	<i>Meloidogyne incognita</i>	(Berry, et al., 2011)
BABA	Tomaat	<i>Meloidogyne javanica</i>	(Oka, et al., 1999)
BABA	Tarwe en gerst	<i>Meloidogyne</i> , ongeïdentificeerd species	(Oka & Cohen, 2001)

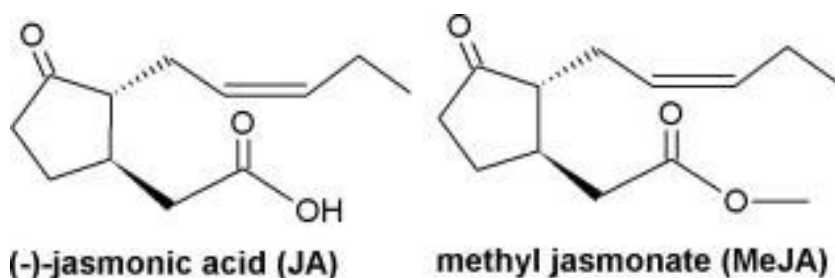
5.2.2.3 Methyljasmonaat: rechtstreeks effect

Gavin, *et al.* (2013) toonden aan dat MeJA en JA als nematicide werken wanneer deze rechtstreeks toegediend worden aan de plantparasitische nematoden *Pratylenchus zae* en *Helicotylenchus spp.* Alle gebruikte concentraties van JA en MeJA (3,125 - 50 ppm) hadden een significant nematicide-effect, maar zonder een duidelijke dosis-respons relatie. Uiteindelijk bleek dat na een contact van minstens 12 uur met een van de jasmonaten de niet-motiele nematoden hun motiliteit niet meer konden hernemen wanneer ze terug in water gebracht werden.

5.2.2.4 Methyljasmonaat: Onrechtstreeks effect (geïnduceerde defensie)

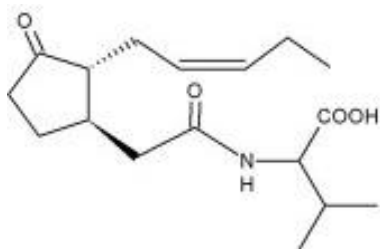
5.2.2.4a Methyljasmonaat versus plantenziektes

Methyljasmonaat (MeJA) en jasmonaat (JA) worden gegroepeerd onder de naam 'jasmonaten' en zijn belangrijke regulatoren in de cel. Deze zijn niet alleen betrokken bij geïnduceerde defensie, maar ook o.a. bij wondsignalisatie, het oprullen van ranken, veroudering, bloem- en vruchtontwikkeling en bladabscissie (Creelman & Mullet, 1995) (Creelman, et al., 1992) (Wasternack, 2007). Jasmonaten zijn afgeleiden van linoleenzuur en cyclopentanoncomponenten met een aantal structurele kenmerken die essentieel zijn voor hun biologische functie (Figuur 6) (Creelman & Mullet, 1997) (Wasternack, 2007).



Figuur 6: chemische structuur van JA en MeJA (aangepast volgens Piotrowska & Bajguz, 2011). De belangrijkste structurele kenmerken zijn: de planaire pentonring met ketogroep, de pentenyl-zijketen en de acetyl-zijketen (Creelman & Mullet, 1997).

MeJA is de volatiele afgeleide van JA en wordt hieruit gevormd door het enzym jasmonaat carboxyl methyltransferase (Seo, et al., 2001). MeJA wordt tezamen met andere plantvolatielen geproduceerd bij een externe aanval van pathogenen of herbivoren en via de lucht doorgegeven aan naburige planten (Arimura, et al., 2000). Die planten nemen MeJA ofwel op via diffusie doorheen de cuticula van hun bladcellen ofwel via hun stomata (Baldwin, et al., 2006). MeJA wordt in de cel omgezet naar verschillende derivaten, waaronder jasmonyl-isoleucine (JA-Ile, Figuur 7). Het is JA-Ile en niet vrij MeJA of JA dat actief is in de cel (Tamogami, et al., 2012). JA-Ile wordt herkend door 'Coronatine-insensitive protein 1' (COI1), een component van een ubiquitine E3 ligase complex SCF^{COI1} dat dienst doet als receptor. Voor de herkenning van JA-Ile moet COI1 met twee coreceptoren gecomplexeerd zijn, namelijk met het C-terminale deel van een jasmonaat ZIM domein (JAZ) transcriptierepressor en met inositol-1,2,4,5,6-pentakisfosfaat (Sheard, et al., 2010). De JAZ-transcriptierepressoren onderdrukken jasmonaat-responsieve genen, maar zullen na herkenning van JA-Ile door COI1 geubiquityleerd worden door SCF^{COI1} en vervolgens afgebroken worden door een 26S-proteasoom (Thines, et al., 2007). Op deze manier worden de jasmonaat-responsieve genen geactiveerd, wat leidt tot de productie van kleine componenten zoals toxische alkaloiden en fytoëcdysteroiden en voor de productie van wond-geïnduceerde proteïnen zoals proteïnase inhibitoren (Schmelz, et al., 1999) (Zhang, et al., 2011) (Fujimoto, et al., 2011). Deze vorming van kleine componenten en proteïnen wordt directe defensie genoemd. De indirecte defensie komt overeen met de vorming van volatiele componenten zoals methyl (E)- β -farnesenen, 2-(E)-hexenyl acetaat en linalool (Thaler, et al., 2002) (Tamogami, et al., 2012).



Figuur 7: chemische structuur van de JA-Ile (aangepast volgens Piotrowska & Bajguz, 2011).

5.2.2.4b Methyljasmonaat versus WKN's

Er werd in verschillende studies aangetoond dat de exogene toediening van jasmonaten leidt tot de aanmaak van producten die toxisch zijn voor nematoden zoals flavonoïden, fytoecdysteroiden en proteïnase inhibitoren (PI's) (Soriano, et al., 2004a) (Soriano, et al., 2004b) (Zhang, et al., 2011) (Fujimoto, et al., 2011) (Cooper, et al., 2005) (Udalova, et al., 2014). Deze laatste inhiberen bijvoorbeeld de nematodenproteïnases die cruciaal zijn voor de penetratie, ontwikkeling, groei en reproductie van de nematoden (Atkinson, et al., 2009) (Vishnudasan, et al., 2005) (Udalova, et al., 2014). Tabel 3 geeft een samenvatting van artikels waarin het negatieve effect van JA en MeJA ten opzichte van WKN's aangetoond wordt.

Tabel 3: Overzicht van experimenten waarin het bestrijdingseffect van JA en MeJA ten opzichte van verschillende WKN's aangetoond wordt

Elicitor	plant	Bestreden WKN	Bron
MeJA	Tomaat	<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	(Vieira dos Santos, et al., 2013)
JA	Tomaat	<i>Meloidogyne javanica</i> , <i>Meloidogyne incognita</i>	(Cooper, et al., 2005)
MeJA	Tomaat	<i>Meloidogyne incognita</i>	(Zhang, et al., 2011)
MeJA	Tomaat	<i>Meloidogyne incognita</i>	(Fujimoto, et al., 2011)
MeJA	Spinazie	<i>Meloidogyne javanica</i>	(Soriano, et al., 2004a)
MeJA	Rijst	<i>Meloidogyne graminicola</i>	(Nahar, et al., 2011)
MeJA	Tomaat & Aardappel	<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	(Vieira dos Santos, et al., 2013)
JA	Tomaat	<i>Meloidogyne incognita</i>	(Vasyukova, et al., 2009)
JA	Tomaat	<i>Meloidogyne incognita</i>	(Zhou, et al., 2015)

De literatuur lijkt dus veelbelovend over de toepasbaarheid van MeJA als defensie-elicitor tegen WKN's. Het is echter van groot belang om te onderzoeken wat de exacte omstandigheden zijn waarin de bescherming tegen WKN's geldt en wat de experimentele set-up is die zorgt voor een optimalisatie van deze bescherming. In het eerste experiment van deze masterproef zal daarom nagegaan worden of de frequentie van de MeJA-behandeling invloed heeft op het bestrijdingseffect en in het tweede experiment zal bestudeerd worden of de inoculatie-densiteit de doeltreffendheid van MeJA als defensie-elicitor kan beïnvloeden.

B. Materiaal en methoden

1. Biologisch materiaal

1.1 Gastheerplanten

Voor beide experimenten werd de tomatencultivar *Solanum Lycopersicum* L. cv. *Marmande* gebruikt als gastheerplant. Alle tomatenplanten werden uitgeplant in een mengsel van potgrond en zand in een 1:2 verhouding en werden onder dezelfde condities opgekweekt in een G2-serre met automatische bemesting, een omgevingstemperatuur van 26/20°C dag/nacht en 75% relatieve vochtigheid.

1.2 Nematodenstock

In beide experimenten werden de geïnoculeerde planten behandeld met de nematodensoort *Meloidogyne incognita*. De gebruikte populatie is oorspronkelijk afkomstig van één eicel die geïsoleerd werd uit een geïnfecteerde bananenplant (*Musa sp.*) en wordt zowel *in vivo* als *in vitro* in stand gehouden. De *in vivo*-cultuur wordt in een aparte G2-serre opgekweekt op tomatenplanten (*Solanum Lycopersicum* L. cv. *Marmande*). Voor de inoculatie van de tomatenplanten uit beide experimenten werden nematoden afkomstig van de *in vivo*-stock gebruikt. De nematoden werden uit deze stockcultuur geëxtraheerd met de maceratie-zeefmethode en door de Baermann tray techniek (Whitehead & Hemming, 1965).

2. Behandeling

2.1 Inoculatie met nematoden

Voor de inoculatie van de nematoden werden secundaire juvenielen (J2) verzameld uit de Baermann schaaltes en na homogeniseren werd het aantal J2's verscheidene keren in 2 mL geteld onder de microscoop zodat het totale aantal nematoden geschat kon worden. De gewenste hoeveelheid nematoden werd na goed mengen verdeeld over een viertal kuiltjes van ongeveer een centimeter diepte in de grond van de tomatenplanten.

2.2 Spray met MeJA

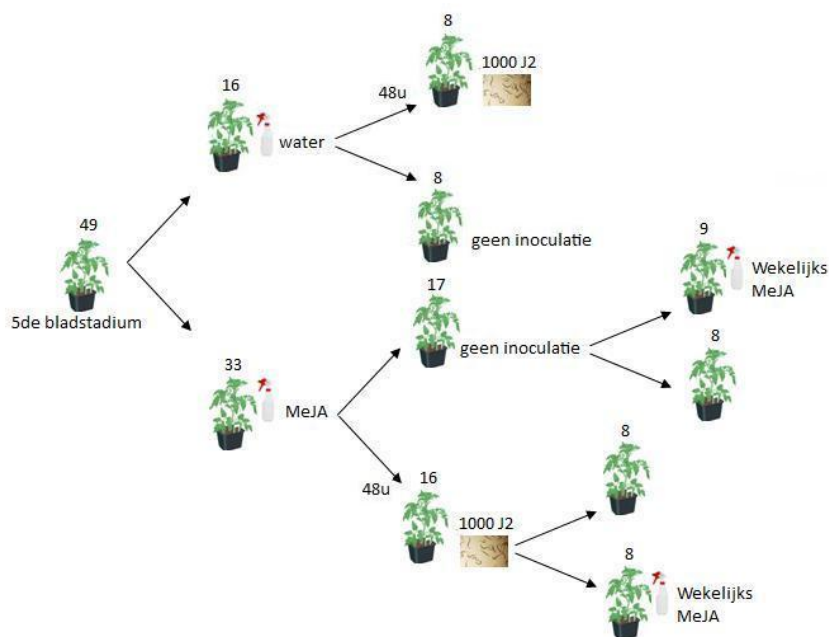
Een oplossing van 2 mM MeJA in gedemineraliseerd water werd via handverstuivers aangebracht op de gewenste planten. Iedere plant werd met 10 mL bespoten zodat er een lichte bedruppeling op elk blad aanwezig was. Voor de bespuiting werden de planten opgedeeld per elicitatiebehandeling en

werden de groepen gescheiden van elkaar met behulp van een plastic zeil. Deze afscheiding diende om te vermijden dat de volatiele MeJA zou verspreiden door de serre. Twee dagen na elke elicitaite werden de zeilen verwijderd en de planten van alle behandelingen random geplaatst.

3. Experimenten

3.1 Experiment 1

Een totaal aantal van 49 *Marmande* tomatenplanten werd gekweekt in potten van 1L en groeiden tot het 5^{de} bladstadium in de serre. Figuur 8 toont de verdeling van deze planten in 6 groepen met een verschillende behandeling.



Figuur 8: Van de 49 planten werden er 33 met MeJA behandeld, de overige planten werden als controlebehandeling met water besproeid. Bij 17 van de 33 geëliciteerde planten werd de behandeling wekelijks herhaald. Van de onbehandelde planten werden er 8 als controle gehouden en 8 geïnoculeerd met *M. Incognita* met een densiteit van 1000 J2's per plant. Van de eenmalig MeJA-behandelde planten werden er 8 als controle gehouden en 8 geïnoculeerd met een densiteit van 1000 J2's per plant. Van de wekelijks MeJA-behandelde planten werden er 9 als controle gehouden en 8 geïnoculeerd met een densiteit van 1000 J2's per plant. De inoculatie met nematoden gebeurde bij alle geïnfecteerde planten twee dagen na de eerste besproeiing met MeJA.

Het oogsten van de planten gebeurde 4 weken na de inoculatie. Hierbij werden de lengte en het gewicht van de stengel alsook het gewicht van de wortel genoteerd. Voor de geïnoculeerde planten werd ook de galindex bepaald (GI) op basis van de 'diagrammatic root-knot scoring chart', ontworpen door John Bridge en Sam Page (1980) (Bijlage 1). De wortelstelsels van de geïnfecteerde planten werden gekleurd met een phloxine B-oplossing van 15mg floxine/L gedurende 20 minuten.

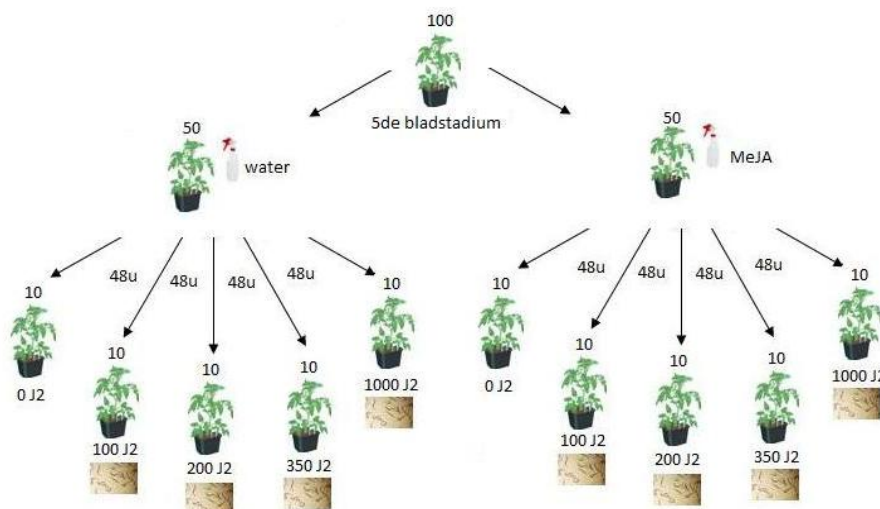
Deze oplossing kleurde de eimassa's roze zodat deze vervolgens voor elk wortelstelsel onder een binoculaire stereomicroscopie geteld konden worden.

Nadat alle eimassa's geteld waren, werden de wortelstelsels volgens Byrd *et al.* (1983) gekleurd met fuchsinezuur. Hiervoor moesten de wortelstelsels eerst behandeld worden met een 1,1% NaOCl-oplossing. Nadat de wortels 4 minuten in deze oplossing geweest hadden met periodiek roeren, werd de NaOCl afgegoten en werden de wortelstelsels drie keer gewassen met kraanwater. Vervolgens werden de wortelstelsels in een 0,1% fuchsinezuuroplossing ondergedompeld en gedurende 45 minuten bij 70°C in de oven geplaatst. Hierna werden de wortels opnieuw gewassen met kraanwater alvorens ze in een zure 50% glyceroloplossing 40 minuten in een oven van 70°C geplaatst werden. Tot slot werden de wortels uit de oven gehaald en de zure glyceroloplossing afgegoten en vervangen door een verse zure glyceroloplossing.

Per fuchsinegekleurd wortelstelsel werden at random deelstalen genomen waarvan microscopische slides werden gemaakt om het aantal nematoden per stadium (adult, J2, J3/J4) te bepalen onder een lichtmicroscopie. Figuur B2.1 (Bijlage 2) geeft een overzicht van de verschillende stadia in de levenscyclus van *M. incognita*. Figuren B2.2-B2.4 tonen microscopische observaties van respectievelijk een adulte, J2 en J3/J4 nematode, alle drie gekleurd met fuchsinezuur.

3.2 Experiment 2

Een totaal van 100 *Marmande* tomatenplanten werden opgegroeid in potten van 280 mL tot het 5^e bladstadium. Figuur 9 toont de verdeling van deze planten in 10 groepen met een verschillende behandeling. Vóór de elicitering werd de stengellengte van iedere plant opgemeten.



Figuur 9: Van de 100 planten werden er 50 met MeJA behandeld, de overige planten werden met water besproeid als controlebehandeling. Twee dagen na elicitering werden per 20 planten, 10 behandeld met MeJA en 10 behandeld met

water. Concreet werden 20 planten niet geïnoculeerd, 20 planten geïnoculeerd met 100 J2-nematoden per plant, 20 planten met 200 J2's per plant, 20 planten met 350 J2-nematoden per plant en 20 planten met 1000 J2's per plant.

Het oogsten van de planten gebeurde 5 weken na de inoculatie. Hierbij werden de lengte en het gewicht van de stengel, het gewicht van de wortel, het aantal tomaten en het gewicht van de tomaten genoteerd. De stengels van alle planten en wortels van niet-geïnoculeerde planten werden bijgehouden om te drogen in een oven van 70°C zodat het droge stengel- en wortelgewicht kon bepaald worden. Voor de geïnoculeerde planten werd ook de galindex (GI) bepaald op basis van de 'diagrammatic root-knot scoring chart', ontworpen door John Bridge en Sam Page (1980) (Bijlage 1). De wortelstelsels van de geïnfecteerde planten werden gekleurd met een phloxine B-oplossing van 15mg phloxine/L gedurende 20 minuten. Deze oplossing gaf de eimassa's een roze kleur zodat deze vervolgens voor elk wortelstelsel onder een binoculaire stereomicroscoop geteld konden worden.

4. Resultatenverwerking

De data die verzameld werden uit de verschillende experimenten, werden geanalyseerd met behulp van het statistisch programma 'Statistica 7.0' (StatSoft®). Alle nematodenparameters met uitzondering van de GI werden getransformeerd volgens $\log(x + 1)$. Vervolgens kon de variantie van de plant- en nematodenparameters bepaald worden door middel van een One-way of Two-way ANOVA met 5% significantieniveau. De One-way ANOVA werd gebruikt wanneer er slechts 1 onafhankelijke variabele was (inoculatie-densiteit of behandeling met MeJA). Voor statistische berekeningen met de galindex werd gebruik gemaakt van een niet-parametrische variant van de One-way ANOVA: de Kruskal-Wallis test. De Two-way ANOVA werd gebruikt wanneer er twee onafhankelijke variabelen waren (inoculatie-densiteit en behandeling met MeJA). Hierbij werd voor elke parameter eerst nagegaan of er interactie was tussen de verschillende onafhankelijke variabelen. Wanneer er geen interactie was, konden twee One-way ANOVA analyses uitgevoerd worden voor elke onafhankelijke variabele. Na exclusie van eventuele outliers werd de normaliteit nagegaan met een 'Normal Probability Plot' en de homogeniteit gecontroleerd door middel van de Levene's test. Wanneer de gegevens normaal en homogeen verdeeld waren, kon de p-waarde bepaald worden met een Tukey HSD test indien de grootte van de groepen die vergeleken werden gelijk was. Indien de groepen verschilden in grootte, moest een aangepaste versie van de Tukey HSD test gebruikt worden, namelijk de Unequal N HSD test. Wanneer de p-waarde groter was dan 0,05 betekende dit dat er een statistisch significant verschil was tussen de waarden van de parameter voor planten die een verschillende invulling van de onafhankelijke variabele hadden. Bij een p-waarde die kleiner was dan 0,1 werd de waarneming niet 'statistisch significant' genoemd, maar wel aangeduid als een 'trend'.

C. Resultaten

1. Experiment 1

1.1 Plantparameters

1.1.1 Algemeen overzicht

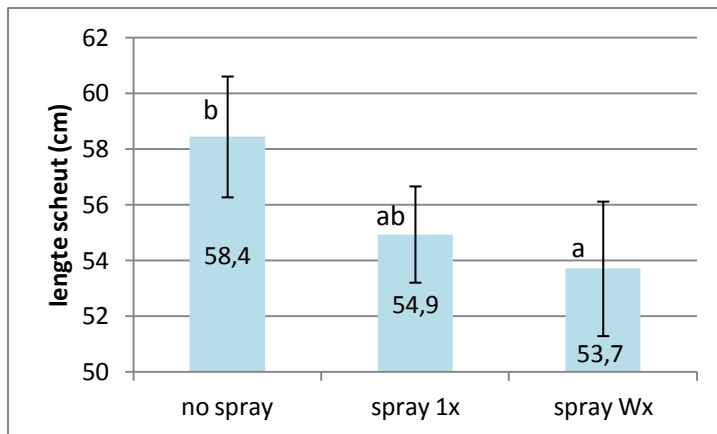
Tabel 4 geeft per behandeling een overzicht van de gemiddelde waarden en respectieve standaarddeviaties van de plantparameters die genoteerd werden in het eerste experiment van deze masterproef.

Tabel 4: Gemiddelden en standaarddeviaties van de scheutlengtes, scheutgewichten, wortelgewichten en totaalgewichten per behandeling

Inoculatie	Elicitering (MeJA)	Scheutlengte (cm)	Scheutgewicht (g)	Wortelgewicht (g)	Totaalgewicht (g)
Geen	Geen	59,5 ± 2,8	249,1 ± 15,2	28,8 ± 4,6	277,9 ± 15,1
Geen	1 maal	54,1 ± 2,1	218,0 ± 15,0	30,3 ± 4,1	248,3 ± 14,3
Geen	Wekelijks	53,3 ± 3,8	236,8 ± 9,0	30,8 ± 4,6	267,6 ± 6,6
nematoden	Geen	57,4 ± 3,3	246,5 ± 11,6	34,3 ± 4,3	280,8 ± 9,8
nematoden	1 maal	55,8 ± 2,8	231,0 ± 8,6	32,5 ± 5,7	263,0 ± 12,1
nematoden	Wekelijks	54,1 ± 3,1	226,8 ± 8,1	32,7 ± 2,6	259,5 ± 8,6

1.1.2 Scheutlengte

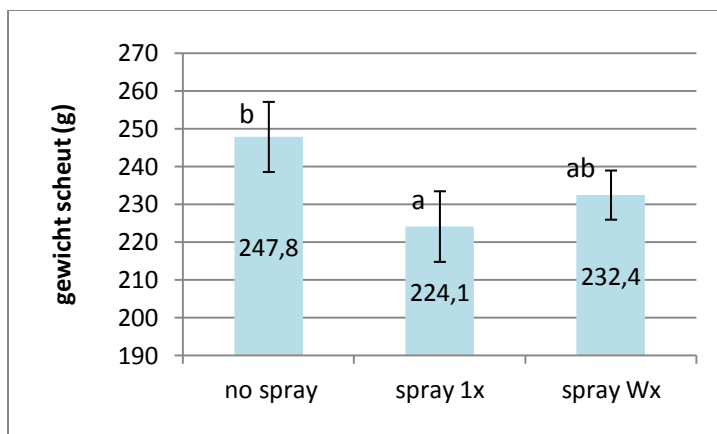
De gemeten scheutlengtes en de respectieve standaarddeviaties worden weergegeven in Tabel 4. Met behulp van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau is er geen statistisch significant verschil gevonden tussen de scheutlengte van planten die wel of niet met nematoden behandeld zijn (Figuur B3.1, Bijlage 3). De test toonde wel dat de scheutlengte van planten die niet met MeJA behandeld zijn, statistisch significant ($p_{no-wx} = 0,009148$) groter is dan de scheutlengte van planten die meerdere malen met MeJA behandeld zijn (Figuur 10).



Figuur 10: Gemiddelde scheutlengte voor de verschillende elicatiebehandelingen: geen MeJA (no spray), 1 maal MeJA (spray 1x) en wekelijks MeJA (spray Wx). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken. Wanneer er eenzelfde letter terug te vinden is boven de verschillende behandelingen, is er geen significant verschil tussen deze behandelingen waargenomen op basis van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau.

1.1.3 Scheutgewicht

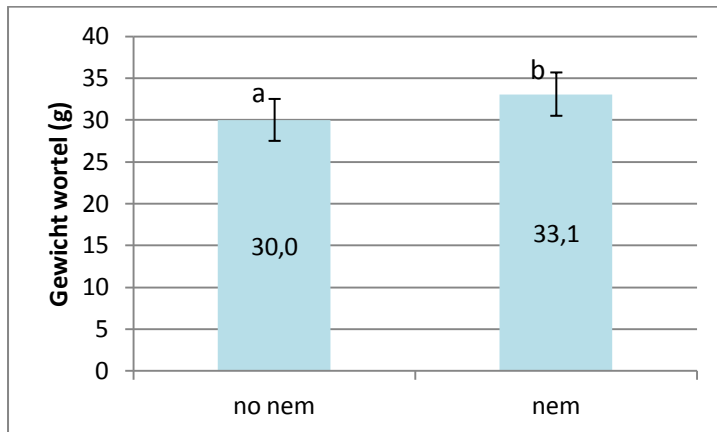
De gemeten scheutgewichten en de respectieve standaarddeviaties worden weergegeven in Tabel 4. Met behulp van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau is er geen statistisch significant verschil gevonden tussen het scheutgewicht van planten die wel of niet met nematoden behandeld zijn (Figuur B3.2, Bijlage 3). De test toonde wel dat het scheutgewicht van waterbehandelde planten, statistisch significant ($p_{no-1x} = 0,001969$) groter is dan het scheutgewicht van planten die 1 maal met MeJA behandeld zijn (Figuur 11).



Figuur 11: Gemiddeld scheutgewicht voor de verschillende elicatiebehandelingen: geen MeJA (no spray), 1 maal MeJA (spray 1x) en wekelijks MeJA (spray Wx). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken. Wanneer er eenzelfde letter terug te vinden is boven de verschillende behandelingen, is er geen significant verschil tussen deze behandelingen waargenomen op basis van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau.

1.1.4 Wortelgewicht

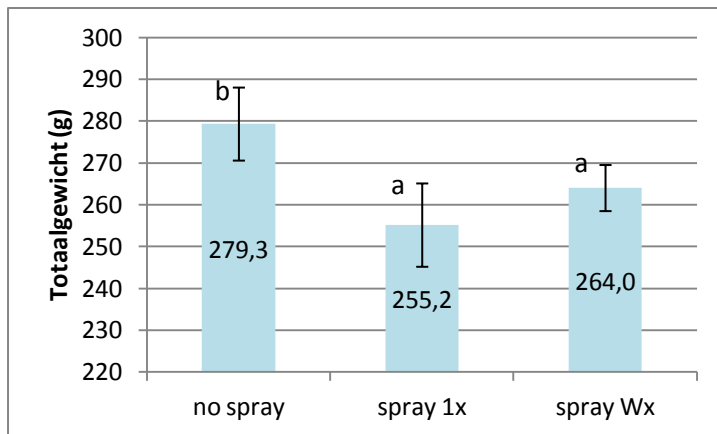
De gemeten wortelgewichten en de respectieve standaarddeviaties worden weergegeven in Tabel 4. De Unequal N HSD test toonde dat er een trend (p -waarde = 0,089521) is dat het wortelgewicht van geïnoculeerde planten, groter is dan het wortelgewicht van niet-geïnoculeerde planten (Figuur 12). Verder bleek dat er geen statistisch significant verschil is tussen het wortelgewicht van planten die niet, 1 maal of wekelijks met MeJA behandeld zijn (Figuur B3.3, Bijlage 3).



Figuur 12: Gemiddeld wortelgewicht voor de verschillende inoculatiebehandelingen: geen nematoden (no nem) en nematoden (nem). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken. De verschillende letters die aangegeven zijn boven de behandelingen, duiden aan dat er een trend is dat de behandelingen van mekaar verschillen op basis van de Unequal N HSD test met 10% significantieniveau.

1.1.5 Totaalgewicht

De totaalgewichten werden berekend als de som van het wortelgewicht en het scheutgewicht. Deze waarden met de respectieve standaarddeviaties worden weergegeven in Tabel 4. Met behulp van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau is er geen statistisch significant verschil gevonden tussen het totaalgewicht van planten die wel of niet met nematoden behandeld zijn (Figuur B3.4, Bijlage 3). De test toonde wel dat het totaalgewicht van waterbehandelde planten, statistisch significant groter is dan het totaalgewicht van planten die één maal of wekelijks met MeJA behandeld zijn (Figuur 13). De respectieve p -waardes waren $p_{no-1x} = 0,000181$ en $p_{no-Wx} = 0,007487$.



Figuur 13: Gemiddeld totaalgewicht voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray), 1 maal MeJA (spray 1x) en wekelijks MeJA (spray Wx). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken. De verschillende letters die aangegeven zijn boven de behandelingen, duiden aan dat er een statistisch significant verschil gevonden is tussen deze behandelingen op basis van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau.

1.2 Nematodenparameters

1.2.1 Algemeen overzicht

Tabel 5 en 6 geven per behandeling een overzicht van de gemiddelde waarden en respectieve standaarddeviaties van de nematodenparameters die genoteerd werden in het eerste experiment van deze masterproef. Figuur B3.5 (Bijlage 3) geeft de correlatie tussen het aantal eimassa's per plant en de galindex weer. Tabel 7 geeft een overzicht van de vergelijkingen van de gefitte trendlijnen met de bijhorende R²-waarden.

Tabel 5: Gemiddelden en standaarddeviaties van de galindex, het aantal nematoden, juvenielen, adulten en eimassa's per gram wortel, weergegeven per behandeling

Inoculatie	Elicitatie (MeJA)	Galindex	Nematoden per g wortel	Juvenielen per g wortel	Adulten per g wortel	Eimassa's per gram wortel
nematoden	Geen	3,6 ± 0,4	26,0 ± 18,4	3,4 ± 2,5	22,6 ± 16,0	3,2 ± 0,8
nematoden	1 maal	3,6 ± 0,5	16,2 ± 2,7	2,4 ± 0,7	13,8 ± 2,2	3,8 ± 1,8
nematoden	Wekelijks	3,9 ± 0,5	31,2 ± 9,2	3,9 ± 2,2	28,3 ± 8,5	2,5 ± 0,6

Tabel 6: Gemiddelden en standaarddeviaties van de het aantal nematoden, juvenielen, adulten en eimassa's per plant en het aantal eimassa's per adult, weergegeven per behandeling

Inoculatie	Elicitatie (MeJA)	Nematoden per plant	Juvenielen per plant	Adulten per plant	Eimassa's per plant	Eimassa's per adult
nematoden	Geen	905,7 ± 664,0	116,8 ± 88,4	788,9 ± 579,0	106,9 ± 21,2	0,7 ± 0,3
nematoden	1 maal	515,0 ± 100,3	76,4 ± 21,1	438,6 ± 84,0	109,1 ± 43,0	0,6 ± 0,2
nematoden	Wekelijks	1074,8 ± 279,2	127,5 ± 70,8	947,3 ± 252,5	82,3 ± 17,2	0,3 ± 0,2

Tabel 7: Vergelijkingen van de gefitte trendlijnen met de bijhorende R²-waarden voor de regressieanalyse van het aantal eimassa's per plant ten opzichte van de galindex. De regressieanalyse werd vier keer uitgevoerd: eenmaal voor alle geïnoculeerde planten en eenmaal per geïnoculeerde plantengroep met een verschillende elicitatiebehandeling: geen MeJA, eenmaal MeJA en wekelijks MeJA

Plantengroep	Vergelijking trendlijn	R ² -waarde
Alle geïnoculeerde planten	$y = 21,087\ln(x) + 55,787$	R ² = 0,0139
Geïnoculeerd en geen MeJA	$y = -56,11\ln(x) + 160,81$	R ² = 0,129
Geïnoculeerd en eenmaal MeJA	$y = 113,97\ln(x) - 54,429$	R ² = 0,227
Geïnoculeerd en wekelijks MeJA	$y = 30,04\ln(x) + 29,499$	R ² = 0,086

1.2.2 Galindex

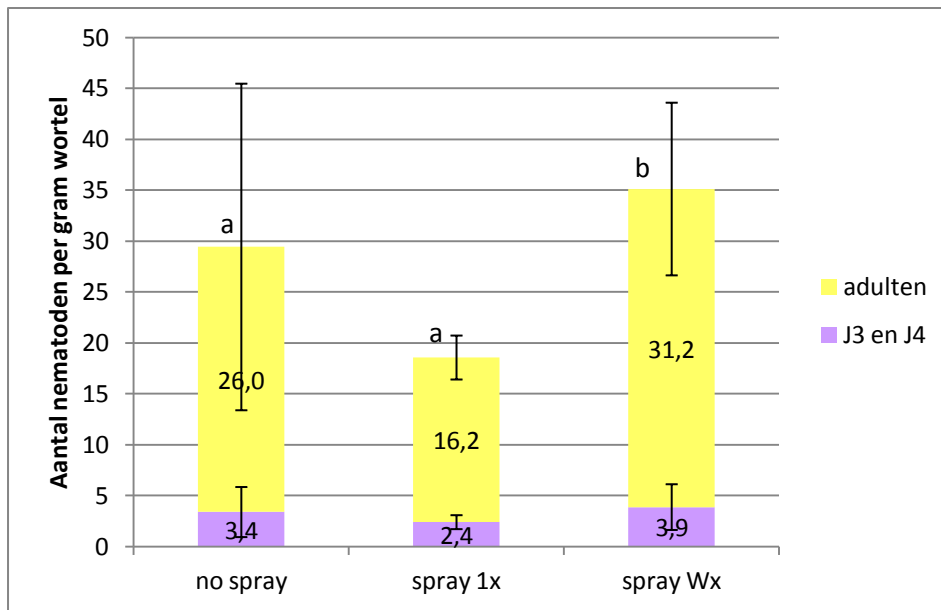
De gemeten galindices en de respectieve standaarddeviaties worden per behandeling weergegeven in Tabel 5. Met behulp van de Kruskal-Wallis test met 5% significantieniveau is er geen statistisch significant verschil gevonden tussen de galindices van planten die niet, 1 maal of wekelijks met MeJA behandeld zijn (Figuur B3.6, Bijlage 3).

1.2.3 Aantal nematoden

1.2.3.1 Totaal aantal nematoden per gram wortel

Het berekende aantal nematoden per gram wortel en de respectieve standaarddeviaties worden weergegeven in Tabel 5. De Tukey HSD test toonde dat het aantal nematoden per gram wortel van wekelijks MeJA-behandelde planten, statistisch significant (p-waarde = 0,021160) hoger is dan het aantal nematoden per gram wortel van planten die 1 maal met MeJA behandeld zijn. De test toonde verder dat er een trend (p-waarde = 0,080260) is dat het aantal nematoden per gram wortel van wekelijks MeJA-behandelde planten, hoger is dan het aantal nematoden per gram wortel bij planten die niet met MeJA behandeld zijn.

Het berekende aantal nematoden per gram wortel is de som van het aantal J3/J4 en adulten per gram wortel. De gemiddelden van het aantal J3/J4 en het aantal adulten per gram wortel met de respectieve standaarddeviaties, worden weergegeven in Tabel 5. Met behulp van de Tukey HSD test met 5% significantieniveau is er geen statistisch significant verschil gevonden tussen het aantal J3/J4 per gram wortel van planten die niet, 1 maal of wekelijks met MeJA behandeld zijn (Figuur 14, paars). Het aantal adulten per gram wortel van wekelijks MeJA-behandelde planten was wel statistisch significant hoger dan het aantal adulten per gram wortel van planten die niet of eenmalig met MeJA behandeld zijn (Figuur 14, geel). De respectieve p-waardes waren $p_{w_{x-n_0}} = 0,021634$ en $p_{w_{x-1x}} = 0,029981$.

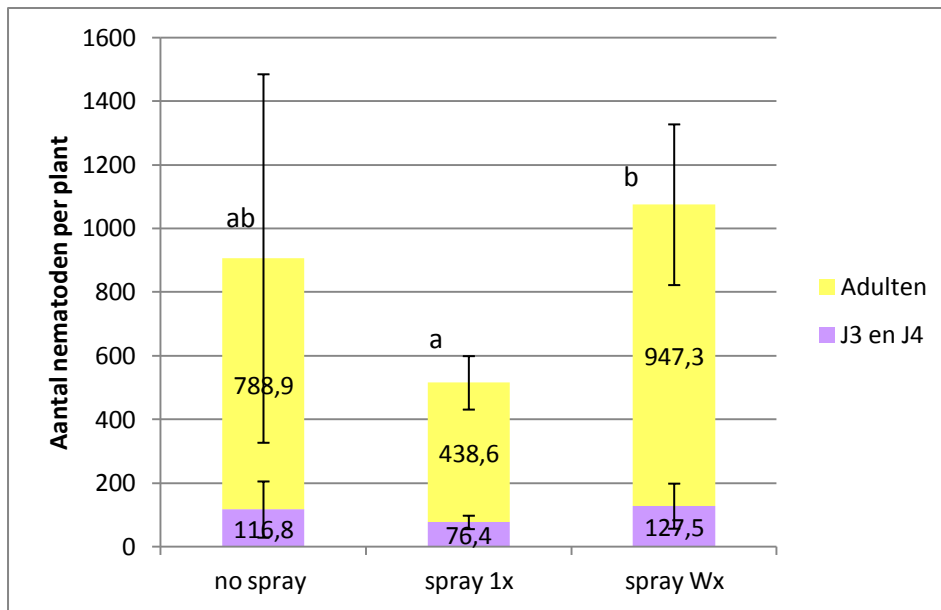


Figuur 14: Gemiddeld aantal juvenielen (paars) en gemiddeld aantal adulten (geel) per gram wortel voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray), 1 maal MeJA (spray 1x) en wekelijks MeJA (spray Wx). De standaarddeviaties worden weergegeven door verticale foutbalken. Wanneer er eenzelfde letter terug te vinden is boven de verschillende behandelingen, is er geen significant verschil tussen deze behandelingen waargenomen op basis van de Tukey HSD test met 5% significantieniveau.

1.2.3.2 Totaal aantal nematoden per plant

Het berekende aantal nematoden per plant en de respectieve standaarddeviaties worden weergegeven in Tabel 6. De Tukey HSD toonde dat het aantal nematoden per wekelijks MeJA-behandelde plant statistisch significant hoger is dan het aantal nematoden per niet of eenmalig MeJA-behandelde plant. De respectieve p-waarden waren $p_{Wx-no} = 0,017568$ en $p_{Wx-1x} = 0,015202$.

Het berekende aantal nematoden per plant is de som van het aantal J3/J4 en adulten per plant. De gemiddeldes van het aantal J3/J4 en het aantal adulten per plant met de respectieve standaarddeviaties worden weergegeven in Tabel 6. Met behulp van de Tukey HSD test met 5% significantieniveau is er geen statistisch significant verschil gevonden tussen het aantal J3/J4 per plant voor planten die niet, 1 maal of wekelijks met MeJA behandeld zijn (Figuur 15, paars). Het aantal adulten per wekelijks MeJA-behandelde plant bleek wel statistisch significant ($p_{Wx-1x} = 0,006557$) hoger te zijn dan het aantal adulten per eenmalig MeJA-behandelde plant (Figuur 15, geel). Verder werd aangegeven dat er een trend ($p_{Wx-no} = 0,058259$) is dat het aantal adulten per wekelijks MeJA-behandelde plant, hoger is dan het aantal adulten per waterbehandelde plant.



Figuur 15: Gemiddeld aantal juvenielen (paars) en gemiddeld aantal adulten (geel) per plant voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray), 1 maal MeJA (spray 1x) en wekelijks MeJA (spray Wx). De standaarddeviaties worden weergegeven door verticale foutbalken. Wanneer er eenzelfde letter terug te vinden is boven de verschillende behandelingen, is er geen significant verschil tussen deze behandelingen waargenomen op basis van de Tukey HSD test met 5% significantieniveau.

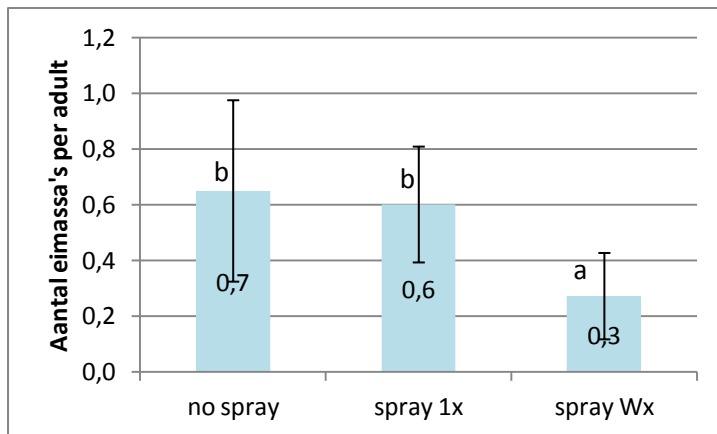
1.2.4 Aantal eimassa's

1.2.4.1 Aantal eimassa's per gram wortel en per plant

Het berekende aantal eimassa's per gram wortel wordt weergegeven in Tabel 5, het berekende aantal eimassa's per plant in Tabel 6. Met behulp van de Tukey HSD test met 5% significantieniveau is er geen statistisch significant verschil gevonden tussen het aantal eimassa's per gram wortel of per plant voor planten die niet, 1 maal of wekelijks met MeJA behandeld zijn (respectievelijk Figuur B3.7 en Figuur B3.8, Bijlage 3).

1.2.4.2 Aantal eimassa's per adult

Het berekende aantal eimassa's per adult en de respectieve standaarddeviaties worden weergegeven in Tabel 6. Met behulp van de Tukey HSD test bleek dat er een trend is dat het aantal eimassa's per adult voor planten die niet of eenmalig met MeJA behandeld zijn, hoger is dan het aantal eimassa's per adult voor planten die wekelijks met MeJA behandeld zijn (Figuur 16). De respectieve p-waarden waren $p_{no-Wx} = 0,072141$ en $p_{1x-Wx} = 0,090092$.



Figuur 16: Gemiddeld aantal eimassa's per adult voor de verschillende elicatiebehandelingen: geen MeJA (no spray), 1 maal MeJA (spray 1x) en wekelijks MeJA (spray Wx). De standaarddeviaties worden weergegeven door verticale foutbalken. Wanneer enkel verschillende letters worden aangegeven boven verschillende behandelingen, is er op basis van de Tukey HSD test met 10% significantieniveau een trend waargenomen dat er een verschil is tussen deze behandelingen.

2. Experiment 2

2.1 Plantparameters

2.1.1 Algemeen overzicht

Tabel 8 en 9 geven per behandeling een overzicht van de gemiddelde waarden en respectieve standaarddeviaties van de plantparameters die genoteerd werden bij het tweede experiment van deze masterproef. De scheutlengtes, scheutgroei, relatieve scheutgroei, het vers scheutgewicht, vers wortelgewicht en vers totaalgewicht werden bepaald voor alle planten. Het droog wortelgewicht en droog totaalgewicht werden enkel bepaald voor niet-geïnoculeerde planten.

De correlaties tussen het verse en droge scheutgewicht, tussen het verse en droge wortelgewicht en tussen het verse en droge totaalgewicht worden respectievelijk voorgesteld in Figuur B3.9, B3.10 en B3.11 (Bijlage 3). Tabel 10, Tabel 11 en Tabel 12 geven een overzicht van de vergelijkingen van de gefitte trendlijnen met de bijhorende R^2 -waarden.

Tabel 8: Gemiddelden en standaarddeviaties van de scheutlengtes, scheutgroei en relatieve scheutgroei. Deze waarden worden weergegeven per behandeling: de eerste kolom geeft het aantal geïnoculeerde nematoden weer, de tweede kolom de behandeling met MeJA

Inoculatie	Elicatie	Scheutlengte (cm)	Scheutgroei (cm)	Relatieve scheutgroei
Geen	Geen	80,8 ± 6,0	51,4 ± 6,2	0,631 ± 0,032
100	Geen	76,6 ± 2,9	46,4 ± 3,4	0,605 ± 0,028
200	Geen	82,6 ± 7,2	53,4 ± 6,6	0,643 ± 0,023
350	Geen	79,6 ± 4,3	50,1 ± 4,9	0,627 ± 0,034
1000	Geen	84,5 ± 4,1	53,8 ± 3,9	0,635 ± 0,022

Geen	MeJA	70,1 ± 2,4	42,5 ± 3,0	0,605 ± 0,027
100	MeJA	71,5 ± 9,0	42,9 ± 6,9	0,595 ± 0,024
200	MeJA	72,7 ± 6,0	44,5 ± 5,2	0,609 ± 0,028
350	MeJA	74,6 ± 5,7	44,8 ± 4,8	0,599 ± 0,031
1000	MeJA	69,9 ± 2,2	42,5 ± 2,3	0,607 ± 0,020

Tabel 9: Gemiddelden en standaarddeviaties van het vers scheutgewicht, vers wortelgewicht, vers totaalgewicht, droog scheutgewicht, droog wortelgewicht en droog totaalgewicht. Deze waarden worden weergegeven per behandeling: de eerste kolom geeft het aantal geïnoculeerde nematoden weer, de tweede kolom de behandeling met MeJA

Inoculatie	Elicitering	Vers scheutgewicht (g)	Vers wortelgewicht (g)	Vers totaalgewicht (g)	Droog scheutgewicht (g)	Droog wortelgewicht (g)	Droog totaalgewicht (g)
Geen	Geen	162,6 ± 16,9	31,3 ± 3,8	194,0 ± 19,9	24,8 ± 3,3	5,2 ± 1,2	30,0 ± 3,8
100	Geen	146,3 ± 19,0	29,0 ± 5,5	175,2 ± 24,0	22,7 ± 2,6	/	/
200	Geen	159,1 ± 13,4	28,1 ± 5,9	187,2 ± 17,7	24,3 ± 2,7	/	/
350	Geen	152,9 ± 12,4	29,6 ± 3,2	182,5 ± 14,8	23,3 ± 2,1	/	/
1000	Geen	166,3 ± 8,1	31,7 ± 2,8	198,0 ± 9,6	26,5 ± 1,8	/	/
Geen	MeJA	163,5 ± 9,0	31,6 ± 4,6	195,1 ± 11,9	27,1 ± 1,7	6,5 ± 1,8	33,5 ± 2,8
100	MeJA	147,9 ± 13,3	29,9 ± 3,8	177,8 ± 16,7	23,2 ± 2,5	/	/
200	MeJA	146,0 ± 10,6	28,5 ± 3,4	174,5 ± 12,6	22,7 ± 2,0	/	/
350	MeJA	167,4 ± 14,7	29,7 ± 4,3	197,8 ± 18,3	26,0 ± 2,3	/	/
1000	MeJA	161,5 ± 11,4	34,1 ± 3,0	195,6 ± 12,6	25,5 ± 1,8	/	/

Tabel 10: Vergelijkingen van de lineaire regressierechten met de bijhorende R²-waarden voor de regressieanalyse van het droge scheutgewicht ten opzichte van het verse scheutgewicht. De regressieanalyse werd acht keer uitgevoerd: eenmaal voor alle planten, eenmaal per plantengroep met een verschillende elicitering: geen MeJA en MeJA, en eenmaal per plantengroep met een verschillende inoculatiebehandeling: 0 nematoden, 100 nematoden, 200 nematoden, 350 nematoden en 1000 nematoden

Plantengroep	Vergelijking lineaire regressierechte	R ² -waarde
Alle planten	$y = 0,166x - 1,4809$	R ² = 0,809
Geen MeJA	$y = 0,1639x - 1,5733$	R ² = 0,8158
MeJA	$y = 0,1691x - 1,567$	R ² = 0,8232
0 nematoden	$y = 0,1917x - 5,4635$	R ² = 0,6969
100 nematoden	$y = 0,1436x + 1,8349$	R ² = 0,837
200 nematoden	$y = 0,1798x - 3,9161$	R ² = 0,9041
350 nematoden	$y = 0,177x - 3,4234$	R ² = 0,9383
1000 nematoden	$y = 0,1373x + 3,4872$	R ² = 0,5739

Tabel 11: Vergelijkingen van de lineaire regressierechten met de bijhorende R²-waarden voor de regressieanalyse van het droge wortelgewicht ten opzichte van het verse wortelgewicht. De regressieanalyse werd drie keer uitgevoerd: eenmaal voor alle niet-geïnoculeerde planten en eenmaal per niet-geïnoculeerde plantengroep met een verschillende elicitatiebehandeling: geen MeJA en MeJA

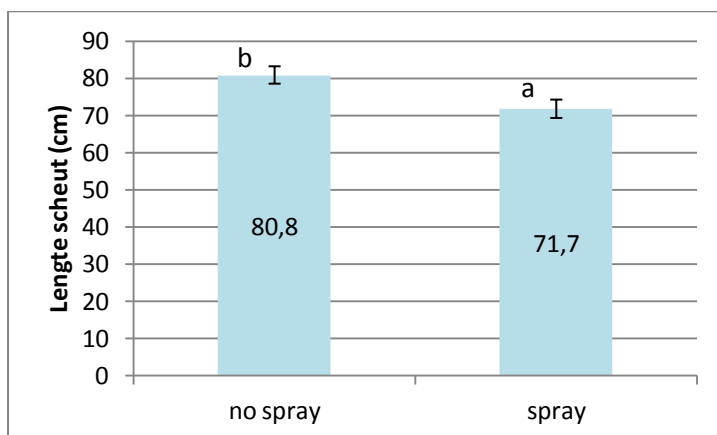
Plantengroep	Vergelijking lineaire regressierechte	R ² -waarde
Alle niet-geïnoculeerde planten	$y = 0,3403x - 4,8847$	R ² = 0,7773
Niet-geïnoculeerd en geen MeJA	$y = 0,2971x - 4,1465$	R ² = 0,8546
Niet-geïnoculeerd en MeJA	$y = 0,3659x - 5,0827$	R ² = 0,8291

Tabel 12: Vergelijkingen van de lineaire regressierechten met de bijhorende R²-waarden voor de regressieanalyse van het droge totaalgewicht ten opzichte van het verse totaalgewicht. De regressieanalyse werd drie keer uitgevoerd: eenmaal voor alle niet-geïnoculeerde planten en eenmaal per niet-geïnoculeerde plantengroep met een verschillende elicitatiebehandeling: geen MeJA en MeJA

Plantengroep	Vergelijking lineaire regressierechte	R ² -waarde
Alle niet-geïnoculeerde planten	$y = 0,2075x - 8,6641$	R ² = 0,7025
Niet-geïnoculeerd en geen MeJA	$y = 0,2097x - 11,268$	R ² = 0,8795
Niet-geïnoculeerd en MeJA	$y = 0,1979x - 5,0656$	R ² = 0,6867

2.1.2 Scheutlengte

De gemeten scheutlengtes en de respectieve standaarddeviaties worden weergegeven in Tabel 8. Met behulp van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau is er geen statistisch significant verschil gevonden tussen de scheutlengtes van planten die met 0, 100, 200, 350 of 1000 nematoden geïnoculeerd zijn (Figuur B3.12, Bijlage 3). De test toonde wel dat de scheutlengte statistisch significant (p-waarde = 0,000113) groter is voor planten die niet met MeJA behandeld zijn dan voor planten die wel met MeJA behandeld zijn (Figuur 17).

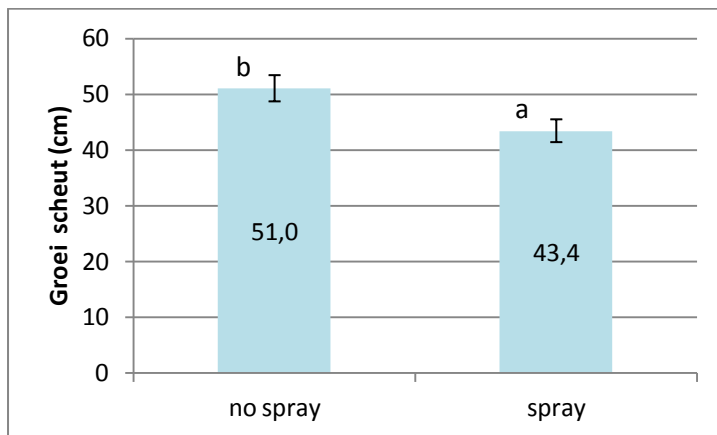


Figuur 17: Gemiddelde scheutlengte voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray) en MeJA (spray). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken. De verschillende letters boven de behandelingen

duiden aan dat er een significant verschil is tussen deze behandelingen, waargenomen op basis van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau.

2.1.3 Scheutgroei

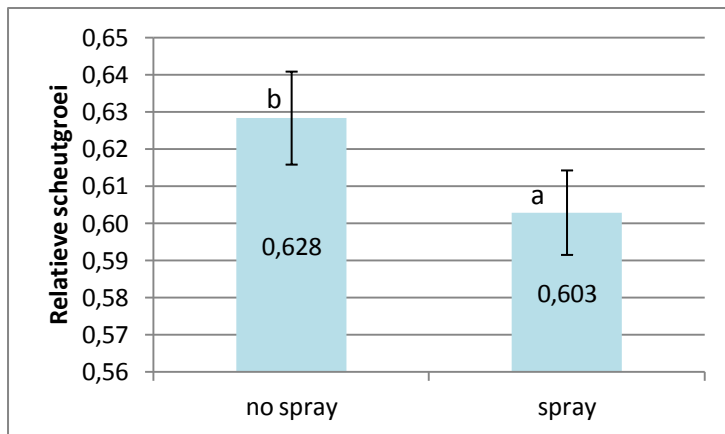
De scheutgroei werd berekend als het verschil tussen de scheutlengte vlak voor de oogst en de scheutlengte voor de elicitatie. De scheutgroei en de respectieve standaarddeviaties worden weergegeven in Tabel 8. Met behulp van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau is er geen statistisch significant verschil gevonden tussen de scheutgroei van planten die met 0, 100, 200, 350 of 1000 nematoden geïnoculeerd zijn (Figuur B3.13, Bijlage 3). De test toonde wel dat de scheutgroei statistisch significant (p -waarde = 0,000111) groter is voor planten die niet met MeJA behandeld zijn, dan voor planten die wel met MeJA behandeld zijn (Figuur 18).



Figuur 18: Gemiddelde scheutgroei voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray) en MeJA (spray). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken. De verschillende letters boven de behandelingen duiden aan dat er een significant verschil is tussen deze behandelingen, waargenomen op basis van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau.

2.1.4 Relatieve scheutgroei

De relatieve scheutgroei werd berekend als een verschil tussen de scheutlengte bij de oogst en de scheutlengte voor de eerste elicitatie, gedeeld door de scheutlengte bij de oogst. De relatieve scheutgroei en de respectieve standaarddeviaties worden weergegeven in Tabel 8. Met behulp van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau is er geen statistisch significant verschil gevonden tussen de relatieve scheutgroei van planten die met 0, 100, 200, 350 of 1000 nematoden geïnoculeerd zijn (Figuur B3.14, Bijlage 3). De test toonde wel dat de relatieve scheutgroei van planten die niet met MeJA behandeld zijn, statistisch significant (p -waarde = 0,000375) groter is dan de relatieve scheutgroei van planten die wel met MeJA behandeld zijn (Figuur 19).



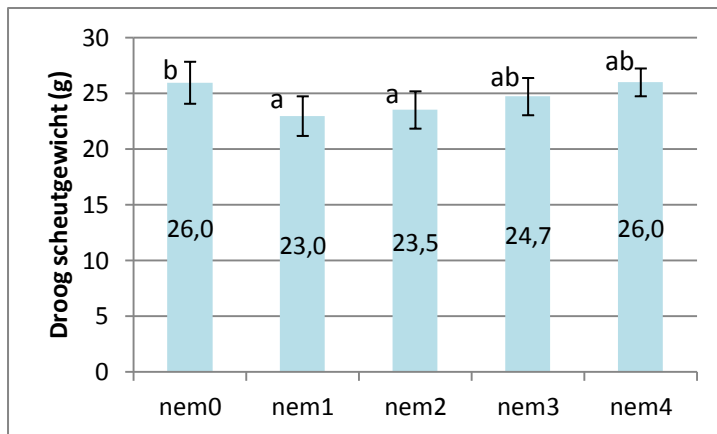
Figuur 19: Gemiddelde relatieve scheutgroei voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray) en MeJA (spray). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken. De verschillende letters boven de behandelingen duiden aan dat er een significant verschil is tussen deze behandelingen, waargenomen op basis van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau.

2.1.5 Vers scheutgewicht

De verse scheutgewichten werden bij de oogst gewogen. Deze worden met de respectieve standaarddeviaties weergegeven in Tabel 9. Met behulp van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau is er geen statistisch significant verschil gevonden tussen het vers scheutgewicht van planten die met 0, 100, 200, 350 of 1000 nematoden geïnoculeerd zijn (Figuur B3.15, Bijlage 3). De test toonde ook geen significant verschil tussen het verse scheutgewicht van planten die wel of niet met MeJA behandeld zijn (Figuur B3.16, Bijlage 3).

2.1.6 Droog scheutgewicht

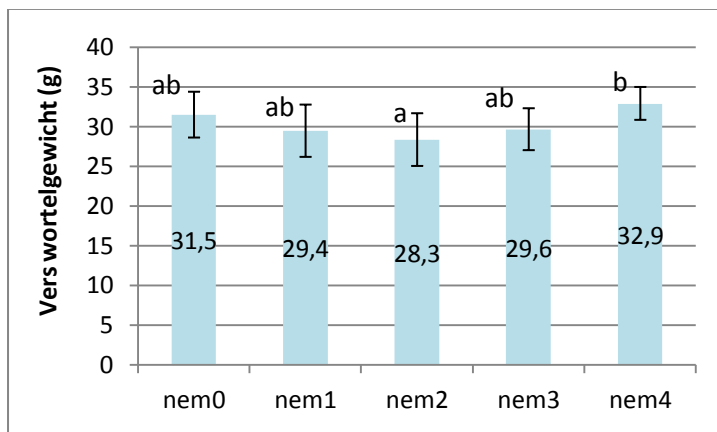
De droge scheutgewichten werden gewogen nadat de scheuten 10 dagen in een oven van 70°C gelegen hadden. De waarden worden met de respectieve standaarddeviaties weergegeven in Tabel 9. De Unequal N HSD test toonde een trend dat het droge scheutgewicht van planten die met 100 of 200 nematoden behandeld zijn, lager is dan het droge scheutgewicht van planten die niet met nematoden behandeld zijn (Figuur 20). De respectieve p-waarden waren $p_{100-0} = 0,079884$ en $p_{200-0} = 0,087735$. De test toonde geen significant verschil tussen het droge scheutgewicht van planten die wel of niet met MeJA behandeld zijn (Figuur B3.17, Bijlage 3).



Figuur 20: Gemiddeld droog scheutgewicht voor de verschillende inoculatiebehandelingen: 0 nematoden (nem0), 100 nematoden (nem1), 200 nematoden (nem2), 350 nematoden (nem3) en 1000 nematoden (nem4). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken. Wanneer enkel verschillende letters worden aangegeven boven verschillende behandelingen, is er een trend dat er een verschil is tussen deze behandelingen, waargenomen op basis van de Unequal HSD test met 10% significantieniveau.

2.1.7 Vers wortelgewicht

De verse wortelgewichten werden gewogen bij de oogst. De waarden worden met de respectieve standaarddeviaties weergegeven in Tabel 9. De Unequal N HSD test met 5% significantieniveau toonde dat het verse wortelgewicht van planten die met 1000 nematoden geïnoculeerd zijn, significant ($p_{1000-200} = 0,030286$) groter is dan het verse wortelgewicht van planten die met 200 nematoden geïnoculeerd zijn (Figuur 21). Verder bleek uit de test dat er geen significant verschil is tussen het verse wortelgewicht van planten die wel of niet met MeJA behandeld zijn (Figuur B3.18).



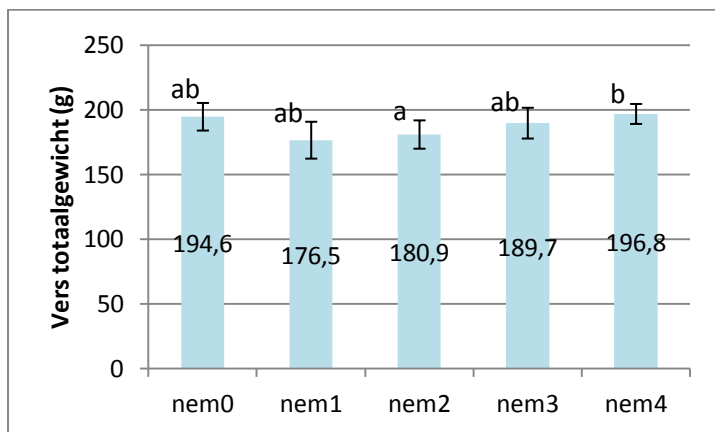
Figuur 21: Gemiddeld vers wortelgewicht voor de verschillende inoculatiebehandelingen: 0 nematoden (nem0), 100 nematoden (nem1), 200 nematoden (nem2), 350 nematoden (nem3) en 1000 nematoden (nem4). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken. Wanneer enkel verschillende letters worden aangegeven boven verschillende behandelingen, is er een statistisch significant verschil tussen deze behandelingen waargenomen op basis van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau.

2.1.8 Droog wortelgewicht

De droge wortelgewichten werden bepaald voor niet-geïnoculeerde planten door de wortelstelsels te wegen nadat ze 10 dagen in een oven van 70°C gelegen hadden. Deze waarden worden met de respectieve standaarddeviaties weergegeven in Tabel 9. Met behulp van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau is er geen statistisch significant verschil gevonden tussen het droge wortelgewicht van planten die wel of niet met MeJA behandeld zijn (Figuur B3.19).

2.1.9 Vers totaalgewicht

De verse totaalgewichten werden berekend als de som van het verse wortelgewicht en het verse stengelgewicht. De waarden worden met de respectieve standaarddeviaties weergegeven in Tabel 9. De Unequal N HSD test toonde een trend ($p_{1000-200} = 0,069251$) dat het verse totaalgewicht van planten die met 1000 nematoden geïnoculeerd zijn, groter is dan het verse totaalgewicht van planten die met 200 nematoden geïnoculeerd zijn (Figuur 22). Verder bleek dat er geen significant verschil is tussen het verse totaalgewicht van planten die wel of niet met MeJA behandeld zijn (Figuur B3.20, Bijlage 3).



Figuur 22: Gemiddeld vers totaalgewicht voor de verschillende inoculatiebehandelingen: 0 nematoden (nem0), 100 nematoden (nem1), 200 nematoden (nem2), 350 nematoden (nem3) en 1000 nematoden (nem4). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken. Wanneer enkel verschillende letters worden aangegeven boven verschillende behandelingen, is er een trend dat er een verschil is tussen deze behandelingen, waargenomen op basis van de Unequal N HSD test met 10% significantieniveau.

2.1.10 Droog totaalgewicht

Het droge totaalgewicht werd berekend voor de niet-geïnoculeerde planten als de som van het droge wortelgewicht en het droge scheutgewicht. De waarden worden met de respectieve standaarddeviaties weergegeven in Tabel 9. Met behulp van de Unequal N HSD test met 5%

significantieniveau is er geen statistisch significant verschil gevonden tussen het droge totaalgewicht van planten die wel of niet met MeJA behandeld (Figuur B3.21, Bijlage 3).

2.2 Nematodenparameters

2.2.1 Algemeen overzicht

Tabel 13 geeft per behandeling een overzicht van de gemiddelde waarden en respectieve standaarddeviaties van de nematodenparameters die genoteerd werden bij het tweede experiment van deze masterproef. De correlaties tussen het aantal eimassa's en de galindex en tussen de inoculatie-densiteit en het aantal eimassa's, worden respectievelijk weergegeven in Figuur B3.22 en Figuur B3.23 (Bijlage 3). Tabel 14 en Tabel 15 geven een overzicht van de vergelijkingen van de gefitte trendlijnen met de bijhorende R²-waarden.

Tabel 13: Gemiddelden en standaarddeviaties van de galindex, het aantal eimassa's per gram wortel en het aantal eimassa's per plant. Deze waarden worden weergegeven per behandeling: de eerste kolom geeft het aantal geïnoculeerde nematoden weer, de tweede kolom de behandeling met MeJA

Inoculatie	Elicitatie	Galindex	Eimassa's per g wortel	Eimassa's per plant
100	Geen	1,5 ± 0,4	0,3 ± 0,1	7,3 ± 4,0
200	Geen	2,5 ± 0,7	1,4 ± 0,8	37,8 ± 17,8
350	Geen	3,1 ± 0,5	2,0 ± 0,9	58,8 ± 29,3
1000	Geen	4,3 ± 0,6	3,3 ± 1,6	99,2 ± 40,9
100	MeJA	1,3 ± 0,4	0,4 ± 0,2	10,2 ± 4,5
200	MeJA	2,4 ± 0,7	1,1 ± 0,6	26,8 ± 13,4
350	MeJA	3,3 ± 0,5	2,0 ± 0,9	53,7 ± 22,5
1000	MeJA	4,6 ± 0,6	3,4 ± 1,8	107,9 ± 47,4

Tabel 14: Vergelijkingen van de gefitte trendlijnen met de bijhorende R²-waarden voor de regressieanalyse van het aantal eimassa's ten opzichte van de galindex. De regressieanalyse werd zeven keer uitgevoerd: eenmaal voor alle geïnoculeerde planten, eenmaal per geïnoculeerde plantengroep met een verschillende elicitatiebehandeling: geen MeJA en MeJA, en eenmaal per geïnoculeerde plantengroep met een verschillende inoculatie-densiteit: 100 nematoden, 200 nematoden, 350 nematoden en 1000 nematoden

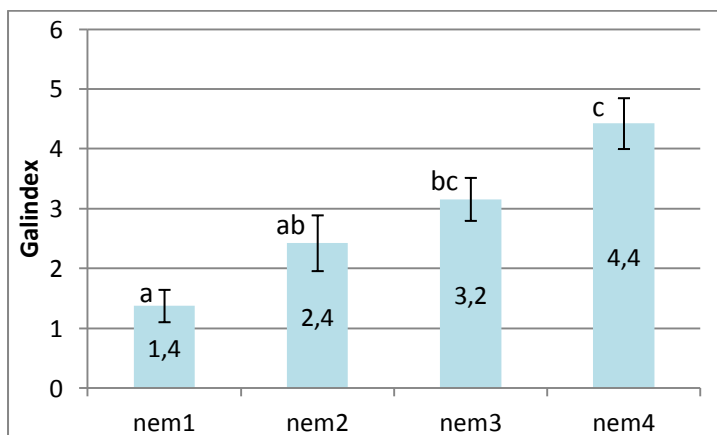
Plantengroep	Vergelijking trendlijn	R ² -waarde
Alle geïnoculeerde planten	$y = 55,468 \ln(x) + 0,8789$	R ² = 0,3996
Geïnoculeerd en geen MeJA	$y = 57,963 \ln(x) - 0,7031$	R ² = 0,4154
Geïnoculeerd en MeJA	$y = 53,498 \ln(x) + 2,0237$	R ² = 0,3872
100 nematoden	$y = 3,642 \ln(x) + 7,983$	R ² = 0,0745
200 nematoden	$y = 35,998 \ln(x) + 4,4118$	R ² = 0,5544
350 nematoden	$y = 56,314 \ln(x) - 6,687$	R ² = 0,1719
1000 nematoden	$y = 94,426 \ln(x) - 34,371$	R ² = 0,1203

Tabel 15: Vergelijkingen van de gefitte trendlijnen met de bijhorende R²-waarden voor de regressieanalyse van het aantal eimassa's ten opzichte van de inoculatiedensiteit. De regressieanalyse werd drie keer uitgevoerd: eenmaal voor alle geïnoculeerde planten en eenmaal per geïnoculeerde plantengroep met een verschillende elicitatiebehandeling: geen MeJA en MeJA

Plantengroep	Vergelijking trendlijn	R ² -waarde
Alle geïnoculeerde planten	$y = 41,543\ln(x) - 185,23$	R ² = 0,4323
Geïnoculeerd en geen MeJA	$y = 39,639\ln(x) - 173,89$	R ² = 0,4234
Geïnoculeerd en MeJA	$y = 43,447\ln(x) - 196,58$	R ² = 0,442

2.2.2 Galindex

De bepaalde galindices en de respectieve standaarddeviaties worden weergegeven in Tabel 13. De Kruskal-Wallis test toonde dat de galindex van planten die met 1000 nematoden geïnoculeerd zijn, significant groter is dan de galindex van planten die met 100 of 200 nematoden geïnoculeerd zijn en dat de galindex van planten die met 350 nematoden geïnoculeerd zijn, significant groter is dan de galindex van planten die met 100 nematoden geïnoculeerd zijn (Figuur 23). De respectieve p-waardes waren $p_{1000-100} = 0,00000$; $p_{1000-200} = 0,000072$ en $p_{350-100} = 0,000229$. De test toonde bovendien een trend ($p_{200-100} = 0,098083$) dat de galindex van planten die met 200 nematoden geïnoculeerd zijn, groter is dan de galindex van planten die met 100 nematoden geïnoculeerd zijn. Anderzijds bleek dat er geen significant verschil is tussen de galindex van planten die wel of niet met MeJA behandeld zijn (Figuur B3.24, Bijlage 3).

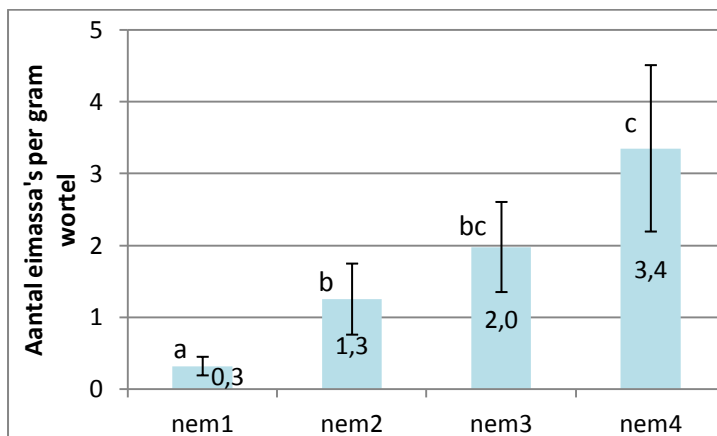


Figuur 23: Gemiddelde galindex voor de verschillende inoculatiebehandelingen: 100 nematoden (nem1), 200 nematoden (nem2), 350 nematoden (nem3) en 1000 nematoden (nem4). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken. Wanneer enkel verschillende letters worden aangegeven boven verschillende behandelingen, is er een statistisch significant verschil tussen deze behandelingen waargenomen op basis van de Kruskal-Wallis test met 5% significantieniveau.

2.2.3 Aantal eimassa's

2.2.3.1 Aantal eimassa's per gram wortel

Het berekende aantal eimassa's per gram wortel met de respectieve standaarddeviaties wordt weergegeven in Tabel 13. De Unequal N HSD test met 5% significantieniveau toonde dat het aantal eimassa's per gram wortel van planten die met 1000, 350 of 200 nematoden geïnoculeerd zijn, significant groter is dan het aantal eimassa's per gram wortel van planten die met 100 nematoden geïnoculeerd zijn (Figuur 24). Verder gaf de test aan dat het aantal eimassa's per gram wortel van planten die met 1000 nematoden geïnoculeerd zijn, ook significant groter is dan het aantal eimassa's per gram wortel van planten die met 200 nematoden geïnoculeerd zijn (Figuur 24). De respectieve p-waardes waren $p_{1000-100} = 0,000149$; $p_{350-100} = 0,000179$; $p_{200-100} = 0,015536$ en $p_{1000-200} = 0,000491$. Anderzijds toonde de test dat er geen statistisch significant verschil is tussen het aantal eimassa's per gram wortel van planten die wel of niet met MeJA behandeld zijn (Figuur B3.25, Bijlage 3).

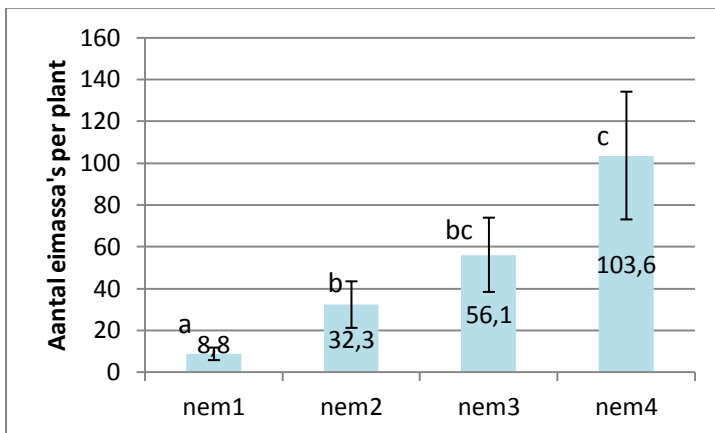


Figuur 24: Gemiddeld aantal eimassa's per gram wortel voor de verschillende inoculatiebehandelingen: 100 nematoden (nem1), 200 nematoden (nem2), 350 nematoden (nem3) en 1000 nematoden (nem4). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken. Wanneer enkel verschillende letters worden aangegeven boven verschillende behandelingen, is er een statistisch significant verschil tussen deze behandelingen waargenomen op basis van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau.

2.2.3.2 Aantal eimassa's per plant

Het berekende aantal eimassa's per plant met de respectieve standaarddeviaties wordt weergegeven in Tabel 13. De Unequal N HSD test met 5% significantieniveau toonde dat het aantal eimassa's per plant voor planten die met 1000, 350 of 200 nematoden geïnoculeerd zijn, significant groter is dan het aantal eimassa's per plant voor planten die met 100 nematoden geïnoculeerd zijn (Figuur 25). De test gaf ook aan dat het aantal eimassa's per plant voor planten die met 1000 nematoden geïnoculeerd zijn, significant groter is dan het aantal eimassa's per plant voor planten die met 200 nematoden geïnoculeerd zijn (Figuur 25). De respectieve p-waardes waren $p_{1000-100} = 0,000149$; $p_{350-100} = 0,000179$; $p_{200-100} = 0,015536$ en $p_{1000-200} = 0,000491$.

$p_{100} = 0,000149$; $p_{200-100} = 0,001830$ en $p_{1000-200} = 0,000203$. Anderzijds toonde de test dat er geen statistisch significant verschil is tussen het aantal eimassa's per plant voor planten die wel of niet met MeJA behandeld zijn (Figuur B3.26, Bijlage 3).



Figuur 25: Gemiddeld aantal eimassa's per plant voor de verschillende inoculatiebehandelingen: 100 nematoden (nem1), 200 nematoden (nem2), 350 nematoden (nem3) en 1000 nematoden (nem4). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken. Wanneer enkel verschillende letters worden aangegeven boven verschillende behandelingen, is er een statistisch significant verschil tussen deze behandelingen waargenomen op basis van de Unequal N HSD test met 5% significantieniveau.

D. Discussie

1. Plantparameters

1.1 Scheutlengte en (relatieve) scheutgroei

Uit de experimenten van deze masterproef bleek dat de scheutlengte negatief beïnvloed werd door te sproeien met MeJA. Dat MeJA een plantsignaal molecule is met een negatief effect op de scheutlengte, wordt beschreven in de literatuur voor *Solanum Lycopersicum* L. cv. Tiny Tim (Vieira dos Santos, et al., 2013), *Pharbitis nil* (Maciejewska & Kopcewicz, 2002), *Prunus persica* (Janoud & Flore, 2003), *Pinus sylvestris* L. (Heijari, et al., 2005) en *Oryza sativa* (Yeh, et al., 1995).

Een mogelijke verklaring voor de daling van de scheutlengten, is dat MeJA ervoor zorgt dat energie wordt ingezet voor de defensie waardoor deze niet meer gebruikt kan worden voor de groei van de plant. Dit fenomeen werd door Walls *et al.* (2005) beschreven als een trade-off tussen groei en defensie (Walls, et al., 2005). Hiermee samen hangt het feit dat het sproeien van MeJA een wondrespons induceert. Jasmonaten accumuleren namelijk in de plant bij verwonding door bijvoorbeeld herbivoren of insecten (Creelman, et al., 1992) (Wasternack, 2007) en deze wondsignalisatie leidt vaak tot een gereduceerde groei van de plant. Dit is mogelijk een verdedigingsrespons van de plant bij verwonding, aangezien er zo minder voedsel beschikbaar is voor de herbivoren of insecten (Schittko, et al., 2001) (Hahlbrock, et al., 2003).

Jasmonaten hebben bovendien een invloed op 'carbon partitioning' (Hanik, et al., 2010), de verdeling van koolstof vanuit fotosynthetische organen (sources) naar de rest van de plant (sinks). Er werd aangetoond dat carbon partitioning een grote impact heeft op de groei en ontwikkeling van een plant (Braun & Slewinski, 2009). Indien de gewijzigde carbon partitioning zou zorgen voor een herverdeling van de fotosyntheseproducten van de scheut naar de wortelstelsels, dan zou dit in niet-geïnoculeerde planten moeten leiden tot grotere of dikkere wortels. Hoewel niet statistisch significant, werd inderdaad in beide experimenten een lichte stijging van het wortelgewicht waargenomen wanneer niet-geïnoculeerde planten met MeJA behandeld werden.

Bovenstaande verklaringen stroken ook met de resultaten van het tweede experiment van deze masterproef, waaruit bleek dat ook de groei en de relatieve groei van de scheut daalden door een behandeling met MeJA.

1.2 Scheutgewicht

Uit het eerste experiment van deze masterproef bleek dat een eenmalige behandeling met MeJA een negatief effect had op het verse scheutgewicht. Aangezien planten die eenmaal met MeJA behandeld werden geen statistisch significant kortere scheut hadden dan planten die niet met MeJA behandeld werden, moesten ze een dunnere scheut hebben om het lagere scheutgewicht te verklaren. Voor de planten uit het tweede experiment, bleek echter het omgekeerde: hier werd geen verschil gevonden tussen het vers scheutgewicht van planten die eenmaal of niet met MeJA behandeld waren, terwijl de planten die eenmaal met MeJA behandeld waren, wel statistisch significant kortere scheuten hadden dan degene die met water behandeld waren. Deze verkorting en verdikking van de scheuten werd dan weer wel teruggevonden bij de planten uit het eerste experiment die wekelijks met MeJA besproeid werden.

De tegenstrijdigheid tussen de resultaten van het eerste en het tweede experiment zou het gevolg kunnen zijn van de verschillende seizoenen waarin de experimenten uitgevoerd werden (zomer vs. herfst). Parameters zoals lichtintensiteit en relatieve vochtigheid zijn immers nauw verbonden met het seizoen en hebben een duidelijke invloed op de plantengroei (Shirley, 1929) (Mortensen, 1986). Anderzijds tonen beide experimenten wel dat de toediening van MeJA een negatief effect heeft op de groei van de bovengrondse plantendelen, hetzij door een verkorting van de scheut, hetzij door een verlaging van het scheutgewicht. Opnieuw wordt erop gewezen dat deze meer gedrongen morfologie mogelijk het gevolg is van een inductie van de wondsignalisatie of een gewijzigde carbon partitioning door MeJA (Schittko, et al., 2001) (Hahlbrock, et al., 2003) (Hanik, et al., 2010).

In het tweede experiment van deze masterproef werd ook het drooggewicht van de planten bepaald. Het versgewicht en drooggewicht van de scheut bleken gemiddeld goed te correleren ($R^2 = 0,809$). De resultaten van het drooggewicht volgden dan ook deze van het versgewicht. Er moet wel opgemerkt worden dat er bij een inoculatie met 1000 nematoden slechts een matig lineair verband is tussen het versgewicht en drooggewicht van de scheut. Bij een hoge inoculatie-densiteit zijn de resultaten van het droog scheutgewicht dus niet representatief voor die van het vers scheutgewicht of omgekeerd.

Overeenkomstig met het verse scheutgewicht, toonden de resultaten van het tweede experiment geen verschil tussen het droge scheutgewicht van planten die wel of niet met MeJA behandeld waren, wat samen genomen met de resultaten van de scheutlengte opnieuw aantoont dat MeJA voor een verkorting en verdikking van de scheut zorgt.

Ook de invloed van de inoculatie-densiteit was gelijkaardig voor het verse en droge scheutgewicht, maar enkel bij het droge scheutgewicht kwam dit tot uiting als statistisch significante verschillen. Een inoculatie met 100 of 200 nematoden zorgde namelijk voor een verlaging van het droge scheutgewicht. Aangezien planten die met 100 en 200 nematoden geïnoculeerd zijn, geen statistisch significant kleinere scheut hebben, moeten deze dunnere scheuten en/of minder bladeren hebben dan planten die niet met nematoden behandeld zijn. Kankam & Adomako (2014) vonden inderdaad dat zowel de stengelomtrek van tomatenplanten als de hoeveelheid bladeren daalt met een stijgende inoculatie-densiteit. Opvallend is dat het droge scheutgewicht niet verder afneemt bij hogere inoculatie-densiteiten (350 en 1000 nematoden). Het lijkt er dus op dat de geïnfecteerde tomatencultivar *Marmande* anders reageert op een inoculatie van 350 of 1000 *M. incognita* dan op een inoculatie van 100 of 200 *M. incognita*. Dit zou het gevolg kunnen zijn van de specifieke combinatie tussen nematodensoort en tomatencultivar. Uit de resultaten van Maleita *et al.* (2012) blijkt inderdaad dat de invloed van de inoculatie-densiteit op tomatenplanten afhankelijk is van zowel de nematodensoort als het tomatengenotype. De meerderheid van de cultivars vertoont echter een verlaging van het scheutgewicht bij een stijgende inoculatie-densiteit omdat een grotere infectie van de wortels zorgt voor een vermindering van de water- en nutriëntopname en bijgevolg een slechte plantengroei (Karssen & Moens, 2006). Gharabadiyan *et al.* (2013) vonden bijvoorbeeld dat het scheutgewicht van 4 geïnoculeerde cultivars proportioneel daalde met de inoculatie-densiteit; Singh & Khurma (2007) vonden hetzelfde voor 5 van 6 geïnoculeerde cultivars. Bovendien bleek dat de cultivar waarvoor het scheutgewicht niet daalde, sowieso weinig negatieve invloed ondervond van de nematodeninoculatie. Dit werd wellicht veroorzaakt door de aanwezigheid van een soort genetische resistentie, een verklaring die niet opgaat voor de *Marmande* cultivar. In de literatuur werd wel meermaals beschreven dat de vermenigvuldigingssnelheid van nematoden daalt met een stijgende initiële populatie (Khan, *et al.*, 2004) (Hussain, *et al.*, 2011) (Pathak, *et al.*, 2000). Aangezien een hogere inoculatie-densiteit een negatieve invloed kan hebben op de vermenigvuldiging van de nematoden, is het mogelijk dat deze ook een negatieve invloed heeft op de groeireductie die door de nematoden wordt veroorzaakt. Anderzijds zou het ook kunnen dat een stijgende negatieve invloed op de plantengroei zich bij een stijgende inoculatie-densiteit niet uit als een reductie van het droge scheutgewicht, maar wel als een daling van het droge wortelgewicht. Binnen de opzet van deze masterproef konden echter geen data verzameld worden voor het droge wortelgewicht van geïnoculeerde planten. Bovendien is het moeilijk om uitspraken te doen op basis van het verse wortelgewicht, aangezien verwacht wordt dat het verse en droge wortelgewicht minder goed correleren voor geïnoculeerde als voor niet-geïnoculeerde planten ($R^2 = 0,7773$).

Een andere reden voor het afwijken van de resultaten i.v.m. het droog scheutgewicht ten opzichte van die van de literatuur, is misschien de grote variatie binnen de data. Er blijkt namelijk per behandeling een grote spreiding te zijn tussen de waarden van het droog scheutgewicht: de individuele waarden kunnen tot 43% afwijken van de gemiddelden. Deze grote variatie zou het gevolg kunnen zijn van de verschillende standplaatsen van de planten in de serre. De invloed van de plaatsing werd evenwel geminimaliseerd door de positie van de planten regelmatig te randomiseren. De variatie zou ook zijn oorzaak kunnen vinden in het feit dat de inoculatie niet bij elke plant hetzelfde is. Het grote aantal nematoden per inoculatie maakt het immers onmogelijk om iedere plant met een identieke populatie te infecteren, zelfs wanneer een identieke inoculatietechniek gebruikt wordt. Elke inoculatiemethode die toegepast wordt in de literatuur, heeft nu eenmaal zijn beperkingen op het gebied van uniformiteit (Xing & Westphal, 2005). De invloed hiervan wordt echter gereduceerd door een aantal herhalingen per behandeling uit te voeren. In deze masterproef werd gekozen voor 8 tot 10 herhalingen per behandeling. Hoewel er in de literatuur soms maar 6 herhalingen uitgevoerd worden, zouden meer herhalingen in toekomstige experimenten misschien kunnen zorgen voor een reductie van de variatie binnen de data.

1.3 Wortelgewicht

In het eerste experiment van deze masterproef werd een trend waargenomen dat het wortelgewicht van planten die met nematoden behandeld zijn, groter is dan het wortelgewicht van planten die niet met nematoden behandeld zijn, wat overeenstemt met de bevindingen door Corbett *et al.* (2011). In de literatuur wordt het extra gewicht verklaard door de galvorming die zou veroorzaken dat er meer fotosyntheseproducten naar de wortels gestuurd worden (Noe, 2008) (Wondafrash, et al., 2013). Dit is aannemelijk aangezien de hypertrofie en hyperplasie van cellen in de gallen heel wat extra energie kosten. Een andere mogelijkheid is echter dat de galvorming ervoor zorgt dat het wortelstelsel meer water vasthoudt. Hoewel dit plausibel lijkt, werd hiervoor geen ondersteunende literatuur gevonden.

Een vergelijking van de wortelgewichten en de scheutgewichten uit het eerste experiment, duidt een verlaging van de ratio scheutgewicht:wortelgewicht door de nematoden aan. Een wijziging van deze ratio betekent dat er ook een wijziging in de algemene gezondheid van de plant optreedt. Meer concreet is het zo dat het gewicht van de scheut ten opzichte van de wortel verlaagt bij omgevingstressen zoals een tekort aan water of mineralen (Fageria & Moreira, 2011). Een tweede mogelijke verklaring voor de stijging van het wortelgewicht is dus de verstoring van de water- en nutriëntenopname die door WKN's wordt veroorzaakt.

Uit het tweede experiment van deze masterproef bleek dat het verse wortelgewicht daalde bij een inoculatie van 100 en 200 nematoden en dan terug steeg bij een inoculatie van 350 en 1000

nematoden. Dit is in tegenstrijd met de bevindingen uit de literatuur waar een stijgende inoculatie-densiteit zorgt voor een daling van het wortelgewicht (Kankam & Adomako, 2014) (Gharabadiyan, et al., 2013) (Singh & Khurma, 2007). Opvallend is wel dat het wortelgewicht helemaal de trend volgt van het stengelgewicht, dat ook daalde tot een inoculatie van 200 nematoden en dan terug steeg. Dit versterkt het vermoeden dat een hogere inoculatie-densiteit een negatieve invloed heeft op de groeireductie die door de nematoden wordt veroorzaakt, hoewel ook hier opgemerkt moet worden dat er een erg grote variatie is tussen de data (afwijkingen tot 76% van de individuele waarden t.o.v. de gemiddelden). Daarenboven zorgt de grotere populatie voor meer galvorming, wat ook een oorzaak zou kunnen zijn voor het extra gewicht. Zoals hierboven aangegeven, leidde een inoculatie met 1000 nematoden in het eerste experiment immers ook tot een verhoging van het wortelgewicht.

In tegenstelling tot het scheutgewicht, bleek uit de experimenten van deze masterproef dat het verse wortelgewicht niet beïnvloed werd door toediening van MeJA. Het tweede experiment toonde dat ook het droge wortelgewicht onafhankelijk was van de behandeling met MeJA, wat in de lijn ligt van de verwachtingen, aangezien er een goede correlatie gevonden werd tussen het droge en verse wortelgewicht ($R^2 = 0,7773$) bij niet-geïnoculeerde planten. Een mogelijke reden waarom het wortelgewicht niet daalt bij een behandeling met MeJA, is het feit dat de wortels (in tegenstelling tot de scheut) niet rechtstreeks in contact komen met MeJA. Uit de literatuur blijkt namelijk dat wortelstelsels die rechtstreeks in contact komen met de toegediende MeJA, vaak wel een reductie in de groei vertonen (Staswick, et al., 1992) (Wang, 1998), terwijl de toediening van MeJA via een bladspray meestal geen invloed heeft op de wortelgroei (Vieira dos Santos, et al., 2013) (Cooper, et al., 2005).

1.4 Totaalgewicht

In het eerste experiment van deze masterproef werd het totaalgewicht van planten negatief beïnvloed door een eenmalige of wekelijkse MeJA-behandeling. Dit ligt in de lijn van de verwachtingen aangezien het totaalgewicht berekend werd als de som van het scheut- en wortelgewicht en de toediening van MeJA het scheutgewicht deed dalen, terwijl het wortelgewicht nagenoeg onveranderd bleef. De daling van het totaalgewicht strookt ook met het idee dat MeJA een wondrespons induceert die leidt tot een gereduceerde groei van de plant. In het tweede experiment van deze masterproef werd echter geen verschil gevonden tussen het droge of verse totaalgewicht van planten die wel of niet met MeJA behandeld waren. Dit werd echter ook verwacht, aangezien noch het scheutgewicht, noch het wortelgewicht beïnvloed werden door te sprayen met MeJA. Uit de regressie-analyse van het droge totaalgewicht ten opzichte van het verse totaalgewicht, bleek dan

weer wel dat de correlatie veel sterker was voor planten die met water besproeid waren ($R^2 = 0,8795$) dan voor planten die met MeJA besproeid waren ($R^2 = 0,6867$). MeJA lijkt dus een wisselende invloed te hebben op de waterretentie van de plant. Dit zou te maken kunnen hebben met het feit dat MeJA kan zorgen voor het sluiten van huidmondjes (Suhita, et al., 2004) (Wang, 1999) (Hossain, et al., 2011). Het sluiten van de huidmondjes leidt immers tot een verminderde transpiratie wat een verhoging van de waterretentie tot gevolg heeft (Arve, et al., 2011) (Li, et al., 2013). Anderzijds is het sluiten van de huidmondjes een tijdelijk fenomeen, waardoor er weinig kans is dat dit resulteert in een blijvende verhoging van de waterinhoud. Bovendien werd de negatieve invloed van de elicitatie op de correlatiesterkte in veel mindere mate waargenomen voor het wortelgewicht en helemaal niet voor het stengelgewicht. Om verdere uitspraken te kunnen doen over de invloed van MeJA op de waterretentie, is het wenselijk om bij een groter aantal planten te bestuderen hoe MeJA de correlatie tussen het verse en droge totaalgewicht beïnvloedt.

De resultaten van het tweede experiment gaven aan dat het totaalgewicht eerst daalde bij een toenemende inoculatie-densiteit en daarna steeg. Dit resultaat volgt de trend van het verse wortelgewicht, wat aannemelijk is aangezien er geen significant verschil gevonden werd bij de verse scheutgewichten en het totaalgewicht berekend werd als de som van vers wortel- en scheutgewicht.

2. Nematodenparameters

2.1. Galindex

Er werd in de twee experimenten van deze masterproef geen verschil gevonden tussen de galindices van planten die niet, 1 maal of wekelijks met MeJA behandeld werden. Nochtans vonden Vieira dos Santos *et al.* (2013) en Zhang *et al.* (2011) dat sprayen met MeJA zorgt voor een verminderd aantal gallen op tomatenwortels. Fujimoto *et al.* (2011) keken niet naar de galindex, maar toonden wel aan dat een spray met MeJA de penetratie door nematoden verlaagt. Om een beter inzicht te krijgen in mogelijke redenen voor de discrepantie tussen de resultaten van deze masterproef en die uit bovenvermelde literatuur, geeft Tabel 16 een overzicht van de verschillen in de uitvoering tussen de experimenten.

Tabel 16: verschillen in de uitvoering tussen de experimenten van Fujimoto *et al.* (2011), Vieira dos Santos *et al.* (2013), Zhang *et al.* (2011) en deze masterproef

	Fujimoto <i>et al.</i>	Vieira dos Santos <i>et al.</i>	Zhang <i>et al.</i>	Masterproef
Herhaling spray	Herhaaldelijk	Herhaaldelijk	Eenmalig	Eenmalig & herhaaldelijk
Nematode	<i>M. incognita</i>	<i>M. chitwoodi</i>	<i>M. incognita</i>	<i>M. incognita</i>
Inoculatie-densiteit (aantal J2)	200	300	5000	1000 & 100/200/350/1000
Concentratie MeJA	0,1; 0,5; 1 & 5 mM	1,1 mM	1,5 mM	2 mM
<i>Solanum Lycopersicum</i> L. cv.	Momotaro & Fukuju No. 2	Tiny Tim	Castlemart	Marmande
Tijdstip spray	2 ^{de} bladstadium	2 ^{de} bladstadium	4 ^{de} bladstadium	5 ^{de} bladstadium
Tijd tussen spray en inoculatie	1, 24, 48, of 72h	48h	0h	48h

Een eerste punt waarop zowel de experimenten van Fujimoto *et al.* (2011), Vieira dos Santos *et al.* (2013) als Zhang *et al.* (2011) verschillen van de experimenten uit deze masterproef, is de gebruikte concentratie van de defensie-elicitor. Moreira *et al.* (2012) gaven al aan dat de weerstandsverhoging tegen ziekteverwekkers niet altijd lineair afhankelijk is van de dosis en dat (te) hoge concentraties aan MeJA zelfs kunnen zorgen voor fytotoxiciteit in de plant. Bovendien bleek uit de experimenten van Fujimoto *et al.* (2011) dat de planten die besproeid waren met 5 mM MeJA verzwakt waren of zelfs niet overleefden als gevolg van de schadelijke effecten van MeJA zoals ernstige bladverbranding. Het zou dus kunnen dat de gebruikte concentratie MeJA in deze masterproef aan de hoge kant was en zorgde voor een algemene daling van de fitness van de plant, waardoor het positieve effect van de elicitor teniet gedaan werd. Deze verklaring is echter weinig plausibel aangezien zowel de enkelvoudig als meervoudig besproeide planten uit de experimenten van deze masterproef alle kenmerken hadden van gezonde tomatenplanten. Dit werd duidelijk aan de hand van de opgemeten plantparameters en doordat planten die met MeJA behandeld waren, niet op het zicht onderscheiden konden worden van planten die met water behandeld waren. Ook eerdere experimenten (ongepubliceerd) die uitgevoerd werden door het Labo Nematologie aan de KULeuven, toonden dat de Marmande cultivar geen schade ondervond van een behandeling met 2 mM MeJA. Bovendien is de gebruikte 2 mM geen aanzienlijk grotere concentratie dan de 1,5 mM die gebruikt werd in het experiment van Zhang *et al.* (2011). Ook wanneer andere plantensoorten zoals de *Punica granatum* L. en *Medicago sativa* L. met 2 mM MeJA besproeid werden, bleken deze hier geen schadelijke effecten van te ondervinden (Vatanparast, et al., 2012) (Abdel-Monaim, et al., 2012).

Een tweede verschilpunt is de ouderdom van de planten: zowel in de experimenten van Fujimoto *et al.* (2011), Vieira dos Santos *et al.* (2013) als Zhang *et al.* (2011) waren de tomatenplanten minder volgroeid dan in de experimenten van deze masterproef. Uit de literatuur blijkt echter dat de gevoeligheid voor nematoden daalt naarmate planten ouder worden (Olthof, 1982) (Freckman & Caswell, 1985). Op basis daarvan kan dus niet verklaard worden waarom er meer galvorming is bij de planten van de masterproef. Walters (2009) maakt daarenboven gewag van het feit dat een voorafgaande geïnduceerde defensie als gevolg van de continue interactie tussen een plant en zijn omgeving, het vermogen van de plant om te reageren op latere inducties niet compromitteert. De ouderdom van de planten lijkt dus geen oorzaak te zijn voor de discrepantie tussen de resultaten van deze masterproef en die uit de literatuur vermeld in Tabel 16. Desalniettemin moet opgemerkt worden dat plantendefensie een bijzonder complex gegeven is, waardoor het zeer moeilijk is om in te schatten wat de relatie is tussen plantenouderdom en de doeltreffendheid van een geïnduceerde defensie tegen specifieke pathogenen.

Een derde punt waarin bovenstaande experimenten verschillen, is de geïnculeerde cultivar. Er is dus een mogelijkheid dat MeJA een ander effect heeft op verschillende cultivars van dezelfde plantensoort. In de literatuur werd namelijk al aangehaald dat enkel bepaalde cultivars reageren op bepaalde volatiele organische componenten (Ahman & Ninkovic, 2010). Ook de effectiviteit van de geïnduceerde defensie en de differentiële genexpressie verschillen bij elicitoren naargelang de cultivar waarop ze toegepast worden (Herman, et al., 2007) (Altamiranda, et al., 2008) (Walters & Fontaine, 2009). Deze verklaring wordt echter weerlegd door genexpressie-analyses (ongepubliceerd) die uitgevoerd werden door het Labo Nematologie aan de KULeuven. Hieruit bleek namelijk door de aanschakeling van genen die coderen voor Proteinase Inhibitor I en II en PR-proteïne P2, dat een concentratie van 2 mM MeJA wel in staat is een systemische defensierespons uit te lokken. Omdat nematodenpopulaties zeer divers zijn en een flexibel genoom hebben (Perry & Moens, 2011) (Castagnone-Sereno, 2002) is een andere mogelijkheid dat de gebruikte populatie zich op vrij korte termijn aangepast heeft om optimaal de tomatencultivar te infecteren waarmee ze al meerdere jaren continu in contact is. Voor de inoculatie tijdens de experimenten van deze masterproef, werden immers steeds nematoden van de *in vivo*-stock gebruikt, die opgekweekt werd op tomatenplanten van dezelfde cultivar als de planten gebruikt in de experimenten, namelijk *Solanum Lycopersicum* L. cv. Marmande. Het zou dus kunnen dat de gebruikte nematodenpopulatie zich zodanig geoptimaliseerd heeft dat de geïnduceerde defensie die opgewekt wordt door elicitoren onvoldoende is om de plant nog te beschermen tegen WKN's. Er is tenslotte al gebleken dat bepaalde *M. incognita*-populaties zich op enkele jaren tijd kunnen ontwikkelen tot populaties die virulent zijn voor tomatenplanten met het Mi-resistentiegen, een gen dat oorspronkelijk voor

resistentie tegen WKN's zorgde in vele cultivars (Eddaoudi, et al., 1997) (Kaloshian, et al., 1996) (Castagnone-Sereno, 2002) (Noling, 2012). In de literatuur wordt zelden de tomatencultivar gespecificeerd waarop de nematodencultuur gekweekt wordt. Vieira dos Santos *et al.* (2013) deden dit wel en hier bleken de cultivars gebruikt voor het kweken van de nematoden en de cultivars gebruikt voor de elicitatie-experimenten te verschillen. Hoewel dit een verklaring zou kunnen zijn voor het afwijken van de resultaten van deze masterproef ten opzichte van de resultaten van andere elicitatie-experimenten, moet toch opgemerkt worden dat zowel op het veld als in de serres de kans reëel is dat ook daar dezelfde nematodensoort gedurende meerdere jaren in contact is met dezelfde tomatencultivar. De resultaten van deze masterproef indachtig, is het in dat geval mogelijk dat het gebruik van defensie-elicatoren niet kan zorgen voor een duurzame bestrijding van WKN's.

Het tweede experiment van deze masterproef toonde dat de galindex steeg met een stijgend aantal nematoden bij de inoculatie. Hieruit blijkt dat de inoculatie met verschillende densiteiten correct werd uitgevoerd, want ook in de literatuur wordt beschreven dat een stijgend inoculatieniveau samengaat met een stijging in het aantal gallen en de galindex (Kankam & Adomako, 2014) (Singh & Khurma, 2007).

2.2 Aantal nematoden

Het eerste experiment van deze masterproef toonde dat het aantal nematoden (per gram wortel of per plant) hoger was bij planten die wekelijks met MeJA behandeld waren dan bij planten die eenmaal of niet met MeJA behandeld waren. Beide bleken veroorzaakt te worden door een positief effect op het aantal adulten bij het wekelijks spuiten van MeJA. Ook deze bevindingen zijn in tegenstrijd met die van Fujimoto *et al.* (2011) en Vieira dos Santos *et al.* (2013). Zij toonden aan dat er minder nematoden aanwezig waren in planten die wel met MeJA behandeld werden dan in planten die niet met MeJA behandeld werden. Voor de experimenten uitgevoerd door Fujimoto *et al.* (2011) bleek dit verschil zelfs significant. Op basis van de resultaten uit deze masterproef lijkt het er echter op dat MeJA niet in staat is om WKN's in tomaat te bestrijden.

Ondanks het feit dat wekelijks met MeJA spuiten samenhangt met een verhoging van het aantal nematoden, is het onwaarschijnlijk dat dit enkel het gevolg is van een verhoogde penetratie. Het is namelijk zo dat de penetratie door juveniele nematoden snel na de inoculatie moet gebeuren, aangezien deze slechts enkele dagen in de bodem kunnen overleven (Curtis, et al., 2009) (Horticulture Australia, 2014). Indien MeJA een positieve invloed zou hebben op de penetratie, en dit de enige reden zou zijn voor het groter aantal nematoden, dan zouden de penetratie en het aantal nematoden ook bij een eenmalige toediening van MeJA groter moeten zijn. Omdat dit niet het geval is, is het waarschijnlijk dat een herhaalde spray met MeJA zorgt voor een grotere ontvankelijkheid

van de plant ten opzichte van de nematoden. Concreet zou dat betekenen dat een wekelijks verhoogde concentratie aan jasmonaten een omgeving in de plant creëert waarin zich meer nematoden kunnen ontwikkelen, bijvoorbeeld doordat er meer of grotere reuzencellen gevormd kunnen worden. De extra energie die hiervoor nodig is, zou dan afkomstig kunnen zijn van fotosyntheseproducten die door MeJA herverdeeld werden ten voordele van de wortels. Er werd immers al aangehaald dat de groeireductie van de bovengrondse plantendelen mogelijk veroorzaakt wordt doordat MeJA zorgt voor een wijziging van de carbon partitioning.

Zelfs wanneer de positieve invloed van een wekelijkse MeJA-spray op de ontvankelijkheid voor WKN's aangenomen wordt, is dit onvoldoende om het groter aantal nematoden te verklaren aangezien er in verschillende studies aangetoond werd dat de exogene toediening van jasmonaten leidt tot de aanmaak van o.a flavonoïden, fytoëctosteroiden en proteïnase inhibitoren (PI's), producten die nefast zijn voor nematoden (Zhang, et al., 2011) (Fujimoto, et al., 2011) (Cooper, et al., 2005) (Udalova, et al., 2014). Een mogelijkheid is echter dat de gebruikte *M. incognita* zich ontwikkeld heeft tot een populatie die niet meer gevoelig is voor defensieproducten die opgereguleerd worden in de Marmande cultivar. Zoals eerder aangegeven, zijn er immers ook populaties die niet langer gevoelig zijn voor de defensie van planten met het Mi-resistentiegen (Eddaoudi, et al., 1997) (Kaloshian, et al., 1996) (Castagnone-Sereno, 2002). Om meer duidelijkheid te krijgen hieromtrent, is het aangewezen om in verdere experimenten na te gaan welke relatie er is tussen het expressieniveau van de defensiegenen in de gebruikte Marmande cultivar en de nematodenpopulatie. Fujimoto *et al.* (2011), Zhang *et al.* (2011) en Fan *et al.* (2015) vonden zo een positief effect van de exogene toediening van jasmonaten op de expressie van PI's en constateerden dat een verhoogde PI-productie samenhangt met een vermindering van de WKN-invasie en/of galvorming. Een bijkomende mogelijkheid is dat de gebruikte nematodenpopulatie zich zo ontwikkeld heeft dat deze in staat is om de inductie van de defensiegenen ongedaan te maken. Dit blijkt de meest plausibele verklaring te zijn aangezien de experimenten van Sanz-Alfárez *et al.* (2008) aangaven dat *M. Javanica* de expressie van SAR-merkers die initieel door defensie-elicatoren geïnduceerd werden, kon onderdrukken in een Marmande cultivar.

2.3 Aantal eimassa's

Uit de resultaten van het eerste experiment van deze masterproef kon afgeleid worden dat het aantal eimassa's per adult daalde wanneer geïnfecteerde planten wekelijks met MeJA behandeld werden. Dit is in overeenkomst met de bevindingen van Cooper *et al.* (2005) en Fujimoto *et al.* (2011). Zij schreven dit toe aan een daling van de reproductiviteit van nematoden onder invloed van

MeJA. Opvallend is wel dat dit in beide experimenten gepaard ging met een significante verlaging van de totale productie van eimassa's, in tegenstelling tot het eerste experiment van deze masterproef.

De significante daling van het aantal eimassa's per adult bij een wekelijkse spray van MeJA zou inderdaad kunnen duiden op een verlaging van de reproductiviteit, maar kan ook het gevolg zijn van het significant groter aantal adulten. Deze laatste mogelijkheid wordt ondersteund door het feit dat MeJA noch in het eerste, noch in het tweede experiment van deze masterproef een daling van het aantal eimassa's per gram wortel of per plant veroorzaakte. Daarenboven is het zo dat als een herhaalde MeJA-spray daadwerkelijk voor een grotere ontvankelijkheid van nematoden zorgt, de extra fotosyntheseproducten die naar de wortels gestuurd worden deels aangewend moeten worden voor de uitgebreidere ontwikkeling van reuzencellen. Bij een enkelvoudige spray daarentegen, moeten de extra fotosyntheseproducten hier niet voor ingezet worden en bovendien niet verdeeld worden tussen een groter aantal nematoden. Hierdoor blijft er meer energie over voor individuele nematoden waardoor er meer eimassa's per adult geproduceerd kunnen worden in planten die eenmalig met MeJA behandeld zijn dan in planten die wekelijks met MeJA behandeld zijn. Om meer zekerheid te krijgen over de invloed van de frequentie van een MeJA-behandeling op de nematodenreproductiviteit, zou het interessant zijn om de fecunditeit (aantal eitjes/eimassa) na te gaan. In de gegeven opzet was dit echter niet mogelijk omdat de meeste eitjes weggewassen werden tijdens de oogst en de kleuring van de wortelstelsels.

De resultaten van het tweede experiment gaven aan dat het aantal eimassa's per gram wortel en per plant steeg met een stijgende inoculatie-densiteit. Het aantal eimassa's per gram wortel en per plant liep dus volledig parallel met de galindex, wat extra bevestigt dat de inoculatie met verschillende densiteiten correct werd uitgevoerd.

In het tweede experiment werd ook een regressieanalyse uitgevoerd van het aantal eimassa's per plant ten opzichte van de galindex en ten opzichte van de inoculatie-densiteit. Omdat de nematodenparameters (met uitzondering van de galindex) logaritmisch getransformeerd werden vóór statistische analyse, werd voor een logaritmisch verband gekozen. Bovendien stemt deze keuze overeen met de correlatiemodellen uit de literatuur i.v.m. nematoden (Seinhorst, 1965) (Proctor & Marks, 1974).

De regressieanalyse van het aantal eimassa's per plant ten opzichte van de galindex toonde gemiddeld een matige correlatie ($R^2 = 0,3996$). De correlatie werd echter zwak tot zeer zwak wanneer gekeken werd per inoculatie-densiteit. Dit werd ook duidelijk aan de hand van de regressieanalyse van het aantal eimassa's ten opzichte van de galindex uit het eerste experiment, waar de gemiddelde R^2 -waarde gelijk was aan 0,0139. Hieruit volgt dat de galindex geen geschikte

parameter is om het aantal eimassa's in te schatten. Het is daarom belangrijk om zowel de galindex als het aantal eimassa's te bepalen. De galindex is dan een maat voor het huidige aantal gallen, wat een idee geeft hoe sterk de water- en nutriëntopname van de plant verstoord is, terwijl het aantal eitjes een indicatie geeft van de reproductiviteit van de nematoden en van hoeveel nematoden uit de volgende generatie de wortel zouden kunnen infecteren, wat op zijn beurt zou zorgen voor een verhoging van de galvorming.

Verder werd er een regressieanalyse uitgevoerd van het aantal eimassa's ten opzichte van de inoculatie-densiteit waarbij ook een matige correlatie ($R^2 = 0,4323$) werd waargenomen. De hoeveelheid eimassa's die de populatie uiteindelijk produceert, kan dus hoger of lager zijn dan verwacht op basis van de beginpopulatie. Dit wijst nogmaals op de grote variabiliteit die er bestaat voor plant-WKN interacties: zelfs wanneer een even grote hoeveelheid nematoden uit een gehomogeniseerde populatie geïnoculeerd wordt op planten van dezelfde cultivar, zijn er grote verschillen te vinden in het aantal eimassa's per plant.

E. Conclusie

1. Algemene bespreking

In deze masterproef werd via twee experimenten onderzocht of het behandelen van tomatenplanten met MeJA als defensie-elicitor effectief is voor de bestrijding van de wortelknobbelnematode *M. incognita* in tomaat. Hiervoor werd enerzijds het effect van MeJA op de tomatenplanten bestudeerd en werd anderzijds gekeken of dit effect zich uitte als een verdediging tegen een WKN-infectie. In het eerste experiment werd daarenboven nagegaan of de frequentie van de behandeling invloed had op het bestrijdingseffect van MeJA en in het tweede experiment werd gecontroleerd of de inoculatie-densiteit de effectiviteit van MeJA kon beïnvloeden.

Uit beide experimenten bleek dat MeJA een negatief effect had op de groei van de bovengrondse plantendelen. Dit kwam tot uiting als een daling van de scheutlengte en de (relatieve) scheutgroei of als een verlaging van het scheutgewicht. Deze observaties werden toegeschreven aan een combinatie van een trade-off tussen groei en defensie en een wijziging van de carbon partitioning door MeJA. Er werd geen reductie in de groei van plantenwortels waargenomen, wellicht omdat de ondergrondse plantendelen (in tegenstelling tot de bovengrondse) niet rechtstreeks in contact kwamen met MeJA. Hoewel niet statistisch significant, werd in beide experimenten zelfs een lichte stijging van het wortelgewicht waargenomen wanneer niet-geïnoculeerde planten met MeJA behandeld werden. Een mogelijke verklaring hiervoor is dat de gewijzigde carbon partitioning zorgt voor een herverdeling van de fotosyntheseproducten van de scheut naar de wortels.

Hoewel de verminderde groei wees op de activatie van een defensierespons en voorgaande experimenten van het Labo Nematologie (KULeuven) aantoonden dat 2 mM MeJA een systemische defensie kan induceren, daalden in geen van beide experimenten de galindices, het totaal aantal nematoden of eimassa's door elicitatie. MeJA had dus noch door een herhaalde toediening, noch bij verschillende inoculatie-densiteiten een negatieve invloed op de nematodenparameters. Een wekelijkse spray met MeJA leek de plant zelfs ontvankelijker te maken voor meer nematoden. Het enige negatieve effect van MeJA op de nematodenpopulatie, was een daling van het aantal eimassa's per adult bij een wekelijkse spray. Deze daling werd echter eerder toegeschreven aan een significant groter aantal adulten dan aan een verlaging van de nematodenreproductiviteit. Onder de omstandigheden van de twee experimenten binnen deze masterproef, kon dus geen bestrijdingseffect van MeJA ten opzichte van *M. incognita* waargenomen worden.

De wijze waarop en de intensiteit waarmee nematoden schade veroorzaken, kan sterk afhangen van de geïnfecteerde cultivar. Zo bleek bijvoorbeeld dat geïnfecteerde planten van de Marmande cultivar anders reageerden op een inoculatie met 350-1000 nematoden dan op een inoculatie met 100-200 nematoden. Dit zou veroorzaakt kunnen worden doordat een grotere beginpopulatie een negatief effect heeft op de groeireductie die *M. Incognita* veroorzaakt of doordat de stijgende inoculatie-densiteit niet uitmondt in een reductie van het droge scheutgewicht, maar wel in een daling van het droge wortelgewicht. Voor het droge wortelgewicht van geïnoculeerde planten kon binnen het bestek van deze masterproef echter geen data verzameld worden. Een andere reden voor de gedifferentieerde reactie op verschillende inoculatie-densiteiten, is misschien de grote variatie binnen de data die voornamelijk zijn oorsprong vindt in het feit dat elke inoculatietechniek zijn beperkingen heeft qua uniformiteit.

In toekomstige experimenten is het aangewezen om te onderzoeken of de combinatie tussen de geïnfecteerde cultivar en nematodensoort ook de doeltreffendheid van MeJA als nematodenbestrijdingsmiddel beïnvloedt. Het zou namelijk kunnen dat de gebruikte *M. incognita* zich ontwikkeld heeft tot een populatie die niet meer gevoelig is voor de defensiewegen die door MeJA binnen de Marmande cultivar opgereguleerd worden. Onderzoeken die bepalen welke relatie er is tussen het expressieniveau van de opgereguleerde defensiegenen en de nematodenpopulatie, kunnen hierover meer duidelijkheid creëren. De meest waarschijnlijke oorzaak is echter dat de gebruikte nematodenpopulatie zich zo ontwikkeld heeft dat deze in staat is om de inductie van de defensiegenen ongedaan te maken. Dit fenomeen werd voor de Marmande cultivar immers al eens beschreven in de literatuur.

Verder zou het interessant zijn om de duurzaamheid van de WKN-bestrijding na te gaan voor de cultivar-nematoden combinaties waarvoor het bestrijdingseffect van MeJA in de literatuur reeds werd aangetoond. Omdat dezelfde nematodensoort zowel op het veld als in de serre vaak meerdere jaren in contact is met dezelfde tomatencultivar, is het immers belangrijk om in lange-termijnexperimenten na te gaan of (en hoe snel) deze nematodensoort de geïnduceerde defensie kan omzeilen of uitschakelen.

Het is ook belangrijk dat in toekomstige experimenten voldoende aandacht besteed wordt aan de variabiliteit binnen de data. Deze variatie wordt voornamelijk veroorzaakt door het feit dat een inoculatie nooit bij elke plant hetzelfde is, zelfs wanneer een identieke inoculatietechniek gebruikt wordt. De invloed hiervan zou bijvoorbeeld gereduceerd kunnen worden door in toekomstige experimenten per behandeling meer herhalingen uit te voeren. Statistiek is een zeer nuttige tool en onontbeerlijk bij de uitvoering van nematodenexperimenten, desalniettemin is het van groot belang

dat statistische data steeds kritisch geëvalueerd worden en dat de experimentele set-up zodanig geoptimaliseerd wordt dat er een minimale variatie is binnen deze data.

2. Besluit

Op basis van deze masterproef werd het behandelen van Marmande tomatenplanten met MeJA als defensie-elicitor niet effectief bevonden voor de bestrijding van *M. incognita*, hoewel er wel indicaties waren dat MeJA een systemische defensie induceerde. De discrepantie tussen deze resultaten en de bevindingen uit de literatuur, toont de enorme complexiteit van de interactie tussen nematoden en planten en van de invloed van defensie-elicitors hierop. Ze toont ook dat er bijkomend onderzoek nodig is om te bepalen (1) in welke cultivars wortelknobbelnematoden bestreden kunnen worden via MeJA (2) waarin de geïnduceerde defensie verschilt voor cultivars waarin WKN's bestreden kunnen worden via MeJA t.o.v. cultivars waarin dit niet mogelijk is, (3) of de inductie van de defensiegenen door MeJA gewijzigd/ongedaan gemaakt wordt bij een nematodeninfectie en (4) wat de duurzaamheid is van een doeltreffende elicitor-geïnduceerde defensie tegen een nematodensoort. Ondanks de veelbelovende literatuur in verband met de bestrijding van WKN's via defensie-elicitors, is er dus zeker nog nood aan additionele experimenten.

Bibliografie

- Abad, P. et al., 2009. Invasion, Feeding and Development. In: *Root-knot nematodes*. Pondicherry, India: MPG Books Group, pp. 163-176.
- Abad, P., Favery, B., Rosso, M. & Castagnone-sereno, P., 2003. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Molecular Plant Pathology*, 4(4), pp. 217-224.
- Abdel-Monaim, M., Morsy, K., Sarhan, E. & Hamed, N., 2012. Influence of Certain Resistance Inducing Chemicals on Alfalfa Rust Disease and Its Effect on Growth Parameters and Yield Components. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 6(3), pp. 506-514.
- Abeles, F. B., Morgan, P. W. & Saltveit, M. E., 1992. *Ethylene in plant biology*. 2e editie red. San Diego : Academic press .
- Agrios, G. N., 1997. *Plant Pathology*. San Diego (Calif.): Academic press.
- Ahman, I. & Ninkovic, V., 2010. Volatile Interactions Between Undamaged Plants: Effects and Potential for Breeding Resistance to Aphids. In: *Plant communication from an ecological perspective*. sl:Springer.
- Almagro, L. et al., 2009. Class III peroxidases in plant defence reactions. *Journal of Experimental Botany*, Volume 60(2), pp. 377-390 .
- Altamiranda, E. A. G., Andreu, A. B., Daleo, G. R. & Olivieri, F. P., 2008. Effect of β -aminobutyric acid (BABA) on protection against *Phytophthora infestans* throughout the potato crop cycle. *Australasian Plant Pathology*, Volume 37, pp. 421-427.
- Anamika, S., 2012. Variation in Life Cycle of *Meloidogyne Incognita* in Different Months in Indian Condition. *International Journal of Science and Research*, 3(7), pp. 2286-2288.
- Anfoka, G. H., 2000. Benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester induces systemic resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum*. Mill cv. Vollendung) to Cucumber mosaic virus. *Crop Protection*, Volume 19(6), pp. 401-405 .
- Arimura, G.-I. et al., 2000. Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature*, Volume 406(6795), pp. 512-515.
- Arve, L., Torre, S., Olsen, J. E. & Tanino, K., 2011. Stomatal Responses to Drought Stress and Air Humidity. In: *Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations* . [online]: InTech, p. hoofdstuk 8.
- Atkinson, H., Urwin, P. & Hussey, R., 2009. Plant Biotechnology and Control. In: *Root knot nematodes*. Pondicherry, India: MPG Books Group, pp. 338-362.
- Baldwin, I. T. et al., 2006. Volatile signaling in plant-plant interactions: "talking trees" in the genomics era. *Science (New York, N.Y.)*, Volume 311(5762), pp. 812-815.

- Barea, J. & Jeffries, P., 1995. Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil-plant systems. In: *Mycorrhiza Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology*. Berlin, Germany: Springer, pp. 521-559.
- Barilli, E., Prats, E. & Rubiales, D., 2010. Benzothiadiazole and BABA improve resistance to *Uromyces pisi* (Pers.) Wint. in *Pisum sativum* L. with an enhancement of enzymatic activities and total phenolic content. *European Journal Of Plant Pathology*, 128(4), pp. 483-493.
- Barr, F., 1997. *Toxocara canis*. *U.S. National Library of Medicine*, Volume 38(11), , pp. 531-4.
- Bengtsson, T. et al., 2014. Activation of defence responses to *Phytophthora infestans* in potato by BABA. *Plant Pathology*, 63(1), pp. 193-202.
- Bengtsson, T. et al., 2014. Proteomics and transcriptomics of the BABA-induced resistance response in potato using a novel functional annotation approach. *Bmc Genomics*, 15(1).
- Benhamou, N., 1996. Elicitor-induced plant defence pathways. *Trends in Plant Science*, Volume 1(7), pp. 233-240.
- Bent, E., 2006. Induced Systemic Resistance Mediated by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Fungi (PGPF). In: *Multigenic and Induced Systemic Resistance in Plants*. Boston, MA : Springer US, pp. 225-246.
- Berry, S. D., Rutherford, R. S. & Curtis, R. H., 2011. Preliminary investigations into inducing resistance in sugarcane. *South African Journal of Plant and Soil*, Volume 28, p. 272.
- Bird, D. M., Opperman, C. H. & Davies, K. G., 2003. Interactions between bacteria and plant-parasitic nematodes: now and then. *International Journal for Parasitology*, 33(11), pp. 1269-1276.
- Bokshi, A. I., Morris, S. C. & Deverall, B. J., 2003. Effects of benzothiadiazole and acetylsalicylic acid on β -1,3-glucanase activity and disease resistance in potato. *Plant Pathology*, Volume 52(1), pp. 22-27.
- Braun, D. & Slewinski, T., 2009. Genetic Control of Carbon Partitioning in Grasses: Roles of Sucrose Transporters and Tie-dyed Loci in Phloem Loading. *Plant Physiology*, 149(1), pp. 71-81.
- Byrd, D. P., Kirkpatrick, T. & Barker, K. R., 1983. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detecting of nematodes. *Journal of nematology*, Volume 15, pp. 142-143.
- Castagnone-Sereno, P., 2002. Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes?. *Euphytica*, 124(2), pp. 193-199.
- Castagnone-Sereno, P., Danchin, E. G., Danchin, E. G. & Abad, P., 2013. Diversity and Evolution of Root-Knot Nematodes Genus *Meloidogyne*: New Insights from the Genomic Era. *Annual Review of Phytopathology*, Volume 51, p. 203–220.
- Chinnasri, B., Sipes, B. & Schmitt, D., 2003. Effects of acibenzolar-s-methyl application to *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica*. *Journal Of Nematology*, 35(1), pp. 110-114.
- Chinnasri, B., Sipes, B. & Schmitt, D., 2006. Effects of inducers of systemic acquired resistance on reproduction of *Meloidogyne javanica* and *Rotylenchulus reniformis* in pineapple. *Journal Of Nematology*, 38(3), pp. 319-325.

- Chitwood, D. J., 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual review of phytopathology*, Volume 40, pp. 221-249.
- Chitwood, D. J. & Perry, R. N., 2009. Reproduction, physiology and biochemistry. In: *Root-knot nematodes*. Pondicherry, India.: MPG Books Group, p. 182–200.
- Cobb, N. A., 1914. Antarctic marine free-living nematodes of the Shackleton Expedition. *contributions to a science of nematology*, Volume 1, pp. 1-33.
- Cohen, Y., Gisi, U. & Niderman, T., 1993. Local and systemic protection against *Phytophthora infestans* induced in potato and tomato plants by jasmonic acid and jasmonic methyl ester. *Phytopathology*, 83(10), pp. 1054-1062.
- Collins, H., Navare, D., Riga, E. & Pierce, F., 2006. Effect of foliar applied plant elicitors on microbial and nematode populations in the root zone of potato. *Communications In Soil Science And Plant Analysis*, 37(11-12), pp. 1747-1759.
- Conrath, U., Pieterse, C. M. J. & Mauch-mani, B., 2002. Priming in plant-pathogen interactions. *Trends in plant science* , Volume 7(5), pp. 210-216.
- Cooper, W. & Goggin, F., 2005a. Effects of jasmonate-induced defenses on root-knot nematode infection of resistant and susceptible tomato cultivars. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, Volume 115(1), pp. 107-115.
- Cooper, W. & Goggin, F., 2005b. Effects of jasmonate-induced defenses in tomato on the potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 115(1), pp. 107-115.
- Cooper, W., Jia, L. & Goggin, L., 2005. Effects of Jasmonate-Induced Defenses on Root-Knot Nematode Infection of Resistant and Susceptible Tomato Cultivars. *Journal of Chemical Ecology*, 31(9), pp. 1953-1967.
- Corbett, B. P. et al., 2011. The effects of root-knot nematode infection and mi-mediated nematode resistance in tomato on plant fitness. *Journal of nematology*, 43(2), pp. 82-89.
- Coyne, D. L., Nicol, J. M. & Claudius-Cole, B., 2007. *Practical plant nematology: A field and laboratory guide*, Cotonou, Benin: SP-IPM Secretariat, International Institute of Tropical Agriculture (IITA).
- Creelman, R. A. & Mullet, J. E., 1995. Jasmonic acid distribution and action in plants: regulation during development and response to biotic and abiotic stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, Volume 92(10), pp. 4114-4119.
- Creelman, R. A. & Mullet, J. E., 1997. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annual Review of Plant Biology*, Volume 48(1), pp. 355-381.
- Creelman, R., Tierney, M. & Mullet, J., 1992. Jasmonic acid/methyl jasmonate accumulate in wounded soybean hypocotyls and modulate wound gene expression. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of Ame*, 89(11), pp. 4938-4941.
- Curtis, R., 2007. Plant parasitic nematode proteins and the host parasite interaction. *Functional Genomics and Proteomics*, Volume 6, p. 50–58.

Curtis, R. H., Robinson, A. F. & Perry, R. N., 2009. Hatch and Host Location. In: *Root-knot Nematodes*. Pondicherry, India: MPG Books Group, pp. 139-155.

Czapski, J. & Saniewski, M., 1992. Stimulation of Ethylene Production and Ethylene-Forming Enzyme Activity in Fruits of the Non-Ripening nor and rin Tomato Mutants by Methyl Jasmonate. *Journal of Plant Physiology*, 139(3), pp. 265-268.

de Souza, A., Narvencar, K. P. & Sindhoora, K., 2013. The neurological effects of methyl bromide intoxication. *Journal of the Neurological Sciences*, Volume 335(1-2), pp. 36-41.

Dixon, R., 1994. Early Events in the Activation of Plant Defense Responses. *Annual Review of Phytopathology*, Volume 32(1), pp. 479-501.

Drewer, J., Heal, K. V., Smith, K. A. & Heal, M. R., 2008. Methyl bromide emissions to the atmosphere from temperate woodland ecosystems. *Global Change Biology*, Volume 14(11), pp. 2539-2547.

Dropkin, V., 1969. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature.. *Phytopathology*, Volume 59 (11), p. 1632–1637.

Dubreuil, G. M. M. D. E. A. P. a. R. M., 2007. Transcriptome analysis of rootknot nematode functions induced in the early stages of parasitism.. *New Phytologist*, Volume 176, p. 426–436.

Eddaoudi, M., Ammati, M. & Rammah, M., 1997. Identification of the resistance breaking of populations of *Meloidogyne* on tomatoes in Morocco and their effect on new sources of resistance. *Fundamental and Applied Nematology*, Volume 20, pp. 285-289.

Eisenback, J. D. & Hunt, J. D., 2009. General Morphology. In: *Root-knot Nematodes*. Pondicherry, India: MPG Books Group, pp. 18-54.

El Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I. & Daayf, F., 2010. Chitosan in plant protection. *Marine Drugs*, 8(4), pp. 968-987.

El-Sayed, S. & Mahdy, M., 2015. Effect of chitosan on root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* on tomato plants. *International Journal of ChemTech Research*, 7(4), pp. 1985-1992.

Esbenshade, P. R. & Triantaphyllou, A. C., 1987. Enzymatic relationships and evolution in the genus *Meloidogyne* (nematoda: tylenchida). *Journal of nematology*, Volume 19(1), pp. 8-18.

Fageria, N. & Moreira, A., 2011. The Role of Mineral Nutrition on Root Growth of Crop Plants. In: *Advances in Agronomy*. Burlington: Elsevier, pp. 251-318.

Faoro, F., Maffi, D., Cantu, D. & Iriti, M., 2008. Chemical-induced resistance against powdery mildew in barley: the effects of chitosan and benzothiadiazole. *Biocontrol*, 53(2), pp. 387-401.

Farag, M. & Paré, P., 2002. C6-Green leaf volatiles trigger local and systemic VOC emissions in tomato. *Phytochemistry*, 61(5), pp. 545-554.

Farmer, E. E., Pearce, G. & Ryan, C. A., 1989. In vitro phosphorylation of plant plasma membrane proteins in response to the proteinase inhibitor inducing factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Volume 86(5), pp. 1539-1542.

- Farmer, E. & Ryan, C., 1990. Interplant communication: Airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(19), pp. 7713-7716.
- Flor, H. H., 1971. Current Status of the Gene-For-Gene Concept. *Annual Review of Phytopathology*, Volume 91(1), pp. 275-296.
- Freckman, D. W. & Caswell, E. P., 1985. The Ecology of Nematodes in Agroecosystems. *Annual Review of Phytopathology*, 231(1), pp. 275-296.
- Friedrich, L. et al., 1996. A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. *The Plant Journal*, Volume 10(1), pp. 61-70.
- Fujimoto, T. et al., 2011. Expression profile of jasmonic acid-induced genes and the induced resistance against the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tomato plants (*Solanum lycopersicum*) after foliar treatment with methyl jasmonate. *Journal Of Plant Physiology*, Volume 168(10), pp. 1084-1097.
- Gavin, A. S. et al., 2013. Nematocidal effects of natural phyto regulators jasmonic acid and methyl-jasmonate against *Pratylenchus zae* and *Helicotylenchus* spp .. *Natural Product Research*, 27(11), pp. 1041-1048.
- Gharabadiyan, F., Jamali, S. & Komeili, H., 2013. Determining of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) damage function for tomato cultivars. *Journal of Agricultural Sciences*, 58(2), pp. 147-157.
- Giannakou, I. O. & Karpouzas, D. G., 2003. Evaluation of chemical and integrated strategies as alternatives to methyl bromide for the control of root-knot nematodes in Greece.. *Pest Management Science*, Volume 59, p. 883–892.
- Giannakou, I. O., Sidiropoulos, A. & Prophetou-athanasiadou, D., 2002. Chemical alternatives to methyl bromide for the control of root-knot nematodes in greenhouses. *Pest Management Science*, Volume 58(3), pp. 290-296.
- Görlach, J. et al., 1996. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *The Plant cell*, Volume Vol.8(4), pp. 629-643.
- Hahlbrock, K. et al., 2003. Non-self recognition, transcriptional reprogramming, and secondary metabolite accumulation during plant/pathogen interactions. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of Ame*, 100(2), pp. 14569-14576.
- Hammerschmidt, R., 2007. Introduction: definitions and some history. In: *Induced Resistance for Plant Defence. A Sustainable Approach to Crop Protection*. Chennai, India: COS Printers Pte Ltd, pp. 1-7.
- Hanik, N. et al., 2010. Partitioning of New Carbon as ^{11}C in *Nicotiana tabacum* Reveals Insight into Methyl Jasmonate Induced Changes in Metabolism. *Journal of Chemical Ecology*, 36(10), pp. 1058-1067.

- Heijari, J. et al., 2005. Application of methyl jasmonate reduces growth but increases chemical defence and resistance against *Hylobius abietis* in Scots pine seedlings. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 115(1), pp. 117-124.
- Herman, M. A. B., Davidson, J. K. & Smart, C. D., 2008. Induction of plant defense gene expression by plant activators and *Pseudomonas syringae* pv. tomato in greenhouse-grown tomatoes. *Phytopathology*, Volume 98(11), pp. 1226-1232.
- Herman, M. A. B., Restrepo, S. & Smart, C. D., 2007. Defense gene expression patterns of three SAR-induced tomato cultivars in the field. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, Volume 71, pp. 192-200.
- Hildebrand, D., Fukushige, H., Afithile, M. & Wang, C., 1998. Lipoxygenases in plant development and senescence. In: *Eicosanoids and Related Compounds in Plants and Animals*. London: Portland Press Ltd, pp. 151-181.
- Hodge, S., Thompson, G. & Powell, G., 2005. Application of DL-beta-aminobutyric acid (BABA) as a root drench to legumes inhibits the growth and reproduction of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera : Aphididae). *Bulletin Of Entomological Research*, 95(5), pp. 449-455.
- Hokkanen, H. M., 2011. Progress in Biological Control. In: *Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes: Building Coherence between Microbial Ecology and Molecular Mechanisms*. Netherlands, Dordrecht: Springer Science & Business Media B.V., p. v.
- Horticulture Australia, 2014. *Management of root-knot nematode in vegetable crops*, sl: Limited project MT09067 'Managing the nematode threat'.
- Hossain, M. et al., 2011. Involvement of Endogenous Abscisic Acid in Methyl Jasmonate-Induced Stomatal Closure in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 156(1), pp. 430-438.
- Hugall, A., Stanton, J. & Moritz, C., 1997. Evolution of the AT-rich mitochondrial DNA of the root knot nematode, *Meloidogyne hapla*. *Molecular biology and evolution*, Volume 14(1), pp. 40-48.
- Hussain, M. A., Mukhta, T. & Kayani, M. Z., 2011. Assessment of the damage caused by *Meloidogyne incognita* on okra (*Abelmoschus esculentus*). *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 21(4), pp. 857-861.
- Hyde, K., Swe, A. & Zhang, K.-Q., 2014. Nematode-Trapping Fungi . In: *Nematode-Trapping Fungi* . Dordrecht, Netherlands : Springer, pp. 2-8.
- Iriti, M. & Faoro, F., 2003. Benzothiadiazole (BTH) Induces Cell-Death Independent Resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. *Journal of Phytopathology*, Volume 151(3), pp. 171-180.
- Jammes, F. et al., 2005. Genome-wide expression profiling of the host response. *The Plant Journal*, Volume 44(3), pp. 447-458.
- Janoud, i. A. & Flore, J., 2003. Effects of multiple applications of methyl jasmonate on fruit ripening, leaf gas exchange and vegetative growth in fruit trees. *The Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 78(6), pp. 793-797.

- Johnson, A. W. & Campbell, G. M., 1980. Managing nematode population densities on tomato transplants using crop rotation and a nematicide. *Journal of nematology*, Volume 12(1), pp. 6-19.
- Jones, J. R. B. S. G. a. P. A., 2004. Glutathione peroxidases of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Gene*, Volume 324, p. 47–54.
- Jones, M., 1981. The development and function of plant cells modified by endoparasitic nematodes. In: B. Zuckerman & R. Rhode, red. *Plant-parasitic nematodes*. New York: Academic Press, pp. 225-279.
- Kalele, D., Affokpon, A., Coosemans, J. & Kimenju, J., 2010. Suppression of root-knot nematodes in tomato and cucumber using biological control agents. *African Journal of Horticultural Science*, Volume 3, pp. 72-80.
- Kaloshian, I. et al., 1996. Resistance-breaking nematodes identified in California tomatoes. *California Agriculture*, Volume 50, pp. 18-19.
- Kankam, F. & Adomako, J., 2014. Influence of Inoculum Levels of Root Knot Nematodes (*Meloidogynespp.*) on Tomato (*Solanum lycopersicum L.*). *Asian Journal of Agriculture and Food Science*, 2(2), pp. 171-178.
- Karmon, D., 2014. *Agronews*. [Online]
Available at: <http://news.agropages.com/News/NewsDetail---11325.htm>
[Geopend 4 oktober 2014].
- Karsen, G. & Moens, M., 2006. Root-knot nematodes. In: *Plant Nematology*. Nederland: CABI publishing, pp. 59-90.
- Kennedy, G. L., 1986. Chronic toxicity, reproductive, and teratogenic studies with oxamyl. *Fundamental and Applied Toxicology*, Volume 7(1), pp. 106-118.
- Khalil, M. S. & Badawy, M. E., 2012. Nematicidal activity of a biopolymer chitosan at different molecular weights against root-knot nematode, *meloidogyne incognita*. *Plant Protection Science*, 48(4), pp. 70-178.
- Khan, T. A., Nasir, S. & Ashraf, M. S., 2004. effect of population levels of *meloidogyne javanica* on plant growth and nematode multiplication on cucurbits. *Pakistan journal of nematology*, 22(1), pp. 83-89.
- Khaosaad, T., Garcia - Garrido, J. M., Steinkellner, S. & Vierheilig, H., 2007. Take-all disease is systemically reduced in roots of mycorrhizal barley plants.. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 39(3), pp. 727-734.
- Koenning, S. R. et al., 1999. Survey of crop losses in response to phytoparasitic nematodes in the United States for 1994. *Journal of nematology*, 31(45), pp. 587-618.
- Kuchitsu, K., Kosaka, H., Shiga, T. & Shibuya, N., 1995. EPR evidence for generation of hydroxyl radical triggered by N-acetylchitooligosaccharide elicitor and a protein phosphatase inhibitor in suspension-cultured rice cells.. *Protoplasma*, Volume 188, pp. 138-142..

- Kyndt, T., Fernandez, D. & Gheysen, G., 2014. Plant-Parasitic Nematode Infections in Rice: Molecular and Cellular Insights. *Annual Review of Phytopathology*, Volume 52, pp. 135-153.
- Lafontaine, J. & Benhamou, N., 1996. Chitosan treatment: an emerging strategy for enhancing resistance of greenhouse tomato plants to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Biocontrol Science and Technology*, Volume 6, pp. 111-124.
- Lawton, K. A. et al., 1996. Benzothiadiazole induces disease resistance in *Arabidopsis* by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. *The Plant Journal*, Volume 10(1), pp. 71-82.
- Li, J. et al., 2013. Defense-related transcription factors WRKY70 and WRKY54 modulate osmotic stress tolerance by regulating stomatal aperture in *Arabidopsis*. *New Phytologist*, 200(2), pp. 457-472.
- Luna, E., Lopez, A., Kooiman, J. & Ton, J., 2014b. Role of NPR1 and KYP in long-lasting induced resistance by β -aminobutyric acid. *Frontiers in Plant Science*, 5(online).
- Luna, E. et al., 2014a. Plant perception of β -aminobutyric acid is mediated. *Nature Chemical Biology*, 10(6), pp. 450-445.
- Maciejewska, B. & Kopcewicz, J., 2002. Inhibitory Effect of Methyl Jasmonate on Flowering and Elongation Growth in *Pharbitis nil*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 21(3), pp. 216-223.
- Magness, J. G. M. C. C., 1971. *Food and feed crops of the United States*. New Jersey: Interregional Research Project IR-4.
- Maleita, C., Curtis, R., Powers, S. & Abrantes, I., 2012. Inoculum levels of *Meloidogyne hispanica* and *M. javanica* affect nematode reproduction, and growth of tomato genotypes. *Phytopathologia Mediterranea*, 51(3), pp. 566-576.
- Mandal, B. et al., 2008. Biological and Molecular Analyses of the Acibenzolar-S-Methyl-Induced Systemic Acquired Resistance in Flue-Cured Tobacco Against Tomato spotted wilt virus. *Phytopathology*, 98(2), pp. 196-204.
- Molinari, S. & Baser, N., 2010. Induction of resistance to root-knot nematodes by SAR elicitors in tomato. *Crop Protection*, 29(11), pp. 1354-1362.
- Moreira, X., Zas, R. & Sampedro, L., 2012. Methyl Jasmonate as Chemical Elicitor of Induced Responses and Anti-Herbivory Resistance in Young Conifer Trees. In: *Plant Defence: Biological Control*. Dordrecht: Springer, pp. 345-362.
- Mortensen, L., 1986. Effect of relative humidity on growth and flowering of some greenhouse plants. *Scientia Horticulturae*, 29(4), pp. 301-307.
- Nagorskaya, V. et al., 2014. virus (TMV) accumulation, hydrolase activity, and morphological abnormalities of the viral particles in leaves of *N. tabacum* L. cv. Samsun. *Virologica Sinica*, 29(4), pp. 250-256.

- Nahar, K. et al., 2011. The jasmonate pathway is a key player in systemically induced defense against root knot nematodes in rice. *Plant physiology*, 157(1), pp. 305-316.
- Nelson, S., 2013. *nematode life cycle diagram*. [Kunst] (rsity of Hawaii at Manoa).
- Nishizawa, Y. et al., 1999. Regulation of the chitinase gene expression in suspension-cultured rice cells by N-acetylchitooligosaccharides: differences in the signal transduction pathways leading to the activation of elicitor-responsive genes.. *Plant Molecular Biology*, 39(5), pp. 907-914.
- Noe, J. P., 2008. Pathogenicity and Isolation of Plant-parasitic Nematodes. In: *Plant Pathology Concepts and Laboratory Exercises*. Boca Raton: CRC Press, pp. 79-84.
- Nojiri, H. et al., 1996. Involvement of jasmonic acid in elicitor-induced phytoalexin production in suspension-cultured rice cells. *Plant Physiology*, 110(2), pp. 387-392.
- Noling, J. W., 2012. *Nematode Management in Tomatoes, Peppers, and Eggplant*, Lake Alfred: University of Florida.
- Noling, J. W. & Becker, J. O., 1994. The chelenge of research and extension to define and implement alternatives to methylbromide.. *Journal of nematology*, Volume 26, pp. 573-586.
- Ntalli, N. G. & Caboni, P., 2012. Botanical nematicides: a review. *Journal of agricultural and food chemistry*, Volume 60(40), pp. 9929-9940 .
- Nusbaum, C. J. & Ferris, H., 1973. The Role of Cropping Systems in Nematode Population Management. *Annual Review of Phytopathology*, Volume 11(1), pp. 423-440 .
- Oka, Y. & Cohen, Y., 2001. Induced resistance to cyst and root-knot nematodes in cereals by DL- β -amino-n-butyric acid. *European Journal of Plant Pathology*, 107(2), pp. 219-227.
- Oka, Y., Spiegel, Y. & Cohen, Y., 1999. Local and systemic induced resistance to the root-knot nematode in tomato by DL- β -amino-n-butyric acid. *Phytopathology*, 89(12), pp. 1138-1143.
- Oliveira, D. S., Oliveira, R. D. L., Silva, D. G. & Silva, R. V., 2011. Characterization of Meloidogyne incognita populations from São Paulo and Minas Gerais state and their pathogenicity on coffee plants
Caracterização de populações de Meloidogyne incognita de São Paulo e Minas Gerais e sua patogenicidade em cafeeiro. *Tropical Plant Pathology*, 36(3), pp. 190-194.
- Olthof, T. H., 1982. Effect of Age of Alfalfa Root on Penetration by Pratylenchus penetrans. *Journal of nematology*, 14(1), pp. 100-105.
- Osman, H. et al., 2013. Effect of abiotic resistance inducers, γ -amino-n-butyric acid (GABA), ascorbic acid and chitosan on certain enzyme activities of eggplant inoculated with root-knot nematode, Meloidogyne incognita. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 46(15), pp. 1-7.
- Osunlola, O. & Fawole, B., 2014. The Development and Life Cycle of Meloidogyne incognita in sweetpotato (Ipomoea batatas) cv TIS 4400 -2. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 7(9), pp. 49-53.

- Pathak, K. N., Keshari, N. & Haider, M. G., 2000. Effect of population levels of *Meloidogyne incognita* on seed germination, seedling emergence and plant growth of cauliflower. *Indian Journal of Nematology*, 30(1), pp. 8-12.
- Paulson, R. E. & Webster, J. M., 1972. Ultrastructure of the hypersensitive reaction in roots of tomato, *Lycopersicon esculentum* L., to infection by the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Physiological Plant Pathology*, Volume 2(3), p. 227.
- Perry, R. N., 2005. An evaluation of types of attractants enabling plant-parasitic nematodes to locate plant. Volume 13, pp. 83-88.
- Perry, R. N. & Moens, M., 2011. Introduction to Plant-Parasitic Nematodes. In: *Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions*. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 3-20.
- Perry, R. N., Moens, M. & Starr, J. L., 2009. *Meloidogyne* Species – a Diverse Group of Novel and Important Plant Parasites. In: *Root-knot nematodes*. Pondicherry, India: MPG Books Group, pp. 1-17.
- Pieterse, C. et al., 1996. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. *Plant Cell*, Volume 8(8), pp. 1225-1237.
- Piotrowska, A. & Bajguz, A., 2011. Conjugates of abscisic acid, brassinosteroids, ethylene, gibberellins, and jasmonates. *Phytochemistry*, Volume 72(17), pp. 2097-2112.
- Porter, I., Brett, R. & Wiseman, B., 1999. Alternatives to methyl bromide: chemical fumigants or integrated pest management systems?. *Australasian Plant Pathology*, Volume 28(1), pp. 65-71.
- Pospieszny, H. & Atabekov, J., 1989. Effect of chitosan on the hypersensitive reaction of bean to alfalfa mosaic virus (ALMV). *Plant Science*, 62(1), pp. 29-31.
- Pozo, M. J., Jung, S. C., López-Ráez, J. A. & Azcón-Aguilar, C., 2010. Impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on plant response to biotic stress: The role of plant defence mechanisms. In: *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Dordrecht, Netherlands: Springer Dordrecht, pp. 193-207.
- Proctor, J. & Marks, C., 1974. The Determination of Normalizing Transformations for Nematode Count Data From Soil Samples and of Efficient Sampling Schemes. *Nematologica*, 20(4), pp. 395-406.
- Prot, J.-C., 1980. Migration of plant-parasitic nematodes towards plant roots. *Review de Nematologie*, Volume 3, p. 305–318.
- Radwan, M., Farrag, S., Abu-Elamayem, M. & Ahmed, N., 2012. Biological control of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato using bioproducts of microbial origin. *Applied Soil Ecology*, Volume 56, pp. 58-62.
- Raghava, T., Ravikumar, P., Hegde, R. & Kush, A., 2010. Spatial and temporal volatile organic compound response of select tomato cultivars to herbivory and mechanical injury. *Plant Science*, 179(5), pp. 520-526.
- Rajan, T. V., 2009. *Textbook of Medical Parasitology*. New Dehli: BI Publications Pvt Ltd.

- Regis, M. A., 2008. *The Role of Jasmonic Acid in Plant – Nematode Interaction*, Wenen: sn
- Reimann, S., Hauschild, R., Hildebrandt, U. & Sikora, R., 2008. Interrelationships between *Rhizobium etli* G12 and *Glomus intraradices* and multitrophic effects in the biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato. *Journal of Plant Diseases and Protection*, Volume 115(3), pp. 108-113.
- Rigal, A., Ma, Q. & Robert, S., 2014. *Unraveling plant hormone signaling through the use of small molecules*. [Online]
Available at: <http://journal.frontiersin.org/Journal/10.3389/fpls.2014.00373/full>
[Geopend 16 november 2014].
- Robinson, A. & Perry, R., 2006. Behaviour and sensory perception. In: *Plant Nematology*. Wallingford, UK,: CAB International.
- Russell, E. I. J. T. E. I. R. a. C. D., 1985. Interactions of bacteria, fungi, and their nematode grazers: effects on nutrient cycling and plant growth.. *Ecological Monographs*, Volume 55, p. 119–140.
- Ryals, J., Uknes, S. & Ward, E., 1994. Systemic acquired resistance. *Plant Physiology*, 104(4), pp. 1109-1112.
- Sanz-Alférez, S., Mateos, B., Alvarado, R. & Sanchez, M., 2008. SAR induction in tomato plants is not effective against root-knot nematode infection. *European Journal of Plant Pathology*, 120(4), pp. 417-425.
- Schittko, U., Hermsmeier, D. & Baldwin, I. T., 2001. Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*.. *Plant Physiology*, 125(2), pp. 701-711.
- Schmelz, E., Grebenok, R., Galbraith, D. & Bowers, W., 1999. Insect-Induced Synthesis of Phytoecdysteroids in Spinach, *Spinacia oleracea*. *Journal of Chemical Ecology*, 25(8), pp. 1739-1757.
- Seinhorst, J., 1965. The relation between nematode density and damage to plants. *Nematologica*, Volume 11, pp. 137-154.
- Seo, S. H. et al., 2001. Jasmonic acid carboxyl methyltransferase: A key enzyme for jasmonate-regulated plant responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, Volume 98(8), p. 4788.
- Shahabinejad, M. et al., 2014. Exogenous application of methyl jasmonate and salicylic acid increases antioxidant activity in the leaves of pistachio (*Pistacia vera* L. cv. Fandoughi) trees and reduces the performance of the phloem-feeding psyllid *Agonoscaena pistaciae*. *Arthropod-Plant Interactions*, 8(6), pp. 525-530.
- Sharma, A. & Triverdi, C. P., 1992. studies on the life cycle of *Meloidogyne incognita* in two cultivars of *Trigonrlla Foenum-Graecum*. *Nematologia Mediterranea*, 20(2), pp. 215-216.
- Sharon, E. & Spiegel, Y., 1993. Glycoprotein Characterization of the Gelatinous Matrix in the Root-knot Nematode *Meloidogyne javanica*. *Journal of nematology*, Volume 25(4), pp. 585-589.

- Sheard, L. B. et al., 2010. Jasmonate perception by inositol-phosphate-potentiated COI1-JAZ co-receptor. *Nature*, Volume 468(7322), pp. 400-405.
- Shirley, H. L., 1929. The influence of light intensity and light quality upon the growth of plants. *American Journal of Botany*, 16(5), pp. 345-381.
- Sillero, J. C., Rojas - Molina, M. M., Avila, C. M. & Rubiales, D., 2012. Induction of systemic acquired resistance against rust, ascochyta blight and broomrape in faba bean by exogenous application of salicylic acid and benzothiadiazole. *Crop Protection*, Volume 34, pp. 65-69.
- Singh, S. & Khurma, U., 2007. Susceptibility of six tomato cultivars to the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *The South Pacific Journal of Natural Science*, Volume 13, pp. 73-77.
- Soriano, I. R., Asenstorfer, R. E., Schmidt, O. & Riley, I. T., 2004b. Inducible Flavone in Oats (*Avena sativa*) Is a Novel Defense Against Plant-Parasitic Nematodes. *Phytopathology*, 94(11), pp. 1207-1214.
- Soriano, I., Riley, I., Potter, M. & Bowers, W., 2004a. Phytoecdysteroids: A Novel Defense Against Plant-Parasitic Nematode. *Journal of Chemical Ecology*, 30(10), pp. 1885-1899.
- Staswick, P., Su, W. & Howell, S., 1992. Methyl jasmonate inhibition of root growth and induction of a leaf protein are decreased in an *Arabidopsis thaliana* mutant. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of Ame*, 89(15), pp. 6837-6840.
- Stephan, Z. A. & Trudgill, D. L., 1983. Effect of Time of Application on the Action of Foliar Sprays of Oxamyl on *Meloidogyne hapla* in Tomato. *Journal of nematology*, Volume 15(1), pp. 96-101.
- Sticher, L., Mauch-Mani, B. & Métraux, J., 1997. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, Volume 35, pp. 235-270.
- Stirling, G., 1991. Biological control of plant-parasitic nematodes. In: *Diseases of nematodes, vol. II.* Wallingford, UK: CAB International, pp. 93-139 .
- Suhita, D., Raghavendra, A., Kwak, J. & Vavasseur, A., 2004. Cytoplasmic alkalization precedes reactive oxygen species production during methyl jasmonate- and abscisic acid-induced stomatal closure. *Plant Physiology*, 134(4), pp. 1536-1545.
- Talavera, M., Itou, K. & Mizukubo, T., 2001. Reduction of nematode damage by root colonization with arbuscular mycorrhiza (*Glomus* spp.) in tomato-*Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Meloidogynidae) and carrot-*Pratylenchus penetrans* (Tylenchida: Pratylenchidae) pathosystems.. *Applied Entomology and Zoology*, Volume 36(3), pp. 387-392.
- Tamogami, S. et al., 2012. Methyl jasmonate is transported to distal leaves via vascular process metabolizing itself into JA-Ile and triggering VOCs emission as defensive metabolites. *Plant Signaling & Behavior*, Volume 7(11), pp. 1378-1381.
- Taylor, A. L. & Sasser, J. N., 1978. *Biology, identification and control of root-knot nematodes*. North Carolina: North Carolina State University Graphics.

- Taylor, M. J., Hoerauf, A. & Bockarie, M., 2010. Lymphatic filariasis and onchocerciasis. *U.S. National Library of Medicine*, Volume 376(9747), pp. 1175-1185.
- Thakur, M. & Sohal, B., 2013. Role of Elicitors in Inducing Resistance in Plants against Pathogen Infection: A Review. *ISRN Biochemistry*, Volume 2013, pp. 1-10.
- Thaler, J., Farag, M., Pare, P. & Dicke, M., 2002. Jasmonate-deficient plants have reduced direct and indirect defences against herbivores. *Ecology Letters*, 5(6), pp. 764-774.
- Thines, B. et al., 2007. JAZ repressor proteins are targets of the SCFCO11 complex during jasmonate signalling. *Nature*, Volume 448(7154), pp. 661-665.
- Triantaphyllou, A., 1984. Polyploidy in meiotic parthenogenetic populations of *Meloidogyne hapla* and a mechanism of conversion to diploidy. *Revue de Nématologie*, Volume 7, pp. 65-72.
- Triantaphyllou, A., 1985. Cytogenetics, cytotaxonomy and phylogeny of the root-knot nematode. In: *Advanced treatises of Meloidogyne Vol. 1. Biology and control..* North Carolina State: University graphics, pp. 113-126.
- Triantaphyllou, A. C., 1981. Oogenesis and the Chromosomes of the Parthenogenic Root-knot Nematode *Meloidogyne incognita*. *Journal of nematology*, Volume 13(2), pp. 95-104.
- Triantaphyllou, A. C., 1983. Cytogenetic aspects of nematode evolution. In: *Plant parasitic nematodes*. Fith Avenue, New York: Acedelic press, Inc., p. 55–71.
- Trudgill, D. & Blok, V., 2001. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and. *Annual Review Phytopathology*, Volume 39, pp. 53-77.
- Udalova, Z. V., Revina, T. A., Gerasimova, N. G. & Zivovieva, S. V., 2014. Participation of proteinase inhibitors in protection of tomato plants against root-knot nematodes. *Doklady Biological Sciences*, 458(1), pp. 306-309.
- Uknes, S. et al., 1992. Acquired-resistance in *Arabidopsis*. *Plant cell*, Volume 4(6), pp. 645-656.
- Vallad, G. & Goodman, R., 2004. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. *Crop Science*, Volume 44(6), pp. 1920-1934.
- Van Gundy, S. D., 1985. Ecology of *Meloidogyne* Spp.. In: *An Advanced Treatise on Meloidogyne* . Raleigh, North Carolina: North Carolina State University Graphics, pp. 177-182.
- Van Loon, L., 1997. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins.. *Journal of Plant Pathology*, Issue 103, p. 753–765.
- Van Loon, L., Bakker, P. & Pieterse, C., 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, Volume 36, pp. 453-483.
- Vasyukova, N. et al., 2009. Jasmonic Acid and Tomato Resistance to the Root Knot Nematode *Meloidogyne incognita*. *Doklady Biological Sciences*, Volume 428, pp. 448-450.

- Vatanparast, G., Mirdehghan, S. H., Karimi, H. R. & Vazifeshenas, M. H., 2012. Foliar Application of Salicylic Acid, Methyl Jasmonate and Potassium Sulfate on Photosynthetic Characteristics and Fruit Quality of Pomegranate. *Iran Agricultural Research*, 31(2).
- Vernooij, B. et al., 1994. Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. *Plant Cell*, Volume 6(7), pp. 959-965.
- Vieira dos Santos, M., Curtis, R. & Abrantes, I., 2013. Effect of plant elicitors on the reproduction of the root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi* on susceptible hosts. *European Journal of Plant Pathology*, 136(1), pp. 193-202 .
- Vishnudasana, D., Tripathi, M., Rao, U. & Khurana, P., 2005. Assessment of nematode resistance in wheat transgenic plants expressing potato proteinase inhibitor (PIN2) gene. *Transgenic Research*, 14(5), pp. 665-675.
- Vivas, M., Martin, J., Gil, L. & Solla, A., 2012. Evaluating methyl jasmonate for induction of resistance to *Fusarium oxysporum*, *F. circinatum* and *Ophiostoma novo-ulmi*. *Forest Systems*, 21(2), pp. 289-299.
- Walker-Simmons, M. & Ryan, C., 1984. Proteinase inhibitor synthesis in tomato leaves. *Plant Physiology*, Volume 76, pp. 787-790.
- Walls, R., Appel, H., Cipollini, M. & Schultz, J., 2005. Fertility, Root Reserves and the Cost of Inducible Defenses in the Perennial Plant *Solanum carolinense*. *Journal of Chemical Ecology*, 31(10), pp. 2263-2288.
- Walters, D., Cowley, T. & Mitchell, A., 2002. Methyl jasmonate alters polyamine metabolism and induces systemic protection against powdery mildew infection in barley seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 53(369), pp. 747-756.
- Walters, D. & Fontaine, J. M., 2009. Practical application of induced resistance to plant diseases: an appraisal of effectiveness under field conditions. *The Journal of Agricultural Science*, 147(5), pp. 523-535.
- Walters, D. R., 2009. Are plants in the field already induced? Implications for practical disease control. *Crop Protection*, 28(6), pp. 459-465.
- Walters, D. R., Ratsep, J. & Havis, N. D., 2013. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. *Journal Of Experimental Botany*, 64((5)), pp. 1263-1280 .
- Wang, C., 1998. Methyl jasmonate inhibits postharvest sprouting and improves storage quality of radishes. *Postharvest Biology And Technology*, 14(2), pp. 179-183.
- Wang, S., 1999. Methyl jasmonate reduces water stress in strawberry. *Journal of Plant Growth Regulation*, 18(3), pp. 27-134.
- Wasternack, C., 2007. Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Annals of botany*, 100(4), pp. 681-697.

- Whitehead, A. G. & Hemming, J. R., 1965. Comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. *Annals of Applied Biology*, Volume 55, pp. 25-38.
- Wiggers, R. J., 1990. DNA Content and Variation in Chromosome Number in Plant Cells Affected by *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria*. *Phytopathology*, 80(12), p. 1391.
- Wondafraash, M., Van Dam, N. M. & Tytgat, T. O. G., 2013. Plant systemic induced responses mediate interactions between root parasitic nematodes and aboveground herbivorous insects. *Frontiers in plant science*, Volume 4, p. 87.
- Wyss, U., Grundler, F. M. W. & Munch, A., 1992. The parasitic behaviour of second-stage juveniles of *Meloidogyne Incognita* in Roots of *Arabidopsis Thaliana*. *Nematologica*, 38(1), pp. 98-111.
- Xing, L. & Westphal, A., 2005. A method for field infestation with *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology*, 37(4), pp. 500-503.
- Xu, J., Narabu, T., Mizukubo, T. & Hibi, T., 2001. A Molecular Marker Correlated with Selected Virulence Against the Tomato Resistance Gene *Mi* in *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, and *M. arenaria*. *Phytopathology*, Volume 377-382, p. 91(4).
- Yamada, A., Shibuya, N., Kodama, O. & Akatsuka, T., 1993. Induction of phytoalexin formation in suspension cultured rice cells by N-acetylchitooligosaccharides.. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Volume 57, pp. 405-409.
- Yan, Z. et al., 2002. Induced systemic protection against tomato late blight elicited by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, Volume 92(12), pp. 1329-1333.
- Yeh, C. C. et al., 1995. A comparative study of the effects of methyl jasmonate and abscisic acid on some rice physiological processes. *Journal of Plant Growth Regulation*, 14(1), pp. 23-28.
- Yigit, F., 2011. Acibenzolar-S-methyl induces lettuce resistance against *Xanthomonas campestris* pv. *vitians*. *African Journal Of Biotechnology*, 10(47), pp. 9606-9612.
- Zhang, L. et al., 2011. Effects of jasmonate on proteinase inhibitor II and variation in tomato response to root-knot nematodes. *Acta Horticulturae*, Volume 917, pp. 249-252.
- Zhao, X. S. M. a. H. M., 2000. Species-dependent effects of border cell and root tip exudates on nematode behaviour.. *Phytopathology*, Volume 90, p. 1239–1245.
- Zhou, J. et al., 2015. Involvement of nitric oxide in the jasmonate-dependent basal defense against root-knot nematode in tomato plants. *Frontiers in Plant Science*, 6(193).
- Zimmerli, L., Jakab, G., Metraux, J. & Mauch-Mani, B., 2000. Potentiation of pathogen-specific defense mechanisms in *Arabidopsis* by beta -aminobutyric acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(23μ), pp. 12920-12925.
- Zimmerli, L., Metraux, J.-P. & Mauch-Mani, B., 2001. [beta]-Aminobutyric acid-induced protection of *arabidopsis* against the necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*. *Plant Physiology*, 126(2), pp. 517-523

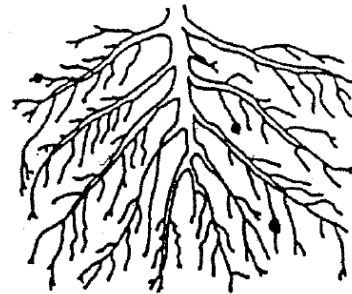
Bijlage 1: 'Diagrammatic root-knot scoring chart' (Coyne, et al., 2007)

Diagrammatic root-knot scoring chart

Courtesy of John Bridge and Sam Page (1980).



0 – No knots on roots.



1 – Few small knots, difficult to find.



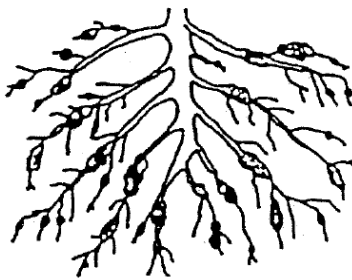
2 – Small knots only but clearly visible. Main roots clean.



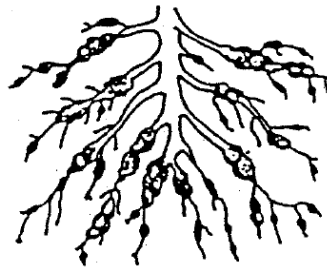
3 – Some larger knots visible. Main roots clean.



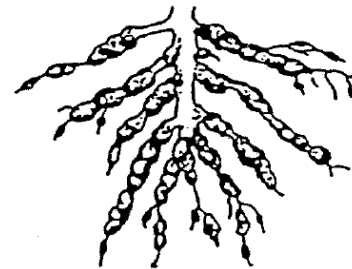
4 – Larger knots predominate but main roots clean.



5 – 50% of roots affected. Knotting on some main roots. Reduced root system.



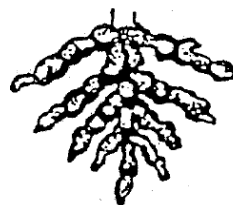
6 – Knotting on main roots.



7 – Majority of main roots knotted.



8 – All main roots, including tap root, knotted. Few clean roots visible.

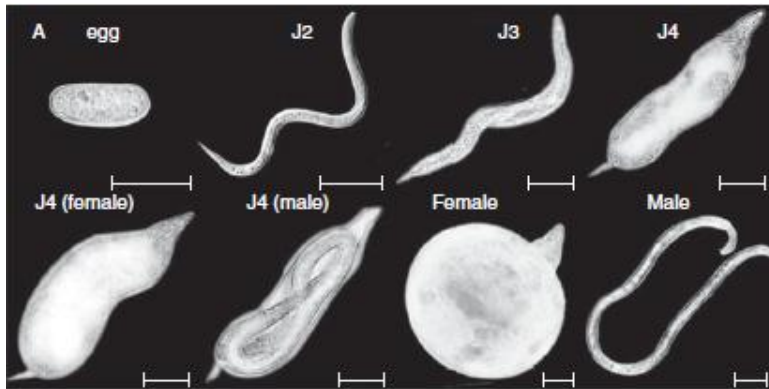


9 – All roots severely knotted. Plant usually dying.

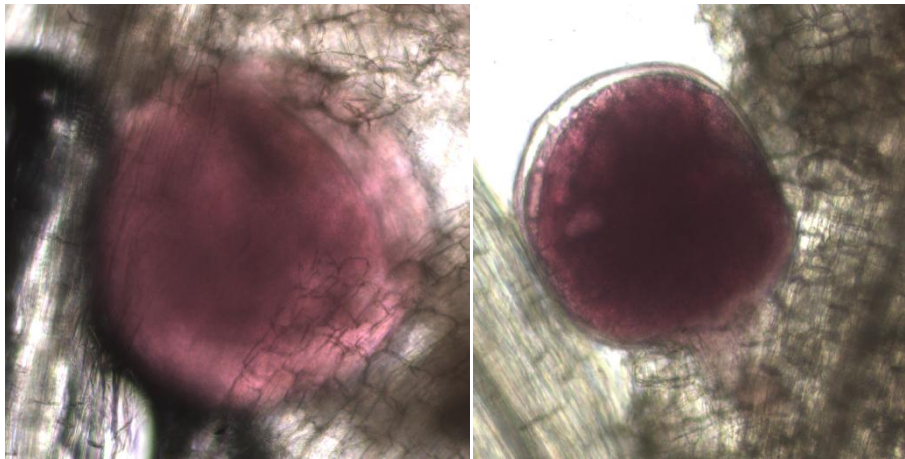


10 – All roots severely knotted. No root system. Plant usually dead.

Bijlage 2: foto's van adulte en juveniele nematoden



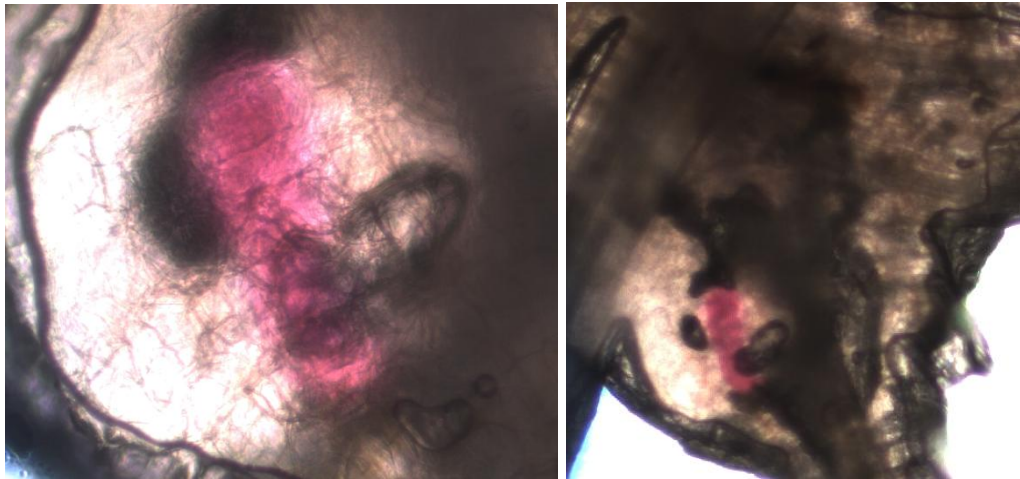
Figuur B2.1: Ontwikkelingsstadia van *M. incognita*. Scale bars = 40 μ m (Abad, et al., 2009).



Figuur B2.2: Vrouwelijke adulte nematoden van *M. incognita* in fuchsinezuurgekleurde tomatenwortels (foto's genomen met behulp van EVOS® Digital Inverted Microscope).

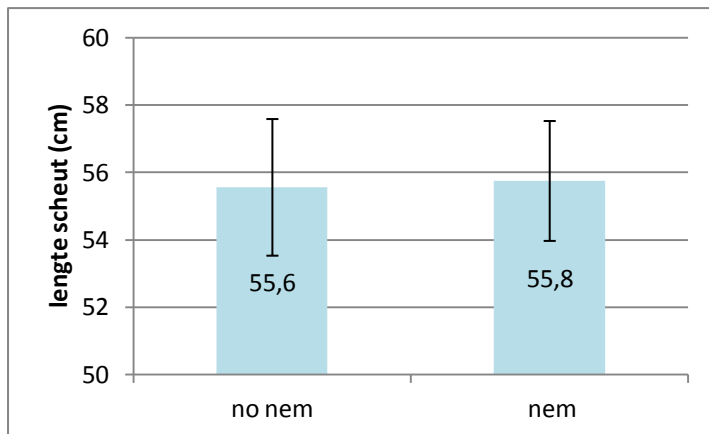


Figuur B2.3: Secundaire juveniele nematoden (J2's) van *M. incognita* in fuchsinezuurgekleurde koffiewortels (Oliveira, et al., 2011).

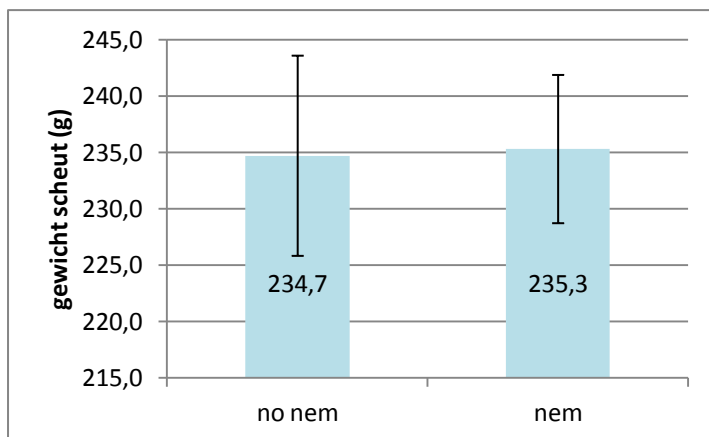


Figuur B2.4: Juvenile nematode stadium J3/J4 van *M. incognita* in fuchsinezuurgekleurde tomatenwortels (foto's genomen met behulp van EVOS® Digital Inverted Microscope).

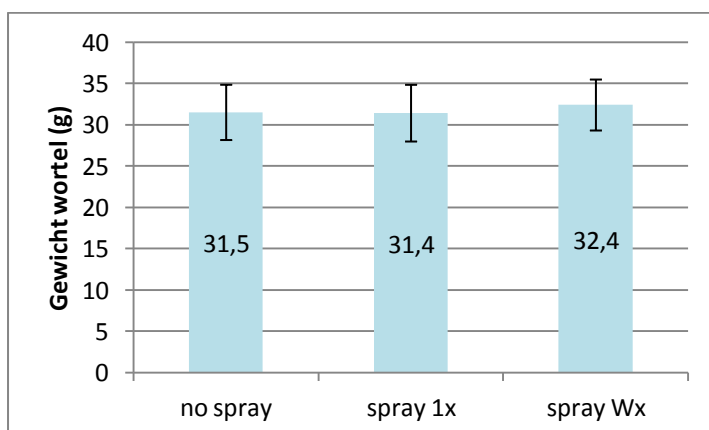
Bijlage 3: Extra figuren bij de resultaten



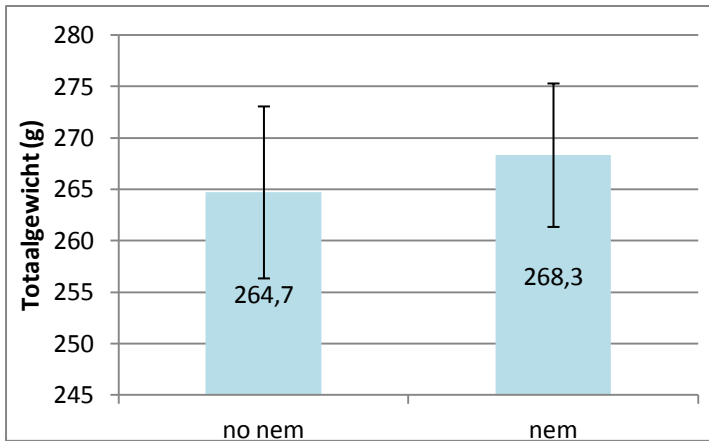
Figuur B3.1: Gemiddelde scheutlengte voor de verschillende inoculatiebehandelingen: geen nematoden (no nem) en nematoden (nem). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.



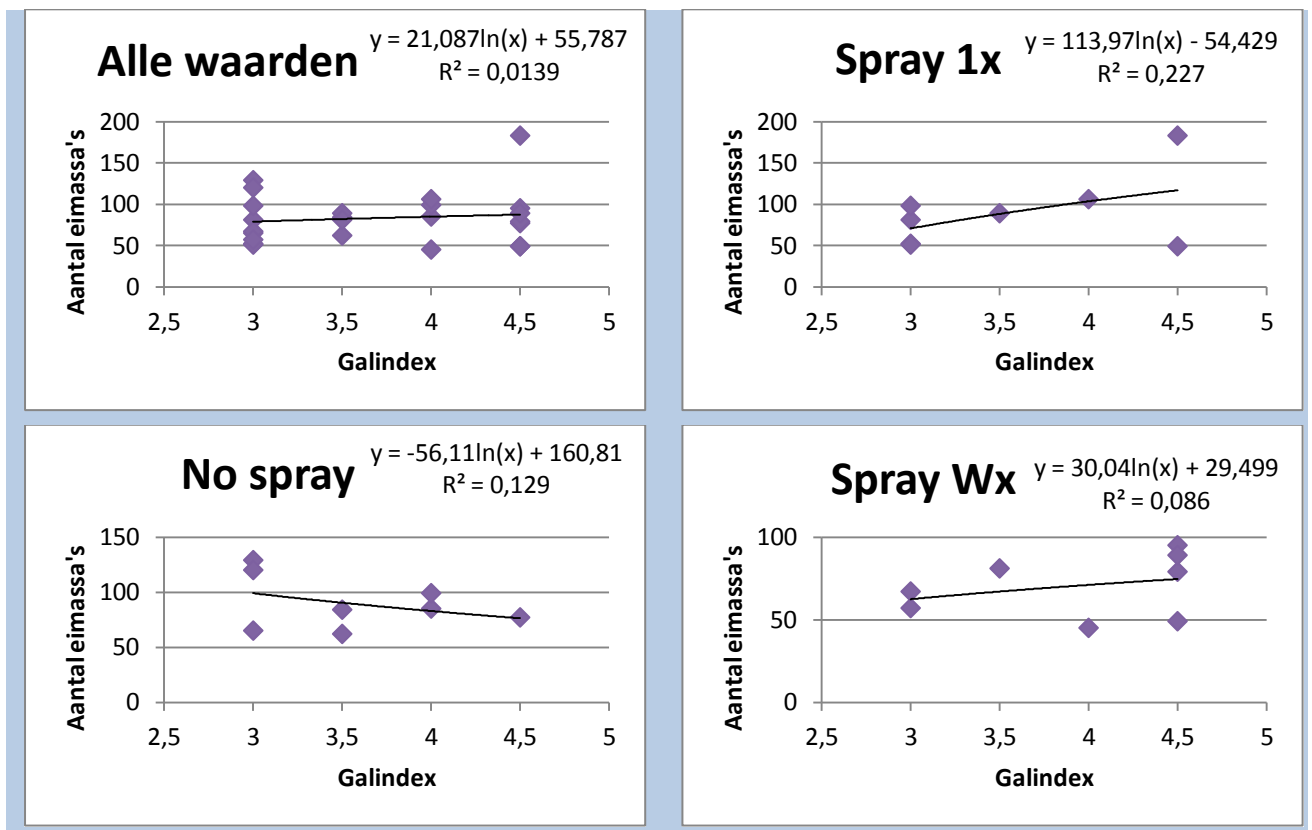
Figuur B3.2: Gemiddeld scheutgewicht voor de verschillende inoculatiebehandelingen: geen nematoden (no nem) en nematoden (nem). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.



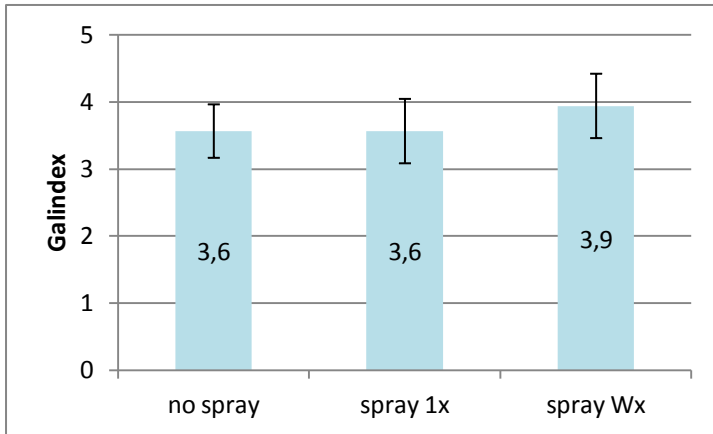
Figuur B3.3: Gemiddeld wortelgewicht voor de verschillende elicatiebehandelingen: geen MeJA (no spray), 1 maal MeJA (spray 1x) en wekelijks MeJA (spray Wx). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.



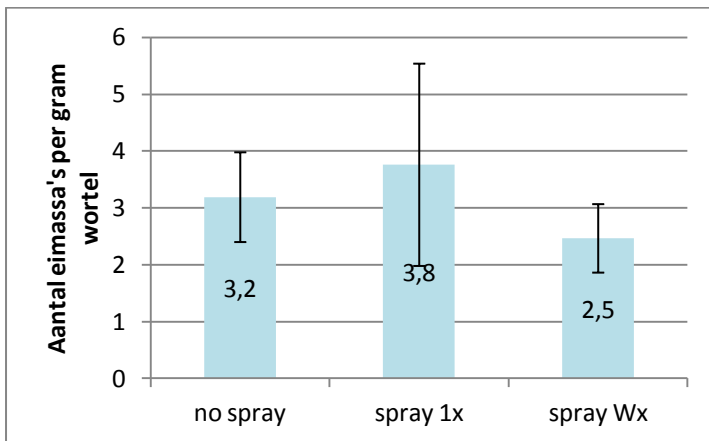
Figuur B3.4: Gemiddeld totaalgewicht voor de verschillende inoculatiebehandelingen: geen nematoden (no nem) en nematoden (nem). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.



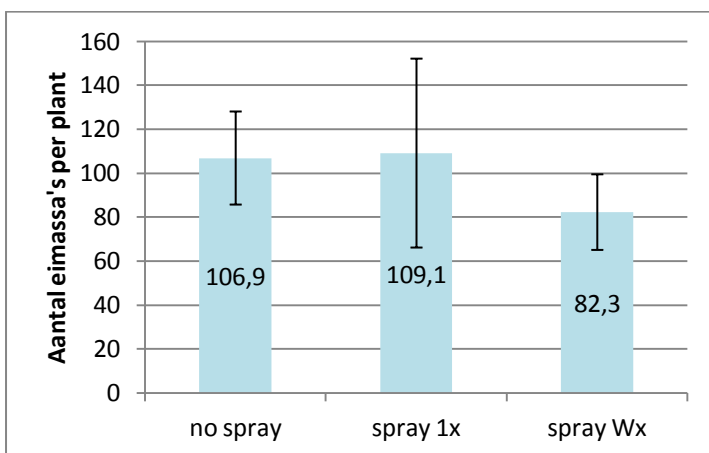
Figuur B3.5: correlatie tussen het aantal eimassa's per plant en de galindex, weergegeven voor alle geïnoculeerde planten (Alle waarden); correlatie tussen het aantal eimassa's per plant en de galindex, weergegeven per groep van geïnoculeerde planten met een verschillende elicitatiebehandeling: geen MeJA (No spray), eenmaal MeJA (Spray 1x) en wekelijks MeJA (Spray Wx). Per groep worden telkens de vergelijking van de gefitte trendlijn en de bijhorende R²-waarde weergegeven.



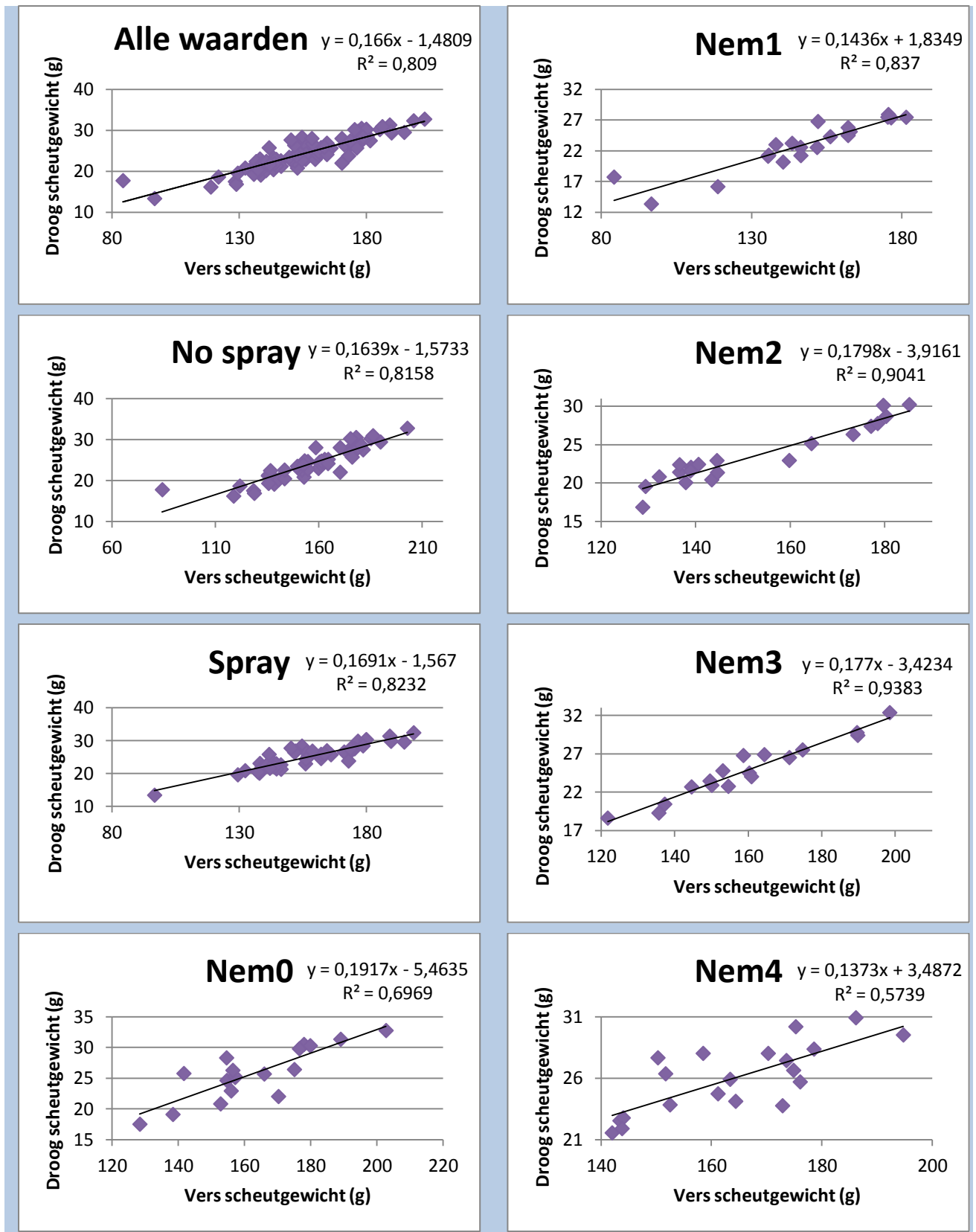
Figuur B3.6: Gemiddelde galindices voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray), 1 maal MeJA (spray 1x) en wekelijks MeJA (spray Wx). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.



Figuur B3.7: Gemiddeld aantal eimassa's per gram wortel voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray), 1 maal MeJA (spray 1x) en wekelijks MeJA (spray Wx). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.

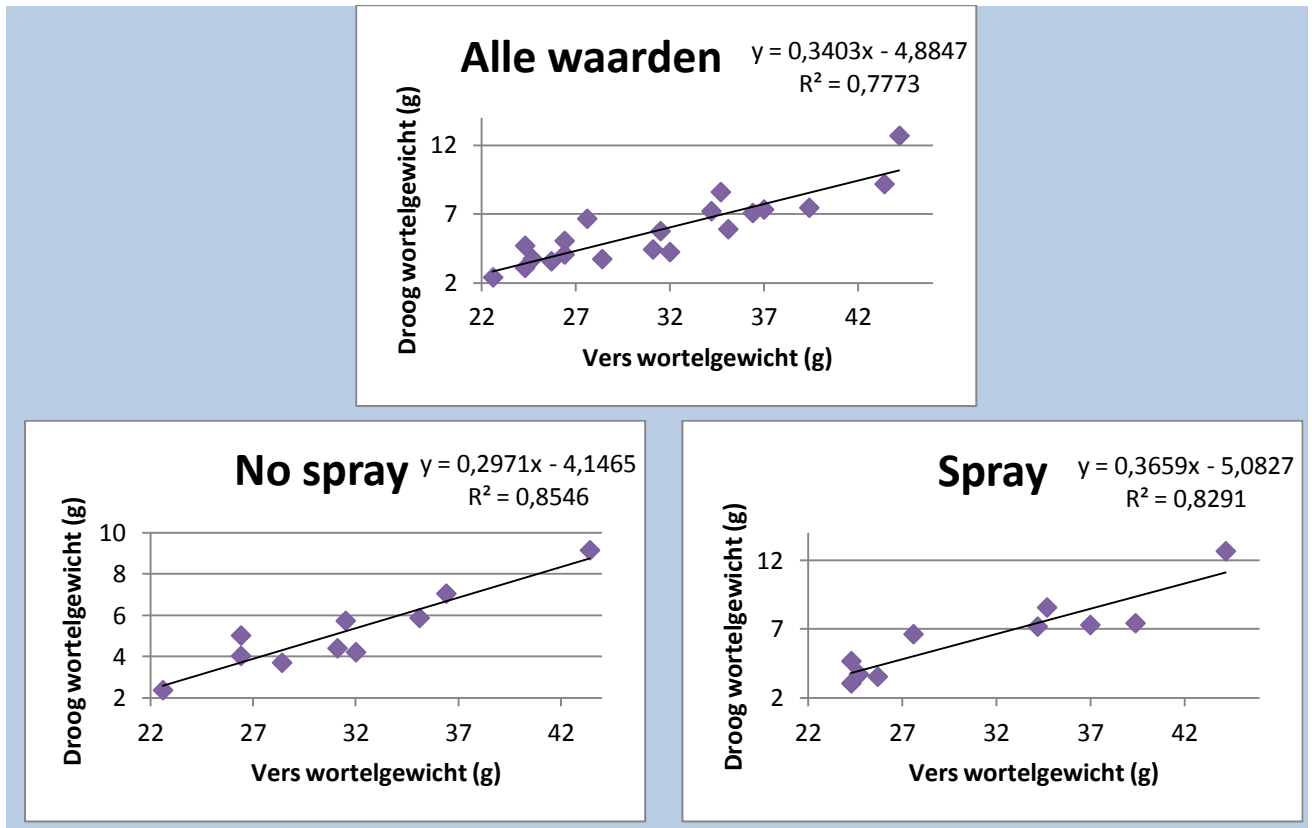


Figuur B3.8: Gemiddeld aantal eimassa's per plant voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray), 1 maal MeJA (spray 1x) en wekelijks MeJA (spray Wx). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.

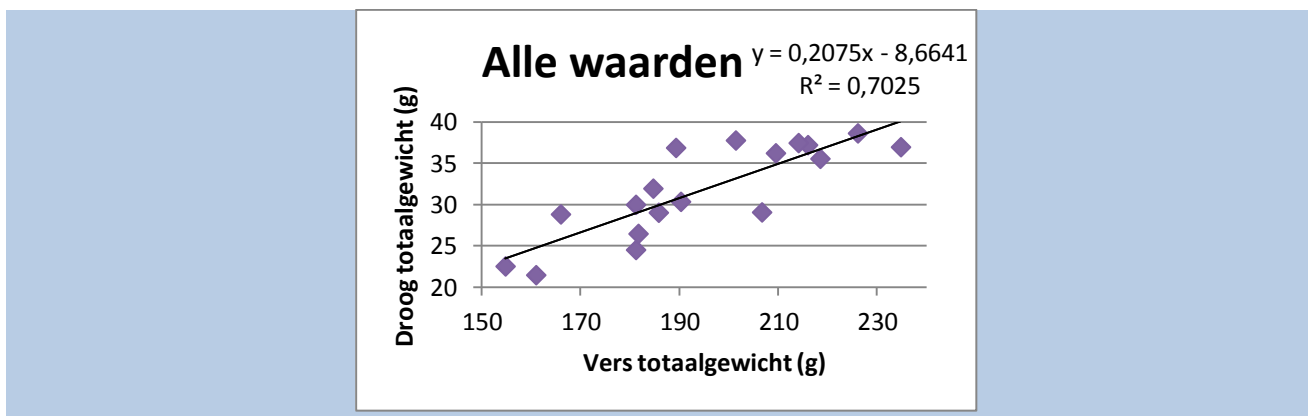


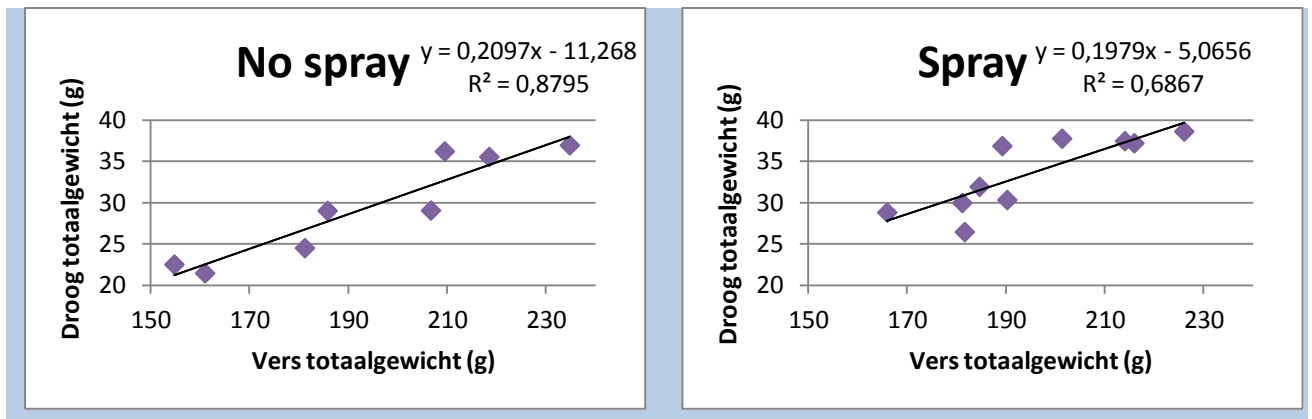
Figuur B3.9: correlatie tussen het verse en droge scheutgewicht, weergegeven voor alle planten (Alle waarden); correlatie tussen het verse en droge scheutgewicht, weergegeven per plantengroep met een verschillende elicatiebehandeling: geen MeJA (No spray) en MeJA (Spray); correlatie tussen het verse en droge scheutgewicht, weergegeven per plantengroep met een verschillende inoculatiebehandeling: 0 nematoden (Nem0), 100 nematoden (Nem1), 200 nematoden (Nem2), 350

nematoden (Nem3) en 1000 nematoden (Nem4). Per plantengroep worden telkens de vergelijking van de lineaire regressierechte en de bijhorende R²-waarde weergegeven.

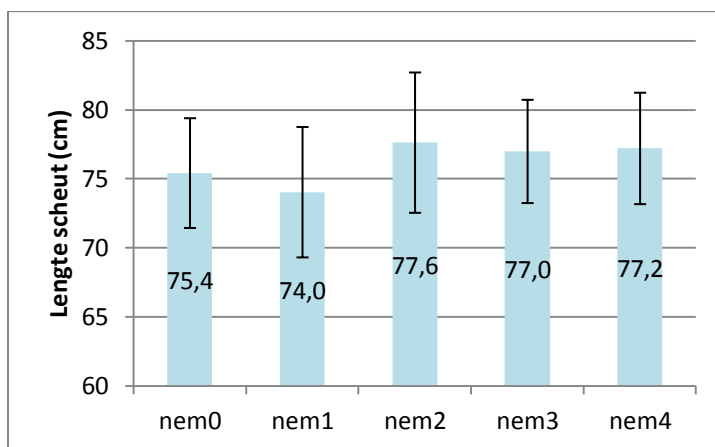


Figuur B3.10: correlatie tussen het verse en droge wortelgewicht, weergegeven voor alle niet-geïnoculeerde planten (Alle waarden); correlatie tussen het verse en droge wortelgewicht, weergegeven per groep van niet-geïnoculeerde planten met een verschillende elicitatiebehandeling: geen MeJA (No spray) en MeJA (Spray). Per groep worden telkens de vergelijking van de lineaire regressierechte en de bijhorende R²-waarde weergegeven.

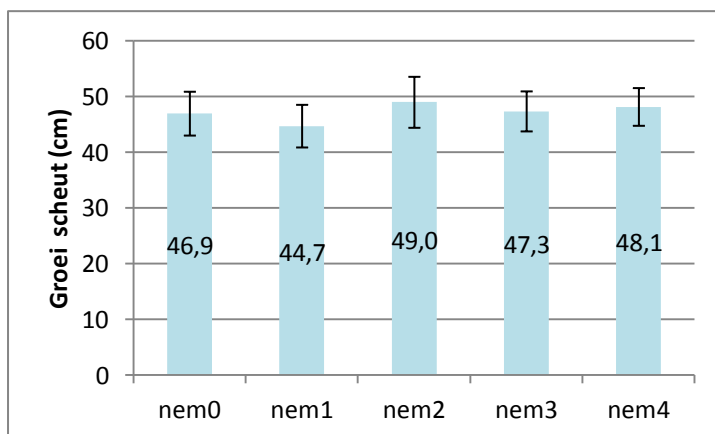




Figuur B3.11: correlatie tussen het verse en droge totaalgewicht, weergegeven voor alle niet-geïnoculeerde planten (Alle waarden); correlatie tussen het verse en droge totaalgewicht, weergegeven per groep van niet-geïnoculeerde planten met een verschillende elicitatiebehandeling: geen MeJA (No spray) en MeJA (Spray). Per groep worden telkens de vergelijking van de lineaire regressierechte en de bijhorende R²-waarde weergegeven.

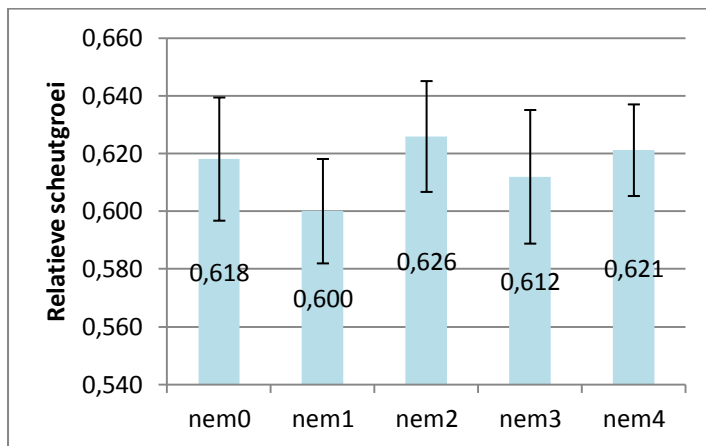


Figuur B3.12: Gemiddelde scheutlengte voor de verschillende inoculatiebehandelingen: 0 nematoden (nem0), 100 nematoden (nem1), 200 nematoden (nem2), 350 nematoden (nem3) en 1000 nematoden (nem4). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.

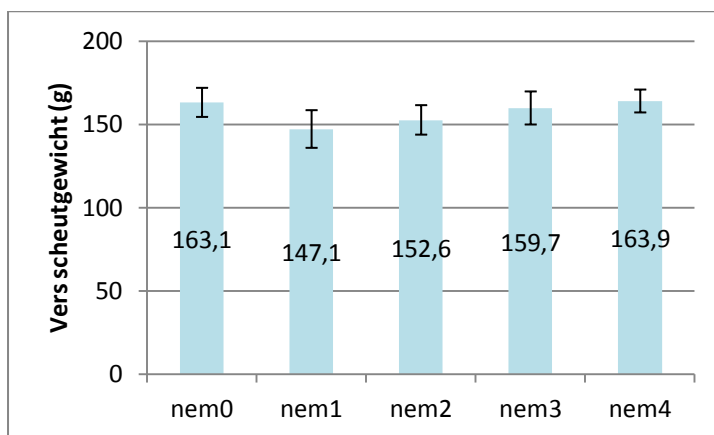


Figuur B3.13: Gemiddelde scheutgroei voor de verschillende inoculatiebehandelingen: 0 nematoden (nem0), 100

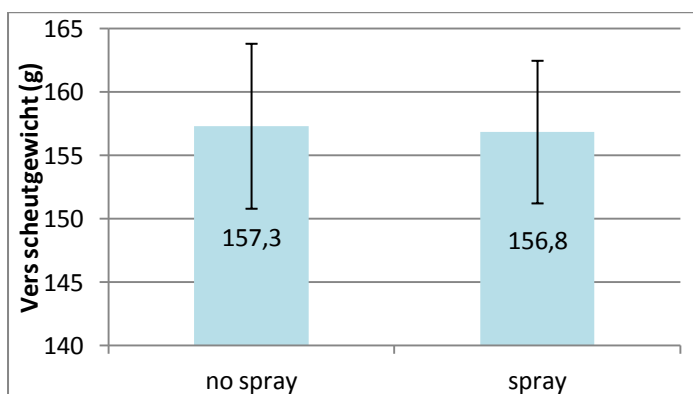
nematoden (nem1), 200 nematoden (nem2), 350 nematoden (nem3) en 1000 nematoden (nem4). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.



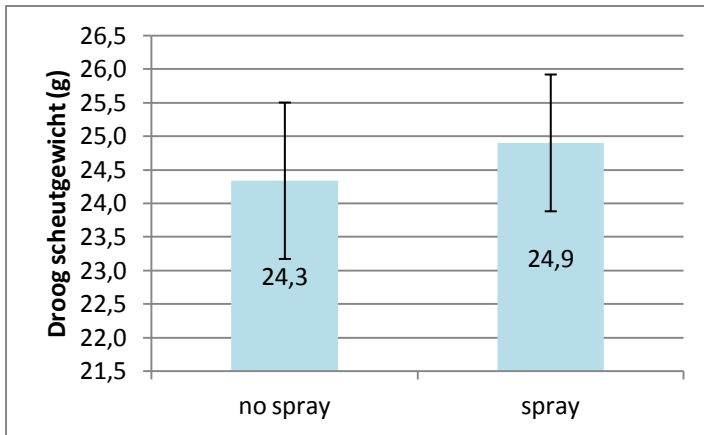
Figuur B3.14: Gemiddelde relatieve scheutgroei voor de verschillende inoculatiebehandelingen: 0 nematoden (nem0), 100 nematoden (nem1), 200 nematoden (nem2), 350 nematoden (nem3) en 1000 nematoden (nem4). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.



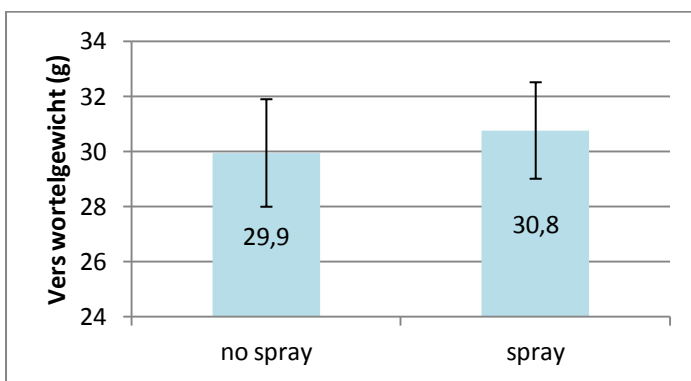
Figuur B3.15: Gemiddeld vers scheutgewicht voor de verschillende inoculatiebehandelingen: 0 nematoden (nem0), 100 nematoden (nem1), 200 nematoden (nem2), 350 nematoden (nem3) en 1000 nematoden (nem4). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.



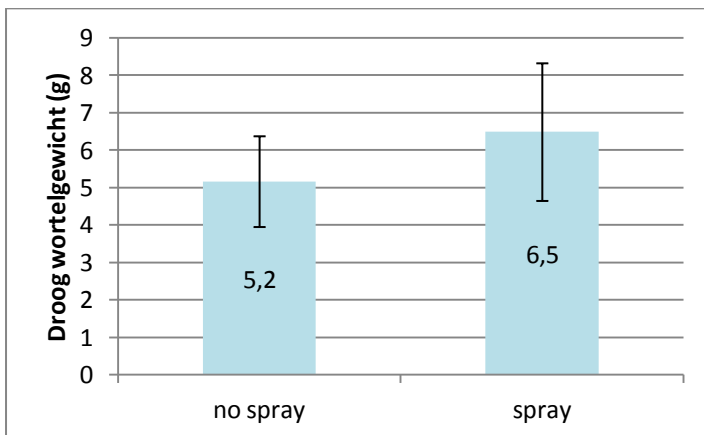
Figuur B3.16: Gemiddeld vers scheutgewicht voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray) en MeJA (spray). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.



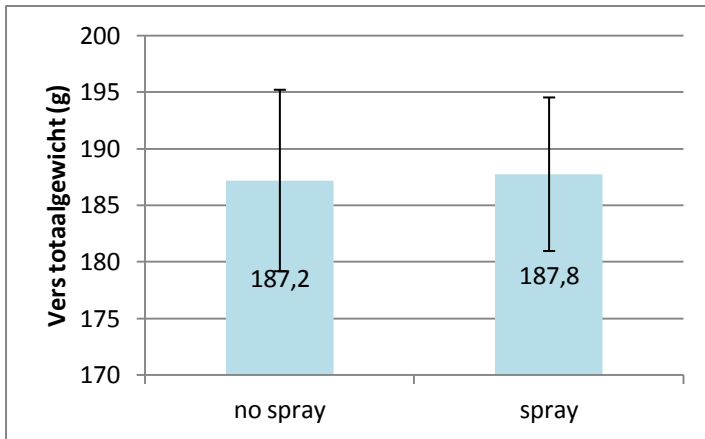
Figuur B3.17: Gemiddeld droog scheutgewicht voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray) en MeJA (spray). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.



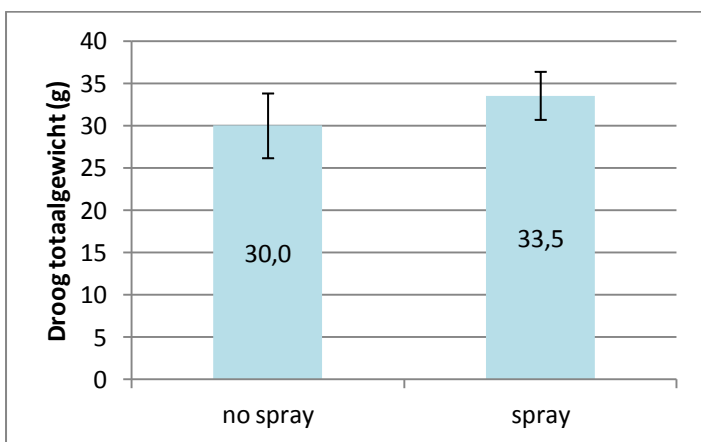
Figuur B3.18: Gemiddeld vers wortelgewicht voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray) en MeJA (spray). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.



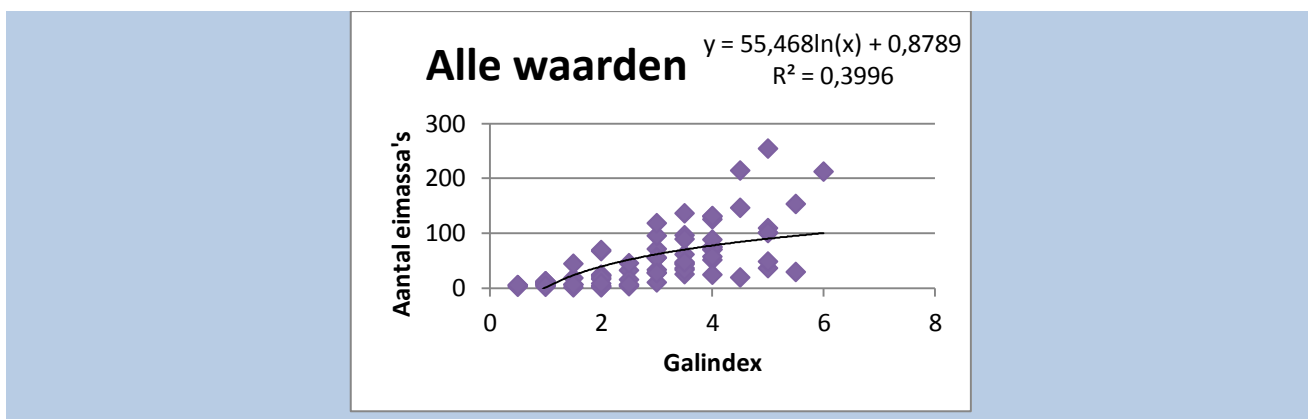
Figuur B3.19: Gemiddeld droog wortelgewicht voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray) en MeJA (spray). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.

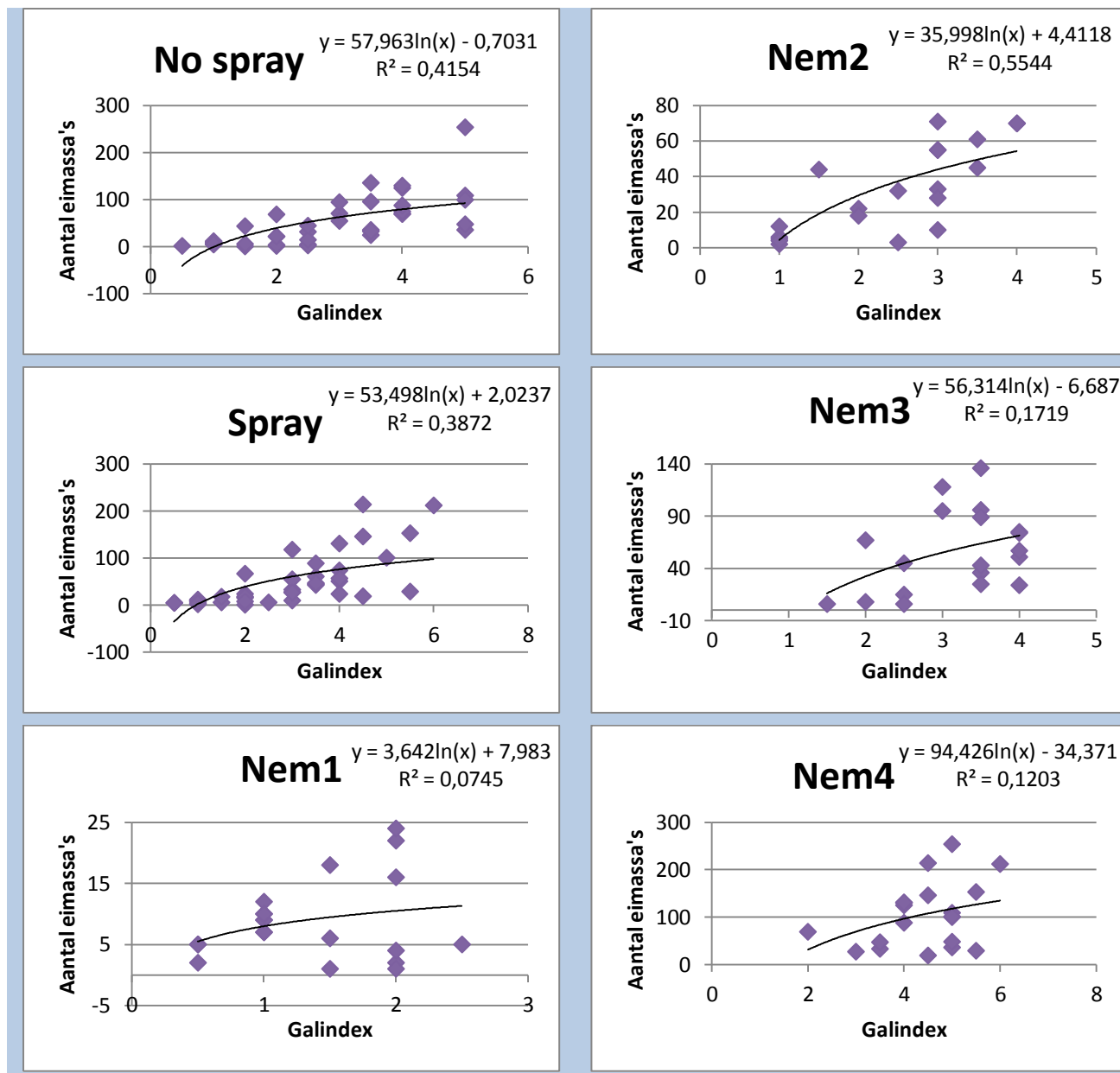


Figuur B3.20: Gemiddeld vers totaalgewicht voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray) en MeJA (spray). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.

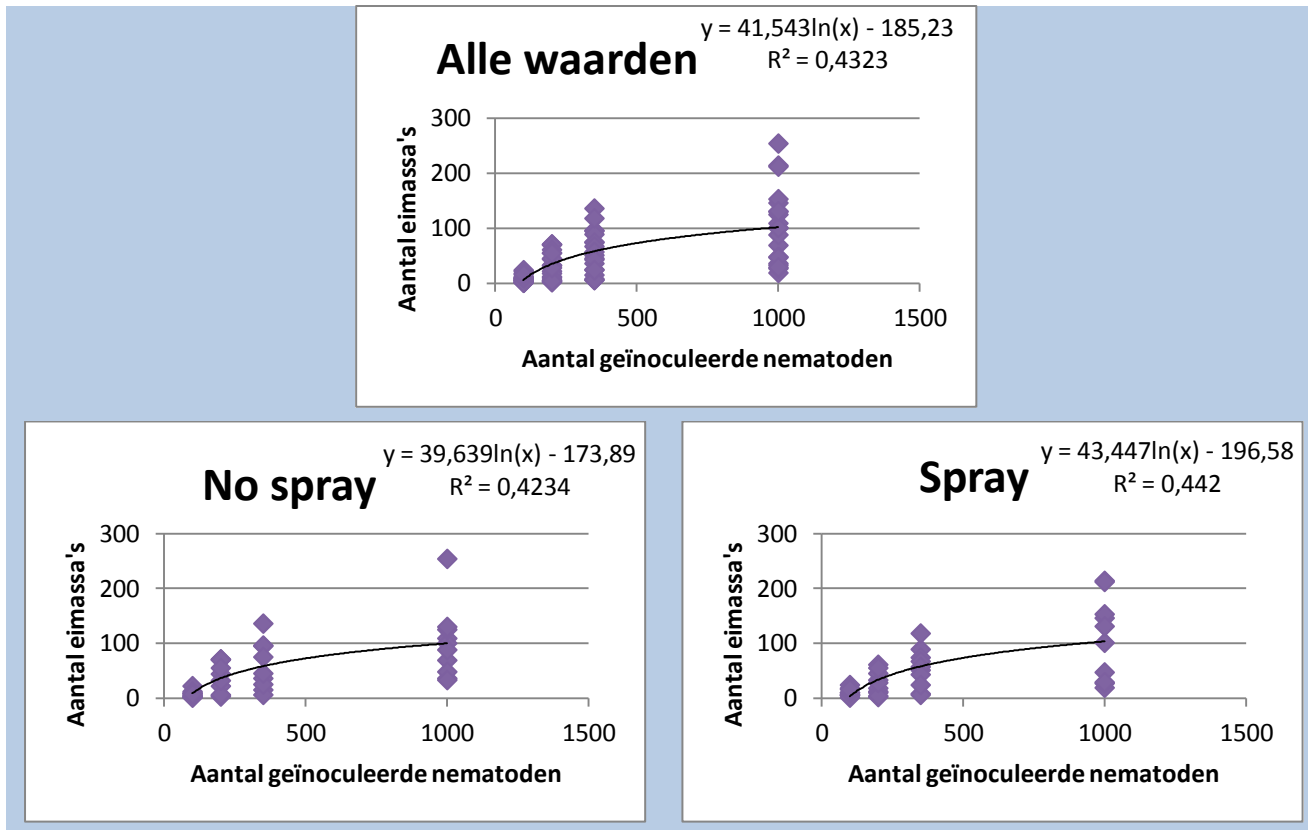


Figuur B3.21: Gemiddeld droog totaalgewicht voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray) en MeJA (spray). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.

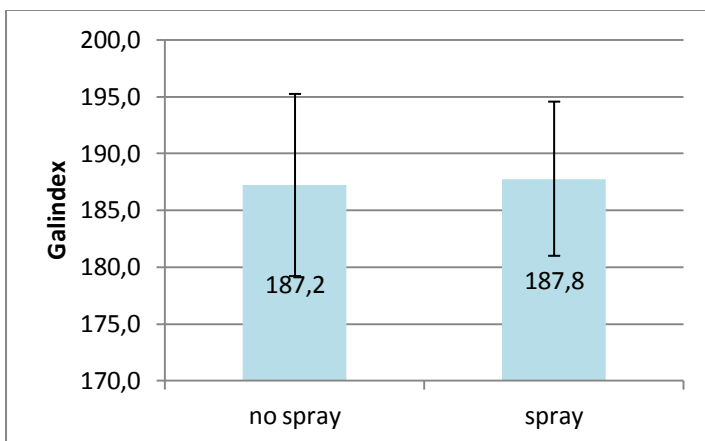




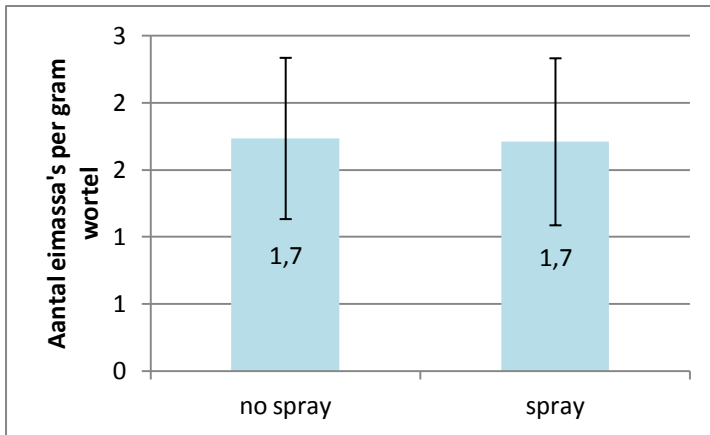
Figuur B3.22: correlatie tussen het aantal eimassa's per plant en de galindex, weergegeven voor alle geïnoculeerde planten (Alle waarden); correlatie tussen het aantal eimassa's per plant en de galindex, weergegeven per groep van geïnoculeerde planten met een verschillende elicitatiebehandeling: geen MeJA (No spray) en MeJA (Spray); correlatie tussen het aantal eimassa's per plant en de galindex, weergegeven per groep van geïnoculeerde planten met een verschillende inoculatiebehandeling: 100 nematoden (Nem1), 200 nematoden (Nem2), 350 nematoden (Nem3) en 1000 nematoden (Nem4). Per plantengroep worden telkens de vergelijking van de gefitte regressierechte en de bijhorende R^2 -waarde weergegeven.



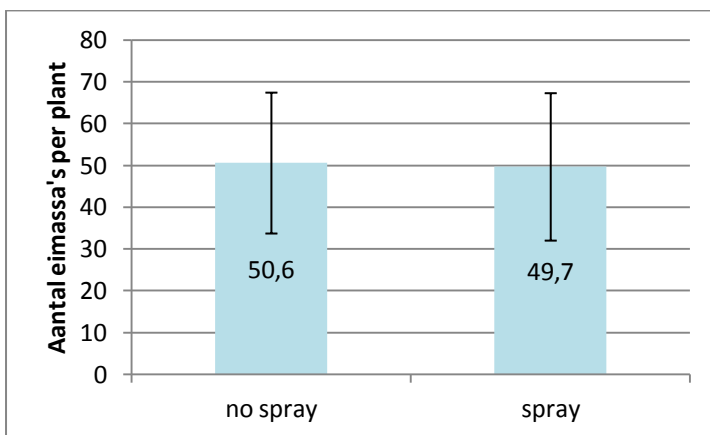
Figuur B3.23: correlatie tussen de inoculatie-densiteit en het aantal eimassa's per plant, weergegeven voor alle geïnoculeerde planten (Alle waarden); correlatie tussen de inoculatie-densiteit en het aantal eimassa's per plant, weergegeven per geïnoculeerde plantengroep met een verschillende elicitatiebehandeling: geen MeJA (No spray) en MeJA (Spray). Per plantengroep worden telkens de vergelijking van de gefitte regressierechte en de bijhorende R²-waarde weergegeven.



Figuur B3.24: Gemiddelde galindex voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray) en MeJA (spray). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.



Figuur B3.25: Gemiddeld aantal eimassa's per gram wortel voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray) en MeJA (spray). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.



Figuur B3.26: Gemiddeld aantal eimassa's per plant voor de verschillende elicitatiebehandelingen: geen MeJA (no spray) en MeJA (spray). De standaarddeviaties worden weergegeven door de verticale foutbalken.

Vulgariserende samenvatting

Wortelknobbelnematoden zijn microscopische wormachtige organismen die het merendeel van de hogere planten kunnen infecteren. Ze groeien en vermenigvuldigen zich in gemodificeerde plantencellen en veroorzaken hierdoor verdikkingen op de wortel: wortelknobbels of -gallen genaamd. Omdat de infectie niet onmiddellijk zichtbaar is aan de bovengrondse plantendelen en omdat wortelknobbelnematoden zich zeer snel kunnen vermenigvuldigen onder gunstige omstandigheden, krijgen verschillende generaties van nematoden de kans om de planten te infecteren alvorens het probleem opgemerkt wordt. Tegen die tijd zijn de wortelstelsels echter al zodanig aangetast, dat de aangerichte schade niet meer om te keren valt. Deze schade omvat dwerggroei, vroegtijdige veroudering en in ernstige gevallen totaal verlies van het gewas. Bovendien maken de nematoden de planten minder bestand tegen andere pathogenen, wat resulteert in secundaire infecties. De vermindering van de gewasopbrengst en/of het verlies van de productkwaliteit die hierdoor veroorzaakt worden, leiden tot een globale schade van vele miljarden dollars. Daarbovenop komt nog eens dat wortelknobbelnematoden zorgen voor additionele kosten omwille van hun 'quarantaine'-status in verschillende landen. Door het verbod op vele chemische bestrijdingsmiddelen tegen nematoden als gevolg van hun nadelige milieueffecten, is het dus absoluut noodzakelijk dat er nieuwe strategieën voor de bestrijding van wortelknobbelnematoden ontwikkeld en toegepast worden. Een van deze milieuvriendelijke alternatieven is het sprayen van een defensie-elicitor zoals methyljasmonaat om een systemische defensie in de plant te induceren. In deze masterproef werd via twee experimenten nagaan of wortelknobbelnematoden in een tomatenplant bestreden kunnen worden met methyljasmonaat. Onder de gegeven omstandigheden werd echter geen bestrijdingseffect van methyljasmonaat tegen de nematoden waargenomen, hoewel gelijkaardige experimenten uit de wetenschappelijke literatuur het tegendeel aangeven. Er is dus nood aan verder onderzoek om te bepalen onder welke voorwaarden methyljasmonaat doeltreffend kan zijn voor de bestrijding van de wortelknobbelnematoden.