

Redactioneel

Geachte lezer (m/v)

De werkgroep Meloidogyne van de KNPV (zie kader) heeft een knappe prestatie geleverd voor de presentatie in dit uitgebreide nummer van Gwsbschrmng. De deskundigen op dit specifieke gebied hebben zich ingespannen dit diepgaande onderzoek begrijpelijk weer te geven en waar mogelijk relaties te leggen met andere gewasbeschermingsmethodieken en -technieken. Ook niet-nematologen zullen daardoor iets van hun gading tegenkomen. Een interessant nummer voor elke KNPV'er!

Waarom themanummers

De redactie van Gwsbschrmng heeft er eind vorig jaar voor gekozen regelmatig themanummers te gaan uitgeven. De eerste werd ons in de schoot geworpen door de organisatie van de najaarsvergadering van de KNPV in november 2003. Dit symposium over de Toekomst van de Biologische Bestrijding markeerde het tienjarig jubileum van Artemis (vereniging van producenten van biologische middelen) en de samenvattingen van de lezingen gehouden in het WICC werden in Gwsbschrmng 35-1 gepubliceerd, daarmee was dat nummer feitelijk een themanummer. De Plantenziektenkundige Dienst (PD) vond het een goed idee hun werk aan een breder publiek kenbaar te maken en schreef enthousiast het derde nummer van dit jaar vol: Gwsbschrmng 35-3, themanummer Plantenziektenkundige Dienst. Deze themanummers omvatten het totale gebied van gewasbescherming en passen daarmee in het beleid van de KNPV. Zowel schimmels, plagen, nematoden en onkruiden kwamen aan bod als

praktijkproblemen en beleidsmatige zaken. De opzet van themanummers nodigt ook uit tot behandelen van specifieke onderwerpen, een facet van gewasbescherming. Dit nummer is daar een voorbeeld van.

Thema nematoden, probleemveld meloidogyne

Waar hebben we het over? Gerrit Karssen maakt dat duidelijk in het

KNPV Werkgroep Meloidogyne

Op initiatief van PPO-agv (toenmalige PAGV) werd 16 december 1988 de werkgroep Meloidogyne opgericht. Deze kwam voort uit een onderzoeksproject waarin in samenwerking tussen het HLB en PAGV werd gewerkt aan de ontwikkeling van biotoetsen om Meloidogyne hapla in grond te kunnen aantonen.

Het doel van de werkgroep is de uitwisseling van informatie over onderzoek en achtergronden betreffende wortelknobbelaaltjes (Meloidogyne sp) waarbij aspecten uit onderzoek, beleid en bedrijfsleven ter sprake komen.

Om de kennisuitwisseling niet te beperken tot onderzoekers alleen is de werkgroep in de loop van de jaren uitgebreid met de Plantenziektenkundige Dienst, bemonsteringsinstanties en kwekers. Inmiddels kent de werkgroep ruim zestig leden. Sinds 1998 draaien ook de nematologen van het Centrum voor Landbouwkundig Onderzoek in Merelbeke (België) actief mee en is een aantal Duitse en Zwitserse nematologen agendalid. Voorwaarde is dat de leden actief bezig zijn met wortelknobbelaaltjes en met regelmaat via lezingen of anderszins een actieve bijdrage leveren aan de werkgroep. In 1998 is de Melowergroep een werkgroep geworden van de KNPV. Tweemaal per jaar organiseert de werkgroep een dag waarin onderzoeksresultaten worden gepresenteerd en besproken. Daarnaast worden veldbezoeken (foto) georganiseerd.

De afgelopen vijftien jaar heeft de werkgroep op een zeer constructieve en plezierige wijze bijgedragen aan de kennisontwikkeling op het gebied van de wortelknobbelaaltjes.



Excursie werkgroep naar PPO proefveld Smakt (augustus2003).

REDACTIONEEL

voorstel rondje en Frans Zoon gaat vervolgens in op de levenscyclus van deze nematode. Dat nematoden ondanks vermindering van grondontsmettingsmogelijkheden toch 'in de hand' te houden zijn, laat Leendert Molendijk zien met het ABS: AaltjesBeheersings-Strategie. Ondanks ABS zijn er genoeg problemen met meloidogyne aan te pakken, zoals Willemien Runia, Gerard Korthals, Otto Smit, Jan Amsing, Ivonne Elberse en Anne Sofie van Bruggen in hun artikelen uit de doeken doen. Handel en Overheid stellen zo hun eisen, dat wordt duidelijk in de verhalen van Frans Janssen en Gerard Bovee.

Waar zit 'ie, hoe vinden we het aaltje en hoe weten we waarmee we te maken hebben? Corrie Schomaker, Thomas Been, Carolien Zijlstra, Erwin Roze en Geert Smant gaan in op de ruimtelijke verdeling, moleculaire diagnostiek en

moleculaire aspecten van de parasiet.

De parasiet is ontdekt en geïdentificeerd, hoe gaat het dan in de praktijk, wat kan de boer nog wel en wat niet? Resistentie van gewassen, risico's, onkruiden, overleving, bodemweerbaarheid en biologische bestrijding worden aan de orde gesteld door Frans Zoon, Richard Janssen, Johnny Visser, Ate de Heij en Hans Kok. Thea van Beers beschrijft de internet applicatie DigiAal, waarmee bouwplannen door te rekenen zijn op risico van nematoden ontwikkeling.

Frans Zoon sluit af met een verslag van een internationale Meloidogyne workshop als een voorbeeld van kennisoverdracht.

Frans Zoon (PRI), Loes den Nijs (PD) en Leendert Molendijk (PPO) hebben de bijdragen gecoördineerd en geredigeerd.

In de verhalen wordt duidelijk dat de principes die hier besproken

worden ook kunnen gelden voor andere organismen en schimmels. Ondanks de specialisatie toch breed toepasbaar.

De redactie is voornemens dit soort themanummers twee keer per jaar te gaan uitgeven. Voor begin 2005 staat een nummer over Onkruiden op het programma. Graag zou ik van u willen vernemen of deze opzet u aanspreekt of niet, uiteindelijk maken we het blad voor u, leden van de Koninklijke Nederlandse Plantenziektkundige Vereniging. Graag een reactie naar kees.westerdijk@wur.nl of per post PPO-agv, t.a.v. Kees Westerdijk, Postbus 430, 8200 AK Lelystad. Ideeën met onderwerpen zijn uiteraard ook van harte welkom!

Kees Westerdijk
Hoofdredacteur Gwsbschrmng
KNPV

Knobbels en spinsels

Erik Greve

Onderzoekscoördinator Hoofdproductschap Akkerbouw

Dit themanummer brengt informatie vanuit beleid, praktijk en onderzoek bij elkaar en deze geïntegreerde aanpak verdient alle lof en navolging. Er wordt zo een speciaal steentje bijgedragen aan het bouwwerk 'aaltjesbeheersing'. De roep om informatie en kennis over de beheersing van aaltjesproblemen is binnen alle plantaardige sectoren luid en duidelijk hoorbaar. Vooral via de geijkte instrumenten onderzoek en voorlichting proberen velen te voldoen aan de behoeften van telers en intermediairen, maar ondanks de nodige inspanningen en investeringen blijft de roep krachtig. Zijn we met elkaar (bedrijfsleven, overheid, onderzoek en voorlichting) dan wel het bouwwerk aan het maken waar de meeste behoefte aan is? Dat is een vraag die mijn hersenknobbels wel vaker bezig houdt.

Wensen- inventarisatie

Steeds meer telers hebben te maken met aaltjesproblemen. Dat blijkt ook uit de jaarlijks door het Hoofdproductschap Akkerbouw (HPA) uitgevoerde inventarisatie van onderzoekswensen van de akkerbouwsector. Elk jaar ontvangen wij zo'n 125 wensen, waarvan er gemiddeld vijftien rechtstreeks betrekking hebben op aaltjes. Geen schokkend aantal zult u zeggen, maar er vallen wel twee dingen op. Ten eerste is er een regionale uitbreiding van de problematiek zichtbaar. In het begin van de negentiger jaren van de vorige eeuw kwamen de kennisvragen met name uit Zuidoost-Nederland, daar-

na vanuit de lichte zavelgrondgebieden in Noordoostpolder en Wieringermeer en nu vooral vanuit het Noordoostelijke zand- en dalgrondgebied. Door de verminderde inzet van natte grondontsmettingsmiddelen en teeltintensivering komen oude en nieuwe aaltjesproblemen na verloop van tijd als het ware vanzelf (weer) boven drijven en wordt de roep om informatie over beheersing en bestrijding groter.

Het tweede aspect dat opvalt is dat de wensen in de periode dat ik werkzaam ben als onderzoekscoördinator bij het HPA (vanaf 1997) eigenlijk nauwelijks zijn veranderd. We hebben een probleem met aaltje X en welk 'recept' moet nu toegepast worden om zo snel en gemakkelijk mogelijk van het probleem af te komen. Wat wel vaak verandert is de letter 'X'; van *Meloidogyne hapla* naar *M. fallax* en *M. chitwoodi*, naar *Pratylenchus penetrans* en vervolgens naar *Trichodorus* spp.

Onderzoek

Het onderzoek heeft hierop, mede in opdracht van het HPA, geantwoord door stuk voor stuk de problemen systematisch bij de kop te pakken. Soort voor soort. Eerst methodieken en waardplantgeschiktheid, dan schadegevoeligheid en dan beheersmaatregelen. Wetenschappelijk gezien een goede en gedegen aanpak, maar ook een langdurige. En het gaat de praktijk nooit snel genoeg. "We stoppen nu als HPA al tien jaar 15-25% van de collectieve onderzoeksgelden in de aaltjesbeheersing. Wanneer wordt de beheersing nu eens werkelijkheid?" is een vraag die mij al vaak is ge-



steld. Mijn antwoord is dat het, zoals zo vaak, allemaal weer niet zo simpel is. Het feit dat het mogelijk is dit volledige tijdschrift met het grootste gemak te vullen met één enkele aaltjesfamilie onderstreept dit nogmaals.

Toch kan ik mij niet aan de indruk onttrekken dat enige bijsturing van de huidige onderzoeks aanpak noodzakelijk is om niet, zoals op dit moment, vaak achter de gevonden problemen aan te blijven hobbelen. We zullen eerst de grote praktische oplossingsrichtingen aan moeten reiken en snel, om daarna toe te komen aan de details.

Het HPA neemt in ieder geval het initiatief tot herbezinning van zijn (kennis)beleid op dit gebied door dit najaar het Platform Aaltjesbeheersing op te richten om, op een soortgelijke wijze als in het Masterplan Phytophthora van LTO-Nederland, te komen tot een nog breder gedragen plan van aanpak.

COLUMN

Voorlichting

Bij de voorlichting over de beheersing van wortelknobbelaaltjes is volgens mij het probleem vooral dat er, in tegenstelling tot cystenaaltjes, geen uniek recept bestaat. Elke teler zal, afhankelijk van o.a. de aanwezige gewassen, vruchtwisseling, mogelijkheden voor groenbemesting en teeltwijze, een andere strategie en tactiek moeten kiezen. Implementatie van maatregelen vraagt kennis, creativiteit en durf. Sommige ondernemers zijn dan helemaal in hun element, anderen veel minder. Kennis implementeren is niet voor iedereen gemakkelijk.

Daarom zal vaak een kennisintermediair worden benaderd. Deze dient dan echter wel over de actuele kennis en vaardigheden te beschikken, zoals ook de onderzoeker moet beschikken over kennis over en inzicht in de actuele problematiek in de praktijk.

Tweede probleem is dat de kennis niet op een geïntegreerde wijze aangeboden wordt. Waar is de gebundelde informatie te vinden, liefst nog voor mijn specifieke situatie, over hoe ik grondbemon-

stering moet laten uitvoeren, uitlagen daarvan op mijn bedrijf moet interpreteren, mijn vruchtwisseling economisch kan optimaliseren en de effecten van maatregelen op meerdere aaltjessoorten kan afwegen? Hulpmiddelen als OptiRAS en NemaDecide gaan in de goede en gewenste richting, maar beperken zich vooralsnog tot aardappelmoeheid.

Met verzelfstandigde onderzoeken en voorlichtingsbedrijven is mijn ervaring helaas dat de informatie-uitwisseling tussen alle betrokkenen en de geïntegreerde aanpak er in ieder geval niet beter op geworden zijn. Soms bijna stuitende discussies over intellectuele eigendomsrechten, aangaande kennis die in het verleden met collectieve gelden van overheden en productieschappen is verworven, dienen alleen de korte termijn en doen het wederzijdse vertrouwen geen goed. Kortom, ook kennisverspreiding en -implementatie verdient op korte termijn aandacht en inspanning van alle betrokkenen. Het HPA werkt hieraan mee via o.a. Kennisakker (www.kennisakker.nl)

Nog meer problemen

Problematisch bij de realisatie van de gewenste ontwikkelingen op het gebied van aaltjesbeheersing is dat de plantaardige sectoren op dit moment te maken hebben met grote problemen als gevolg van het gewasbeschermings- en mineralenbeleid. De benodigde aandacht en inspanning voor o.a. middelen-toelatingen en bemestingsadviezen is dermate groot dat aaltjes wat naar de achtergrond worden geduwd. Mijn pleidooi voor meer aandacht voor onderzoek en voorlichting bestaat dus ook, ik moet het helaas toegeven, op dit moment deels uit alleen maar mooie woorden. Vanwege de lage inkomsten in de akkerbouwsector zullen collectief bijeengebrachte budgetten immers niet stijgen, maar eerder dalen.

Het is dus zaak om met al onze beschikbare middelen zeer effectief en efficiënt om te gaan. Als dit themanummer van Gewasbescherming hieraan bijdraagt, in wat voor vorm dan ook, zijn mijn hersenknobbels weer even beheersbaar.

Nieuwe wortelknobbelaaltjes en opvallende waarnemingen in Europa

Gerrit Karssen

Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

In 1998 werd een omvangrijke taxonomische studie afgerond naar de soortstatus van de in Europa gevonden *Meloidogyne* soorten (Karssen & van Hoenselaar, 1998; Karssen, 2002). Het resultaat was dat er, na opschoning, vijftien soorten bekend waren, welke waren beschreven of gedetecteerd in Europa. Ondertussen zijn er weer nieuwe vondsten gedaan en is er een aantal nieuwe soorten bijgekomen voor Europa: kortom tijd voor een update met toelichting!

De wortelknobbelaaltjes behoren tot het geslacht *Meloidogyne* Göldi, 1892, welke vrij recent vanuit de familie *Heteroderidae* weer in de familie *Meloidogynidae* is geplaatst (De Ley & Blaxter, 2002). Waren er in 1949 nog slechts vijf soorten bekend, nu zijn er bijna honderd soorten binnen deze wonderlijke groep van nematoden beschreven. Tot in het recente verleden werd er uitsluitend morfologisch geïdentificeerd, tegenwoordig passen we op de Plantenziektenkundige Dienst een combinatie toe van morfologie, isozymen, DNA en waardplanten (de zgn. geïntegreerde methode) om wortelknobbelaaltjes op naam te brengen.

Bekende soorten

M. chitwoodi en *M. fallax*
Hoewel deze soorten nog niet zo lang geleden zijn beschreven (1981 en 1996 resp.) behoren ze nu al tot

de meest gevreesde wortelknobbelaaltjes van de gematigde gebieden. Ze zijn nauw aan elkaar verwant, parasiteren op een groot aantal mono- en dicotyle gewassen (incl. aardappel) en vormen zelfs onder relatief koele omstan-

digheden nog meerdere generaties per jaar. Een paar jaar na de beschrijving van *M. chitwoodi*, in 1981 in de V.S., werd deze reeds in Nederland gevonden, gevolgd door andere Europese (Duitsland, België, Frankrijk, Portugal en

Overzicht

De volgende *Meloidogyne*-soorten zijn tot op heden beschreven en/of gevonden in Europa:

- M. ardenensis* Santos, 1968* (Syn. *M. deconincki* Elmiligy, 1968; *M. liroralis* Elmiligy, 1968)
- M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949#
- M. artiellia* Franklin, 1961*
- M. baetica* Castillo, Volvlas, Subbotin & Troccoli, 2003*
- M. chitwoodi* Golden, O'bannon, Santo & Finley, 1980#
- M. duytsi* Karssen, van Aelst & van der Putten, 1998*
- M. ethiopica* Whitehead, 1968
- M. exigua* Göldi, 1892
- M. fallax* Karssen, 1996*#
- M. hapla* Chitwood, 1949#
- M. hispanica* Hirschmann, 1986*#
- M. ichinohei* Araki, 1992
- M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949# (Syn. *M. kirjanovae* Terenteva, 1965*)
- M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949#
- M. kralli* Jepson, 1984*
- M. lusitanica* Abrantes & Santos, 1991*
- M. maritima* (Jepson, 1987) Karssen, van Aelst, & Cook, 1998*
- M. mayaguensis* Rammah & Hirschmann, 1988
- M. minor* Karssen, Bolck, v. Aelst, v.d. Beld, Kox, Korthals, Molendijk, Zijlstra, v. Hoof & Cook, 2004*#
- M. naasi* Franklin, 1965*#
- M. ulmi* Palmisano & Ambrogioni, 2001*

Species Inquirendae:

- M. megriensis* (Poghossian, 1971) Esser, Perry & Taylor, 1976*
- M. marioni* (Cornu, 1879) Chitwood & Oteifa, 1952*

* = Soort met de type locatie in Europa.

= Aan deze soort wordt elders in deze uitgave aandacht besteed.

ARTIKEL

Zwitserland) en niet-Europese landen (o.a. Zuid-Afrika, Argentinië en Australië). *Meloidogyne fallax* werd in 1996 beschreven vanuit Nederland en is ondertussen ook bekend uit andere Europese landen (Duitsland, België, Frankrijk en Zwitserland) en niet-Europese landen (Zuid-Afrika en Nieuw-Zeeland). Niet voor niets werden deze twee soorten eind vorige eeuw aan de Europese lijst van quarantaine-organisme toegevoegd. Zorgelijk is dat ondanks deze belangrijke maatregel de verspreiding van deze soorten nog steeds toe neemt.

M. hapla

Een succesvolle en overbekende nematode soort welke men vooral op dicotyle kruiden en gewassen kan aantreffen. Het is ook het wortelknobbelaaltje met de grootste natuurlijke verspreiding in Europa. Echter het is ook het enige tot nu toe bekende wortelknobbelaaltje met een zeer grote morfologische variatie, met name geïnduceerd door chromosoom- en voortplantingsverschillen, waardoor men voorzichtig moet zijn met het morfologisch op naam brengen van deze soort. De auteur is er vrij zeker van dat *M. hapla* Chitwood, 1949 gelijk is aan de reeds lang geleden beschreven *M. marioni* (Cornu, 1879), maar heeft omwille van naamgevingsstabiliteit laatstgenoemde soort voorlopig op een taxonomisch zijspoor geplaatst.

M. naasi

Meloidogyne naasi is in Europa ongetwijfeld de meest bekende vertegenwoordiger van de subgroep van wortelknobbelaaltjes die uitsluitend parasiteren op monocotylen. Het is een soort met een ruime Europese verspreiding en o.a. bekend uit Duitsland, Polen, België, Frankrijk, Italië en Engeland.

Opvallende waarnemingen

M. ardenensis

Deze relatief minder bekende *Meloidogyne*-soort was tot nu toe bekend uit Engeland, Nederland, België, Frankrijk, Duitsland, Polen en Rusland en uitsluitend gevonden op een aantal bomen, heesters en dicotyle kruiden. Een opmerkelijke vondst werd gedaan in 2000 in Noord-Noorwegen. Nabij Kristiansund werd *M. ardenensis* aangetroffen op vrouwenmantel (*Alchemilla acutiloba* Opiz) op de rand van een oud grasland (Holgado *et al.*, 2001). Het is niet alleen de eerste melding van deze nematode op vrouwenmantel, maar ook de eerste maal dat *M. ardenensis* is gevonden in Scandinavië én het is daarmee de meest noordelijke verspreiding van deze soort! Het is logisch te veronderstellen dat deze soort waarschijnlijk een veel grotere verspreiding heeft in Europa dan tot nu toe was aangenomen. Immers het induceren van relatief kleine gallen en de afwezigheid van duidelijke schade op bomen en heesters maken deze nematode tot een diagnostisch weinig opvallende soort.

M. kralli

Een ander weinig bekend en opvallend wortelknobbelaaltje is *M. kralli*. Zijn natuurlijke waardplanten beperken zich tot een aantal Cyperaceae-soorten in met name vochtige biotopen zoals moerassen en veengebieden. Tot nu toe was *M. kralli* gevonden in Estland, Rusland, Polen en Engeland. Op basis van deze verspreiding was al voorspeld dat zij waarschijnlijk een veel grotere verspreiding heeft in Europa (Karssen & van Hoenselaar, 1998). In 2001 werd, door een toevallige bemonstering in een hoogveengebied in Zwitserland, *M. kralli* gevonden op *Carex acuta* L. nabij Wädenswil op een hoogte van 660 m. boven NAP. Ook hier waren de gallen zeer klein en was er geen sprake van zichtbare schade (Karssen & Grun-

der, 2002). Het voorkomen van deze onopvallende soort op zo'n grote hoogte zo ver buiten het bekende verspreidingsgebied geeft aan dat deze morfologisch boeiende soort inderdaad een veel grotere verspreiding moet hebben in Europa.

M. incognita / *M. arenaria* en *M. javanica*

Deze drie zeer bekende *Meloidogyne* soorten behoeven geen introductie meer. Hun voorkomen in midden- en Noord-Europa zou zich beperken tot de kassen. Echter in een aantal gevallen heeft de Plantenziektenkundige Dienst deze soorten in Nederland recent gevonden in buitenteelten. Zo werd *M. incognita* een aantal malen gevonden op *Hosta* sp. en *Hypericum* sp., en *M. arenaria* éénmaal aangetroffen op *Gardenia* sp. Hoewel het hier voor een deel ontsnappingsteelten betreft, dwz het voortgangsmateriaal gaat buiten het groeiseizoen in de koelcel, zijn het zorgelijke waarnemingen. Immers de natuurlijke verspreidingsgrens in het veld van bv *M. incognita* zou zich net onder Parijs bevinden. Het is vrij zeker dat met een kleine temperatuurstijging de natuurlijke noordelijke grens voor deze soorten zal gaan opschuiven of reeds opgeschoven is!

M. hispanica

Meloidogyne hispanica is een polyfage soort welke nauw verwant is aan *M. incognita*. Deze soort is tot nu toe enkel gevonden in het veld in Spanje, Portugal en Zuid-Frankrijk. In 2002 meldden Amsing & van Gurp het voorkomen van deze relatief onbekende soort uit een komkommerkas te Horst, met een opvallend grote galvorming en groeireductie. Dit is niet alleen de eerste melding van *M. hispanica* uit een kasteelt, maar ook de eerste melding van deze soort voor Nederland. Morfologisch is deze soort eenvoudig te verwarren met *M. incognita*, daarom moet identificatie van deze soort op enzymen/of DNA-niveau plaatsvinden.

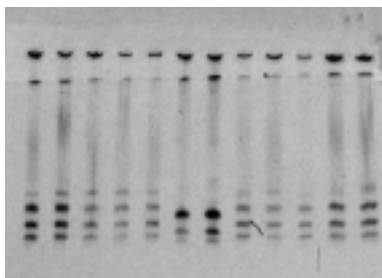
M. mayaguensis

Deze pas in 1988 beschreven soort staat nu al bekend als zeer pathogeen (o.a. het tomaten Mi-gen doorbrekend) en wordt vaak in een adem genoemd met de drie andere warmteminnende *Meloidogyne* soorten: *M. incognita*, *M. arenaria* en *M. javanica*. Ook is inmiddels bekend dat deze soort een groot verspreidingsgebied heeft, o.a. een groot deel van Afrika en midden- en Zuid-Amerika. Nederland heeft deze soort reeds diverse malen gevonden in Afrikaans plantengoed en éénmaal zelfs gevonden op *Ligustrum vulgare* L. bonsai afkomstig uit China, het betreft de eerste melding uit Azië.

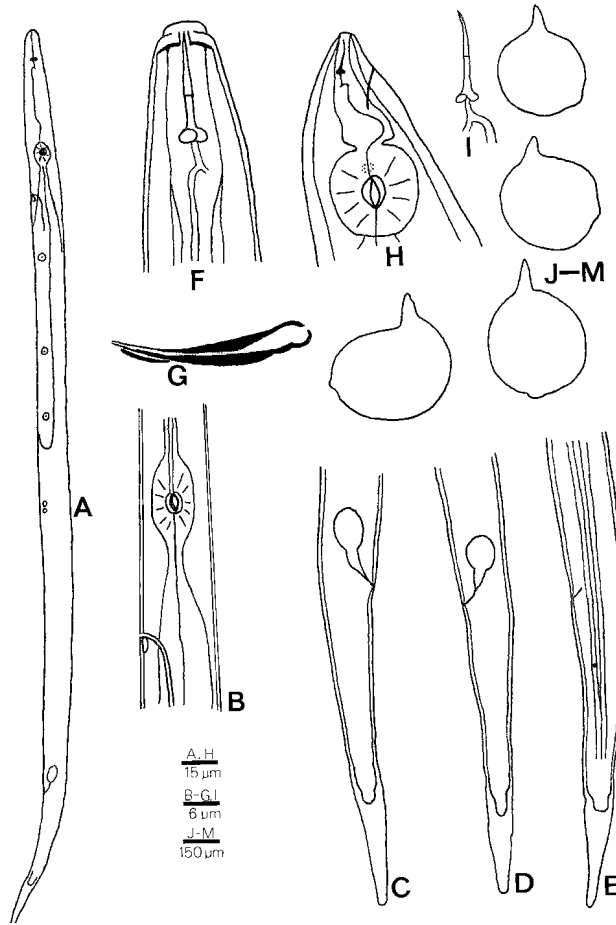
Tot vrij recent was deze soort niet uit een Europese kas bekend, tot Blok *et al.* (2002) het onlangs melden uit een tomatenkas uit Frankrijk. Het is een nematodensoort waar we ongetwijfeld meer van zullen horen de komende jaren. Ook hier is het van groot belang dat de diagnose op enzym- en/of DNA-niveau gebeurt, omdat ook hier een grote morfologische gelijkenis is met *M. incognita*. Taxonomisch is dringend onderzoek nodig naar de soortstatus van *M. mayaguensis*, omdat de beschrijvingen van *M. mayaguensis* Rammah & Hirschmann, 1988 vrijwel identiek is aan *M. enterolobii* Yang & Eisenback, 1983 die is beschreven uit China.

M. ethiopica

Een minder bekende polyfage soort welke tot nu toe was ge-



Figuur 1. Het esterase enzympatroon van *M. ethiopica*, met *M. javanica* als referentie in de 2 middenposities.



Figuur 2. Tekening van *M. minor*. A-E: Juveniel. A: Overzicht; B: Metacorpus-gebied; C-E: Staarten. F, G: Mannetje. F: Kop; G: Geslachtsapparaat. H-M: Vrouwtje. H: Kop gebied; I: Stekel; J-M: Overzicht.

vonden in een aantal Afrikaanse landen op diverse gewassen. Ook deze soort is morfologisch eenvoudig te verwisselen met *M. incognita*.

Onlangs is deze soort voor het eerst opgedoken in Europa en wel in een tomatenkas in Slovenië (Sirca *et al.*, 2004). Opvallend was de zeer slechte stand van het gewas en de sterke galvorming. Het is vooralsnog een raadsel hoe deze soort de oversteek vanuit Afrika heeft kunnen maken.

Nieuwe soorten

M. ulmi

In 2000 verscheen de beschrijving van *M. ulmi* Palmisano & Ambrogioni. Deze soort is beschreven van Ulmes chenmoi Cheng uit

Italië, en is morfologisch verwant met *M. ardenensis*, ook haar waardplanten beperken zich tot houtige gewassen. Op enzym- en DNA-niveau wijkt deze soort gelukkig duidelijk af van *M. ardenensis* (Karssen *et al.*, in prep.).

Opvallend is de vermelding in de beschrijving van de herkomst van het iepenmateriaal waarop het typemateriaal werd gevonden, namelijk Wageningen! Iepenaaalingen die in Wageningen werden opgekweekt op het voormalige terrein van de Dorschkamp zijn naar Italië gebracht en samen op één locatie bij elkaar geplaatst, waar ze kort nadien allemaal bleken te zijn geïnfecteerd met deze nieuwe wortelknobbelaaltjes. Infectie van de iepen in Italië is zo goed als uit te sluiten, waarmee we vrij zeker kunnen stellen dat bron van infectie zich in Wage-

ARTIKEL

ningen bevond. De omvang van de verspreiding van *M. ulmi* in Nederland is nog een grote vraag.

M. baetica

Vorig jaar verscheen ook een andere nieuwe wortelknobbelaaltjes afkomstig van een houtig gewas. *Meloidogyne baetica* Castillo *et al.* werd beschreven van wilde olijf (*Olea europaea* L.) afkomstig uit Spanje. Er is nog vrijwel geen informatie over andere waardplanten en de verspreiding van deze nieuwe soort.

M. minor

Onlangs verscheen de publicatie van *M. minor* Karssen *et al.*, 2004. Deze relatief kleine soort werd in 2000 voor het eerst gevonden op aardappelwortels te Zijerveld (bij Assen). Vervolgens bleek uit aanvullend waardplanten-, morfologisch-, enzym- en DNA-onderzoek dat deze soort nauw verwant is aan *M. chitwoodi* en *M. fallax*. Een potentieel gevaarlijke soort dus. Vrij onverwacht ontving de PD in 2001 en 2002 diverse monsters afkomstig van golfvelden uit Groot-Brittannië en Ierland, allen bleken besmet te zijn met *M. minor*. Het voorkomen op deze golfvelden blijkt samen te vallen met de zgn. 'gele vlekken ziekte', een lastige ziekte welke op deze golfvelden van het vroege voorjaar t/m de herfst voor duidelijke gele plekken zorgt. Vorig jaar hebben we *M. minor* weten terug te traceren tot zijn natuurlijke biotoop in de duinen van Groot-Brittannië. Dit jaar zal er door de PD een survey worden uitgevoerd in het gebied rond Zijerveld om meer te weten te komen over de verspreiding in Nederland. Verder is reeds een begin gemaakt met een Pest Risk Analysis om vast te stellen of het een potentieel quarantaine organisme is.

Literatuurlijst op www.knpv.org

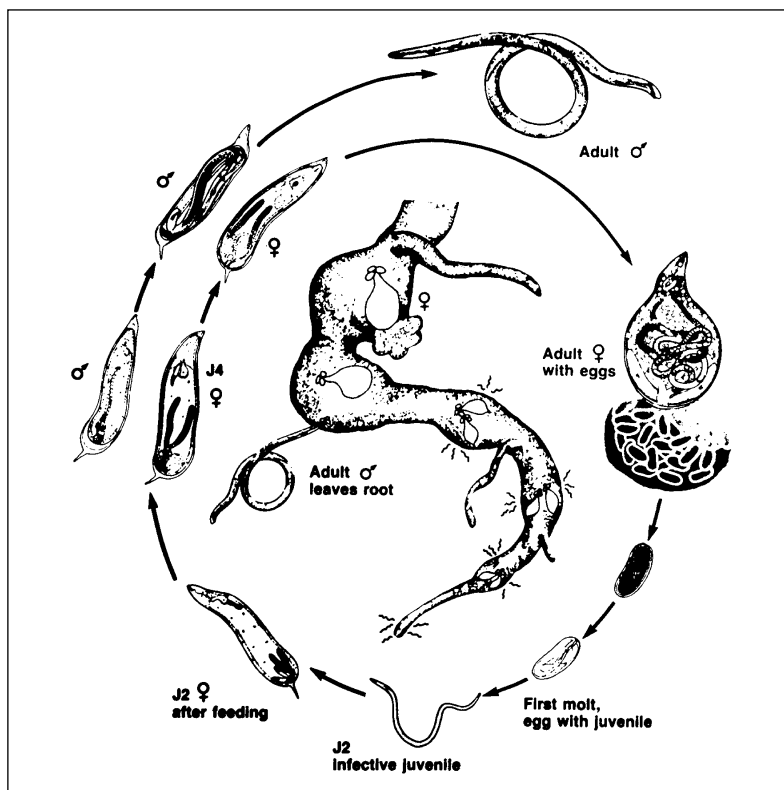
De levenscyclus van wortelknobbelaaltjes

Frans Zoon

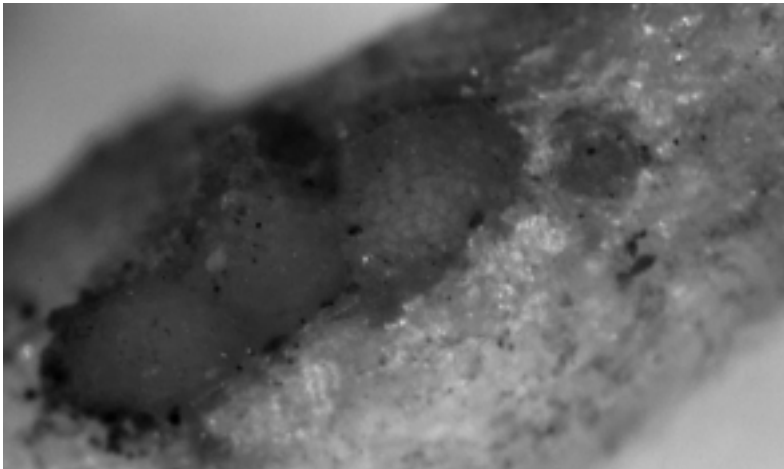
Plant Research International, Wageningen; frans.zoon@wur.nl

Wortelknobbelaaltjes (*Meloidogyne* spp.) zijn de opportunisten binnen de plantenparasitaire nematoden. Ze komen grotendeels spontaan uit hun ruststadium en populaties kunnen daardoor sterk afnemen in afwezigheid van waardplanten. Als er wel één van de vele goede waardplanten aanwezig is, treedt er echter een sterke vermeerdering op zonder noodzakelijk seksueel ophoud. Bovendien zijn er vaak meerdere generaties per seizoen.

Meloidogyne spp. overleven vooral als juvenielen (J2) in de eieren die samengeklonterd aan of in wortelresten zitten. Omdat er formeel geen metamorfose is in de levenscyclus van deze aaltjes, spreken we over juvenielen en niet over larven. Toch zijn de vormveranderingen tijdens de ontwikkeling van wortelknobbelaaltjes net als bij cystenaaltjes aanzienlijk (Fig 1). Door stijgende temperatuur in het voorjaar maar ook 'spontaan' worden de tweede stadium juvenielen



Figuur 1. De Levenscyclus van *Meloidogyne* spp. In het midden zijn de stadia in en rond de zich verdikkende wortel te zien. Daaromheen zijn uit de wortel vrijgemaakte ontwikkelingsstadia van het aaltje weergegeven (bron H.D. Shew).



Figuur 4. Gekleurde eiproppen op de wortel.

Tabel 1. Voortplantingswijzen en ploïdie-niveaus van enkele *Meloidogyne*-soorten

Soort	Voortplantingstype	Aantal chromosomen
<i>M. incognita</i>	obl. mitotische parthenogenese	32-48
<i>M. arenaria</i> obl.	mitotische parthenogenese	30-56
<i>M. javanica</i> obl.	mitotische parthenogenese	42-48
<i>M. hapla B</i> obl.	mitotische parthenogenese	30-48
<i>M. chitwoodi</i>	fac. meiotische parthenogenese + amphimixis	14-18
<i>M. hapla A</i>	fac. meiotische parthenogenese + amphimixis	13-17 (34)

die minder dan een halve mm lang zijn actief, komen uit de eieren en gaan op zoek naar een plantewortel. Voor hun oriëntatie gebruiken ze een combinatie van CO₂- en temperatuurgradiënten en op korte afstand ook wortellexudaten. Dat ook andere bronnen in de bodem CO₂ kunnen produceren is mogelijk één van de redenen dat vaak slechts een deel van de aanwezige populatie de wortel bereikt. Bij de wortel aangekomen richten de infectieuze J2's zich op de wortelstrekingszone, waar ze op slinkse wijze binnendringen en via de wortelpunt naar de differentiërende vaatbundel migreren (zie Roze *et al.* in dit nummer). Binnen een dag worden daar voedingscellen geïnduceerd en begint de J2 zich te voeden. In dit stadium is er het mogelijk dat een vrouwelijke juveniel zich gaat ontwikkelen tot mannetje, als de voedingssituatie niet optimaal is.

Zodra de J2 flink is opgezwollen, ontwikkelt het zich met vervellingen tot de kortstondige derde en vierde juveniele stadia, die zich niet voeden, en verder tot mannetje of wijfje (Fig 1). Mannetjes verlaten de wortel op zoek naar wijfjes. De wijfjes maken net als de J2 zeer actief gebruik van de voedingscellen. Ze zwellen nog verder op tot een dikke peer en vormen vaak zonder bevruchting eieren die buiten het lichaam worden afgezet in een gelatineuze massa, ofwel de eiprop. Daar rijpen de eieren verder van embryonaal naar 'larvaal'. Bovendien vindt in de eieren een eerste vervelling plaats. Als de door het aaltje geïnduceerde gal op een wortel of ander ondergronds plantenorgaan erg dik is kan de eiprop in het plantenweefsel opgesloten blijven. In de meeste gevallen steekt de eiprop naar buiten. De generatieduur van *Meloidogyne* is afhankelijk van de temperatuur.

Gematigde soorten zijn doorgaans vanaf 5 °C actief, terwijl voor warmteminnende soorten een drempel van ca. 10 °C kan worden aangenomen. Er zijn ongeveer 750 graaddagen boven de drempelwaarde nodig voor een volledige generatie. Dat betekent bijvoorbeeld ongeveer 7 weken bij 20 °C voor een gematigde soort als *M. chitwoodi* of *M. hapla*.

Meloidogyne-soorten vertonen een grote variatie aan ploïdie-niveaus en voortplantingssystemen. Dit kan grote invloed hebben op de populatiegenetica en op de expressie van aaltjesgenen. Strikt geslachtelijke voortplanting komt maar bij enkele soorten voor. Veel warmteminnende soorten hebben obligate mitotische parthenogenese, ofwel strikt ongeslachtelijke voortplanting waarbij het genoom net als bij gewone celdeling zonder splitsingsstap wordt 'gekopieerd'. Deze soorten, of voortplantingstypen, hebben vrijwel allemaal een diploïde of triploïde genoom en blijken genetisch nogal uniform en conservatief. Dit betekent echter geenszins dat deze aaltjes minder succesvol zijn als plantenparasiet, in tegendeel. Andere soorten hebben facultatieve meiotische parthenogenese, waar wel de meiotische splitsing optreedt, en waarbij soms enige recombinatie kan optreden. Het facultatieve van deze parthenogenese houdt in dat er ook bevruchting (amphimixis) kan optreden. De nakomelingen in een eiprop kunnen daardoor bij dit voortplantingstype een mengsel zijn van kruisingsproducten en ongeslachtelijk gevormde kopieën van de moeder. Door kruising en recombinatie zijn populaties van dit type doorgaans een bonte verzameling van verwante genotypen. *M. chitwoodi* is hiervan een voorbeeld. Binnen de soort *M. hapla* bestaan twee verschillende voortplantingstypen, die worden onderscheiden als ras A en ras B.

AaltjesBeheersingsStrategie (ABS); de planmatige aanpak

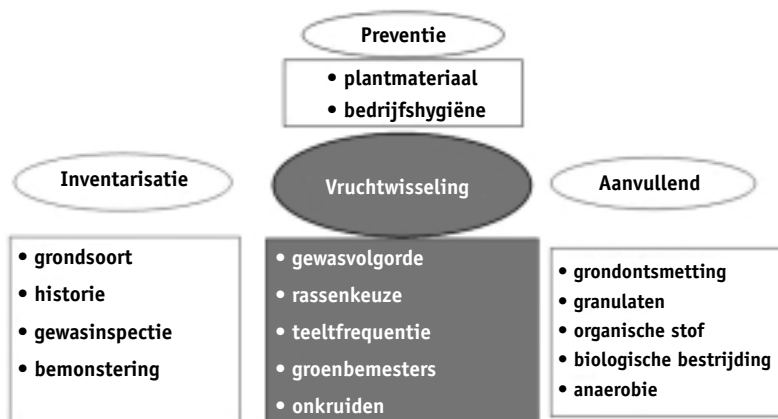
Leendert Molendijk

Praktijkonderzoek Plant en Omgeving, Lelystad

De afgelopen vijftien jaar is er zowel door het georganiseerde bedrijfsleven als het Ministerie van LNV veel geïnvesteerd in het nematologisch onderzoek en voorlichting om een verminderd gebruik van natte grondontsmetting mogelijk te maken. Alternatieven voor de breedwerkende grondontsmettingsmiddelen zijn kennisintensief. De oplossing voor het éne aaltje in gewas X kan de oorzaak van problemen zijn met een ander aaltje in gewas Y. Kortom, er is niet één enkele remedie te geven maar per ceelsspecifiek maatwerk is vereist.

Een systematische aanpak via een AaltjesBeheersingsStrategie (ABS) is de werkwijze waarlangs het onderzoek en voorlichting proberen handvatten te bieden om blijvend de afhankelijkheid en het gebruik van grondontsmettingsmiddelen te beperken (grondontsmetting zie kader).

Een bodem gezond hebben en houden vraagt een actieve en planmatige aanpak. In deze bijdrage wordt de opbouw van een AaltjesBeheersingsStrategie uitgewerkt en vervolgens geïllustreerd aan de hand van de wortelknobbelaaltjes.



Figuur 1: Schema AaltjesBeheersingsStrategie (ABS).

AaltjesBeheersingsStrategie als anti blokkeersysteem

In grond en water komen in Nederland ongeveer 1200 aaltjessoorten voor, waarvan ongeveer honderd soorten voor planten schadelijk zijn. In onderstaande tabel staan de problemen veroorzaken in de Nederlandse land- en tuinbouw. Wanneer een aaltjesprobleem in de praktijk zichtbaar wordt zijn er geen curatieve middelen om het probleem op te lossen. Aan de

andere kant hoeft een aaltjesprobleem geen verrassing te zijn. Aaltjespopulaties bouwen zich in vergelijking tot insecten en schimmels relatief langzaam op en kennen van zichzelf maar een beperkte actieve verspreiding. Aaltjesbeheersing vergt een pro actieve opstelling waardoor problemen kunnen worden voorkomen of klein kunnen worden gehouden. Tot midden jaren tachtig was natte grondontsmetting de algemene remedie. Het alternatief is per ceelsspecifiek maatwerk. Door voor een bedrijf een aaltjesbeheersingsstrategie uit te werken kunnen verrassingen worden voorkomen. In figuur 1 staan de belangrijkste elementen van de ABS schematisch weergegeven. Ze worden hier toegelicht.

Preventie

Preventie vormt een vast onderdeel van een gezonde bedrijfsvoering. Bedrijfshygiëne waarbij

Tabel 1: Voor de vollegrondsteelten in Nederland relevante aaltjesgroepen

Zware grond	Lichte grond
aardappelpcysteaaltjes	cysteaaltjes
bietencysteaaltjes	wortelknobbelaaltjes
speldaaaltjes	wortellesieaaltjes
stengelaaltjes	trichodoriden
bladaaltjes	xiphinema
	longidorus
	bladaaltjes

ARTIKEL

grondtransport van buiten tot het minimum wordt beperkt is een belangrijk aspect. Hoewel er praktisch veel bezwaren aan kleven, zeker wanneer de oogstomstandigheden moeilijk zijn, is met een goede bedrijfshygiëne het binnen halen en verspreiden van nieuwe soorten sterk te vertragen. Verder is een kritische houding ten opzichte van de kwaliteit van het gebruikte plant- en pootgoed op zijn plaats.

Inventarisatie

Allereerst is het nuttig om na te gaan welke aaltjesproblemen op het bedrijf zouden kunnen vóórkomen. Op de zware klei van het Oldambt spelen de meeste aaltjessoorten nooit een rol van betekenis. Voor bedrijven met bonte percelen kan het zinvol zijn om op basis van de bodemkaart de potentiële probleemstukken te inventariseren. Op veel bedrijven is de ervaring van de vijftiger en zestiger jaren nog beschikbaar en weet men in welke hoek(en) men aaltjesproblemen tegenkwam. Dit zijn ook nu nog de percelen of perceelsdelen waar problemen met aaltjes het eerst te verwachten zijn. Wanneer verdachte plekken worden aangetroffen, kan via bemonstering van grond en gewas-materiaal een vermoeden worden bevestigd.

Analyse van grondmonsters kan een goed beeld geven van de besmettings situatie op een perceel. Afhankelijk van de uitgangssituatie en het bouwplan kan een bemonsteringsplan worden opgesteld zodat tegen de minste kosten maximale informatie kan worden ingewonnen.

Veel aaltjesinformatie groeit in het veld (foto 1). Met name rond de opkomst en bij het sluiten van gewassen zijn aaltjesaantastingen goed waarneembaar. Vaak is de vertraging in opkomst en groei slechts tijdelijk te zien. Deze verschijnselen worden meestal over



Foto 1. Het bekijken van de wortels levert veel informatie op. In dit geval blijkt plantwegval in bieten veroorzaakt te worden door *Meloidogyne chitwoodi* (niet vertakte knobbels op de wortels).

het hoofd gezien of afgedaan als 'structuurproblemen'. Door op kleine plekken acht te slaan, wordt voorkomen dat bij een volgende teelt honderden meters met problemen zichtbaar worden. Regelmatige beoordeling van wortelgroei door de schop onder een plant te zetten, levert vroegtijdig informatie op over bovengronds nog niet opzienbarende problemen. Splitsing van hoofdwortels, baardvorming van wortels, knobels en rottende plekken op de wortels zijn allemaal signalen dat er mogelijk aaltjes in het spel zijn.

Vruchtwisseling

Vruchtwisseling is van oudsher de spil bij het bestrijden van bodemziekten. Ook in een ABS vormt een doordachte volgorde van gewassen en het gebruik van resistente rassen de kern.

De meeste problemen met aaltjes zitten 'ingebakken' in het bouwplan. Anders gezegd, elk bouwplan roept zijn eigen aaltjesproblemen op. Een veel gehoord misverstand is dat door verruiming van het bouwplan problemen met aaltjes niet meer aan de orde zijn. Meer

graan in het bouwplan zou de algemene remedie zijn. Dit misverstand is gebaseerd op de cysten-aaltjesproblematiek. Deze aaltjes zijn sterk gewasgebonden en verlaging van de teeltfrequentie van het betreffende gewas lost het cystenaaltjesprobleem inderdaad op. Opname van granen heeft echter vaak een averechts effect, wanneer het over aaltjessoorten gaat met vele waardplanten zoals met *Meloidogyne* soorten het geval is. De kern van de aanpak is dat naar een uitgebalanceerde set gewassen wordt gezocht, die bij de besmettings situatie past. Passend wil zeggen een goede mix van waardplanten en niet waardplanten. De gewasvolgorde geeft dan de mogelijkheid aaltjespopulaties zo te laten fluctueren dat hoge dichtheden van een schadelijke soort alleen voorkomen in jaren dat gewassen worden geteeld die geen of weinig schade lijden door zo'n populatie. Natuurlijk spelen naast de aaltjes juist economische en teelttechnische overwegingen een belangrijke rol om tot de uiteindelijke keuze te komen. Het is zaak de hoogst salderende gewassen op veilige momenten binnen de vruchtwisseling te telen. Groenbemesters worden met na-

druk hier vermeld. Voor de meeste aaltjes spelen ze een belangrijke rol. Het zijn de gewassen waarop aaltjes het najaar en de winter kunnen overbruggen. De keuze van de groenbemester wordt binnen een ABS bepaald op basis van de waardplantstatus van de groenbemers voor de aaltjessoorten die in het perceel voorkomen. Ook onkruiden en opslag zijn voor veel aaltjessoorten een uitwijkmogelijkheid als het geteelde gewas geen waardplant blijkt te zijn. Een doordachte rotatie mislukt in zijn opzet als onkruiden de aaltjes in stand houden of vermeerderen terwijl een daling was voorzien.

Aanvullende maatregelen

De nematiciden hebben expliciet een plaats binnen de ABS. Ze worden weloverwogen ingezet wanneer de besmettings situatie en de economische afwegingen daartoe aanleiding geven.

Natte grondontsmetting is technisch goed uitvoerbaar op kleigronden tot 30% afslibbaar en op zand en dalgronden. Er geldt een maximale grondontsmettingsfrequentie van één ontsmetting in een blok van vijf jaar.

Granulaten (nematiciden in korrelvorm) kunnen in specifieke si-

tuaties aaltjesproblemen helpen voorkomen. Het effect van een granulaat is sterk afhankelijk van de omstandigheden waarbij pH en vocht van belang zijn. Resultaten zijn daarom wisselend.

Volveldstoepassingen zijn alleen op zand-, dal- en lichte zavelgrond mogelijk, omdat granulaten op zwaardere gronden slecht in te werken zijn. Rijentoe toepassingen van granulaten kunnen op lichtere gronden schade voorkomen, maar ze zijn onvoldoende lang werkzaam om aaltjesvermeerderingen te remmen.

De meeste aaltjessoorten kunnen niet tegen zuurstofloze omstandigheden. Grond kan zuurstofloos worden gemaakt door land in de zomer onder water te zetten. Bij hogere temperaturen is het bodemleven actief en ontstaat sneller een zuurstofloze toestand. Naast de zuurstofloosheid zijn de stoffen die vrijkomen bij de vertering van organische stof onder zuurstofloze omstandigheden mede de oorzaak voor de aaltjesdodende werking. Behalve door inundatie kan hetzelfde effect ook worden bereikt door verse organische stof in de grond te werken en het perceel af te dekken met zuurstofdicht plastic (landbouwplastic).

Er zijn vele schimmels en bacteriën die aaltjes als voedselbron gebruiken. Op sommige percelen leidt intensieve teelt van bieten tot het in elkaar zakken van de bietecystenaaltjespopulatie. De opbloei van aaltjesparasiterende schimmels blijkt de verklaring.

Principes van een ABS toegepast op wortelknobbelaaltjes in de vollegrondsteelten

In de vollegrondsteelten zijn *M. hapla*, *M. chitwoodi*, *M. fallax* en *M. naasi* de belangrijkste soorten. De eerste drie beperken zich tot de lichte gronden terwijl *M. naasi* ook op kleigronden voorkomt. In April 2004 is er vanuit Drenthe een nieuwe soort beschreven, *Meloidogyne minor*, waarvan de relevantie voor de Nederlandse teelten nog niet duidelijk is.

Onderstaand worden voor deze soorten aspecten belicht die binnen de ABS kunnen worden ingezet.

M.hapla inventarisatie

Het is voor Limburgers vaak een tegenvaller om geconfronteerd te worden met schade veroorzaakt door het Noordelijk Wortelknobbelaaltje, *M. hapla*. Deze aaltjessoort komt namelijk op het gehele Noordelijk halfrond voor. Kenmerkend is dat de wortel op het knobeltje meestal vertakt. De knobeltjes zien er daardoor uit als 'spinnetjes' (Foto 2) en geven het wortelstelsel een bossig uiterlijk. Gewassen met een penwortel vertakken wanneer de larven de hoofdwortel binnendringen. Daarom is *Meloidogyne hapla* bijzonder schadelijk voor peen, schorseneren, witlof en bieten. Bovengronds is alleen bij hoge aanvangsbesmettingen enige groeiremming te zien.

vruchtwisseling

De waardplantenreeks van *M. hapla* beperkt zich voornamelijk



Foto 2. Het typische 'spinnetje' (inzet) wordt veroorzaakt door *Meloidogyne hapla* en leidt tot vertakking van de wortel.

tot de breedbladigen. Aardappel, witlof en vlinderbloemigen sprongen eruit, omdat ze zeer hoge dichtheden nalaten. Gramineeën (grassen, granen en maïs) vermeerderen het aaltje niet. De sterfte onder niet waardplanten en zwarte braak ligt bijzonder hoog en de besmetting kan in één seizoen met 95% dalen.

De schadedrempel ligt voor penvormende gewassen bij enkele juvenielen per honderd milliliter grond, omdat kwaliteitsverlies hard doortikt in het saldo. Een niet-waardplant zoals graan als voorvrucht voor een schadegevoelig gewas als peen, kan het risico op schade sterk beperken. Breedbladige onkruiden moeten in het graan dan wel volledig onder controle zijn. Wanneer er op een perceel problemen zijn met *Meloidogyne hapla*, dan kan de teelt van vlinderbloemigen beter worden vermeden.

Aanvullende maatregelen

Door de grote sterfte bij oplopende temperaturen zorgt uitstel van zaai- en planttijd in het voorjaar voor een sterke verlaging van de beginbesmetting. Wanneer penwortelvormende gewassen in het begin van het seizoen al vertakkingen vertonen kan het gewas beter worden ondergewerkt. De vertakkingen zijn onherstelbaar, zodat het geen zin heeft het gewas tot aan de oogst te laten staan. Bovendien zal door vroegtijdig onderwerken een sterke daling van de besmetting optreden wat de uitgangspositie voor het volgende groeiseizoen verbetert.

M. chitwoodi en M. fallax inventarisatie

Midden jaren tachtig kwamen de eerste meldingen van problemen met wortelknobbelaaltjes die niet aan *M. hapla* konden worden toegeschreven. De schade uitte zich

vooral door galvorming op het product (schorseneer, peen en aardappel) zonder dat er sterke vertakking optrad. Ook in bieten (plantuitval) en erwten trad aanzienlijke schade op.

vruchtwisseling

Anders dan *M. hapla* bleek deze soort zich niet uitsluitend op breedbladige gewassen te vermeerderen, maar ook op gramineeën (gras, granen en maïs). Ook op maïs werden knobbels met eieren gevonden. Maïs als waardplant voor wortelknobbelaaltjes was uitzonderlijk vandaar dat *M. chitwoodi* maïswortelknobbelaaltje genoemd werd. Achteraf bleken in 1930 al problemen met deze soort te zijn gesignaleerd. Het feit dat er nu opnieuw problemen optreden, wordt vooral geweten aan het gebruik van gras als groenbemester en de teelt van schorseneren. Beide gewassen veroorzaken hoge besmettingsniveaus en schorseneer is zeer gevoelig voor schade.

Onderzoek op een proefveld van het PPO-AGV te Baexem bracht in 1992 aan het licht dat er nog een *Meloidogyne* soort voorkomt. In symptomen en waardplanten lijkt de soort veel op *M. chitwoodi* maar hij vermeerdert niet op maïs. Deze nieuwe soort, *M. fallax* genoemd, blijkt, net als *M. chitwoodi*, op de zandgronden in het zuidoosten wijdverbreid voor te komen. *M. chitwoodi* en *M. fallax* worden inmiddels, hoewel nog incidenteel, ook in andere delen van Nederland aangetroffen.

Gevaarlijk aspect van deze soorten is dat ze overgaan in plant- en pootgoed. In het bijzonder gladiolen en pootaardappelen zijn daarbij potentiële besmettingsbronnen. De EU heeft beide aaltjessoorten daarom tot quarantaineorganismen uitgeroepen. Dit betekent dat vermeerderingsmateriaal vrij moet zijn van symptomen.

maatregelen

Eén van de weinige troeven binnen het bouwplan ter bestrijding van *M. chitwoodi* en *M. fallax* is de stamslaboon. De meeste rassen van dit gewas zijn niet-waardplant voor beide soorten. Opvallende uitzondering is het ras Verbano, die beide soorten wel vermeerdert. Wanneer ook *M. hapla* in het spel is, gaat het verhaal niet op. Bonen verergeren de problemen met *Meloidogyne hapla*.

Een volgend aandachtspunt is het vermijden van de teelt van Italiaans raaigras voor beide wortelknobbelaaltjessoorten en dat van Engels raaigras voor *Meloidogyne fallax*. Vooral als zomerteelt laten deze grassen extreem hoge dichtheden na.

Op gewassen met een lang teeltseizoen kunnen twee tot drie generaties vermeerderen. Hierdoor kan een lage besmetting binnen een jaar uitgroeien tot een forse populatie.

Zeer lage beginbesmettingen in het voorjaar geven al kwaliteitsproblemen in aardappel. De kwaliteitsproblemen zijn grotendeels te vermijden door de teelt van vroege aardappelrassen (vroegheidscijfer hoger dan 7). Vroege rassen moeten wel vroeg geoogst worden anders blijft er een risico op schade bestaan. Nicola en Hansa blijken extreem gevoelige rassen, terwijl voor de meeste andere rassen, waaronder Bintje, de jaarsinvloed groter is dan het raseffect. Algemeen kan worden gesteld dat op besmette percelen consumptieaardappelen en schorseneren niet zonder risico kunnen worden geteeld.

Door uitstellen van het zaaitijdstip is het mogelijk kwalitatief goede peen te telen bij hoge besmettingen met *Meloidogyne fallax*. Voor *Meloidogyne chitwoodi* lijkt een verlaat zaaitijdstip niet afdoende te zijn.

Bieten kunnen worden geteeld op percelen met matige besmettingsniveaus. Er is wel kans op aantasting en soms plantuitval maar dit

M. naasi

Vooral zomergerst en zomertarwe kunnen op percelen met wat lagere pH te lijden hebben van het graswortelknobbelaaltje, *M. naasi*. Een andere bijzonderheid is dat *M. naasi* slechts één generatie per jaar heeft en dus niet zo snel tot hoge besmettingsniveaus oploopt. Biet is het belangrijkste akkerbouwgewas dat schade laat zien bij besmetting met deze soort. De knobbelvorm is opvallend. Ze zitten vooral aan het einde van de wortels, zijn langgerekt en zeer dik.

De problemen in bieten kunnen eenvoudig worden voorkomen door aardappel als voorvrucht te kiezen. Dit is uit het oogpunt van AM beheersing en opslagbestrijding in ieder geval aan te raden. Aardappel is niet schadegevoelig voor *Meloidogyne naasi* en het aaltje kan zich niet op aardappel vermeerderen. Na een jaar aardappelen is de besmetting sterk afgenomen.

Voor deze soort zijn geen specifieke aanvullende maatregelen voor handen.

Bovenstaand is een aantal elementen van een ABS voor wortelknobbelaaltjes in grove pennenstreken neergezet. In een praktijksituatie gaat het meestal niet alleen om wortelknobbelaaltjes en wordt met veel meer aspecten rekening gehouden.

Naast integratie van aaltjeskennis is er veel aan gelegen bodemziekten als *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Verticillium* onderdeel te maken van een beheersingsstrategie bodemziekten.

Aaltjesmanagement naar de praktijk

Het afgelopen decennium is er veel nieuwe kennis rondom wortelknobbelaaltjes gegenereerd. Veel informatie over waardplant-

status en schadegevoeligheid van belangrijke gewassen en groenbemesters is bij elkaar gebracht. In opdracht van LNV en HPA werkt PPO aan het ontsluiten van deze kennis voor telers en teelt begeleiders. Via internet wordt aaltjeskennis toegankelijk gemaakt via Digitaal

Bemonsteringsinstanties, DLV en andere teeltbegeleiders spelen een belangrijke rol in het bedrijfsklaar maken van de aaltjesinformatie en het inpassen van oplossingen in bedrijfsverband. Projecten als Beslissing Ondersteunend Systeem nematoden (NemaDecide), Biologische landbouw Innovatie en Omschakeling, Telen met Toekomst, Ruimte voor Groenten en Praktijknetwerken zijn wegen waarlangs een bedrijfsspecifieke ABS aan de teler wordt gebracht. De ervaring leert dat het openhartig bespreken van aaltjesproblemen moeilijk ligt, zeker als het quarantaine organismen betreft. Daarnaast blijkt dat telers en teeltbegeleiders de symptoomkennis vaak ontbreekt zodat aaltjesproblemen pas (te) laat aandacht krijgen.

Door een aaltjesmanagement plan standaard op te nemen binnen een gewasbeschermingsplan zal er een stimulans ontstaan om vroegtijdig bij de problematiek stil te staan.

De conserventeelt in Zuidoost Nederland biedt een sprekend voorbeeld van goed aaltjesmanagement. Rond 1985 waren de kwaliteitsproblemen in peen en schorseneren zo groot dat men dacht dat de teelt in het gebied geen toekomst meer had. Toen duidelijk werd dat de oorzaak *M. chitwoodi* en *M. fallax* was en het onderzoek de grootste angelen in het bouwplan kon aanwijzen, is via een systeem van bemonstering en gerichte bedrijfsadviesing de teelt op veel percelen weer mogelijk geworden. Nog steeds is Zuidoost Nederland een belangrijk teeltgebied voor peen en schorseneren.



Foto 3. *Meloidogyne naasi* op bieten.

wordt in de loop van de zomer meestal gecompenseerd. Net als voor de andere wortelknobbelaaltjessoorten biedt zwarte braak een goede mogelijkheid besmettingen af te bouwen. Dit is echter niet op alle percelen uitvoerbaar vanwege stuiwen, slempen en zware onkruiddruk.

Wanneer de teelt van een groenbemester noodzakelijk is, dan is bladrammenas voor de beheersing van deze soorten de beste keuze. Inmiddels zijn er rassen met hoge resistentie niveaus. Naast braak werken korte teelten (bv. spinazie) populatie verlagend. *Meloidogyne* soorten zijn zeer gevoelig voor natte grondontsmetting, maar vanwege de lage schadedrempels is natte grondontsmetting meestal niet genoeg om weer schadegevoelige gewassen als peen en schorseneren te kunnen telen.

Er zijn indicaties dat volvelds granulaattoepassing de symptoomontwikkeling kan vertragen. Deze symptoomloze knollen zijn wel gevuld met aaltjes zodat pootgoedteelt onmogelijk blijft.

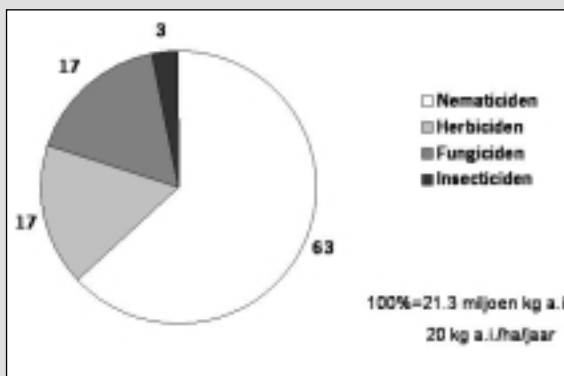
Gebruik van bodemfumigantia voor de natte grondontsmetting

Tot het midden van de jaren tachtig waren nematiciden het meest voor de handliggende antwoord op problemen met aaltjes. Natte grondontsmetting met bodemfumigantia als DD en Monam werden breed toegepast. Naast inzet bij aangetoonde besmettingen was er ook preventief gebruik. Afhankelijk van de frequentie van de aardappelteelt en de rassenkeuze werd natte grondontsmetting wettelijk voorgeschreven ter preventie van aardappelcysteeltjes (*Globodera* spp.), de veroorzaker van aardappelmoehheid. In de MJPG referentie periode 1984-1988 bestond een groot deel van de totale pesticideinzet uit nematiciden (figuur 1). De vondst van een bijproduct van DD, dichloorpropan, in het diepere grondwater door de drinkwatermaatschappijen bracht de fumigantia midden in de maatschappelijke discussie over het pesticidegebruik in de Nederlandse land- en tuinbouw.

Eén van de doelen van het MeerJarenPlan Gewasbescherming (MJPG) was dan ook om het volume en de afhankelijkheid van grondontsmettingsmiddelen drastisch te verminderen

Afschaffing van deze verplichte grondontsmetting, de frequentieregeling grondontsmetting die gebruik maximaliseert op eens in de vijf jaar, de komst van *Globodera pallida* resistente rassen voor de fabrieksaardappelteelt en de introductie van verbeterde bemosteringsmethoden, hebben ervoor gezorgd dat de afspraken in het kader van het convenant gewasbescherming konden worden nagekomen (figuur 2).

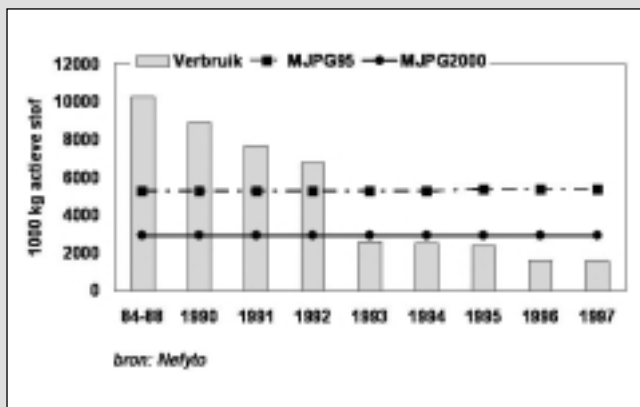
Door een intensieve samenwerking tussen overheid, bedrijfsleven, onderzoek en voorlichting konden de afgesproken reductiedoelstellingen worden gerealiseerd. De wettelijk voorgeschreven grondontsmetting



Figuur 1. Procentuele verdeling over de pesticide groepen in de jaren 1984-1988, de referentie periode van het MeerJarenPlan Gewasbescherming.

werd afgeschaft. Daarvoor in de plaats kwam een frequentieregeling grondontsmetting die gebruik maximaliseert op eens in de vijf jaar. De introductie van aardappelzetmeelrassen met resistentie tegen *Globodera pallida*, het 'hogere pathotype' aardappelcysteeltje (aardappelmoehheid) heeft een belangrijke bijdrage geleverd. De introductie van verbeterde bemosteringsmethoden voor het aardappelcysteeltje maakte een actieve aanpak van aardappelmoehheid mogelijk.

In plaats van breedwerkende nematiciden wordt er nu gewerkt met een perceelsspecifieke aanpak waarbij kennis wordt geïntegreerd tot een oplossing op maat.



Figuur 2. Nematicide inzet afgezet tegen de streefwaarden 1995 en 2000 zoals overeengekomen in het convenant MJPG

Pootgoed als bron van verspreiding van *Meloidogyne chitwoodi*

Willemien T. Runia & Gerard W. Korthals

PPO-AGV, Lelystad

Het gevaar van verspreiding van *Meloidogyne chitwoodi* en *Meloidogyne fallax* wordt door de overheid onderkend. Sinds 1 mei 1998 hebben beide aaltjessoorten de quarantainestatus (Q-status). Dit betekent voor de praktijk dat al het uitgangsmateriaal, zoals pootgoed, plantgoed, knollen en bollen vrij moet zijn van deze aaltjes. In 2002 is PPO-AGV, in het kader van het gewasbeschermingsprogramma van LNV, onderzoek gestart naar de betekenis van besmet pootgoed voor de verspreiding van *Meloidogyne chitwoodi*.

Inleiding

Op de wortels van besmet uitgangsmateriaal kunnen plaatselijk langgerekte verdikkingen te zien zijn, maar dit is niet altijd het geval. Op de bollen en knollen zelf zijn meestal nauwelijks of geen symptomen te zien. Aardappelknollen kunnen symptomen laten zien in de vorm van knobbels die leiden tot een ruw oppervlak. Deze symptoomontwikkeling is rasafhankelijk en wordt bovendien beïnvloed door de teeltduur. Hoe korter de teelt des te minder kans op symptomen. Inmiddels weten we dat de wortelknobbelaaltjes ook in symptoomloze knollen aanwezig kunnen zijn. Na het schillen zien we soms onder de schil "bruine spikkels"; dit zijn vrouwelijke aaltjes met eipakketten (zie foto 1).

Een keuring op alleen uitwendige symptomen van uitgangsmateriaal kan daarom leiden tot het missen van besmette partijen. Daarom worden aardappels tegenwoordig zowel uitwendig als inwendig beoordeeld.

Onderzoeksvragen

In 2002 is PPO-AGV onderzoek gestart naar de betekenis van een inwendige besmetting van pootgoed met *Meloidogyne chitwoodi* voor de verspreiding van dit aaltje. Onderzoeksvragen zijn:

- Kunnen aaltjes uit besmette poters komen tijdens de bewaring en na het uitplanten?
- Hoeveel aaltjes kunnen er per potter uitkomen?
- Kunnen de aaltjes uit de besmette poters de wortels van de aardappelplant infecteren in grondsoorten met verschillende percentages afslibbaarheid?
- Zijn de aaltjes, die uit de besmette poters komen, in staat hun dochterknollen weer te besmetten?
- Blijft de besmetting na de oogst in de grond aanwezig en wat is de invloed van de wintersterfte op het aantal aaltjes in de diverse grondsoorten?
- Is de populatie in staat zich op een volggewas te vermeerderen?



Foto 1. Symptoomloze aardappels kunnen inwendig besmet zijn met *Meloidogyne chitwoodi*.

Laboratorium- onderzoek

In het laboratorium is onderzocht of de eipakketten van *M. chitwoodi* onder de schil van besmette poters (Asterix) zich kunnen ontwikkelen tot juvenielen.

Na incubatie van de schillen van besmette knollen kwamen enorme aantallen juvenielen van *Meloidogyne chitwoodi* tot ontwikkeling; oplopend tot meer dan 100.000 per knol.

Veldonderzoek

In een veldproef zijn in het voorjaar van 2002 in zes verschillende gronden (met percentages afslibbaar variërend van 5% tot 33%) besmette poters uitgeplant. De poters zijn geplant in betonkuipen zonder bodem, die ingegraven zijn in de grond, met onderin antiworteldoek (zie foto 2). De grond was vooraf fysisch ontsmet bij 70 °C. De initiële populatiedichtheid (Pi) van *M. chitwoodi* bleek na controle van deze behandeling nul te zijn. Het groeiseizoen duurde van eind april tot eind oktober. Na de beëindiging van de teelt bleek *M. chitwoodi* in alle bakken aanwezig te zijn met de hoogste aantallen in de lichtste grond (zie tabel 1). Dit betekent dat in alle grondsoorten de aaltjes uit de poters konden komen en zich in de grond vestigen. Bovendien bleek in alle grondsoorten een deel van de dochterknollen weer besmet te zijn met wor-



Foto 2. *M. chitwoodi* vanuit besmette poters kan zich vermeerderen in aardappel en peen in verschillende grondsoorten tot 29% afslibbaar.

telknobbelaaltjes. Het aantal besmette dochterknollen was in de lichtste grond het hoogst evenals de mate van aantasting. De aaltjes uit de moederknollen zijn in alle getoetste grondsoorten in staat de dochterknollen te infecteren. Na de winter 2002/2003 is de grond

nogmaals bemonsterd om na te gaan of de aaltjes in alle grondsoorten de winter hebben overleefd (zie tabel 1). Dit bleek het geval te zijn; de afname is het sterkst bij de lichtste grond waar vóór de winter de hoogste aantallen zijn geconstateerd. In de overige

ARTIKEL

Tabel 1. *Meloidogyne chitwoodi* ontwikkeling in diverse grondsoorten vanuit besmette aardappels.

Afslibbaar (%)	Mc na aardappel		Mc na wintersterfte # larven per 100 ml grond		Mc na waspeen	
5	2114	. b	381	a	*	
16	594	a b	242	a	1333	. b
23	465	a b	160	a	878	. b
22	304	a b	285	a	1548	. b
29	311	a b	245	a	1310	. b
33	227	a	482	a	140	a

* Deze behandeling is buiten beschouwing gelaten vanwege slechte opkomst peen.

grondsoorten is de afname gering of niet aanwezig. De weersomstandigheden gedurende de winter spelen hierin een belangrijke rol en ook de hoogte van de aaltjespopulatie vóór de winter.

Vervolgens is nagegaan of de aaltjes, die de winter hebben overleefd, nog in staat zijn om planten te infecteren, schade te veroorzaken en zich te vermeerderen op een gevoelig gewas.

In het voorjaar van 2003 is daarom in alle grondsoorten de voor *M. chitwoodi* zeer gevoelige waardplant waspeen geteeld. In de lichtste grond is de waspeen slecht gekiemd. Om die reden is deze behandeling qua aaltjesvermeerdering na waspeen buiten beschouwing gelaten. De aantallen

aaltjes na de waspeenteelt (zie tabel 1) laten zien dat er geen significant verschil is in aantal bij de gronden tot 29 % afslibbaar. Er is sprake van een vermeerdering van de aaltjes van circa 300 naar circa 1000 per 100 ml grond. In de zwaarste grond is geen sprake van vermeerdering maar van een lichte afname.

In alle grondsoorten waren symptomen van *M. chitwoodi* te zien op de waspeen, zodat overal sprake was van schade.

De conclusie is dat in alle grondsoorten *M. chitwoodi* de waspeen kan aantasten en schade veroorzaken; alleen in de zwaarste grond vindt geen vermeerdering plaats van het aaltje. Het lijkt er dus op dat *M. chitwoodi* zich op zwaarde-

re gronden minder kan handhaven en na een introductie weer sneller afsterft.

Consequenties

Uit dit onderzoek is gebleken dat pootgoed een bron van verspreiding kan zijn van *M. chitwoodi*. Het is zeer riskant om besmette poters op zwaardere gronden uit te planten in de hoop dat de partij 'zich schoont'. Dit moet dan ook ten sterkste worden afgeraden. Besmet pootgoed kan dan ook het beste worden vernietigd, om elk risico van verspreiding uit te sluiten.

Meloidogyne chitwoodi en aardappelpootgoed: visie vanuit de praktijk

Otto Smit, pootgoedteler

Een aantal jaren terug was er nogal wat ruis over mogelijke besmetting met *Meloidogyne chitwoodi* in de Wieringermeer. Zonder duidelijke kennis van zaken werd dit omgeven door een waas van geheimzinnigheid. De strijd tegen ziekten en plagen is een vast onderdeel van de Nederlandse landbouw en de beste manier om je hier goed tegen te wapenen, is om te kijken en te onderzoeken wat je hier gezamenlijk tegen kunt doen.

In de winter van 2000-2001 is in opdracht van de Westelijke Land- en Tuinbouw Organisatie (WLTO) een brochure geschreven door PPO over *Meloidogyne chitwoodi*. Dit werd gevolgd door een bijeenkomst waarop, door zowel PPO als de PD, de stand van zaken en mogelijke gevolgen uiteen werden gezet van het inmiddels met een quarantainestatus belaste aaltje. Door de WLTO, afdeling Wieringermeer, is een werkgroep samengesteld om te onderzoeken wat voor mogelijkheden er zijn om deze bedreiging, voor met name pootgoed als belangrijke teelt, in dit gebied het hoofd te bieden.

In overleg met PPO en PRI is daarop een onderzoek verricht naar een zo betrouwbaar en betaalbaar mogelijk bemonsteringssysteem, om te komen tot een inventarisatie waar een mogelijke besmetting aanwezig is, maar vooral waar het niet is. Dit alles met als einddoel om de betrouwbaarheid van het pootgoed te waarborgen. De financiering van deze studie was mogelijk door een bijdrage van Provincie Noord Holland, het NAO



Figuur 1. Toepassing van chitine en veldjes bladrammenas als objecten van de saneringsproef *M. chitwoodi*.

en de stichting Van Bemmelenhoeve. Inmiddels waren de verschillende pootgoedhandelshuizen aangeschoven, omdat zij het belang van het project inzagen en daarmee een belangrijke stimulans waren voor de werkgroep. Nadat alle bedrijven in de Wieringermeer middels een schrijven op de hoogte waren van de activiteiten en uitgenodigd werden om aan het onderzoek mee te doen onder het motto "Teler, weet wat er in uw grond leeft", is 2001 ook het eerste bemonsteringsjaar geworden. De bemonstering gebeurde door en vaste monsternemer, met begeleiding van de buitendienstmedewerker van het betreffende handelshuis. Één monster op de meest gevoelige plek in een perceel aardappelen, zo kort mogelijk na de oogst. Ondertussen was er contact geweest met diverse laboratoria en in overleg met PPO een onderzoeksprotocol vastgelegd, waarna NAK Agro het onderzoek is gaan verrichten. Dit traject is gedurende

de afgelopen drie jaar op dezelfde manier uitgevoerd waarbij op de ca.320 monsters negen besmettingen zijn geconstateerd.

Het tweede onderdeel waar de werkgroep invulling aan wilde geven was om met de bedrijven die al een besmetting hadden en die er eventueel bij zouden komen, een studiegroep te vormen om kennis uit te wisselen en op te doen. Het bespreekbaar maken werkt vaak al verhelderend. Een van de activiteiten was een richtlijn samen te stellen hoe je als teler, met wel of geen besmetting, zorgvuldig moet handelen. Een andere activiteit was om een proefveld in te richten met de opdracht of het mogelijk zou zijn *Meloidogyne chitwoodi* definitief ongedaan te maken (Fig 1). Voor de begeleiding van de studiegroep is intensief contact met Gerard Kort-hals van PPO.

Inmiddels is *Meloidogyne chitwoodi*-vrij pootgoed ook in andere teeltgebieden van belang geworden en gaat m.i.v. dit jaar de Noordelijke LTO in zijn werkgebied op soortgelijke wijze aan de slag. Naar aanleiding van de ervaring van de afgelopen jaren is voor het hele WLTO gebied besloten om ook in 2004 op de ingeslagen weg door te gaan. De strijd tegen ziekten en plagen is een vast onderdeel van de Nederlandse landbouw en de beste manier om je hier goed tegen te wapenen, is om te kijken en te onderzoeken wat je hier gezamenlijk tegen kunt doen. Dit is ook de insteek om deze *Meloidogyne chitwoodi* hobbel weg te werken.

ARTIKEL

Wortelknobbelaaltjes- problematiek in de Glastuinbouw

J.J. Amsing

PPO Glastuinbouw, Linnaeuslaan 2a, 1431 JV Aalsmeer. E-mail: jan.amsing@wur.nl

Wortelknobbelaaltjes in de glastuinbouw zijn al net zolang bekend als er kassen zijn. Aan het einde van de negentiende eeuw deed in Nederland de glastuinbouw zijn intrede. Aanvankelijk onverwarmd, maar al snel werden de eerste kassen verwarmd. De eerste soort wortelknobbelaaltjes waarvan melding is gemaakt, betreft het noordelijk wortelknobbelaaltje *Meloidogyne hapla*. Dit aaltje is met het bouwen van kassen op percelen, die van nature met *M. hapla* besmet waren, in de kassen terechtgekomen. Later werden de warmteminnende soorten (*M. arenaria*, *M. javanica* en *M. incognita*) daaraan toegevoegd. Het handelsverkeer van besmet plantmateriaal vanuit (sub)tropische gebieden heeft hieraan een flinke bijdrage geleverd. Vanwege de brede waardplantenreeks van wortelknobbelaaltjes, het ontbreken van goede vruchtwisselingen en het jaarrond telen in verwarmde kassen konden de aaltjespopulaties in korte tijd boven de schadedrempel uitstijgen. Vele gewassen, in het bijzonder de meerjarige teelten Bouvardia, Gerbera en Roos, ondervonden ernstige schade. Aanvankelijk was grondontsmetting door middel van stomen (zeilenstomen, trap- en graafrekken) de remedie om dit probleem enigszins de baas te blijven. Begin jaren zestig van de vorige eeuw werd het stomen verdrongen door het effectievere methylbromide. Maar toen bijna dertig jaar later in Nederland methylbromide als grondontsmettingsmiddel werd verboden, werd

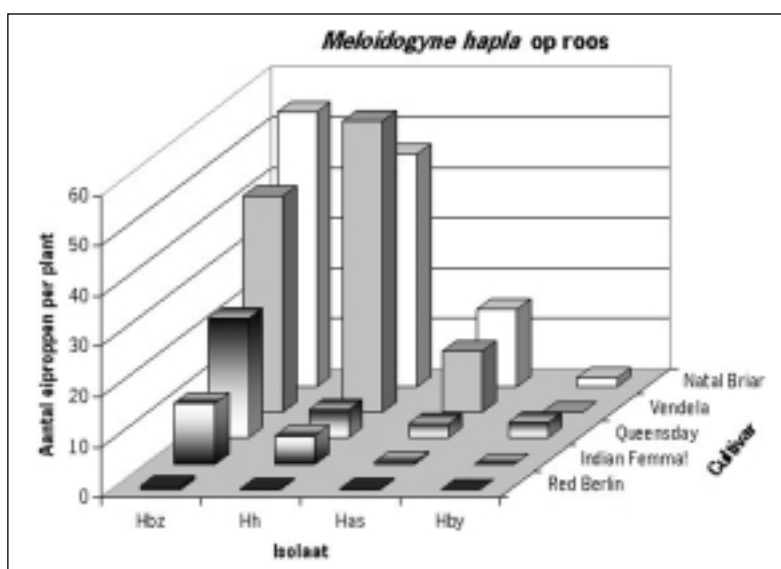
het stomen weer van stal gehaald en verder ontwikkeld. Stomen met onderdruk deed zijn intrede waardoor tot op grotere diepte goed kan worden ontsmet.

In de jaren zeventig werd het telen in kunstmatige substraten geïntroduceerd. Eerst in de groenteteelt en later in de bloemeteelt. Mede hierdoor behoorden veel problemen met bodemziekten tot het verleden. Maar elke teeltwijze roept ook weer nieuwe problemen op. Zo ontstonden er in de vochtige substraten problemen met vochtminnende oomyceten, zoals diverse *Phytophthora*- en *Pythium*-soorten. Ook oude problemen kwamen soms weer om de hoek kijken. Eén daarvan is het noordelijk wortelknobbelaaltje *M. hapla* bij roos. Naast een aantal incidenteel voorkomende gevallen met wortelknob-

belaaltjes, komen deze aaltjes in drie kasteelten structureel voor. De problematiek van deze teelten wordt nader belicht.

Roos op substraat

Ongeveer 90% van het areaal aan rozen wordt thans op substraat geteeld. Naar schatting is ca. 10% van dit areaal (80 ha) besmet met het noordelijk wortelknobbelaaltje *M. hapla*. In de grondteelt kwam dit aaltje ook voor, maar veel minder frequent dan het voor roos zeer schadelijke houtwortellesieaaltje *Pratylenchus vulnus* (Amsing, 1988). In de substraatteelten is echter het tegenovergestelde het geval. Nu gaat het in 90% van de gevallen om *M. hapla*. Over de schadelijk-



Figuur 1. Vermeerderingsvermogen van vier *M. hapla*-isolaten bij drie rozencultivars en een onderstam (Natal Briar).

heid van *M. hapla* bij roos op substraat zijn de meningen verdeeld; reducties variëren van 0 tot 40%. Dit zou te maken kunnen hebben met het feit dat niet elk *M. hapla*-isolaat hetzelfde aantastingsvermogen heeft en dat er verschillen in resistentie zijn tussen de cultivars (Amsing en Zoon, 2004). Dit wordt geïllustreerd in Figuur 1 die het vermeerderingsvermogen laat zien van vier *M. hapla*-isolaten bij drie rozencultivars en een onderstam (Natal Briar).

Langs verschillende wegen komen aaltjes in de substraatteelten terecht. Allereerst vormt een met aaltjes besmet teeltbedrijf zelf een belangrijke besmettingsbron waardoor nieuwe teelten kunnen worden aangetast (Amsing en García, 2003). De tweede bron is het water waarvan de voedingsoplossing wordt gemaakt. Uit hetzelfde onderzoek is ook gebleken dat in regenwaterbassins plantenparasitaire aaltjes aanwezig kunnen zijn. Wordt dergelijk water zonder een effectieve ontsmetting gebruikt, hetgeen vanwege het vermijden van dubbele ontsmettingskosten vaak gebeurt, dan is er een reële kans op besmetting van de teelt. Wel wordt doorgaans het drainagewater uit het substraat opgevangen en ontsmet voordat het opnieuw wordt gebruikt. Hiermee is een belangrijke secundaire verspreidingsbron uitgeschakeld, mits de ontsmetting effectief is.

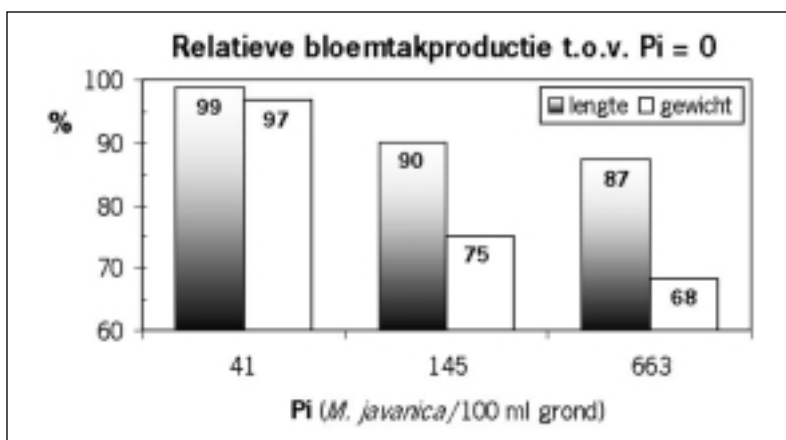
Aanvankelijk werd daarvoor op veel bedrijven langzame zandfiltratie gebruikt, wat in vergelijking met andere ontsmettingsmethoden relatief goedkoop is, maar onvoldoende effectief (Amsing, 1995 en Os *et al.*, 1997). Verhitting en ultra-violet straling zijn twee betrouwbare methoden om aaltjes in recirculatie water onschadelijk te maken (Amsing en Runia, 2000). Plantmateriaal kan een andere belangrijke besmettingsbron zijn van pathogenen. In de beginperiode van de substraatteelt werden, voortbordurend op de grondteelt, zetlingen en later ook wortelenten gebruikt. Omdat dit plantmateriaal deels vervaardigd is van ondergrondse plantendelen werden allerlei pathogenen zoals aaltjes de kas binnengehaald. Thans wordt vrijwel uitsluitend plantmateriaal (stekken en stentlingen) gebruikt dat is gemaakt van bovengronds hout. Dergelijk plantmateriaal is in principe vrij van wortelaaltjes, tenzij de hygiëne op het vermeerderingsbedrijf te wensen overlaat. In 2004 zijn op vier vermeerderingsbedrijven allerlei mogelijke besmettingsbronnen onderzocht op aanwezigheid van plantenparasitaire aaltjes, maar deze zijn nergens gevonden.

Hygiëne is de belangrijkste factor gebleken om substraatteelten te vrijwaren van schadelijke aaltjes. Met name hygiënische maatregelen tijdens een teeltwisseling moe-

ten er toe leiden dat de volgende teelt aaltjesvrij wordt begonnen. Op bedrijven waar deze in acht werden genomen, was ruim 80% van de afdelingen waarin voorheen aangetaste rozen stonden, een tot twee jaar na de teeltwisseling nog steeds vrij van aaltjes (Amsing en García, 2004). Hiermee lijkt het structurele karakter van de aanwezigheid van wortelknobbelaaltjes bij roos op substraat tot het verleden te gaan behoren.

Jaarrondteelt chrysanthe

De jaarrondteelt van chrysanthe, die nog volledig in de grond plaatsvindt, is de tweede teelt waar wortelknobbelaaltjes een belangrijke rol spelen. In het begin van de jaren tachtig werd alleen het wortellessieaaltje *Pratylenchus penetrans* opgemerkt. De problemen hiermee verergerden toen het gebruik van methylbromide aan banden werd gelegd. Als alternatief begonnen telers met afzuigstomen, maar ook deze vorm van stomen loste het aaltjesprobleem niet op. Integendeel, in de jaren negentig kwam er een aaltjesprobleem bij in de vorm van aantastingen door wortelknobbelaaltjes. Uit recent onderzoek is gebleken dat het met name gaat om het warmteminnend wortelknobbelaaltje *M. javanica* (Amsing en de Werd, 2003). Dat dit aaltje niet eerder voor de nodige problemen heeft gezorgd, komt vermoedelijk doordat er in het verleden iets koeler werd geteeld, namelijk bij temperaturen rond 18°C. Bij deze temperatuur duurt de levenscyclus van *M. javanica* ongeveer tien weken en is de vermeerdering waarschijnlijk zo gering dat niet op schade hoeft te worden gerekend. Tegenwoordig ligt de teelttemperatuur echter bijna twee graden hoger, een mogelijke reden waardoor *M. javanica* nu wel aan het licht is gekomen. Behalve een vertraagde bloei, leidt aantasting tot een geringere kwali-



Figuur 2. Impressie van vertraagde bloei en een geringere kwaliteit bij aantasting van de bloemtak, schadedrempel ligt tussen een beginbesmetting van 41 en 145 *M. javanica* per 100 ml grond.

teit van de bloemtak (Amsing en de Werd, 2003). Figuur 2 geeft hiervan een impressie en laat zien dat de schadedrempel ligt tussen een beginbesmetting van 41 en 145 *M. javanica* per 100 ml grond. De teeltduur vanaf het planten tot het oogsten van de bloemtakken neemt ongeveer twaalf weken in beslag. Zodoende kan de teler diverse keren per jaar preventieve maatregelen tegen aaltjes nemen. Meestal gebeurt dit een keer door zwaar te stomen. Stomen biedt echter geen 100%-oplossing. Tijdens de derde teelt worden de problemen met wortelknobbelaaltjes vaak weer zichtbaar. Er zijn telers die dan besluiten om voor de vierde teelt nog een keer licht te stomen. Andere telers maken gebruik van systemische nematiciden, maar ok dit is niet afdoende. Een teeltmaatregel die wel een 100%-oplossing voor het aaltjesprobleem kan bieden, is het telen van chrysant op substraat. Naast dit voordeel biedt een substraatteelt nog andere mogelijkheden, zoals meer chrysanten per vierkante meter en verregaande automatisering in een gesloten kassysteem (Dorsthorst, 2004). Maar of het telen op substraat werkelijkheid gaat worden zoals bij roos, is nog onduidelijk. Reden waarom ook naar de effectiviteit van GNO's, Gewasbeschermingsmiddelen van Natuurlijke Oorsprong, onderzoek wordt verricht. Tot nu toe heeft dit nog geen praktisch toepasbare middelen opgeleverd.

Biologische teelten

Biologische glasteelten zijn intensieve en grondgebonden teelten. Vooral in de gestookte teelten krijgt de bodem weinig tijd om op adem te komen met alle risico's van dien. Diverse soorten wortelknobbelaaltjes vormen een van de grootste bedreigingen voor de biologische glasteelten. In 2003 werd onder glas op een areaal van 53 ha biologisch geteeld (Skal-normen).

*Figuur 3. Komkommeronderstam Harry aangetast door het perzikwortelknobbelaaltje *Meloidogyne hispanica* na een teeltduur van elf weken.*



Dit areaal was verdeeld over 1 ha bloemen en 52 ha groenten. Uitbreiding wordt voorlopig niet voorzien, eerder is er sprake van een lichte teruggang als gevolg van bedrijfsbeëindiging of overstappen op de gangbare teeltwijze.

Als gevolg van de aanwezigheid van wortelknobbelaaltjes moeten alle zeilen worden bijgezet om het hoofd boven water te houden. Dit geldt met name voor de groentenbedrijven, waar naast komkommer drie gewassen uit dezelfde familie worden geteeld: tomaat, paprika en aubergine. Een goede vruchtwisseling, die aan de basis moet staan om de bodem gezond te houden, laat dan ook te wensen over. Resistente rassen en onderstammen moeten soelaas bieden. Voor de drie laatstgenoemde vruchtgroenten, waarvan de teelt ongeveer tien tot elf maanden duurt, zijn er mogelijkheden, maar komkommer laat het afweten. Wel is er een komkommeronderstam die een goede mate van tolerantie bezit. Deze onderstam is bekend onder de naam 'Harry' (*Sicyos angulatus*) en heeft ten aanzien van het perzikwortelknobbelaaltje *M. hispanica* een schadedrempel die ligt boven de duizend aaltjes per 100 ml grond (Amsing en van Gurp, 2003). Maar omdat deze onderstam verre van resistent is (Figuur 3), is na een teelt van drie maanden de aaltjespopulatie in de grond vaak dermate hoog opgelopen dat een volgteelt met een vatbaar gewas niet zonder maatregelen

mogelijk is. Stomen is een van de maatregelen die sinds ongeveer twee jaar wordt toegepast. Maar dit druist in tegen het principe van biologisch telen. Stomen vernietigt het bodemleven en doet daarmee het ziekteverend vermogen van de bodem sterk afnemen (Amsing en Postma, 2004). Het inwerken van organische meststoffen door de grond zou de ziekteverendheid positief kunnen beïnvloeden. Hoewel dergelijke meststoffen het bodemleven activeren, heeft dit nog niet geresulteerd in een toename van de ziekteverering tegen wortelknobbelaaltjes. Gebruikmaken van antagonisten is een andere optie waardoor de ziekteverering mogelijk kan worden verhoogd. Daarbij is het gewenst dat de antagonisten zich in de grond weten te handhaven. Momenteel is er een bacterie beschikbaar die aan deze voorwaarde voldoet en tevens de potentie heeft wortelknobbelaaltjes goed te bestrijden. Het betreft de nog niet toegelaten bacterie *Pasteuria penetrans*. De eerste proeven hiermee lopen thans en worden uitgevoerd door PPO Glastuinbouw in Aalsmeer en Plant Research International in Wageningen. Hoe perspectiefvol deze bacterie ook mag zijn, een volledige oplossing voor het aaltjesprobleem wordt er niet van verwacht. Een aanpak op meerdere fronten blijft nodig, ook om andere bodemziekten beheersbaar te maken.

Literatuurlijst op www.knpv.org

Wortelknobbelaaltjes in de boomkwekerij

Ivonne Elberse

PPO Bomen, Boskoop

De boomkwekerijsector in Nederland is zeer divers. Er worden laanbomen, rozen, bos- en haagplanten, fruitbomen, sierheesters, coniferen, vaste planten en waterplanten geproduceerd en veel hiervan is bestemd voor de export. De wortelknobbelaaltjes vormen een probleem voor de export voor de sector.

Er zijn verschillende teeltcentra in Nederland. Boskoop is een bekend centrum voor sierteelt, rond Zundert worden veel bos- en haagplanten geteeld, vele rozen komen uit de buurt van Lottum en veel laanbomen worden geteeld in en rond Opheusden. Kenmerkend voor de sector is dat er vele kleine bedrijven zijn, met elk veel verschillende gewassen.

Noordelijk wortelknobbelaaltje

Het noordelijk wortelknobbelaaltje (*Meloidogyne hapla*) komt zowel in de grond als in de wortels van planten voor. Deze nematode is te vinden op meerdere grondsoorten, maar heeft een voorkeur voor warme, droge en humusrijke zand-

gronden. Symptomen van de aanwezigheid van dit aaltje zijn knobbeltjes of verdikkingen in de wortels. Dit aaltje kan ook een sterk vertakt wortelgestel veroorzaken. *M. hapla* kan vele verschillende plantensoorten aantasten, met uitzondering van grassen. Ook vele vaste planten en een aantal houtige gewassen zijn vatbaar voor dit aaltje. Van veel houtige gewassen is echter niet bekend of ze waardplant zijn. Uit kasexperimenten van PPO Bomen (1998-2001) bleek dat de volgende gewassen geen waardplant zijn voor *M. hapla*: *Achillea* 'Coronation Gold', *Echinacea purpurea* 'White Swan', vele *Helenium* cultivars (uitzondering: *Helenium hoopesii*), *Liatrix spicata*, *Penstemon digitalis* 'Husker Red', *Rudbeckia fulgida* 'Goldsturm' en meerdere *Tradescantia* cultivars.

Problemen

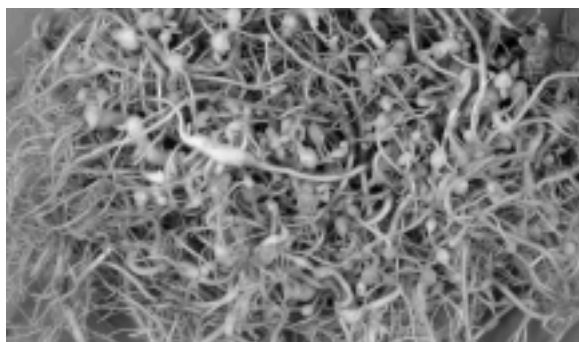
Bij een zware aantasting kan groeiremming ontstaan. Deze directe schade komt voor bij Berberis, Clematis en de rosaceën, maar van de meeste gewassen is niet bekend of ze schade lijden door dit aaltje. *M. hapla* komt regelmatig voor in

rozen en rozenonderstammen en vaste planten. Vanuit de andere gewasgroepen worden geen problemen gemeld.

De problemen zijn het grootst in de vaste plantenteelt. Het gaat hier niet om directe schade, maar om kwaliteitsschade, die samenhangt met de export. Veel vaste planten uit de vollegrond worden geëxporteerd naar de Verenigde Staten, Canada en Japan. Deze landen hantieren een nultolerantie voor *M. hapla*. Dit houdt in dat partijen met symptomen niet worden toegelaten. *M. hapla* wordt door de sector als een echt probleem gezien voor de export van vaste planten, want er zijn veel besmette partijen.

Bestrijding

PPO Bomen heeft onderzoek uitgevoerd naar beheersing van *M. hapla* in vaste planten. Bestrijding kan in het plantmateriaal en in de grond plaatsvinden. Wanneer vermeerderd wordt door middel van weefselkweek, bovengronds stekken, intensief scheuren van de moederplanten of door zaaien, kan een teelt met (vrijwel) schoon uit-



Figuur 1. *M. hapla* aantasting van de vaste planten *Aconitum* (links) en *Phlox* (rechts).

gangsmateriaal begonnen worden. Een warmwaterbehandeling van jaarlijks één uur bij 43,5°C, of eenmalig twee uur bij 43,5°C werkt ook goed, maar er zijn grote verschillen in de gevoeligheid van het sortiment. Dit is dus niet voor alle gewassen toepasbaar. Ook wortel-snoei kan worden toegepast. Dit geeft wel een verlaging van de besmetting, maar zal wel gecombineerd moeten worden met andere maatregelen, om tot een afdoende bestrijding te komen. Bedrijfshygiëne is natuurlijk ook belangrijk. Een aantasting in de grond kan bestreden worden door middel van biologische of chemische grondontsmetting, inundatie in de zomer, stomen of verhitten en vrucht- en teeltwisseling. Braaklegging werkt heel goed. In een jaar kan de populatie hierdoor met 95% dalen. Omdat *M. hapla* geen monocotyle gewassen aantast, kan in plaats van braaklegging ook gekozen worden voor het telen van een gras als groenbemester. Ook kunnen resistente rassen verbouwd worden. Verder kan de bodemweerstand ook van belang zijn. Er wordt momenteel onderzocht of met compost de bodemweerstand verhoogd kan worden. Hoewel er veel methoden bekend zijn om *M. hapla* te beheersen, valt de toepassing in de praktijk nog tegen. Grondontsmetting is niet of nauwelijks toegestaan. Andere methoden zoals weefselkweek, bovengronds stekken en het perceel een jaar braak laten liggen, zijn erg kostbaar. Verder worden er per bedrijf tientallen tot honderden gewassen geteeld, waardoor het toepassen van de bestaande kennis erg complex wordt.

In de rozenteelt en de teelt van vruchtbomen is het gangbaar om te wisselen van perceel. In verband met allerlei grondgebonden ziekten en plagen huren deze telers voor elke teelt een nieuw perceel. Op deze manier vindt teeltwisseling plaats met gewassen uit andere sectoren.

Quarantaine-aaltjes

Het maiswortelknobbelaaltje (*Meloidogyne chitwoodi*) en het bedrieglijk maiswortelknobbelaaltje (*Meloidogyne fallax*) staan sinds 1 mei 1998 op de quarantainelijst van de PD. In onderzoek van de PD bleek een beperkt aantal boomkwekerijgewassen en vaste planten waardplant te zijn voor *M. chitwoodi* en/of *M. fallax*, zoals *Clematis*, *Potentilla*, *Erica* en *Iris*. Van het grootste deel van de boomkwekerijgewassen en vaste planten is de waardplantstatus echter nog niet bekend. Gegevens over groeiremming en kwaliteitsverlies zijn er ook niet.

Problemen

Tot nu toe zijn er in de boomkwekerij en vastenplantenteelt nog niet veel problemen gemeld met *M. chitwoodi* of *M. fallax*. De wortelknobbels die door de Naktuinbouw in deze gewassen zijn aangetroffen, bleken bij nader onderzoek door de PD bijna altijd veroorzaakt te zijn door *M. hapla*. Er bestaat een risico dat de quarantainesoorten in de toekomst wel een probleem gaan vormen in deze sector. Hoewel het aantal aantastingen laag is, stijgt het wel. Omdat het hier om quarantaine-aaltjes gaat, loopt een teler risico op economische schade. Plantmateriaal, zoals boomkwekerijgewassen en vaste planten, mag namelijk uitsluitend worden verhandeld als bij inspectie geen symptomen van deze nematoden worden aangetroffen. Het gaat alleen om planten die geheel of gedeeltelijk in de vollegrond zijn geteeld. Verder wordt het gebied waar *M. fallax* en *M. chitwoodi* voorkomen langzaam groter. De zwerfteelten van roos en vruchtbomen, die juist in het zuid-oosten van het land gebruikelijk zijn, vormen ook een risico op een verspreiding van deze aaltjes binnen boomteeltgewassen. Soorten als *Acer palmatum*,

die weinig of geen symptomen vertonen, maar waarop *M. fallax* en *M. chitwoodi* zich wel kunnen vermeerderen, vormen ook een risico voor de verspreiding van deze aaltjes. Een andere risicofactor is het feit dat de symptomen van deze quarantaineaaltjes erg veel lijken op die van *M. hapla* waardoor een besmetting met *M. chitwoodi* of *M. fallax* over het hoofd kan worden gezien.

Bestrijding

Aangezien er tot nu toe nog geen grote problemen waren, worden deze aaltjes ook niet specifiek bestreden in de praktijk en is er ook nog geen onderzoek verricht hoe deze aaltjes binnen de boomkwekerij en vaste plantenteelt moeten worden bestreden. In andere sectoren, zoals vooral de akkerbouw en vollegrondsgroententeelt, is uitgebreid onderzoek gaande. Momenteel heeft het in de boomkwekerij hoogste prioriteit om te voorkomen dat deze aaltjes een probleem gaan vormen, door bij pachten van percelen in de regio's waar deze quarantaineaaltjes voorkomen, deze percelen voorafgaand aan de teelt te laten bemonsteren.

Conclusie

Vooral in de vaste plantenteelt zijn er problemen met *M. hapla*. Er is wel kennis over de bestrijding, maar deze wordt nog onvoldoende in de praktijk toegepast. Hoewel er nog geen grote problemen met de quarantaineaaltjes *M. chitwoodi* en *M. fallax* zijn gemeld, bestaat er wel een risico op problemen in de toekomst, of zijn wellicht problemen met deze aaltjes ten onrechte toegewezen aan *M. hapla*. Van *M. hapla*, maar vooral van *M. chitwoodi* en *M. fallax*, is nog weinig kennis over de waardplantenreeks en de mate van directe schade.

Meloidogyne in bloembolgewassen

A.S. van Bruggen¹, L.J.M.F. den Nijs², N.P.A. Groen¹, P.J. van Leeuwen¹, A.T.C. van der Sommen²

¹ PPO- Bloembollen, Postbus 85, 2160 AB Lisse, annesophie.vanbruggen@wur.nl

² Plantenziektenkundige Dienst, Postbus 9102, 6700 HC Wageningen, l.j.m.f.den.nijs@minlnv.nl

Tot voor enkele jaren heeft de bloembollenteelt niet veel problemen ondervonden veroorzaakt door wortelknobbelaaltjes. Dahlia is de enige waardplant onder de bolgewassen voor *Meloidogyne hapla*, slechts incidenteel veroorzaakt dit aaltje groeireductie. Het aantal gevallen van *M. hapla* in dahlia lijkt wel toe te nemen. *M. hapla* komt op dit gewas alleen in het wortelstelsel voor. De knol wordt niet geïnfecteerd en het te verhandelen product blijft vrij van het aaltje. De situatie veranderde met de opkomst van *Meloidogyne chitwoodi* en *Meloidogyne fallax*. Uit onderzoek van de PD bleken gladiool en dahlia belangrijke waardplanten te zijn voor deze aaltjes.

Waardplantonderzoek bolgewassen

Bloembollen zijn een belangrijk exportproduct. Volgens de Europese fytorichtlijn dienen deze vrij te zijn van quarantaineorganismen. Bloembollen die een waardplant kunnen zijn voor *M. chitwoodi* en *M. fallax* moeten daarom geïnspecteerd worden, voordat ze verhandeld worden. Deze inspectie vindt plaats door de Bloembollenkeuringsdienst (BKD). Om de juiste inspectierichtlijnen te kunnen geven is het noodzakelijk te weten welke producten geïnspecteerd moeten worden. De PD heeft de afgelopen jaren onderzoek uitgevoerd om de waardplantstatus van bolgewassen voor *M. chitwoodi* en

M. fallax te bepalen. Bij deze proeven is ook onderzocht of het verkoopbare product als drager van deze nematoden kan dienen.

De proeven zijn uitgevoerd op natuurlijk besmette velden in Zuidoost-Nederland. In vier herhalingen zijn bolgewassen zoals tulp, lelie, gladiool, dahlia en narcis getoetst. Voor het planten van de bollen werd de beginbesmetting bepaald en na de oogst de eindbesmetting in zowel wortels als het verkoopbare product. Tabel 1 geeft een overzicht van de getoetste bolgewassen. In de tabel is naast de waardplantstatus voor beide nematoden ook aangegeven wat het fytosanitair risico is van het product dat het handelsverkeer in gaat. Een gewas is als een waard bestempeld als er meerdere ont-

ARTIKEL

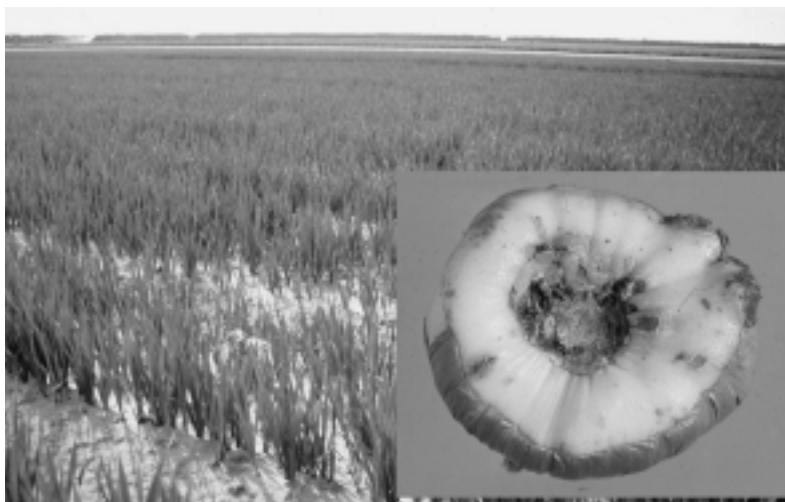
Tabel 1: Overzicht waardplantstatus en fytosanitair risico voor *M. chitwoodi* en *M. fallax* van verschillende bolgewassen

Gewas	Aantal getoetste lcultivars	Waardplant <i>M. chitwoodi</i>	Waardplant <i>M. fallax</i>	Potentieel fytosanitair risico
<i>Allium molly</i>	1	+	+	-
<i>Chionodoxa lucilae</i>	1	-	+	+
<i>Crocus 'Jeanne d'Arc'</i>	1	-	+	-
<i>Dahlia</i> spp	17	+/- ¹	+/-	+
<i>Galanthus nivalis</i>	1	-	+	-
<i>Gladiolus</i> spp	19	+/-	+/-	+
<i>Hyacinthus 'Blue Jacket'</i>	1	-	-	-
<i>Iris 'Ideal'</i>	1	+	+	+
<i>Lilium</i> spp	25	-	-	- ²
<i>Muscari armeniacum</i>	1	-	+	-
<i>Narcissus</i> spp	3	-	+	-
<i>Puschkinia libanotica</i>	1	-	-	-
<i>Scilla siberica alba</i>	1	-	+	-
<i>Tulipa</i> spp	4	-	+/-	? ³

+/-: waardplantstatus verschilt tussen cultivars

²: Uitzonderingen waren *Lilium 'Romana'* welke waard bleek voor *M. chitwoodi* en *Lilium 'Connecticut king'* welke waard bleek voor *M. fallax*

³?: er is nog onduidelijkheid over het fytosanitair risico



Een veld gladiolen en een knol met daarop uitstulpingen veroorzaakt door *M. chitwoodi*.

ARTIKEL

wikkelingsstadia van de nematoden in aangetroffen worden. Een fytosanitair risico wordt gevormd als levende nematoden in het product mee kunnen gaan. Een gewas kan waard zijn maar toch geen fytosanitair risico vormen, omdat het verhandelbare product geen nematoden bevat. Dit is het geval als de nematoden zich alleen in de wortels bevinden en het product zonder wortels verhandeld wordt. Uitgebreide informatie van alle getoetste gewassen (ook niet bolgewassen) is te vinden in de literatuur (den Nijs *et al*, 2004).

Voor de gewassen met een groot areaal, zoals tulp en hyacint, zal vanwege de beperkte gegevens in het najaar van 2004 aanvullend onderzoek worden uitgevoerd met meerdere cultivars.

De teelt van gladiool

In Nederland is het areaal gladiool ongeveer 1300 ha. Het gewas behoort tot de zwerfteelten. Gladiool wordt minimaal een op zes op een perceel geteeld. De ruime vruchtwisseling wordt aangehouden om problemen met de bodemschimmel *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* te voorkomen. Verder kan gladiool aangetast worden door de persistente bodemschimmel *Stromatinia gladioli*, welke droogrot veroorzaakt. *Stromatinia* kan zeker vijftig jaar in de grond overleven en wanneer een perceel besmet is met deze schimmel dan is het langdurig ongeschikt voor de teelt van gladiool. Vanwege de noodzaak van een ruime vruchtwisseling in verband met genoemde bodemschimmels worden gladiolen veelal op huurland geteeld. Het uitgangsmateriaal in de gladiolenteelt zijn de kralen. Dit zijn zeer kleine maten knolletjes (1-4 cm omtrek). De kralen groeien in één teeltseizoen uit tot pitten (3-8 cm omtrek) en gelijktijdig worden ook nieuwe kralen gevormd. De nieuwe kralen kunnen weer als uitgangsmateriaal dienen en de pitten worden verkocht. De kralenteelt wordt veelal door gespecialiseerde bedrijven uitgevoerd. Pittentelers planten de pitten, welke in één groeiseizoen uitgroeien tot leverbare knollen (> 8 cm omtrek). De knollen worden verkocht als tuinbeplanting of als uitgangsmateriaal voor de gladiolenbloementeelt.

Stromatinia gladioli, welke droogrot veroorzaakt. *Stromatinia* kan zeker vijftig jaar in de grond overleven en wanneer een perceel besmet is met deze schimmel dan is het langdurig ongeschikt voor de teelt van gladiool. Vanwege de noodzaak van een ruime vruchtwisseling in verband met genoemde bodemschimmels worden gladiolen veelal op huurland geteeld. Het uitgangsmateriaal in de gladiolenteelt zijn de kralen. Dit zijn zeer kleine maten knolletjes (1-4 cm omtrek). De kralen groeien in één teeltseizoen uit tot pitten (3-8 cm omtrek) en gelijktijdig worden ook nieuwe kralen gevormd. De nieuwe kralen kunnen weer als uitgangsmateriaal dienen en de pitten worden verkocht. De kralenteelt wordt veelal door gespecialiseerde bedrijven uitgevoerd. Pittentelers planten de pitten, welke in één groeiseizoen uitgroeien tot leverbare knollen (> 8 cm omtrek). De knollen worden verkocht als tuinbeplanting of als uitgangsmateriaal voor de gladiolenbloementeelt.

Gladiool en *Meloidogyne*

In 1997 bleek uit onderzoek van de Plantenziektenkundige Dienst (PD), dat gladiool een waardplant

is voor *M. chitwoodi* en *M. fallax* (Brinkman & Goossens, 1998). Vermederding van de aaltjes vindt vooral plaats in de wortels. Na de oogst worden bij het pellen wortelresten verwijderd waarmee aaltjes aanwezig in de wortels van het product gescheiden worden. Bij enkele cultivars bleken de aaltjes echter ook in het weefsel van de knollen aanwezig te zijn. Vooral in de cultivar 'Hunting Song' werden beide aaltjessoorten in de knolbodem aangetroffen, in enkele cultivars zoals 'White Prosperity' en 'Peter Pears' alleen *M. chitwoodi*. De symptomen die bij infectie van het knolweefsel op kunnen treden zijn uitstulpingen op de knolbasis en aan de zijkant van de knol. Bij aansnijden van de knol zijn de vrouwtjes zichtbaar in het weefsel. Vaak worden onder praktijkomstandigheden geen duidelijke symptomen op de knollen gevormd. Langdurige bewaring van de knollen bij hogere temperatuur (20°C) bevordert de symptoomvorming. Bewaring bij hogere temperatuur is echter niet gangbaar in de praktijk.

Maatregelen gladiool

Vanwege de quarantaine status van *M. chitwoodi* en *M. fallax* gelden specifieke maatregelen om verspreiding van deze aaltjes te voorkomen. Maatregelen worden opgelegd wanneer aaltjes worden gevonden in weefsel van kralen, pitten of knollen. Een standaardmaatregel die bij de teelt van kralen wordt uitgevoerd is de warmwaterbehandeling van half uur bij 53-55°C ter bestrijding van *Stromatinia* en *Fusarium*. Een warmwaterbehandeling van half uur 52°C gaf een volledige bestrijding van *M. chitwoodi*. Deze maatregel is afdoende om verspreiding van de aaltjes via kralen tegen te gaan. Voor kralen afkomstig van een besmet perceel is het nu verplicht deze warmwaterbehandeling toe te passen.

Bij pitten en knollen wordt niet standaard een warmwaterwaterbehandeling uitgevoerd. Bij dit materiaal treedt eerder schade op als gevolg van een warmwaterbehandeling. Bij PPO- Bloembollen is een reeks warmwaterbehandelingen getest op hun bestrijdende werking tegen *M. chitwoodi* in knollen. De warmwaterbehandelingen waren: 2 uur 43,5 °C, 1 uur 45°C, 2 uur 45°, en 1 uur 46°, 47° of 48°C. Hierbij bleek dat in knolmateriaal opgeplant na een warmwaterbehandeling bij beoordeling na 3 maanden 1% van de *M. chitwoodi* aaltjes werd aangetroffen in vergelijking met de niet warmwaterbehandelde knollen. Ook in de nieuwgevormde wortels werd 1% van de juvenielen (j2) gevonden in vergelijking met onbehandeld. Er werden geen verschillen tussen de geteste warmwaterbehandelingen waargenomen.

Op dit moment is het niet toegestaan besmette knollen te verhandelen voor bloemproductie. Besmette knollen mogen wel opnieuw op het besmette perceel gepland worden voor bloemproductie. Besmette knollen die onder toezicht van de BKD een warmwaterbehandeling hebben ondergaan mogen alleen voor de binnenlandse droogverkoop aangeboden worden. Veelal zijn deze oplossingen niet rendabel.

Voor besmette pitten zijn er geen geaccepteerde bestrijdingsmaatregelen beschikbaar en voor pitten geldt dan ook dat ze vernietigd moeten worden. Besmetting geeft dus grote economische schade voor de teler.

Aantastingen in de praktijk bij gladiool

Vanaf 1999 keurt de BKD gladiolen op *M. chitwoodi* en *M. fallax*. In de jaren 1999 en 2000 werden de in Zuidoost-Nederland geteelde partijen direct na rooien gekeurd op de aanwezigheid van symptomen in de wortels. In deze twee jaren

werden geen aantastingen aangetroffen. In de jaren 2001, 2002 en 2003 werd bij de keuring uitgegaan van de gevoelig cultivar 'Hunting song' als indicator. De monsters bestonden uit wortels van tien planten en een grondmonster (per 1/3 ha) verzameld op het veld tijdens de teelt. Wanneer de keuringsresultaten daartoe aanleiding geven dan worden ook partijen van andere cultivars gekeurd op *M. chitwoodi* en *M. fallax*. In 2001 werd bij 'Hunting Song' in Zuidoost-Nederland één besmette partij gevonden.

In 2002 werden alle partijen 'Hunting Song' beoordeeld, ook die geteeld in andere regio's dan Zuidoost-Nederland. Slechts in drie van de 64 monsters werd *M. chitwoodi* of *M. fallax* aangetroffen. De besmettingen betroffen allen partijen geteeld in Zuidoost-Nederland. In 2003 werden al vroeg in het seizoen aantastingen gevonden in andere cultivars dan Hunting Song en is de keuring in Zuidoost-Nederland uitgebreid naar alle cultivars en zijn daarnaast, minder intensief, alle partijen gladiool buiten Zuidoost-Nederland gekeurd. Hierbij werd in twintig

partijen in deze regio aantasting in knollen vastgesteld. Ook twee partijen geteeld buiten Zuidoost-Nederland bleken aangetast te zijn. *M. chitwoodi* werd vaker dan *M. fallax* aangetroffen (resp. vijftien en zeven). Waarschijnlijk heeft de warme zomer geleid tot een sterke toename van het aantal besmettingen.

De teelt van dahlia

Het areaal dahlia beslaat in Nederland ongeveer 450 ha. Dahlia wordt gemiddeld een op vier geteeld. Vermeerdering vindt plaats via stekken. Voor de vermeerdering worden apart geteelde en geselecteerde knollen gebruikt, de zogenaamde oplegknollen. Voor de teelt van oplegknollen wordt slechts 5 % van het areaal gebruikt. De oplegknollen worden in januari in bakken in de kas gepland voor de stekproductie. Na een bewortelingsperiode wordt de temperatuur in de kas verhoogd en beginnen de knollen uit te lopen. Vanaf begin maart worden stekken geoogst die gebruikt worden als ver-



Het gewas dahlia en een knol met wrachtige verdikkingen veroorzaakt door *M. chitwoodi*.

meerderingsmateriaal. De stekken worden van de knollen geplukt, daarbij wordt een stukje oud weefsel op de overgang van knol naar stengel meegeplukt, het zogenaamde hielkje. De geogste stekken worden geplant in bakken met zand om te kunnen bewortelen. Na een bewortelingsperiode in de kas worden de stekken overgeplaatst naar een koude bak om af te harden. De stekken worden vervolgens uitgeplant in de vollegrond zodra er geen kans meer is op nachtvorst, vanaf half mei. Knolvorming aan de stekken vindt plaats vanaf eind augustus. Tussen half oktober en half november vindt oogst van de knollen plaats. De knollen worden verhandeld voor tuinbeplanting en bloemproductie. Het merendeel van de knollen wordt geëxporteerd voor tuinbeplanting.

Dahlia en Meloidogyne

In onderzoek van de PD bleek dahlia een waardplant te zijn voor *M. chitwoodi* en *M. fallax*. In een proef in 2000 en 2001 op een met

M. chitwoodi besmet perceel zijn 17 dahlia cultivars getest op hun waardplantstatus. Slechts 4 cultivars gaven geen vermeerdering van *M. chitwoodi*. De overige cultivars waren in meer of mindere mate waardplant. De aaltjes werden niet alleen gevonden in de wortels, maar ook in de knollen. Symptomen bleken vaak niet duidelijk zichtbaar (den Nijs en Jansen, 2002).

Maatregelen dahlia

Vanwege de quarantaine status van *M. chitwoodi* en *M. fallax* gelden specifieke maatregelen om verspreiding van deze aaltjes te voorkomen. Er zijn echter geen methoden om *M. chitwoodi* in dahlia knollen te bestrijden. Warmwaterbehandelingen zijn niet toe te passen bij dit gewas, omdat snel schade optreedt. Dit betekent dat een besmetting in dahlia leidt tot grote economische schade voor de teler. Verder is het niet toegestaan besmette knollen te gebruiken voor de stekproductie. Bij het stekken bestaat het risico dat de aaltjes vanuit het hielkje

(oud weefsel dat mogelijk besmet is) het vermeerderingsmateriaal infecteren.

Aantastingen in de praktijk bij dahlia

Vanaf 2002 keurt de BKD dahlia's op *M. chitwoodi* en *M. fallax* en wordt de cultivar 'Orange Nugget', die een sterke vermeerdering gaf in het waardplantonderzoek, gebruikt als indicatorcultivar. Van alle in Nederland geteelde partijen 'Orange Nugget' zijn in 2002 en 2003 knol-, wortel- en grondmonsters genomen en door de PD onderzocht op de aanwezigheid van wortelknobbelaaltjes. In 2002 is in één van de zestien monsters *M. chitwoodi* aangetroffen. Het monster was afkomstig van een partij geteeld in Zuidoost-Nederland. In 2003 werd de keuring op dezelfde wijze uitgevoerd en zijn geen besmettingen gevonden. Wel is er in de exportkeuring *M. chitwoodi* aangetroffen in een partij dahlia's welke geteeld was in Zuidoost-Nederland.

Literatuurlijst op www.knpv.org

Beleid Plantenziektenkundige Dienst t.a.v. *Meloidogyne chitwoodi* en *M. fallax*

F. Janssen, PD

Sinds 1998 hebben *M. chitwoodi* en *M. fallax* de quarantainestatus. De PD voert sindsdien een beleid dat erop gericht is te voldoen aan de voorwaarden van Europese fytorichtlijn. Dit beleid is erop gericht om verspreiding via uitgangsmateriaal te voorkomen.

Vergelijking met het aardappelmoehheidsbeleid laat zien dat er mogelijkheden onbenut blijven voor een stringenter aanpak. Zowel juridisch als technisch ontbreken hiervoor de mogelijkheden. *M. chitwoodi* en *M. fallax* vormen door de brede waardplantenreeks, de snelle vermeerderingen en lange overlevingsduur in combinatie met de gebrekkige bedrijfshygiëne echter een serieuze bedreiging voor de toekomst.

Huidige aanpak

In bijlage IAAI van de Fytorichtlijn 2000/29/EG zijn in 1998 de organismen *Meloidogyne chitwoodi* en *Meloidogyne fallax* opgenomen. Op basis hiervan is Nederland verplicht verspreiding van dit organisme via het verkeer van uitgangsmateriaal te voorkomen. In bijlage IVAI en IVAIL van de Fytorichtlijn zijn specifieke maatregelen voor pootaardappelen opgenomen. Voor pootgoed zijn er specifieke eisen verbonden aan de wijze van bepaling van partijvrijheid. Partijen uit gebieden of van bedrijven waar "chitwoodi" voorkomt, worden begin september door de NAK weggezet en bewaard bij circa achttien graden Celsius. Na een bewaarperiode vindt be-

oordeling plaats op het optreden van symptomen.

Voor andere paspoortplichtige waardplanten van overig voortkwekingsmateriaal, zoals asperge-, prei-, aardbeien- en koolplanten, dahlia en gladiool wordt door de EU niet gespecificeerd hoe de verspreiding van deze organismen voorkómen moet worden. De Nederlandse overheid heeft hier de invulling aan gegeven, dat partijen visueel vrij dienen te zijn van zichtbare symptomen. De inspecties in genoemde voortkwekingsmateriaal worden uitgevoerd door de Naktuinbouw en de BKD.

Bij een vondst gelden uitsluitend maatregelen ten aanzien van de aangetaste partij en niet voor het perceel waarop het plantmateriaal is gegroeid. De aangetaste partijen mogen niet in het verkeer gebracht worden, tenzij behandeling mogelijk is.

De Plantenziektenkundige Dienst heeft ten behoeve van inspecties door haarzelf en de keuringsdiensten een gebied en een aantal productieplaatsen aangewezen, waar voor zover haar bekend *Meloidogyne chitwoodi* en/of *Meloidogyne fallax* vóórkomt. De aangewezen gebieden hebben geen wettelijke status en dienen als ondersteuning bij de keuringswerkzaamheden.

Nederland houdt jaarlijks een survey om aan te tonen dat gebieden vrij zijn van *M. chitwoodi* en *M. fallax*. Uit "vrije" gebieden kunnen zonder extra monsternamen voor *M. chitwoodi* en *M. fallax* partijen pootgoed worden afgezet. Door de PD wordt geïnspecteerd in en rond

gebieden waar *M. chitwoodi* en *M. fallax* is te verwachten om op deze wijze het gebied (beter) te kunnen afbakenen. Deze survey vindt plaats in consumptie-aardappelen, zetmeelaardappelen, peen, schorseneren en erwten. De survey bestaat uit de volgende onderdelen:

Visuele knolbeoordelingen van consumptie- en zetmeelaardappelen in gebieden met zand-, dal- en zavelgronden (met pootgoedteelt) tijdens de industriesurvey in consumptie en zetmeelaardappelen. Bemonstering van pootgoed. De pootgoedmonsters worden op dezelfde wijze als bij de NAK opgeslagen en na het bereiken van het vereiste aantal graaddagen beoordeeld op symptomen.

Visuele knolbeoordelingen van consumptie-aardappelen in de buurt van besmette percelen of productieplaatsen.

Inspecties in consumptie-aardappelen, peen, erwten en schorseneren ten behoeve van afbakening van het gebied in Zuid Oost Nederland waar *M. chitwoodi* en *M. fallax* voorkomt.

Verspreiding

Het aangewezen gebied voor *M. chitwoodi* en *M. fallax* ligt in Z.O.Nederland. De omvang van het besmettingsrisico in dit gebied is in 2003 gebleken. Door gunstige weersomstandigheden voor de expressie van symptomen van *M. chitwoodi* en *M. fallax* in gladiolen zijn in tien percelen besmettingen vastgesteld. De besmette opper-

ARTIKEL

vlakte bedroeg ca. zestien ha. De PD heeft alleen afzet van gladiolen van besmette percelen toegestaan in kleinverpakking, na het uitvoeren van een warmwaterbehandeling.

In de survey's en inspecties van keuringsdiensten zijn –buiten het aangewezen gebied– vondsten van *M. chitwoodi* gedaan op enkele bedrijven in de Wieringermeer, de Noord Oostpolder en westelijk Noord Brabant.

Doeltreffende bestrijding?

De mogelijkheden, waarover de PD beschikt om *M. chitwoodi* en *M. fallax* te bestrijden zijn beperkt. Er is om te beginnen geen juridische basis voor maatregelen, zoals toegepast bij bijv. AM. Zowel een Europese bestrijdingsrichtlijn als nationale wetgeving ontbreken voor het kunnen verplichten van een grondbemonstering voor de teelt van uitgangsmateriaal. Overigens zijn meerdere organisaties actief in vrijwillige bemonsteringsprogramma's. Ook voor het opleggen van maatregelen op een besmet perceel ontbreken juridische mogelijkheden. Voor de hand liggende maatregelen op een besmet terrein zijn een verbod op de teelt van voortkweekingsmateriaal om verspreiding van *M. chitwoodi* en *M. fallax* te voorkomen en verplichte hygiënemaatregelen. Tot nu toe heeft de Nederlandse overheid geen aanleiding gezien om strengere maatregelen voor te schrijven dan minimaal voorgeschreven door Brussel.

De maatregelen die de PD verplicht stelt bij de vondst van *M. chitwoodi* en *M. fallax* in uitgangsmateriaal, zoals recent in gladiolen, roepen in de sector veel weerstand op. De sector ervaart het als disproportioneel, dat de PD enerzijds strenge eisen stelt aan eventuele behandelmogelijkheden van aangetaste partijen terwijl via al-

lerlei andere kanalen wel “onbelemmerd” verspreiding optreedt. Zowel het ontbreken van maatregelen op besmette terreinen als de constatering dat via aanhangende grond aan allerlei producten en machines wel verspreiding is “toegestaan” roept vragen op. De overheid stelt zich op het standpunt dat bedrijven zelf verantwoordelijk zijn voor de bedrijfshygiëne.

Een belangrijke reden dat aanvullende maatregelen op Europees en nationaal niveau (nog) niet zijn genomen is technisch van aard. Het detectieniveau van grondbemonstering op *M. chitwoodi* en *M. fallax* voorafgaande aan de teelt ligt erg laag. Dit wordt veroorzaakt door de snelle afbouw van de *M. chitwoodi* en *M. fallax* populatie na afronding van de voorafgaande teelt. Een goede grondbemonsteringsmethodiek voorafgaand aan de teelt, heeft voor telers van uitgangsmateriaal wezenlijk voordeel. De afhankelijkheid van veldinspectie of eventueel zelf partij-inspectie veroorzaakt een afkeuringsrisico in kostbaar materiaal. De overheid geeft geen vergoeding voor de schade. Er zijn ook geen verzekeringen die de schade dekken.

De mogelijkheden voor visuele inspectie zijn beperkt. Alleen in gewassen met een goede symptoomexpressie heeft visuele inspectie betekenis. De PD heeft deze inspecties aan de keuringsdiensten voorgeschreven. De ervaring leert dat alleen bij voor het organisme gunstige omstandigheden het aantal vondsten een indicatie geeft voor de verspreiding van *M. chitwoodi* en *M. fallax*.

Bedreiging voor de toekomst

De combinatie van kenmerken van *M. chitwoodi* en *M. fallax* maken een snelle verspreiding van *M. chitwoodi* en *M. fallax* mogelijk.

Deze kenmerken zijn met name de brede waardplantenreeks, de snelle vermeerdering en de lange overlevingsduur in de bodem. Wanneer het organisme zich eenmaal op een veld heeft kunnen nestelen, is het bijzonder moeilijk uit te roeien. Het waardplantkarakter van diverse onkruiden draagt zorg voor steeds hernieuwde opbouw van de populatie.

Machinecontacten vormen naast het uitgangsmateriaal een belangrijke verspreidingsroute voor *M. chitwoodi* en *M. fallax*. In toenemende mate stellen telers eisen aan de reinheid van machines, met name bij de verhuur van land voor vatbare gewassen als bijv. wortelen. De zorgvuldigheid waarmee machines bij andere teelten worden gereinigd, laat nog veel te wensen over. Telers nemen naar inzicht van de PD grote risico's bij het op het land toelaten van machines met aanhangende grond, waarvan de herkomst niet bekend is.

Ook uitgangsmateriaal vormt een risico voor de introductie van *M. chitwoodi* en *M. fallax*. De huidige inspectieaanpak van voortkweekingsmateriaal is maar in beperkte mate effectief in vatbare gewassen, zeker die met een slechte symptoomexpressie. Daarbij is van veel gewassen nog niet duidelijk, of ze vatbaar zijn voor *M. chitwoodi* en *M. fallax* en of *M. chitwoodi* en *M. fallax* zich kan verspreiden met bollen en knollen. De PD voert hier onderzoek naar uit.

Uit het voorgaande blijkt dat de PD zich bewust is van de lacunes in de aanpak van *M. chitwoodi* en *M. fallax*. In het komend jaar zal de bedreiging van *M. chitwoodi* en *M. fallax* door ministerie van LNV en PD nader in kaart gebracht en geanalyseerd worden. In deze analyse zal nadrukkelijk mee worden gewogen in hoeverre particuliere initiatieven bij kunnen dragen aan het gewenste bestrijding- en beheersingsniveau van *M. chitwoodi* en *M. fallax*.

Ruimtelijke verdeling van *Meloidogyne* spp t.b.v. bemonsteringssystemen

C.H. Schomaker, T.H. Been (PRI) en L.P.G. Molendijk (PPO)

Inleiding

De quarantainestatus van *M. chitwoodi* en *M. fallax* in Europa (EU-Directive 98/1/EC) betekent dat beide aaltjes niet mogen worden aangetroffen in voortkweekingsmateriaal.

Volgens de richtlijnen van de EU-Directive wordt de aanwezigheid van *M. chitwoodi* en *M. fallax* in partijen voortkweekingsmateriaal vastgesteld aan de hand van de zichtbare symptomen. Deze methode is niet erg betrouwbaar en bij de Plantenziektenkundige Dienst (PD), keuringsdiensten, telers en hun adviseurs is er behoefte aan betere methoden om de aanwezigheid en de intensiteit van beide aaltjes in percelen en partijen vast te stellen. Dergelijke methoden, zoals eerder ontwikkeld voor de quarantaine-nematoden *G. rostochiensis* en *G. pallida*, kunnen dienen als basis voor de uitvoering van fytosanitaire taken van de PD en als grondslag voor Beslissing Ondersteunende Systemen voor de beheersing van nematoden op percelen. Ook voor veldproeven zijn goede bemonsteringsmethoden onontbeerlijk.

Verschillen tussen aaltjessoorten

Om bemonsteringssystemen te ontwikkelen waarmee met bekende betrouwbaarheid aaltjes kunnen worden opgespoord of dichtheidsbepalingen kunnen worden gedaan is kennis vereist van de

ruimtelijke verspreiding van de aaltjes binnen een agronomische eenheid, b.v. een perceel. Deze wordt op kleine schaal bepaald door de wortelsystemen van de waardgewassen en de eigenbeweging van aaltjes. Bij aardappelcystenaaltjes is de eigenbeweging verwaarloosbaar; bij wortelknobbelaaltjes zeker niet. Op wat grotere schaal zijn de populatiedynamica van aaltjes, met name de maximale dichtheden teeltfrequentie van waardgewassen en de verspreidingsvectoren – bijvoorbeeld landbouwmachines – van belang. Als vatbare aardappelrassen in nauwe rotaties worden geteeld bij dichtheden aardappelcystenaaltjes vanaf twintig eieren/gram grond, dan zal in de helft van de gevallen de maximale populatiedichtheid worden bereikt. Voor de teelt van gedeeltelijk resistente rassen geldt hetzelfde,

maar dan bij veel lagere aaltjesdichtheden. Alleen door vroege detectie van besmettingshaarden en zorgvuldig afstemmen van rotatie en resistentie van aardappelrassen kan een snelle ontwikkeling van besmettingshaarden tot uniforme besmettingen worden voorkomen en kan het risico van detectie van aardappelcysteaaltjes in exportpartijen klein worden gehouden. Bij wortelknobbelaaltjes is de situatie waarschijnlijk anders. Deze aaltjes hebben een veel grotere waardplantenreeks dan aardappelcysteaaltjes, waardoor ze snel een bepaalde maximale dichtheid kunnen opbouwen. Ook zijn de maximale dichtheden die ze bereiken op vatbare gewassen gering, vergeleken met aardappelcysteaaltjes. Daarom kunnen vrij lage dichtheden wortelknobbelaaltjes snel hun maximale dichtheden bereiken en leiden tot min



Aardappel met het maïswortelknobbelaaltje *Meloidogyne chitwoodi*.

ARTIKEL

Tabel 1: Verschillende aaltjessoorten en hun aggregatie-coëfficiënten

Aaltjessoort	Aggregatiecoëfficiënt k voor eieren cq. vrijlevende stadia
Aardappelcystenaaltjes	30
Bietencysteaaltjes	40
Pratylenchus	40
Trichodorus	45
Meloidogyne	15

of meer uniforme besmettingen in het veld. Zijn deze eenmaal bereikt, dan is het risico van detectie in pootgoedpartijen groot. De enige oorzaak van haarden zijn dan nog lokale verschillen in uitwendige omstandigheden, zoals bodemtype, die bepalend zijn voor de activiteit en de vermeerdering van de aaltjes.

Distributiepatronen

Bovengenoemde ruimtelijke processen spelen zich af op verschillende schaalgroottes. Bij de bestudering van ruimtelijke patronen moet daarmee rekening worden gehouden. Tijdens het onderzoek worden de volgende ruimtelijke patronen onderscheiden:

De kleinschalige verdeling
De verdeling binnen een klein gebied – meestal een tot maximaal vier m² - wordt primair veroorzaakt door de plantafstand en de beworteling van waardplanten. Bij de meeste gewassen is niet de hele bouwvoor doorworteld. De doorworteling hangt af van de afstand in een rij, afstand tussen de rijen en grootte van het wortelsysteem. Bovendien volgt een plantenwortel de weg van de minste weerstand door de grond. De clustering die hierdoor ontstaat kan weer enigszins teniet worden gedaan door de eigen beweging van aaltjes. Uit tot nu toe bekende gegevens blijkt dat de meeste aaltjes, ook *Meloidogyne* spp, geclusterd in de grond voorkomen. Bijna altijd is deze verdeling goed te benaderen met een negatief binomiale

verdeling. De aggregatiefactor, k, is een belangrijke parameter voor de mate van clustering.

De kleinschalige verdeling wordt gebruikt voor twee doelen. Ten eerste voor de ontwikkeling van bemonsteringsmethoden voor wetenschappelijk gebruik. Bijvoorbeeld de schatting van de populatiedichtheden in plots van veldproeven. Ten tweede fungeert de kleinschalige verdeling als integraal onderdeel van grotere ruimtelijke verdelingen. Daardoor kunnen kansberekeningen worden uitgevoerd en risico-vragen worden beantwoord. Bijvoorbeeld de vraag: met welke kans kunnen nematoden worden aangetoond in een monster van x gram grond verzameld uit een raster van a x b m²?

Het onderzoek naar de kleinschalige verdeling van *Meloidogyne* spp is al enkele jaren geleden gestart. Belangrijkste doel was het parametriseren van de negatief binomiale verdeling in oppervlaktes van een vierkante meter. De resultaten beschrijven een twintigtal plekken verspreid over heel Nederland. In alle gevallen zijn deze plekken tien keer herhaald bemonsterd. Per monster is minimaal 1,5 kg grond verzameld waarvan minstens 500 g is onderzocht: zowel de minerale als de organische fractie.

Over het algemeen lijkt er sprake te zijn van een sterke clustering van *Meloidogyne* binnen kleine oppervlaktes. Bij lage aantallen aaltjes stijgt de variatiecoëfficiënt (de standaarddeviatie gedeeld door het gemiddelde) tot 100% of meer. Hoe meer aaltjes worden geteld des te lager de variatiecoëffi-

ciënt en hoe hoger de betrouwbaarheid van de schatting. Toch stabiliseert de variatiecoëfficiënt voor het aantal aaltjes in de organische en minerale fractie ook bij hogere aantallen aaltjes op een te hoog niveau: van 25% tot 40%. De aggregatiecoëfficiënt – een maat voor de clustering - van de negatief binomiale verdeling bedraagt daarom vijftien. Dit is de laagste waarde die tot nu toe gemeten is voor aaltjes (zie Tabel 1).

Dat is tegen de verwachting in. Voor aardappelcysteaaltjes die geen eigen beweging hebben en maar één waardgewas, dat ook nog eens wordt verbouwd met een grote plantafstand, zou juist een hogere clustering worden verwacht dan voor de andere, vrijlevende aaltjes met meer waardgewassen en een grotere eigen beweging. We moeten ons realiseren dat de gemeten k-waarde een hybride is van de “echte” clustering in het veld en van een “valse” clustering ten gevolg van laboratoriumprocedures. Om “echt” van “onecht” of signaal van ruis te onderscheiden is daarom kritisch gekeken naar de variatie door laboratoriumprocedures.

Laboratoriumprocedures

Een algemene indruk van variatiebronnen in het laboratorium kan worden verkregen door bulkmonsters uit het veld goed te mengen en vervolgens deelmonsters te nemen. Door de menging van het bulkmonster wordt de geclusterde veldverdeling als het ware uitgewist waardoor gediscrimineerd kan worden tussen de veldvariatie (signaal) en laboratoriumvariatie (ruis). Bij een random verdeling van de aaltjes door het monster en een verwaarloosbare extractie- en telfout komt de variatie tussen de deelmonsters overeen met die van multinomiale verdeling. Deze random verdeling en multinomiale

fout konden bij aardappelcysten-aaltjes, bietencysteaaltjes en *Pratylenchus* goed worden benaderd; bij aardappelcystenaaltjes ook door commerciële laboratoria. Bij wortelknobbelaaltjes lukt dit echter niet. De variatiecoëfficiënt ten gevolge van laboratoriumhandelingen kan bij deze aaltjes oplopen tot meer dan 50%. Dat geldt voor zowel de minerale als de organische fractie, hoewel de variatiecoëfficiënt van de organische fractie die van de minerale fractie ver overtreft. De aggregatiefactor voor de minerale fractie is ongeveer dertig; die van de organische fractie vijf.

Fig. 1 laat zien welke invloed variatiebronnen in het laboratorium hebben op de aggregatiecoëfficiënt k . Vanaf een variatiecoëfficiënt van 30% overstemt de "valse" laboratorium k de veldvariatie en de "echte" k volkomen en wordt de "hybride" k bijna volledig bepaald door laboratoriumfouten. De gemeten aggregatie heeft dan weinig meer van doen met de veldclustering. Het is daarom de moeite waard te onderzoeken hoe de laboratoriumprocedures kunnen worden verbeterd. Het onderzoeken van de gehele organische fractie zou al een hele verbetering opleveren. Nader onderzoek naar de efficiency en de variatie van extractiemethoden is gewenst.

De verdeling op middelgrote schaal

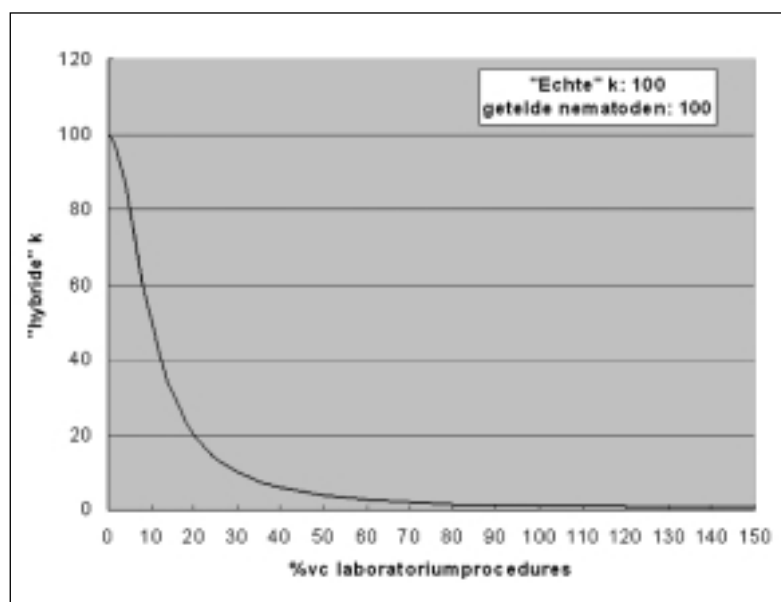
Gegevens over middelgrote ruimtelijke patronen worden momenteel verzameld in samenwerking met de PD en het Centrum voor Landbouwkundige Onderzoek (CLO) in België. De ruimtelijke verdeling van aaltjes langs een as in een groot gebied, zoals een boerenperceel, kan worden gezien als een superpositie van variaties op verschillende schalen. In het geval van besmettingshaarden wordt dit patroon verder gecompliceerd door een systematische toe- of af-

name van aaltjesdichtheden met de afstand. Ook verschillen in verticale verdeling van verschillende aaltjessoorten kunnen voor verdere complicaties zorgen.

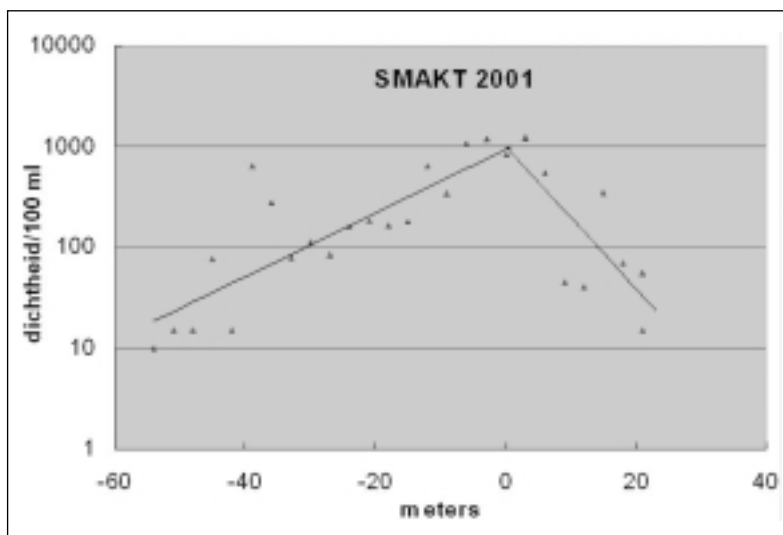
Een eenmaal aanwezige besmetting breidt zich geografisch uit. Dit kan op verschillende manieren. Allereerst door vermeerdering van de aaltjes op waardgewassen en door bodembewerkingen met landbouwmachines, vooral werktuigen die veel grond verplaatsen en met zich meenemen, zoals roomachines en grondontsmettingsapparatuur. De grondverplaatsing door landbouwmachines is samen met besmet pootgoed de belangrijkste oorzaak van de verspreiding van een besmetting van perceel naar perceel. Op deze wijze kan een eerste introductie uitgroeien tot een grotere besmetting.

Bij aardappelcysteaaltjes komen beginnende besmettingen vaak voor in de vorm van besmettingshaarden. Onderzoek heeft aangetoond dat deze een goed te voorspellen vorm bezitten. Deze vorm is afhankelijk van de bewerkingrichting en bepaalt samen met het bemonsteringsraster en monstergrootte de kans op detectie. Onderzoek tot nu toe geeft aan dat beginnende besmettingen van *Me-*

loidogyne ook kunnen voorkomen in haardvorm. Het bleek mogelijk een consistente gradiënt in bewerkingsrichting te schatten en ook een maximale dichtheid in het voorjaar, dus nadat de wintersterfte was opgetreden. De gevonden lengtegradiënten zijn alle groter dan 0,9, met een gemiddelde van 0,94. Dat wil zeggen dat de dichtheden binnen een haard in lengterichting maar heel langzaam afnemen. Veel langzamer dan bijvoorbeeld dichtheden van aardappelcysteaaltjes, die vanaf het centrum van de haard afnemen met een factor 0,83 per meter in lengterichting en een factor 0,64 per meter in de richting dwars op de bewerking. Figuur 2 illustreert hoe een dwarsdoorsnede door zo'n *Meloidogyne* haard eruit ziet. Over breedtegradiënten (gradiënten haaks op de bewerkingrichting) hebben we nog weinig gegevens, maar we kunnen wel een voorlopige schatting maken uit de analyses van haarden van aardappelcysteaaltjes. We nemen dan aan dat het verschil tussen lengte- en breedtegradiënt alleen wordt bepaald door landbouwwerktuigen. De verhouding tussen de gemiddelde breedte- en de lengtegradiënten van haarden met aardappelcystenaaltjes is 0,77. De



Figuur 1. Het effect van variatie door laboratoriumprocedures op de aggregatiecoëfficiënt k .



Figuur 2. Gradiënten afkomstig van proefveld Smakt 2001.

gevonden gemiddelde lengtegradiënt voor *Meloidogyne chitwoodi* (en *M. fallax*) bedraagt 0,94. Dat betekent dat de breedtegradiënt ongeveer 0,72 zou kunnen bedragen. Met deze gegevens kunnen we een voorlopige schatting maken van een *Meloidogyne*-haard. We hebben dan nodig de maximale dichtheid in het centrum van de haard. Uit veldproeven met verschillende gewassen is gebleken dat deze maximaal 500 tot 1000 aaltjes/100 ml bedraagt. Als we

geen rekening houden met lokale verschillen in grondsoort binnen een perceel waardoor *Meloidogyne* zich beter of slechter zou kunnen vermeerderen en verspreiden, dan is een haard met een centrale dichtheid van 500 aaltjes/100 ml 150 meter lang en 28 meter breed met een totale oppervlakte van 4200 m². Een haard met een centrale dichtheid van 1000 aaltjes/100 ml een oppervlakte van 300 (l) x 60 (b) = 36000 m².

Nabeschuwing

Uit onderzoeksresultaten van diverse aaltjessoorten blijkt dat het op den duur wellicht mogelijk is om distributiepatronen van aaltjes af te leiden uit kennis van de populatiedynamica - in relatie tot groei- en ontwikkeling van waardplanten, verspreidingsvectoren, eigen beweging en geografische informatie.

De voortgang van het onderzoek aan *Meloidogyne* – vooral de kleinschalige verdeling en de populatiedynamica van beginnende besmettingen – wordt op dit moment nog belemmerd door het ontbreken van goede laboratoriummethoden. Een kritisch onderzoek naar iedere afzonderlijke bron van variatie: (deel)monsternamen, extractie, incubatie, lokking, tellen van multispecies suspensies, is gewenst om de foutenbronnen in de onderzoekslaboratoria op een aanvaardbaar niveau te brengen. Wellicht kunnen kwantitatieve moleculaire bepalingen op den duur uitkomst bieden voor deze problemen.

Kijken met je pipet: moderne methoden voor detectie van wortelknobbelaaltjes

Carolien Zijlstra & Richard van Hoof

Plant Research International, Postbus 16, 6700 AA Wageningen. e-mail: carolien.zijlstra@wur.nl

Onder detectie wordt verstaan het vaststellen van de aanwezigheid van iets. Dit impliceert dat men weet waarnaar men op zoek is. Voor detectie van wortelknobbelaaltjes moet je specifieke kenmerken van dit aaltje kennen voordat je kunt gaan detecteren. Specifieke kenmerken van wortelknobbelaaltjesoorten kunnen morfologische of morfometrische kenmerken zijn die men via het oog herkent, maar ook biochemische of moleculaire eigenschappen die men via experimenten in het laboratorium kan aantonen. In min of meer chronologische volgorde wordt in dit artikel een overzicht gegeven van ontwikkelde moleculaire toetsen voor detectie van wortelknobbelaaltjes. Vervolgens worden de voordelen ervan belicht en worden criteria gegeven welke de keuze voor een bepaalde moleculaire detectietechniek kunnen bepalen.

Inleiding

De behoefte aan snelle, eenduidige technieken voor detectie van *Meloidogyne* soorten neemt toe. Dergelijke technieken zijn nodig voor het goed kunnen uitvoeren van onderzoek, resistentie-management, ontwerp van vruchtwisselingschema's en voor inspectie van geoogste gewassen en grondmonsters. Herkenning van *Meloidogyne* soorten op grond van morfologische kenmerken (Hart-

man & Sasser, 1985) vereist veel expertise en is vaak niet eenduidig als slechts enkele individuen aanwezig zijn. Vaak moeten meerdere ontwikkelingsstadia bekeken worden om een oordeel te kunnen vellen. Isozym-analyse is een toegankelijke methode om wortelknobbelaaltjesoorten te kunnen detecteren (Esbenshade & Triantaphyllou, 1990). Echter, voor duidelijke, betrouwbare resultaten kan de isozym-analyse uitsluitend worden uitgevoerd met wijfjes in een bepaald ontwikkelingsstadium. DNA technieken bieden aantrekkelijke oplossingen voor de problemen die met eiwittechnieken samenhangen: ze zijn relatief snel, zijn onafhankelijk van effecten van omgevingsfactoren en/of ontwikkelingsstadium op het aaltje en zijn erg betrouwbaar. Bovendien vereisen ze geen diepgaande nematologische expertise.

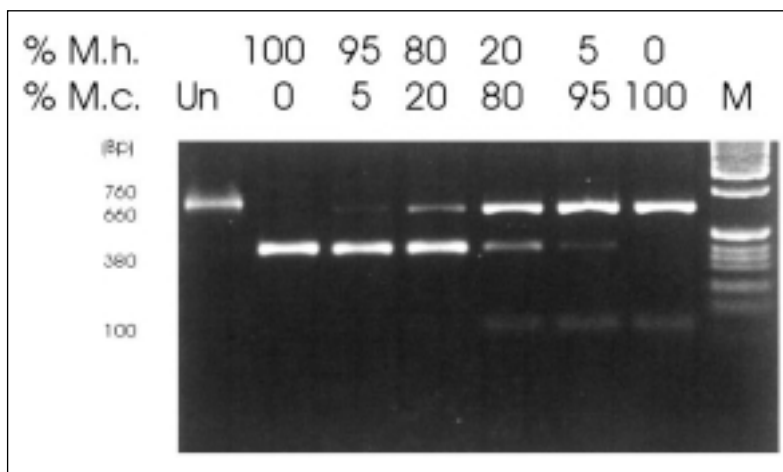
DNA methoden uit de beginperiode

De eerste DNA methoden voor detectie van *Meloidogyne* soorten maakten gebruik van restrictie fragment lengte polymorfismen (RFLPs) van totaal of mitochondriaal DNA (Cenis *et al.*, 1992, Curran & Webster, 1987, Hugal *et al.*, 1994, Powers *et al.*, 1986). Hoe betrouwbaar deze technieken ook zijn, ze vereisen microgrammen DNA afkomstig van tienduizenden nematoden. Minder nematoden zijn

nodig wanneer gekeken wordt naar repetitieve sequenties zoals satelliet DNA (satDNA) of ribosomaal DNA (rDNA). SatDNA bestaat uit repetitieve sequenties van ongeveer 100 tot 150 nucleotiden en is aanwezig in het genoom van bijna alle eukaryotische organismen. Per genoom komen ongeveer 103 tot 105 kopieën voor. Er zijn satDNA sequenties geïsoleerd van *M. hapla*, *M. chitwoodi* en *M. fallax* (Piotte *et al.*, 1994; Castagnone-Sereno *et al.*, 1999). Wanneer deze gebruikt worden als probe, dan hybridiseert de satDNA probe van *M. hapla* wel met *M. hapla* DNA en niet met DNA van *M. chitwoodi* of *M. fallax*. De satDNA probes van *M. chitwoodi* en *M. fallax* hybridiseren niet met DNA van *M. hapla* maar hybridiseren wel met DNA van *M. chitwoodi* en *M. fallax*, waarbij geen onderscheid gemaakt kan worden tussen deze twee soorten. In zogenaamde dot blot experimenten, waarbij nematodenmateriaal op een filter geplet wordt waarbij het zich erin bevindende DNA op het filter hecht, is aangetoond dat deze satDNA probes gebruikt kunnen worden om *M. hapla* op het nivo van één wijfje te onderscheiden van de soorten *M. chitwoodi* en *M. fallax*.

Met de introductie van de "polymerase chain reactie", beter bekend als PCR, konden detectietechnieken worden ontwikkeld die met veel minder uitgang-DNA konden worden uitgevoerd. PCR is een methode waarbij vele kopieën van een stuk DNA gegenereerd

ARTIKEL



Figuur 1. ITS-PCR-RFLP patronen verkregen door *Dra I* digestie van ITS-PCR producten van mengsels van *M. hapla* (M.h) en *M. chitwoodi* (M.c) waarmee de ratio waarin deze soorten in mengsels voorkomen geschat kan worden. De soortsaanstelling is boven de gel aangegeven. Un: niet gedigesteerd ITS-PCR product. Het tweede en het zevende laantje vertegenwoordigen de soortspecifieke *Dra I*-ITS patronen van *M. hapla*, respectievelijk *M. chitwoodi*. M: DNA-ladder.

kunnen worden. Door specifieke sequenties te vermeerderen en deze vervolgens te knippen met restrictie-enzymen, kunnen verschillende *Meloidogyne*-soorten onderscheiden worden. Vaak is de DNA-hoeveelheid van een enkel aaltje hiervoor al voldoende. Mitochondriaal DNA was daarvoor in eerste instantie een aantrekkelijk doelwit (Harris *et al.*, 1990, Powers & Harris, 1993).

rDNA methoden

rDNA heeft als voordeel dat het rijkelijk aanwezig is in het genoom. Het eukaryotische rDNA bestaat uit drie genen (18S, 5,8S en 28S). Daarnaast bestaan er nog interne "transcribed spacer" (ITS) regio's en "intergenic spacer" (IGS) regio's. Van dit genencluster zijn in ieder genoom vele kopieën aanwezig. Sommige regio's van rDNA vertonen veel overeenkomsten tussen soorten of zelfs geslachten (deze zijn conservatief) terwijl andere regio's juist veel verschillen vertonen tussen soorten. Door PCR-primers te gebruiken die op de conservatieve gebieden aanhechten kan in een DNA-monster

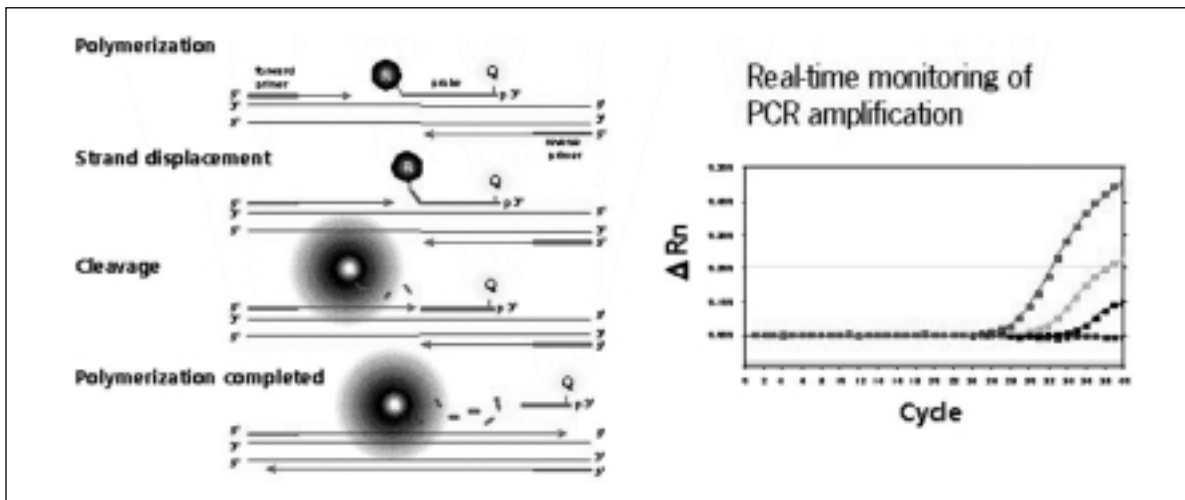
al snel aangetoond worden of het afkomstig is van één of meerdere geslachten aaltjes. ITS-PCR met DNA van het geslacht *Meloidogyne* levert bijvoorbeeld op gel een band op van ongeveer 770 nucleotiden, terwijl deze ITS-PCR met DNA van cystenaaltjes een veel grotere band geeft. Door PCR-primers te gebruiken die op meer variabele sequenties aanhechten kan meer inzicht verkregen worden op soortniveau.

De eerste rDNA PCR technieken om *Meloidogyne*-soorten aan te kunnen tonen betroffen RFLPs van interne "transcribed spacer" (ITS) regio's (Zijlstra *et al.*, 1995). Een aantrekkelijk aspect van deze ITS-PCR-RFLP methode is dat hij een schatting van de soortsaanstelling mogelijk maakt (Zijlstra *et al.*, 1997; Figuur 1). Restrictiepatronen van ITS-PCR producten van mengsels van *M. hapla*, *M. chitwoodi*, *M. fallax* en *M. incognita* detecteerden deze soorten wanneer hun aanwezigheid in het mengsel 5% of meer bedroeg. De verhouding van de intensiteiten van de banden van elk soortspecifiek restrictiepatroon correspondeerde met de verhouding waarin de soorten in het mengsel aanwezig waren. Een tijdsbesparende verbetering

van de ITS-PCR-RFLP methode is verkregen waarbij de soorten kunnen worden onderscheiden op grond van de grootte van hun geamplificeerde fragmenten die verkregen worden in één enkele PCR reactie zonder dat daar nog een digestiestap op hoeft te volgen (Zijlstra, 1997). Deze nieuwe methode is ontwikkeld door ITS-regio's van *M. chitwoodi*, *M. fallax*, *M. hapla* en *M. incognita* te kloneren en te sequencen waarna soortspecifieke "forward" PCR primers werden ontwikkeld. Door deze drie primers in een PCR reactie te combineren met een gemeenschappelijke "reverse" primer kunnen de *Meloidogyne* soorten gedetecteerd worden. Voor het onderscheid tussen *M. fallax* en *M. chitwoodi* is het wel wenselijk om referentie-amplicons van deze soorten op de gel mee te laten lopen aangezien hun fragmentlengtes (517 en 525 nt) niet erg van elkaar verschillen. Andere rDNA-PCR methoden om de soorten *M. hapla*, *M. chitwoodi* en *M. fallax* te onderscheiden zijn gericht op amplificatie van het IGS-gebied (Petersen *et al.*, 1997, Wishart *et al.*, 2002). Onlangs is ook een soortspecifieke ITS-PCR ontwikkeld voor de detectie van *M. naasi* (Zijlstra *et al.*, 2004). ITS-sequentiebepaling is vaak de eerste moleculaire biologische actie die men onderneemt om vast te stellen of een gevonden aaltje zich onderscheidt van al bekende soorten, zoals onlangs bij de beschrijving van de nieuw beschreven soort *Meloidogyne minor* ook gebeurd is (Karssen *et al.*, 2004).

SCARs

Ten einde een methode te ontwikkelen die *M. fallax* en *M. chitwoodi* in één PCR stap duidelijk onderscheidt zonder gebruik te hoeven maken van een referentie-amplicon op gel, zijn PCR-primer-sets ontwikkeld die soortspecifieke "randomly amplified polymorphic DNA" (RAPD) fragmenten amplifi-



Figuur 2. Het principe van TaqMan-PCR. Polymerization en Strand displacement: Een specifieke probe, waaraan een fluorofloor (R) en een “fluorescentiedimmer”(Q) gekoppeld zijn, bindt aan het doel-DNA. Ook de specifieke PCR-primers binden aan het doel-DNA en DNA-Taq-polymerase zorgt voor amplificatie van het doel-DNA. Cleavage: Tijdens de amplificatiestap bereikt het DNA-Taq-polymerase de gebonden specifieke probe, waarbij R losgekoppeld wordt van ‘dimmer’ Q en fluorescent wordt. Polymerization completed: DNA-Taq-polymerase gaat door met amplificatie, waarbij de probe wordt afgebroken. In de grafiek rechts wordt op de verticale as de mate van fluorescentie weergegeven en op de x-as het aantal uitgevoerde PCR-cycli.

ceren (Zijlstra, 2000). Nadat de sequenties bepaald waren van in lengte verschillende soortspecifieke RAPD-fragmenten van *M. hapla*, *M. chitwoodi* en *M. fallax* werden voor amplificatie van elk fragment paren van lange PCR primers ontworpen. Met de resulterende “sequence characterized amplified region” (SCAR) primer paren konden de drie soorten eenvoudig gedetecteerd worden. Op soortgelijke wijze zijn SCAR primer sets ontwikkeld voor de detectie van de warmteminnende *M. incognita*, *M. javanica* en *M. arena-ria* (Zijlstra *et al.*, 2000). Williamson *et al.* (1997) hebben deze benadering ook gebruikt om SCAR primers te ontwikkelen om *M. hapla* en *M. chitwoodi* aan te tonen. Hun *M. chitwoodi* SCAR-primer set bleek echter ook *M. fallax* aan te tonen. Soms kunnen meerdere SCAR-primer sets in één PCR reactie gebruikt worden maar dit gaat vaak ten koste van de gevoeligheid. Door nested PCR toe te passen kan de gevoeligheid vaak erg verbeterd worden, hoewel de kans op de vorming van ongewenste nevenproducten daarbij een negatief aspect is. Nested PCR is een PCR reactie waarbij het PCR product van een er

aan voorafgaande PCR reactie wordt gebruikt als template DNA en waarbij PCR primers worden gebruikt die binnen de uiteinden van de doelsequentie liggen.

Real-time PCR

Bij bovengenoemde PCR-assays was het steeds noodzakelijk om de verkregen DNA amplicons op een ethidiumbromide-bevattende agarosegel te runnen waarna ze onder UV licht gevisualiseerd konden worden. Deze stap kan worden weggelaten bij real-time PCR waarbij de mate van amplificatie tijdens de reactie gemeten wordt middels een fluorescentiemeter. Een vorm van real-time PCR is TaqMan (Figuur 2). Daarbij wordt een zogenaamde TaqMan-probe aan de PCR reactiemix toegevoegd, die door het afgeven van een fluorescerend signaal tijdens de PCR-reactie, detectie tijdens de amplificatie mogelijk maakt. Naast het tijdbesparende aspect is TaqMan gevoeliger en vaak ook specifiekier dan gewone PCR omdat naast specifieke PCR-primers ook nog een specifieke probe gebruikt

wordt. Tevens kan TaqMan gebruikt worden voor kwantitatieve detectie: hoe eerder fluorescentie gemeten wordt, hoe meer te detecteren DNA in de reactie aanwezig was. Voor real-time detectie van *M. chitwoodi* en *M. fallax* is onlangs een TaqMan ontwikkeld. Er zijn aanwijzingen dat deze toets dermate gevoelig en specifiek is dat hij het mogelijk maakt *M. chitwoodi* aan te tonen in aardappelschillen van symptomloze aardappelknollen. De betrouwbaarheid van deze toets wordt gewaarborgd doordat in de reactie een interne amplificatiecontrole wordt meegenomen. Indien geen signalen worden waargenomen van de interne controle kan worden geconcludeerd dat de testcondities niet geschikt waren voor PCR en de testresultaten niet vertrouwd kunnen worden. Dit sluit vals negatieve resultaten uit.

Multiplex detectie

Uit het voorgaande blijkt dat er diverse PCR-methoden zijn om één bepaalde *Meloidogyne*-soort te detecteren. Men spreekt van simplex

ARTIKEL

PCR wanneer met één soort wil aantonen, van multiplex PCR als meerdere soorten worden aange- toond. Voor simplex PCR wordt doorgaans één soortspecifieke pri- merset gebruikt. PCR waarbij meerdere primer-sets gebruikt worden, maakt het soms mogelijk meerdere soorten in een PCR aan te tonen. De eerder genoemde multiplex ITS-PCR maakt het mo- gelijk om in één PCR de soorten *M. hapla*, *M. chitwoodi*, *M. fallax* en de warmteminnende soorten aan te tonen. Ondanks het feit dat er voor *M. naasi* ook specifieke ITS-primers zijn ontwikkeld is het helaas niet mogelijk gebleken deze te integreren in bovengenoemde multiplex-PCR omdat in dat geval *M. naasi* niet meer wordt aange- toond (Zijlstra *et al.*, 2004). Naast de simplex SCAR-PCRs voor *M. chitwoodi*, *M. fallax*, *M. hapla*, *M. incognita*, *M. javanica* en *M. arenaria* is er ook een multiplex SCAR-PCR ontwikkeld voor de eerste drie soorten, terwijl dit niet mogelijk bleek voor de laatste drie soorten. Over het algemeen wordt een PCR minder gevoelig naarma- te er meer primers worden ge- bruikt. Dit is ook duidelijk te zien bij de de multiplex SCAR-PCR voor *M. chitwoodi*, *M. fallax* en *M. hapla*. Detectie van deze soorten is ook gevoeliger wanneer men slechts twee ITS-primers gebruikt dan via multiplex ITS-PCR. De gevoeligheid in detectie bij de TaqMan voor *M. chitwoodi* en *M. fallax* lijkt niet achteruit te gaan wanneer beide soorten in een test worden aangetoond. In dat geval worden namelijk niet meer pri- mers gebruikt maar maakt men gebruik van meerdere probes die de gevoeligheid niet lijken te beïn- vloeden. Daar is de beschikbaar- heid van het aantal geschikte fluo- roforen voor de verschillende probes de limiterende factor voor het aantal te detecteren soorten. ITS-PCR-RFLP is ook een methode waarbij meerdere soorten aange- toond kunnen worden. Deze me- thode is relatief gevoelig omdat ook hier maar slechts twee primers ge-

bruikt worden, maar is wat om- slachtiger omdat de PCR gevolgd moet worden door digestiestappen.

Voordelen van moleculaire detectietechnieken

De kracht van moleculaire detec- tietechnieken ligt in het feit dat de uitkomst ervan voor slechts één uitleg vatbaar is. Waar herkenning op grond van morfologische ken- merken vaak lastig is of wordt beïnvloed door persoonlijke inter- pretatie, is een antwoord op grond van DNA-sequentie eenduidig. Aangezien de DNA-samenstelling in iedere cel van het te bestuderen organisme onder alle normale om- standigheden hetzelfde is maakt het voor moleculaire detectie niet uit welk ontwikkelingsstadium be- keken wordt. De uitslag zal het- zelfde zijn, of je nu naar een ei kijkt of naar een wijfje. Hierdoor zijn moleculaire detectietoetsen relatief snel. Daarnaast is bekend dat de reproduceerbaarheid van specifieke PCR experimenten groot is tussen en binnen labs. In een groot experiment binnen een EU project was de uitslag van SCAR-PCRs en rDNA-PCRs voor detectie van *M. chitwoodi*, *M. fal- lax* en *M. hapla* hetzelfde bij de verschillende deelnemende Euro- pese labs. De PCR-protocollen zijn zeer toegankelijk en eenvoudig aan te leren door geschoold perso- neel en vereisen niet de vaak in ve- le jaren opgebouwde nematologi- sche expertise die nodig is om op grond van morfologische en morf- ometrische analyses soorten vast te kunnen stellen. Het feit dat PCR het mogelijk maakt minuscule hoeveelheden DNA aan te tonen maken de beschreven PCR-tech- nieken ook buitengewoon gevoe- lig. Bijkomend voordeel is dat het voor veel moleculaire detectie- technieken niet nodig is om de ne- matoden te extraheren uit het sub- straat waarin ze zich bevinden. Zo lang men maar over specifieke se- quenties van het te detecteren aal-

tje beschikt kan men de aanwezig- heid daarvan aantonen in DNA af- komstig van geïnfecteerde grond, plantmateriaal, water, etc. Door het gebruik van de juiste PCR-pri- mer-sets is het ook zeer eenvoudig om aan te tonen welke wortel- knobbelaaltjesoorten zich bevin- den in een mengsel. Doordat grote hoeveelheden aaltjes in één keer bekeken kunnen worden komt hierbij met name de snelheid van de moleculaire detectietoetsen tot uiting. Voor onderzoeksdoelein- den is het vaak van cruciaal belang dat de nematodenpopulaties waarmee gewerkt wordt uit slechts één soort bestaan. Uitkomsten van virulentietoetsen kunnen mislei- dend zijn wanneer de getoetste populaties uit mengsels van aviru- lente en virulente aaltjes bestaan. Evenzeer zullen fingerprint-pat- ronnen van bijvoorbeeld RAPD-PCR of AFLP-technieken tot verkeerde gevolgtrekkingen leiden wanneer ze met DNA uitgevoerd worden af- komstig van mengpopulaties. Voor dergelijk onderzoek is het dus be- langrijk dat via DNA-technieken eenvoudig vastgesteld kan worden of een populatie geschikt is voor onderzoek of dat deze gecontami- neerd is met andere aaltjessoor- ten.

Criteria voor keuze van moleculaire detectietechniek

De keuze uit beschikbare technie- ken voor detectie van *Meloidogyne*-soorten is enorm. Welke techniek voor een bepaalde vraagstelling het meest geschikt is hangt af van een aantal factoren, zoals beschikbaarheid van het ty- pe materiaal. Bepalend daarbij is vaak hoe schoon het eruit verkre- gen DNA is en van hoeveel ver- schillende organismen het DNA afkomstig is. Een aaltjessuspensie van een schone kweek van wortel- knobbelaaltjes zal bijna uitslui- tend wortelknobbelaaltjes-DNA

Tabel 1. Overzicht van hoe de verschillende technieken zich tot elkaar verhouden ten aanzien van een aantal factoren. Verklaring tekens: <: minder dan, <<: veel minder dan, J2: juveniel aaltje, h: *M. hapla*, c: *M. chitwoodi*, f: *M. fallax*, w: warmteminnende *Meloidogyne* soorten, n: *M. naasi*, a: *M. arenaria*, j: *M. javanica*, i: *M. incognita*. Naarmate er meer plusjes staan is de test sneller, cq. specifiek.

Vergelijking van beschikbare moleculaire technieken voor de detectie van <i>Meloidogyne</i> -soorten	Detectiegrens simplex PCR	Soorten in simplex PCR	Soorten in multiplex PCR	Bepaling soortsratio	Snelheid test	Investeringskosten	Kwantificering mogelijk	Kans op vals-positieven	Specificiteit bij toepassing in grondmonsters
Methode:									
satDNA blot	1 wijfje	h, c/f	-	nee	+	laag	nee	laag	++
ITS-PCR op geslachtsnivo	< 1 J2	genus	genera	nee	++	matig	nee	laag	++
ITS-PCR-RFLP	< 1 J2	c, f, h, w	c, f, h, w	ja	+	matig	nee	laag	+
ITS-PCR (Zijlstra, 1997)	< 1 J2	c, f, h, w	c, f, h, w	ja	++	matig	nee	laag	+
ITS-PCR (Zijlstra et al., 2004)	< 1 J2	n	-	nvt	++	matig	nee	laag	+
IGS-PCR (Petersen et al., 1997)	< 1 J2	c, f	c, f	nee	++	matig	nee	laag	+
IGS-PCR (Wishart et al., 2002)	< 1 J2	c, f, h	c, f, h	nee	++	matig	nee	laag	+
SCAR-PCR (Zijlstra, 2000)	1 J2	c, f, h	c, f, h	nee	++	matig	nee	laag	+
Nested SCAR-PCR (Zijlstra, 2000)	<< 1 J2	c, f, h	c, f, h	nee	+	matig	nee	hoog	+
SCAR-PCR (Zijlstra et al., 2000)	1-5 J2	a, j, i	-	nee	++	matig	nee	laag	+
Nested SCAR-PCR (Zijlstra e.a., 2000)	<< 1 J2	a, j, i	-	nee	+	matig	nee	hoog	+
TaqMan (Zijlstra, in onderzoek)	< 1 J2	c, f	c, f	ja	+++	hoog	ja	laag	++

opleveren terwijl DNA geïsoleerd uit met wortelknobbelaaltjes besmette aardappelschillen voornamelijk aardappel-DNA zal bevatten met slechts een fractie wortelknobbelaaltjes-DNA. Voor de soortdeterminatie van de aaltjes-suspensie volstaat een eenvoudige PCR zoals de SCAR-PCR terwijl voor de soortdeterminatie van de wortelknobbelaaltjessoort in de aardappelschil een zeer gevoelige detectiemethode moet worden ingezet zoals TaqMan of nested PCR. DNA afkomstig van nematoden bevattende grondmonsters bevat vaak vele verschillende organismen waardoor de detectietechniek vooral specifiek moet zijn. Het komt wel eens voor dat experimenten met SCAR-PCR of rDNA PCR met dergelijke DNA-monsters meer fragmenten amplificeren dan die waar je naar op zoek bent. Soms kan dat de interpretatie van de resultaten bemoeilijken. TaqMan kan in een dergelijk geval een uitkomst zijn: naast specifieke primers is die reactie extra specifiek door het gebruik van een specifieke

ke probe. Soms bevat DNA afkomstig van lastige substraten zoals grond, oud plantmateriaal, verrotte wortels veel PCR-remmende stoffen. In een dergelijk geval is het zinvol om een extra gevoelige PCR-methode te gebruiken of, indien er voldoende wortelknobbelaaltjesmateriaal in aanwezig is een blotting-techniek. Diagnostische labs kunnen overwegen een combinatie van methoden in te zetten. Allereerst zou van een aaltjes-suspensie kunnen worden vastgesteld welke geslachten aaltjes er in aanwezig zijn door middel van een ITS-PCR op geslachtsniveau. Afhankelijk van die uitkomst kan vervolgens een keuze gemaakt worden welke soorten gedetecteerd gaan worden middels meer specifieke PCR-assays. De keuze van te gebruiken technieken hangt natuurlijk ook af van de apparatuur die men ter beschikking heeft. Voor een kwantitatieve TaqMan is een relatief duur apparaat nodig, terwijl voor een kwalitatieve TaqMan een eenvoudige PCR-machine en een fluores-

centimeter volstaan. PCR-machines zijn er in soorten en maten. Doorgaans worden ze in laboratoria gebruikt, maar sommige draagbare versies kunnen ook "on site" in het veld gebruikt worden. Indien men de behoefte heeft te kwantificeren zal men zich al gauw tot real-time PCR moeten wenden. Kwantificering van hoeveelheid geproduceerd PCR product op gel levert meestal geen betrouwbaar resultaat, evenmin als eindmetingen van fluorescentie van TaqMan. Voor het aantonen van meerdere *Meloidogyne*-soorten kan men gebruik maken van multiplex-PCR, ITS-PCR-RFLP of TaqMan. *M. chitwoodi*, *M. fallax* en *M. hapla* kunnen via ITS-PCR-RFLP, multiplex SCAR-PCR of multiplex ITS-PCR worden aangetoond. Men moet zich daarbij wel realiseren dat de gevoeligheid van multiplex-PCR lager is dan van simplex-PCR. Wanneer het nodig is te weten wat de verhoudingen zijn waarin *M. chitwoodi*, *M. fallax*, *M. hapla* en de warmteminnende soorten in mengsels voorkomen kan men het

ARTIKEL

beste een ITS-PCR-RFLP uitvoeren of multiplex ITS-PCR. De soorten *M. fallax* en *M. chitwoodi* kunnen eveneens samen worden aange- toond in een TaqMan. Dit is even- eens de snelste methode die mo- menteel beschikbaar is om deze soorten aan te tonen terwijl deze ook het meest geschikt is voor het testen van grote aantallen mon- sters. Deze TaqMan is derhalve ook een uitermate geschikte optie voor het snel, betrouwbaar en grootschalig toetsen van pootgoed

op de aanwezigheid van de quar- antaine-organismen *M. chitwoodi* en *M. fallax*. Tabel 1 geeft een be- knopt overzicht van hoe de ver- schillende technieken zich tot el- kaar verhouden ten aanzien van een aantal factoren.

Conclusie

De opmars van nieuwe moleculai- re technieken voor detectie van

Meloidogyne soorten laat zien dat ze vele voordelen bieden boven de conventionele methoden. Ze zijn betrouwbaar, gevoelig, relatief snel, gemakkelijk uitvoerbaar en vereisen geen uitgebreide nemato- logische expertise. De toepassings- mogelijkheden zijn zeer divers. Ze zullen bijdragen aan beter nema- tologisch onderzoek en bieden perspectief voor routinematige toepassingen in de praktijk.

Literatuurlijst op www.knpv.org

ARTIKEL

Lidmaatschap van de KNPV

Het lidmaatschap biedt u:

- Vrije deelname aan de gewasbeschermingsdagen
- Gratis abonnement op 'Gewasbescherming'
- Deelname aan de algemene ledenvergaderingen met stemrecht; statuten worden op verzoek toegezonden
- Mogelijkheid van een collectief abonnement (tegen gereduceerd tarief) op het European Journal of Plant Protection

Het lidmaatschap loopt van 1 januari tot en met 31 december. Bij tussentijdse toetreding is een evenredig ge- deelte van de contributie verschuldigd.

Opzeggen van het lidmaatschap dient voor 1 december schriftelijk te geschieden.

Aanmeldingen:

Mevr. M. Roseboom

Adm. Koninklijke Nederlandse Plantenziektkundige Vereniging,

Postbus 31,

6700 AA Wageningen

E-mail: m.roseboom2@chello.nl

Het secretariaat van de KNPV is telefonisch bereikbaar op 0317-483654

Als nieuw lid ontvangt u als welkomstgeschenk de 'Lijst van Gewasbeschermingskundige Termen' (verkoop- prijs € 12,50). Na acceptatie door het bestuur volgt een acceptgiro



of copie

Ondergetekende meldt zich aan als:

	Nederland/België	Overige landen
<input type="checkbox"/> Gewoon lid van de KNPV	€ 25,-	€ 35,-
<input type="checkbox"/> Gewoon lid van de KNPV inclusief een abonnement op het EJPP	€ 146,-	€ 156,-
<input type="checkbox"/> Lid-donateur van de KNPV	€ 65,-	

Naam : _____

Straat : _____

Postcode : _____ Plaats : _____

Land : _____

Datum : _____ Handtekening : _____

Het wonder van de wortelknobbelaaltjes:

de unieke moleculaire interacties tussen een obligate parasiet en haar waardplanten

Erwin Roze¹, Justyna Jupovicz², Aska Goverse¹, Hans Helder¹, Jaap Bakker¹ en Geert Smant¹

¹ Laboratorium voor Nematologie, Wageningen Universiteit, Postbus 8123, 6700 ES Wageningen;

² Department of Botany, Warsaw Agricultural University, Nowoursynowska 159, Building 37, 02776 Warsaw, Poland

Inleiding

Wortelknobbelaaltjes (*Meloidogyne* spp.) behoren tot de meest geavanceerde parasieten onder de ziekteverwekkers van planten. Ze onderscheiden zich van veel obligaat biotrofe pathogenen door hun brede waardplantenreeks. Sommige wortelknobbelaaltjes (bijv. *M. chitwoodi*) parasiteren zelfs honderden verschillende plantensoorten, zowel monocotylen als dicotylen. Veel van deze polyfage wortelknobbelaaltjes zijn ware kosmopolieten en alle belangrijke voedselgewassen in de wereld worden bedreigd door wortelknobbelaaltjes (Williamson en Hussey, 1996). Doordat wortelknobbelaaltjes obligaat biotroof zijn is het, net als in moderne oorslogsvoering, van levensbelang zo lang mogelijk de afweerreacties van de vijand (in dit geval de waardplant) te omzeilen. Het zijn dan ook unieke dieren die uitblinken in veelzijdigheid en die zich op uitzonderlijke wijze hebben aangepast aan een lang leven in de waardplant. In de eerste plaats onderscheiden wortelknobbelaaltjes zich van veel andere nematoden door hun vermogen om vrijwel onopgemerkt over relatief lange afstanden door de weefsels van hun waardplanten te kruipen. Eenmaal gevestigd in het wortelstelsel onttrekken ze vervolgens gedurende enkele weken voedingsstoffen aan de plant via speciaal daarvoor aangelegde voe-

dingsstructuren – de reuzecellen. Ten slotte kunnen ze zich, al naar gelang de omstandigheden dat vereisen, op allerlei manieren voortplanten: geslachtelijk (amphimixis), ongeslachtelijk (mitotische of meiotische parthenogenese) of combinaties van diverse vormen van voorplanting (facultatief meiotische parthenogenese). De laatste jaren zijn door de toepassing van moleculaire technieken een aantal bijzondere ontdekkingen gedaan die betrekking hebben op deze aanpassingen. In dit artikel zullen we zoveel als mogelijk is binnen de gegeven ruimte ingaan op deze ontwikkelingen met een nadruk op de genen, die direct betrokken zijn bij de parasitaire levensstijl van de nematode.

De parasitaire cyclus van wortelknobbelaaltjes bestaat globaal uit twee fasen: de migratiefase en de voedingsfase. Tijdens de migratiefase bewegen de nematoden door de rhizosfeer en vervolgens door weefsels van de waardplant zelf op zoek naar een plek in de wortel om een reuzecel te vormen. De voedingsfase begint op het moment dat een geschikte plantencel door de nematode wordt omgevormd tot een reuzecel en de nematode zijn lichaamswandspieren, en daarmee het vermogen om verder te migreren, afbreekt. Deze twee fasen zijn gebruikt als indeling voor dit artikel waarbij telkens is toegelicht

op welke wijze genen in de nematode en in de waardplant een rol spelen.

De migratiefase

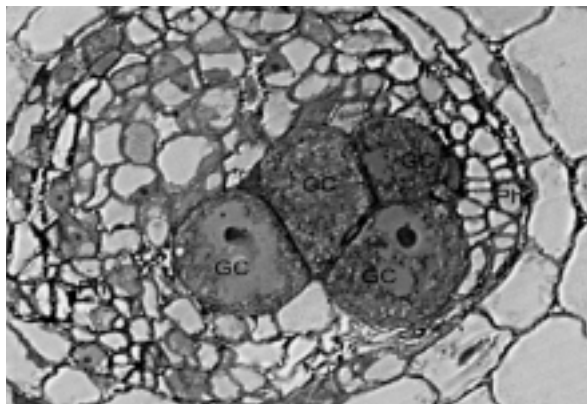
De migratiefase begint op het moment dat het tweede juveniele stadium uit het ei komt en, aangehouden door geur- en smaakstoffen die uit de wortels van waardplanten lekken, op zoek gaat naar een vitale waardplant. Na een korte reis door de rhizosfeer, penetreren deze juvenielen vervolgens de epidermis van een wortel ter hoogte van de strekkingszone (Wyss, 2002). Deze penetratie gebeurt door met een uitgesproken fanatisme met de mondstekel (stylet) een bres te slaan in de uitwendig celwanden precies op het grensvlak van twee epidermiscellen. De mondstekel wordt hierbij via een geleidering ongeveer 150 keer per minuut krachtig uit de mondholte gedreven. Via de epidermis migreert de nematode intercellulair, dat wil zeggen tussen de cellen door, door de cortex in de richting van de worteltop. In het wortelmeristeem maakt de nematode een U-bocht om de centrale cilinder binnen te gaan. Eenmaal in de centrale cilinder, migreert de nematode basipetaal door de centrale cilinder tot het een competente plantencel vindt die kan worden omgevormd tot een reuzecel. Bij-

ARTIKEL

zonder aan deze intercellulaire migratie van wortelknobbelaaltjes is dat het geen waarneembare schade tot gevolg heeft voor de cellen waarlangs de nematode glijdt. Vastbesloten, maar subtiel, beweegt het aaltje zich door de wortel. De middenlamel tussen de celwanden van naburige cellen wordt losgemaakt door pulsaties van de mondstekel, waarna de cellen uit elkaar worden geduwd om te kunnen passeren. Dit in tegenstelling tot veel andere nematoden, zoals de wortellesieaaltjes, die zich schijnbaar niet om de schade die migratie veroorzaakt bekommeren, maar dwars door celwanden en cellen heengaan, waarbij ze een spoor van vernielingen achterlaten.

Celwanden ontstaan uit polymeren van koolhydraten, eiwitten, en aromatische verbindingen (Carpita en Gibeaut, 1993). Deze polymeren zijn georganiseerd als een cellulose/hemicellulose netwerk dat is ingebed in een matrix van pectine. De exacte polymeersamenstelling van een celwand varieert per plantensoort, weefsel, en ontwikkelingsstadium van een cel. Lange tijd werd gedacht dat uitsluitend de gerichte inslagen van de mondstekel op de middenlamel in de celwanden de intercellulaire migratie van wortelknobbelaaltjes mogelijk maakten. Uit onderzoek van de laatste vijf jaar blijkt echter dat wortelknobbelaaltjes beschikken over een uitgebreid arsenaal aan celwand-afbrekende enzymen en andere celwand-modificerende eiwitten. Ze scheiden via hun mondstekel diverse varianten van cellulase (Rosso *et al.*, 1999), xylanase (Dautova *et al.*, 2001), pectaat lyase (Doyle en Lambert, 2002), en polygalacturonase (Jaubert *et al.*, 2002) uit, die gezamenlijk de afbraak van alle bekende polymeren in de celwand van planten katalyseren. De intercellulaire migratie van wortelknobbelaaltjes is dientengevolge het resultaat van de fysieke slagkracht van de mondstekel gecom-

Figuur 1. Lichtmicroscopische opname van een dwarsdoorsnede van de wortel een aardappel geïnfecteerd met Meloidogyne chitwoodi achttien dagen na infectie (Ph=floem; Pd=; GC= reuzecel).



bineerd met de enzymatische bewerking van de celwand door het complexe mengsel van uitgescheiden enzymen.

Celwandafbraak door nematoden is om drie redenen een opmerkelijk proces. Ten eerste bestond er tot voor kort in de biologie het dogma dat dieren niet zonder de hulp van endosymbiotische bacteriën en schimmels celwanden kunnen afbreken. Met de vondst van celwandafbrekende enzymen in nematoden bleek voor het eerst dat dit standpunt onjuist was. Nematoden hebben zelf genen die coderen voor deze enzymen, en zijn hiervoor niet afhankelijk van endosymbionten in het spijsverteringskanaal. Het tweede opmerkelijke feit bij de celwandafbrekende enzymen van nematoden is de overeenkomst die ze vertonen met bacteriële enzymen. Bij sommige klassen van celwandafbrekende enzymen (bijv. xylanase) is er duidelijk onderscheid tussen prokaryotische (bacteriële) en eukaryotische (schimmels en planten) varianten. Nematoden zijn als eukaryoten meer verwant met schimmels en planten dan met bacteriën, maar niettemin lijken de enzymen van nematoden het meest op de prokaryotische varianten. Dit heeft geleid tot de hypothese dat een verre voorouder van de huidige wortelknobbelaaltjes dit soort genen van bacteriën heeft verkregen via horizontale genoverdracht. Tot slot produceren wortelknobbelaaltjes naast 'klassieke' celwandafbrekende enzymen ook zogenaamde expansi-

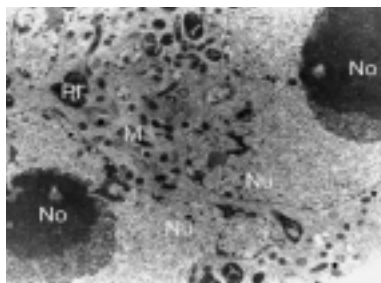
nes (Pers. Commun., E. Roze), die volgens een nog onbekend mechanisme de niet-covalente interacties tussen celwandpolymeren verstoren. Expansines zijn beschreven als een unieke groep van celwandmodificerende eiwitten die uitsluitend in het plantenrijk voor zouden komen (Cosgrove, 2000). Met de vondst van expansines in cysten- en wortelknobbelaaltjes, dus buiten het plantenrijk, zorgden de nematoden nogmaals voor een verrassing onder plantenwetenschappers (Qin *et al.*, 2004).

De voedingsfase

Wortelknobbelaaltjes voeden zich uitsluitend aan planten via reuzencellen. De nematoden induceren de vorming van reuzencellen door stoffen te injecteren in competente parenchymatische cellen in de vaatbundel van een waardplant (Wyss, 2002). Een van de eerst meetbare veranderingen in de reuzencel is de reactivering van de mitotische celcyclus – een serie van subcellulaire voorbereidingen op een celdeling (Gheysen en Fenoll, 2002). Bij reuzencellen verlopen deze voorbereidingen, inclusief het verdubbelen van de chromosomen, tot en met de kerndeling. Kort voordat de cel dan zou overgaan tot het splitsen in twee dochtercellen volgt een kortsluiting en begint de cel zich opnieuw voor te bereiden op een celdeling. Het resultaat een serie kerndelingen zonder dat de cel splitst is een meerkernig cytoplas-

ma. Omdat het aantal chromosomen in een reuzencel exponentieel toeneemt en de rest van subcellulaire machinerie zich navenant uitbreidt ontstaat het karakteristieke uiterlijk van een reuzencel. Onder de invloed van wortelknobbelaaltjes krijgen reuzecellen een vergelijkbare fysiologische status in de plant als die van andere metabolische sinks zoals het endosperm van zaden (Grundler en Bockenhoff, 1997). Assimilaten van de fotosynthese worden vanuit de bovengrondse delen actief naar de reuzencellen getransporteerd. De wortelknobbelaaltjes voeden zich gedurende enkele weken aan het cytoplasma van zes tot twaalf reuzencellen, die rondom de kop zijn aangelegd, alvorens ze tot reproductie overgaan.

Uit het moleculair onderzoek van de afgelopen jaren blijkt dat de expressiepatronen van tientallen genen in de waardplant veranderen tijdens de vorming van de reuzencellen (voor een gedetailleerd overzicht, zie Gheysen en Fenoll, 2002; De Almeida-Engler *et al.*, 2004). De expressieniveaus van bijvoorbeeld meer dan vijftig celcyclus-genen nemen toe bij reuzencel vorming. Het gebruik van specifieke remmers van de celcyclus heeft aangetoond dat dit een essentieel onderdeel is bij de transformatie van een gewone cel naar een reuzencel (De Almeida-Engler *et al.*, 1999). Daarnaast lijkt een scala aan andere metabolische en moleculaire processen betrokken bij de inductie van reuzencellen. Zo zijn er wond-, stress- en afweerreacties, modificaties van celwanden, regulatie van transcriptie en auxine-responsen. Het is vooralsnog niet duidelijk welke van deze processen essentiële stappen vertegenwoordigen in het ontstaan van reuzencellen en wat gezien moet worden als een neveneffect. Het onderzoek richt zich momenteel op het vaststellen van oorzakelijke verbanden tussen



Figuur 2. Detailopname met behulp van een transmissie elektronenmicroscop van het meerkernig cytoplasma van een reuzencel van M. chitwoodi in aardappel achttien dagen na infectie (Gc= reuzencel; M= mitochondria; Pl= plastiden; Nu= nucleus; No= nucleolus).

genexpressiepatronen en de fundamentele metabolische processen die ten grondslag liggen aan reuzencelvorming, bijvoorbeeld via het silencen van genen. Aanvankelijk veronderstelde men dat wortelknobbelaaltjes hooguit enkele stoffen in de voorlopercel van de reuzencel zouden injecteren om het proces op gang te brengen. De verwachting was dan ook dat sterke aanwijzingen voor het belang van individuele moleculaire processen in de waardplant bij de vorming van reuzencellen zouden kunnen komen uit het onderzoek naar de identiteit van de stoffen die door wortelknobbelaaltjes in de plant worden gespoten (Williamson en Hussey, 1996). Echter, door de toepassing van een reeks complementaire onderzoeksmethoden zijn inmiddels al meer dan vijftig verschillende genen geïdentificeerd waarvan het vermoeden bestaat dat ze voor eiwitten coderen die vanuit de slokdarmklieren via de mondstekel worden uitgescheiden in de plant (Smant *et al.*, 2003; Davis *et al.*, 2004). De DNA sequenties van deze genen kunnen na identificatie van homologe sequenties in andere organismen informatie opleveren over de functie die ze zouden kunnen hebben in de plant. Opmerkelijk genoeg heeft meer dan 70% van deze genen in wortelknobbelaaltjes geen

significante overeenkomsten met andere al gekarakteriseerde genen in databases (Huang *et al.*, 2003; Davis *et al.*, 2004). Enerzijds geeft dit aan hoe uniek wortelknobbelaaltjes zijn, maar anderzijds bemoeilijkt dit gebrek aan aanwijzingen de functionele analyse van deze genen aanzienlijk. De grote diversiteit in de overige genen die wel kunnen worden geclassificeerd op basis van sequentie-homologie versterkt het beeld dat meerdere moleculaire, en dus metabolische, processen in de plant gelijktijdig beïnvloed worden door de nematoden. Ook hier zal een case-to-case benadering met betrekking tot het relatieve belang van de individuele stoffen in de secreties van nematoden moeten uitwijzen welke processen essentieel zijn bij de inductie van reuzencelvorming, en welke bijvoorbeeld van belang zijn bij het onderdrukken van afweerreacties.

Tot slot

De belangrijkste ontwikkeling in de kennis van het parasitisme van wortelknobbelaaltjes in de laatste jaren is dat de complexiteit van de moleculaire interacties al onze voorstellingen uit het verleden overstijgt. Een veelvoud van processen in de plant worden door wortelknobbelaaltjes gemanipuleerd, waarbij ze gebruik maken van een zeer uitgebreid arsenaal aan moleculaire werktuigen. Wortelknobbelaaltjes zijn ook uniek, omdat deze complexiteit niet het resultaat is van co-evolutie tussen één enkele gastheer zijn parasiet, zoals bij specialisten als de cystenaaltjes het geval is, maar dat de polyfage parasiet dit wonder kan laten voltrekken in honderden verschillende niet-verwante gastheren.

Literatuurlijst op www.knpv.org

Resistentie tegen *Meloidogyne*; van mechanismen tot management

Frans Zoon, Leo Poleij (PRI) en Gerard Korthals (PPO-AGV)

Omdat *Meloidogyne*-soorten in tegenstelling tot veel cystenaaltjes meestal polyfage planteneters zijn, is resistentie niet alleen in gevoelige hoofdgewassen wenselijk, maar ook in voorvruchten in de rotatie. Groenbemesters die vrijwel resistent zijn tegen *M. chitwoodi* en *M. fallax* zijn ontwikkeld. Het inzetten van verschillende resistenties in opvolgende gewassen is bevorderlijk voor de duurzaamheid van resistenties tegen *Meloidogyne*.

In de nematologie is gewasresistentie gedefinieerd als het belemmeren van vermeerdering, met als gevolg een lagere verhouding tussen eindpopulatie en beginpopulatie (Pf/Pi). Voor bepaling van de relatieve vatbaarheid, ofwel partiële resistentie, wordt dit vergeleken met een vatbare referentie. Bij volledige resistentie is de Pf/Pi < 1. Partieel resistente gewassen kunnen enige vermeerdering geven. Ondanks deze mooie definities wordt bij het beoordelen van resistentie tegen *Meloidogyne* maar zelden de ratio Pf/Pi bepaald. Bij massa-screening wordt om praktische redenen vaak volstaan met het scoren van een wortelknobbel-index (Hussey & Janssen, 2002) of telling van eiproppen. Het laatste is een goede afspiegeling van succesvolle ontwikkeling van juveniel tot reproducerend vijfje en is doorgaans redelijk gecorreleerd met de eiproductie. De vorming van knobbels is echter een neven-effect van infectie zonder noodzakelijk verband met reproductie. Bij boon is aangetoond dat knobbelvorming en reproductie genetisch onafhankelijk gereguleerd zijn

(Roberts & Matthews, 2004). Alleen bij sterk galvormende interacties waarbij resistentie in een zeer vroeg stadium ingrijpt (bijvoorbeeld het Mi-1 gen tegen *M. incognita* in tomaat, zie onder), is een verband tussen knobbelvorming en reproductie te verwachten.

Resistentiemechanismen kunnen ingrijpen in verschillende fasen van de infectiecyclus van *Meloidogyne* spp. (zie artikel over de levenscyclus in dit nummer).

Repellentie of verminderde aantrekking kan leiden tot minder wortelpenetratie door de juvenielen. Een voorbeeld hiervan is de uitscheiding van bitterstoffen door sommige Cucurbitaceae.

Penetratie en migratie door de wortel kunnen worden belemmerd door een overgevoeligheidsreactie (HR) van de plant, waardoor aaltjes worden gevangen in necrotisch weefsel, of door het niet functioneren van de celwandsplitsende trukendoos van de aaltjes (zie Smant *et al.* in dit nummer). Ook kan het wortelweefsel min of meer toxisch zijn voor de aaltjes.

De vorming en het functioneren van de voedingscellen kan worden verstoord door verschillende oorzaken, zoals verkeerde locatie van voedingscel-inductie of een late overgevoeligheidsreactie. Dit kan vroeg of laat in de cyclus optreden. Daardoor kunnen *Meloidogyne* juvenielen zich minder goed ontwikkelen tot vijfjes, of kunnen vijfjes minder eieren produceren. Als de voedingscellen al in een vroeg stadium niet goed functioneren kan een vrouwelijk juveniel zich tot

–vaak nutteloos- mannetje gaan ontwikkelen.

Het Mi resistentiegen in tomaat

Vanuit een wilde tomaat (*Lycopersicon peruvianum*) is het zogenaamde Mi-gen geïntroduceerd in de meeste gecultiveerde tomatenvariëteiten. Omdat later nog andere resistentiegenen en homologen in tomaat zijn gevonden spreken we meer exact over Mi-1.2. als het eerste onderzochte gen. Dit gen geeft resistentie tegen de warmteminnende soorten *M. incognita*, *M. javanica* en *M. arenaria* en blijkt ook bladluizen en witte vlieg te onderdrukken. Het gen is verantwoordelijk voor een vroege overgevoeligheidsreactie, waarbij algemeen voorkomende afweermechanismen met o.a. salicylzuur en reactieve zuurstofverbindingen een rol spelen (Williamson & Hwang, 2004).

Het opmerkelijke is dat dit resistentiegen al zo'n vijftig jaar meegaat, terwijl er in veel populaties van *M. incognita* en vergelijkbare soorten, die zich via mitotische parthenogenese vermeerderen, toch 'doorbrekende' genotypen voorkomen (Roberts *et al.*, 1990). Vermoedelijk leiden toevallige mutaties in deze genetisch vrij stabiele soorten in een fractie van de gevallen tot avirulentie, maar kan deze niet dominant worden in de populatie. Waar zou de duurzaamheid van deze resistentie aan te danken zijn? Er zijn aanwijzingen dat doorbrekende aaltjesgenoty-

Aaltjes isolaat	ITALIAANS RAAIGRAS-lijnen						Gem.
	B74	B100	B97	B111	B105	B103	
C1	49	7	111	65	2	2	39.3
C3	75	71	3	10	2	1	26.9
C2	8	15	54	34	17	0	21.2
C4	34	57	0	0	0	0	15.1
C7	42	14	1	0	1	0	9.6
C8	37	16	2	0	0	0	9.1
C6	29	2	13	6	3	0	8.8
C9	25	23	1	0	0	0	8.1
C10	19	15	1	2	0	0	6.3
Gem.	35.2	24.3	20.6	12.9	2.8	0.4	16.1

Figuur 1. Verschil in resistentieniveau tussen klonen uit een cultivar van Italiaans raaigras (% eiproptoefoegde J2, t.o.v. tomaat) getest tegen een serie *M.chitwoodi* (C) en *M.fallax* (F) isolaten.

pen minder nakomelingen produceren en dus minder 'fit' zijn (Molinari & Caradonna, 2003) waardoor geen hoge dichtheden van virulente genotypen ontstaan. Het niet-virulente 'wildtype' is dan op elke niet-Mi-resistente plant in de rotatie in het voordeel en kan daardoor weer de overhand krijgen, terwijl de virulente mutant in lage frequentie aanwezig blijft.

Resistentie tegen *M.chitwoodi* en *M.fallax*

Er wordt veel moeite gedaan om resistenties tegen deze soorten vanuit wilde *Solanum*-soorten in de cultuuraardappel te krijgen. Daarnaast is in het EU-DREAM project ook gewerkt aan resistentie in groenbemesters. Zijn bij aardappel tot nu toe vooral enkelvoudige dominante genen in het spel (R. Janssen, in dit nummer), bij bladrammenas (*Raphanus sativus*) en Italiaans raaigras (*Lolium multiflorum*) gaat het om een groter aantal genen en vanwege het uitkruisend karakter van deze gewassen om meer variatie binnen een variëteit. Binnen genoemde groenbemes-

ters werd een relatieve vatbaarheid tot slechts 1-4 % van vatbare tomaat gevonden. Tussen ongeseelde klonen uit dezelfde populatie van Italiaans raaigras werd een factor 100 in vatbaarheid waargenomen (fig 1). Overigens was de resistentie tegen *M. chitwoodi* bij Italiaans raaigras niet sterk gecorreleerd aan resistentie tegen *M. fallax*. Bij zes primair geselecteerde bladrammenaslijnen werd in alle interacties met *M. chitwoodi* isolaten een fractie van 25-100% van de acht herhalingen gevonden die geen reproductie van de aaltjes te zien gaf (fig. 2). Dit alles geeft aan dat resistentie tegen *M. chit-*

woodi en *M. fallax* goed selecteerbaar is in beide groenbemestingsgewassen, maar dat door het polygene karakter ervan en het noodzakelijkerwijs kruisen tussen resistente selecties uit verschillende lijnen slechts stapsgewijs verbetering geboekt kan worden. De eerste meer resistente rassen van bladrammenas uit het DREAM-onderzoek komen inmiddels op de markt.

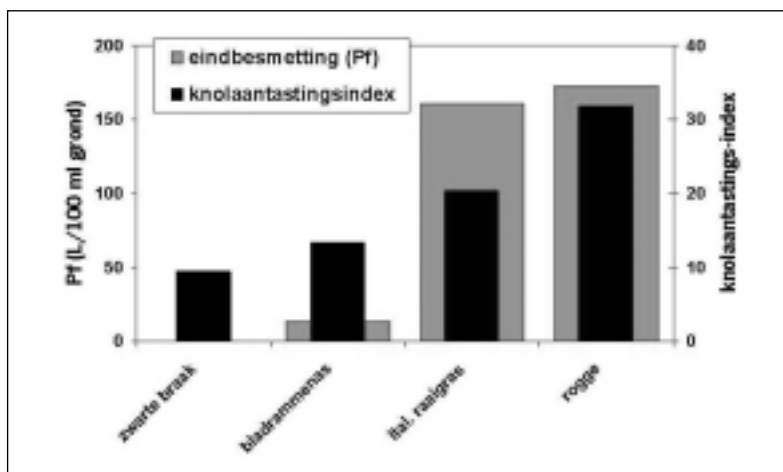
Evaluatie van resistentie in het veld

Voorgeselcteerde lijnen van bladrammenas en enkele ongeseelde variëteiten van Italiaans raaigras werden net als selecties van wilde *Solanum*-soorten en enkele referenties op besmette percelen geteeld. Hierbij werd bij een vrij hoge Pi na een heel groeiseizoen de maximale dichtheid per gewas bepaald. De populaties na afloop gaven een duidelijk beeld van het effect van de teelt van relatief resistente gewassen op de nagelaten aaltjespopulatie (fig. 3) en schade in een vatbaar volgengewas aardappel. Om populatieafname te bewerkstelligen is een zeer lage relatieve vatbaarheid in een gewas nodig.

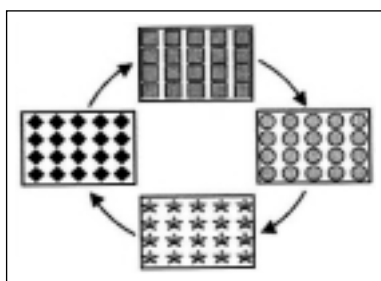
isolaat	Bladrammenas populaties						Tom. MM	Gem. excl tom
	F	D	C	A	B	E		
Ck	50.0	37.5	82.5	50.0	50.0	25.0	100.0	45.8
Cba	25.0	50.0	37.5	50.0	25.0	37.5	100.0	37.5
Fb	57.1	50.0	25.0	50.0	25.0	12.5	100.0	36.6
Cch	12.5	37.5	25.0	37.5	50.0	12.5	100.0	29.2
Cbn	25.0	25.0	50.0	25.0	28.6	0.0	100.0	25.6
Ccj	37.5	25.0	37.5	37.5	14.3	0.0	100.0	25.3
Fh	75.0	14.3	25.0	25.0	0.0	12.5	100.0	25.3
Cz	25.0	25.0	25.0	12.5	0.0	12.5	100.0	16.7
Cbd	25.0	50.0	25.0	0.0	0.0	28.6	100.0	21.4
Gem.	36.9	34.9	34.7	31.9	21.4	15.7	100.0	29.3

Figuur 2. Incidentie van aantasting door *M. chitwoodi* bij voorgeselcteerde bladrammenaslijnen (% aangetaste planten van acht herhalingen).

ARTIKEL



Figuur 3. Eindbesmetting van *M. chitwoodi* na de teelt van groenbemesters en het nivo van knolsymptomen in het volggewas aardappel cv Asterix.



Figuur 4. Duurzame rotatie van resistentiegenen.

Een relatieve vatbaarheid t.o.v. tomaten lager dan 4% lijkt voldoende om de populatie in het veld onder de duim te houden. Dit niveau wordt met de huidig beschikbare rassen nog maar nauwelijks gehaald. Toch hadden de relatief resistente groenbemester-voorvruchten een duidelijk gunstig effect bij het voorkomen van de belangrijke kwaliteitsschade in aardappelknollen. Gebruik van de beschikbare meest resistente groenbemesters voorkomt schade al voor het grootste deel en kan schade vrijwel geheel voorkomen als een minder vatbare, of vroeger geoogste aardappel als volggewas wordt geteeld.

Duurzaam resistentie-management

Resistentie tegen *M. chitwoodi* en *M. fallax* is gevonden in gewassen of geniteurs uit verschillende botanische families. Daarnaast zijn er aanwijzingen dat sommige van deze resistenties berusten op verschillende mechanismen en bovendien dat ze in de groenbemesters doorgaans polygeen zijn. Populaties uit de collectie van Plant Research International die het goed doen op resistente (wilde) aardappels zijn andere dan die zich kunnen vermeerderen op bladrammenas (*Raphanus sativus*) of Italiaans raaigras (*Lolium multiflorum*). Elk gewas heeft blijkbaar verschillende resistentiegenen; bij aardappel en paprika meestal herkenbare dominante genen, bij bladrammenas en raaigras sets van gestapelde genen.

Dit biedt gunstige perspectieven met betrekking tot de duurzaamheid van de verschillende resistentie-

ties tegen genoemde quarantaine-aaltjes in de bij ons meest gangbare landbouwsystemen, namelijk die met gewasrotatie. Combinatie van beide typen resistentiegenen in een gewasrotatie zorgt ervoor dat selectie van virulente aaltjestypen wordt beperkt of tenietgedaan. *M. chitwoodi* heeft ondanks een meiotische parthenogenese veel genetische variatie binnen populaties. Mogelijke selectie van virulente genotypen voor bijvoorbeeld aardappel wordt in een volgend gewas grotendeels tenietgedaan, omdat daar geen, of andere resistentiegenen werkzaam zijn (fig. 4). Gewasrotatie lijkt voor de variabele *M. chitwoodi* daarom van nog meer belang dan voor de genetisch stabielere *M. incognita*. Met het slim inzetten van een relatief resistente groenbemester tegen *M. chitwoodi* en *M. fallax* kan nu al de teelt van consumptieaardappel worden veiliggesteld, maar veel keuzevrijheid is er nog niet. Het is gewenst om meerdere resistente gewassen voor een bouwplan beschikbaar te hebben. Zover is het nog niet, maar door inspanning van onderzoek en veredelaars is dat wel de verwachting voor de toekomst. Het laag houden van populatiedichtheden van genoemde quarantaine-aaltjes is niet alleen gunstig voor de rentabiliteit van teelten op besmette percelen, maar vermindert ook nog eens de mate van verspreiding naar schone percelen.

Dit artikel is mede gebaseerd op resultaten verkregen in LNV-DWK programma's 303 en 397 en EU-QLRT-1999-01462 project DREAM (www.eu-dream-nl)

Literatuurlijst op www.knpv.org

Resistente aardappelrassen als onderdeel van een aaltjes beheersingsstrategie

R. Janssen

Plant Research International, Business Unit Biodiversiteit en Veredeling
Email: Richard.Janssen@wur.nl

Omdat populaties van wortelknobbelaaltjes zich gedurende de teelt van aardappel van zeer lage niveau's tot schadelijke dichtheden kunnen vermeerderen is resistentie binnen dit gevoelige gewas dringend gewenst. Resistente voorvruchten zijn hier niet afdoende. Wereldwijd zijn er slechts enkele resistenties tegen *Meloidogyne* spp geïdentificeerd en nog minder uiteindelijk geïntroduceerd in cultuurgewassen. In de aardappelcollectie van Plant Research International zijn echter in diverse wilde *Solanum* soorten hoge resistentieniveau's aangetroffen. Van *S. fendleri*, *S. bulbocastanum* en *S. hougasii* is vastgesteld dat de resistentie monogeen overerft. De aardappelkweekbedrijven hebben vooral belangstelling getoond voor *S. fendleri*.

Het resistentieonderzoek op Plant Research International richt zich op het identificeren en isoleren van resistentiegenen, gebruikmakend van standaard AFLP procedures tot innovatieve genisolatie-technieken. Een belangrijk onderdeel van dit onderzoeksprogramma is de ontwikkeling van moleculaire selectiemerkers voor veredelingsbedrijven.

Geschiedenis resistentieveredeling in aardappel tegen nematoden

In het begin van de jaren vijftig werd op het toenmalige SVP

(Stichting voor Plantenveredeling) een uitvoerig veredelingsprogramma gestart om resistentie tegen aardappelcysteaaltjes, *Globodera rostochiensis* en *G. pallida*, in te kruisen in aardappelrassen. Aanleiding was het uitbreken van aardappelmoehed in de Veenkoloniën. Alle beschikbare rassen waren toen vatbaar. Vooral het werk van Huijsman en Vinke heeft geresulteerd in een bron van waardevolle geniteurs met goede agronomische eigenschappen, waaruit de veredelingsbedrijven een groot aantal rassen heeft voortgebracht met resistentie tegen zowel *Globodera rostochiensis* als *G. pallida*. Enkele beroemde nummers uit het SVP veredelingsprogramma waren *Solanum tuberosum* ssp *andigenum* CPC 1673, (VTn)2 62-33-3 en AM 78-3778. Na de geslaagde introductie van de geïntegreerde bestrijding van aardappelcysteaaltjes, bestaande uit vruchtwisseling, resistente rassen en grondontsmetting nam het probleem in de fabrieksaardappelteelt geleidelijk af en daarmee de hieraan gerelateerde AM-onderzoeksprogramma's.

Met het terugdringen van het gebruik van grondontsmettingsmiddelen eind jaren tachtig dienden zich nieuwe aaltjes problemen aan voor de aardappelteelt. De belangrijkste zijn de wortelknobbelaaltjes, *Meloidogyne hapla*, *M. chitwoodi* en *M. fallax*. In het huidige rassenpakket bevinden zich geen resistente rassen voor deze wortel-

knobbelaaltjes soorten. Vanwege het polyfage en persistente karakter van deze aaltjes is schade niet of nauwelijks te voorkomen met behulp van vruchtwisselingsmaatregelen. Voor een milieuvriendelijke schadebeheersing wordt wederom een aanpak nagestreefd van een geïntegreerd pakket maatregelen, vooralsnog zonder gebruik van resistente aardappelrassen. Het veredelingsprogramma op resistentie tegen wortelknobbelaaltjes in aardappel is in 1992 gestart op het toenmalige CPRO-DLO en heeft geresulteerd in een aantal geniteurs, die inmiddels op veredelingsbedrijven worden gebruikt.

Duurzaamheid

Een duurzame methode om kwaliteitsschade en besmetting van *Meloidogyne*-vrije percelen via geïnfecteerde knollen te voorkomen is het gebruik van resistente aardappelrassen. Dat resistentieveredeling tegen wortelknobbelaaltjes perspectief biedt, kan worden geïllustreerd met het succesverhaal van het Mi-resistentiegen tegen *M. incognita* in tomaat, afkomstig uit de wilde verwant *Lycopersicon peruvianum*. Het desbetreffende resistentiegen, dat al begin jaren veertig werd ontdekt, heeft geresulteerd in de introductie van een groot aantal resistente tomatenrassen. De duurzaamheid van deze rassen valt te vergelijken met de in Engeland geteelde aardappel-

ARTIKEL

rassen met het H1-resistentiegen uit *S. tuberosum* ssp. *andigenum* CPC1673 tegen het Ro1-pathotype van het aardappelcysteeltje. In tegenstelling tot de Nederlandse situatie zijn voor deze rassen nog steeds geen virulente populaties van *G. rostochiensis* gevonden.

Toetsmethoden

Het huidige resistentieonderzoek tegen wortelknobbelaaltjes kenmerkt zich door het gebruik van soort-zuivere populaties. Veldpopulaties van wortelknobbelaaltjes zijn in veel gevallen mengels van soorten. Onderzoek met dergelijke populaties bemoeilijkt het opsporen van resistentiebronnen tegen een bepaalde soort. Voor het verkrijgen van soort-zuivere populaties worden eiproppen gebruikt, waarvan de vrouwtjes individueel op soort zijn geïdentificeerd. *Solanum* materiaal van werkcollecties en genenbanken uit binnen- en buitenland zijn met deze soort-zuivere populaties van *M. chitwoodi*, *M. fallax* en *M. hapla* getoetst op resistentie.

Voor het ontwikkelen van een toetsmethode is een groot aantal materialen geëvalueerd onder verschillende groeiomstandigheden, die de efficiëntie van het screenen kunnen beïnvloeden. Het screenen van wortelstelsels van knollen kan uitgevoerd worden in stenen potten, transparante plastic bekken, petrischalen en 'seed growth pouches', terwijl voor het screenen van zaailingen en stekken naast stenen potjes, vierkante plastic ko-

kertjes worden gebruikt. Het gebruik van 'seed growth pouches', een plastic zakje met filterpapier, en petrischalen lenen zich bij uitstek voor accessies, waarvan weinig materiaal aanwezig is. Deze manier van toetsen, waarbij een stukje aardappel met spruit te wortelen worden gelegd, biedt de mogelijkheid om de infectie in de tijd te volgen. Methoden die ook uitermate geschikt zijn voor historische studies ter bestudering van het resistentiemechanisme. De mate van resistentie wordt bepaald aan de hand van het aantal eiproppen op het wortelstelsel. Het bepalen van de eiproppen kan snel en nauwkeurig geschieden na kleuring met Phloxine-B.

Screening en interactieonderzoek

In het wilde *Solanum*-materiaal afkomstig uit Zuid-Amerika, zoals *S. bulbocastanum*, *S. fendleri*, *S. stoloniferum* en *S. hougasii* werd resistentie gevonden tegen zowel *M. chitwoodi* als *M. fallax*. Voor *M. hapla* werd onder andere resistentie gevonden in *S. chacoense* en *S. sparsipilum* (zie tabel 1). In het algemeen kan worden gesteld dat resistentie tegen *M. chitwoodi* en *M. fallax* alleen in de *Solanum* soorten uit Midden Amerika voorkomt. Resistentie tegen *M. hapla* treft men meer aan in soorten die zowel in Midden-, als in Zuid Amerika voorkomen.

Van de geselecteerde *Solanum* soorten werd de werkingsbreedte en het niveau van resistentie be-

paald door ze op een groot aantal isolaten van *M. chitwoodi*, *M. fallax* en *M. hapla* te toetsen. Tevens werd een aantal soorten getoetst tegen populaties van de warmteminnende wortelknobbelaaltjes soorten, *M. incognita*, *M. arenaria* en *M. javanica*. Geen van de *Solanum*-soorten met resistentie voor *M. chitwoodi*, *M. fallax* en *M. hapla* bleek resistent te zijn voor deze tropische wortelknobbelaaltjes.

Mocht blijken dat ook voor wortelknobbelaaltjes een gen-om-gen systeem bestaat, zoals bij het aardappelcysteeltje, *Globodera rostochiensis*, dan is het gericht afwischen of combineren van R-genen een uitermate efficiënt instrument voor resistentiemanagement in een aaltjesbeheersingsstrategie. Het bestaan van pathotypen van *M. chitwoodi* voor resistenties binnen *S. bulbocastanum* is inmiddels vastgesteld (tabel 2). Het meest virulente pathotype is in Nederland nog zeldzaam. Voor het aantonen van een gen-om-gen systeem wordt de interactie tussen de resistentiegenen in *S. bulbocastanum*-geniteurs en de virulentiegenen in representatieve isolaten van vier 'bulbocastrum' pathotypen van *M. chitwoodi* nader bestudeerd.

Resistentieverdeling tegen wortelknobbelaaltjes

Een belangrijk aspect bij resistentieverdeling is de genetische aard van de resistentie. Bij introgressie

Tabel 1. Overzicht van het resistentiepatroon en de wijze van overerving van wilde *Solanum* soorten voor *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax* en *M. hapla*.

<i>Solanum</i> sp.	Accessie nummer	2n	<i>M. chitwoodi</i>	<i>M. fallax</i>	<i>M. hapla</i>	overerving
<i>bulbocastanum</i>	93-60-2	24	ja	ja	enige	monogeen
<i>hougasii</i>	93-71-6	72	ja	ja	enige	monogeen
<i>fendleri</i>	93-114-12	48	'ja'	ja	nee	monogeen
<i>stoloniferum</i>	93-stol-3	48	'ja'	ja	nee	oligogeen
<i>chacoense</i>	93-113-1	24	nee	ja?	ja	oligogeen

Tabel 2. Pathotypering van *M. chitwoodi* isolaten ten opzichte van resistenties in *Solanum bulbocastanum*. (V=vatbaar, R=Resistent)

S. bulbocastanum geniteurs	M. chitwoodi-isolaten			
	Cat	Cbd-V5	Cbd-V1	Cbd-V3
SB-4	V	V	V	V
93-57-5	R	V	V	V
93-60-2	R	R	V	V
SB-22	R	R	R	V

van resistentie naar de cultuur-aardappel gaat de voorkeur uit naar monogeen overervende R-geenen. Voor het bestuderen van de overerving van de resistentie in de *Solanum* soorten met resistentie zijn diverse kruisingen gemaakt. Een probleem bij deze kruisingen is vaak dat de soort niet kruisbaar is met de cultuur-aardappel. Om dit te ondervangen worden intraspecifieke kruisingen uitgevoerd. Dat zijn kruisingen tussen geniteurs binnen de soort. Voor de intra-specifieke kruising tussen een resistente en een vatbare geniteur van *S. bulbocastanum* (diploid, 2x) wezen de uitsplitsingen in resistente en vatbare planten in de nakomelingschap duidelijk op een monogeen dominant overervend resistentie-gen, Rmc1. Na de bestudering van de F1 voor *S. fendleri* bleek het resistentie-gen, Rmc2, in de tetraploide *S. fendleri* (4x) ouder in de simplex vorm aanwezig te zijn.

Voor het ondervangen van de kruisbaarheid van de wilde *Solanum* soorten met de cultuur-aardappel kan in sommige situaties gebruik gemaakt worden van protoplastenfusies of in vitro cultuur van onvolgroeide zaden. Dit is echter zeer tijdrovend en arbeidsintensief. Vooralsnog zijn er voldoende waardevolle soorten zonder kruisingsbarrières waarmee introgressie van resistentie naar de gecultiveerde aardappel met behulp van interspecifieke kruisingen kan worden uitgevoerd. Naast het reeds lopende onderzoek met *S. bulbocastanum* en *S. fendleri*, zijn er veredelingsprogramma's met *S. stoloniferum* en *S. hougasii* in uitvoering.

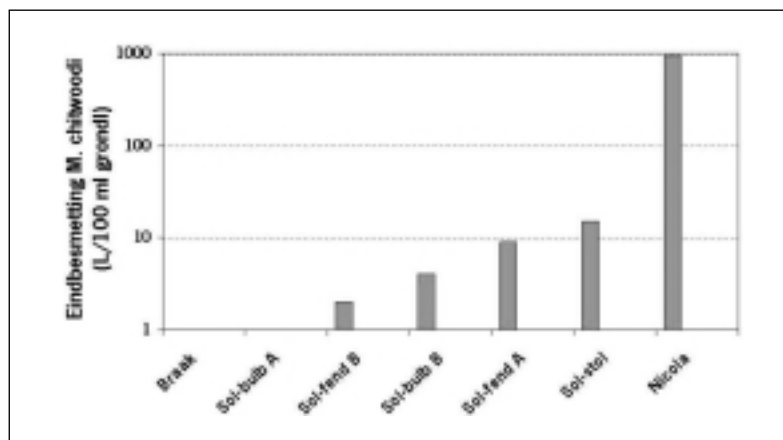
Veldproeven

Geniteurs van *S. fendleri*, *S. stoloniferum* en *S. bulbocastanum* zijn in veldproeven door PPO-AGV, Lelystad getoetst. De planten werden in geïsoleerde microplots op natuurlijke wijze geïnfecteerd, waarbij het infectieniveau in de grond voor en na de teelt werd bepaald. Ten opzichte van het vatbare ras Nicola was de zeer beperkte vermeerdering van de wortelknobbelaaltjes op deze geniteurs opmerkelijk. Het gaat hier om een factor 100 – 1000 in vergelijking met cv Nicola (zie figuur 1). Daarmee werd tevens de reproduceerbaarheid en betrouwbaarheid van de kastoetsingen bevestigd, een zeer belangrijk facet in een veredelingsprogramma.

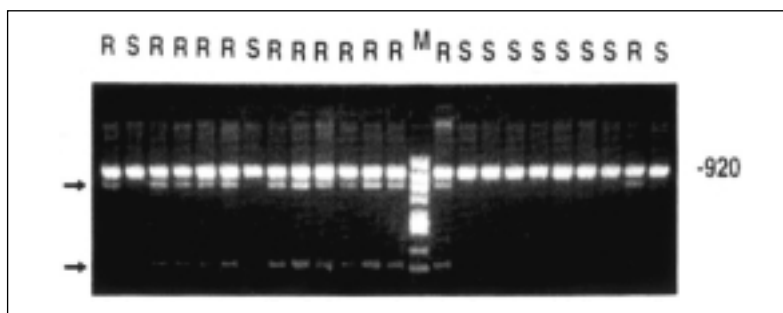
Moleculaire merkers

Met de ontwikkeling van moleculaire merkers door de moleculaire biologie is het mogelijk geworden om snel, eenvoudig en routinematig grote kruisingspopulaties op een gewenste eigenschap te screenen. Indirecte selectie met merkers, die nauw gekoppeld zijn aan een bepaalde eigenschap, heeft als voordeel dat de selectie onafhankelijk is van plantleeftijd, ontwikkelingsstadium en weefseltype, vanwege het feit dat analyse plaatsvindt met DNA. Zo kan de toetsing op nematoderesistentie na DNA isolatie uit het blad al in het zaailingstadium plaatsvinden. Een ander belangrijk voordeel van moleculaire merkers is dat milieuomstandigheden er geen invloed op hebben. Zo is de expressie van het Mi-resistentiegen tegen *M. incognita* temperatuur afhankelijk. Een bijkomend praktisch voordeel van het gebruik van merkers is dat de selectie op verschillende eigenschappen tegelijk in één bepaling kan worden uitgevoerd.

Voor het Rmc2 resistentiegen uit *S. fendleri* zijn op basis van AFLP merkers (Amplified Fragment Length Polymorphism) selectiemerkers ontwikkeld, die nauw gekoppeld zijn met dit resistentiegen. Deze CAPS merkers (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) liggen zo drie tot twee cM van het Rmc2 resistentiegen (zie figuur 2). Voor een optimale indirecte selectie is het wenselijk om merkers te hebben die binnen een cM van het gen aflaggen, of liever nog, er bovenop liggen. Voor dat laatste wordt er een beroep gedaan op een BAC-bank (Bacteria Artificial



Figuur 1. Veldomstandigheden (juiste fruncatie of geen).



Figuur 2. Profiel van een CAPS-merker voor een *S. bulbocastanum* geniteur. De banden laten een uitsplitsing zien in vatbare (S) en resistente (R) planten.

Chromosomes) van *S. fendleri*.

Een BAC-bank is een collectie bacterie-klonen van *E. coli* waarin het DNA van *S. fendleri* in fragmenten aanwezig is. Met behulp van CAPS merkers kan de BAC bank gescreend worden om BACs te isoleren die de betreffende merker be-

vatten. Deze BACs zullen worden gebruikt om een BAC-contig te maken, waarop het te kloneren resistentiegen zich bevindt, met als doel het isoleren van het resistentiegen. Sequentie informatie van het resistentiegen zal uiteindelijk resulteren in de ontwikkeling van

merkers die direct gekoppeld zijn aan dit gen.

Met de instrumenten die de moleculaire biologie de veredeling biedt, zal er ingezet moeten worden op de ontwikkeling van aardappelrassen met verschillende R genen, die effectief zijn tegen de meest voorkomende virulenties binnen de wortelknobbelaaltjes soorten. Met een slim rotatiesysteem van deze rassen in een geïntegreerd aaltjesbeheersingssysteem moet het mogelijk zijn een reductie van schade door dit plantparasitaire aaltje in de aardappelteelt te bewerkstelligen. Het zal echter nog enige jaren duren voordat de veredelingsbedrijven met hun praktijkrassen op de markt komen.

Rasgevoeligheid van aardappel: ontwikkeling van kwaliteitsschade door *Meloidogyne chitwoodi* tijdens bewaring

J.H.M. Visser, G.W. Korthals

PPO-agv, Lelystad

Aardappeltelers hebben bemerkt dat een knolaantasting door *M. chitwoodi* of *M. fallax* tijdens de bewaring kan verergeren. Ook vanuit het buitenland (Marshall 2003) wordt melding gemaakt van een, soms sterke toename van het percentage aangetaste knollen tijdens bewaring.

Er zijn rasverschillen in gevoeligheid voor schade (knolaantasting) veroorzaakt door *Meloidogyne* spp. (Molendijk 2000). Vroege rassen vertonen over het algemeen bij oogst minder symptomen ten opzichte van late rassen. Onduidelijk is of deze vroege rassen en aardappelpartijen met een lichte aantasting bewaard kunnen worden zonder risico op toename van symptomen, waardoor alsnog kwaliteitsverlies kan optreden. Verschillen in rasgevoeligheid voor *M. chitwoodi* en de relatie met symptomontwikkeling tijdens bewaring zijn voor telers belangrijke gegevens op basis waarvan beslissingen met betrekking tot rasselectie en bewaring kunnen worden gemaakt.

Proefopzet

In 2002 en 2003 zijn op een praktijkperceel te Smakt (Noord Limburg) met een natuurlijke besmetting met *M. chitwoodi* negen consumptie aardappelrassen geteeld.

De rassen die in de proeven zijn opgenomen zijn geselecteerd op basis van areaal en wratziekeresistentie. De waardplantstatus van de verschillende aardappelrassen is vastgesteld door voorafgaand aan de

teelt (april) en na de oogst (oktober) de aaltjespopulatie in de bouwvoor te bepalen. Alle rassen zijn, ondanks verschillen in vroegheid medio oktober geoogst. Om het effect van bewaarduur en bewaar temperatuur op symptomontwikkeling te bepalen zijn de aardappelen gedurende zes maanden bewaard bij vier of negen graden Celsius. Direct na de oogst en vervolgens maandelijks is aan submonsters van dertig knollen de *M. chitwoodi*-aantasting bepaald. De dertig knollen zijn beoordeeld op de mate van aantasting en ingedeeld in vijf klassen (zie tabel 1). Op basis van deze classificatie is vervolgens de KnolAantastingsIndex (KAI) berekend.

Aaltjesvermeerdering

De *M. chitwoodi* besmetting voorafgaand aan de teelt is in beide proefjaren relatief laag, en gemiddeld twaalf *Meloidogyne*-larven per 100 ml grond. Bij alle rassen is een vermeerdering van de populatie waargenomen. De besmetting na de aardappelteelt is het laagst bij het vroege ras Innovator. De hoogste eindbesmetting werd ge-

meten na de teelt van het late ras Asterix (zie tabel 2). De *M. chitwoodi* besmetting na de teelt is gecorreleerd ($r^2 = 0,800$) met de vroegheid van de verschillende rassen; naarmate de rassen later zijn neemt de eindbesmetting toe.

Rasgevoeligheid en symptomontwikkeling tijdens bewaring

Bij de oogst, en gedurende de bewaring is maandelijks de mate van knolaantasting bepaald. Op basis van deze beoordeling is de KnolAantastingsIndex berekend. De index loopt van 0 (geen aantasting) tot 100 (zeer zwaar aangetast). Partijen met een index tussen 0 en 10 worden over het algemeen goedgekeurd. Een index van 10 tot 15 à 20 kan problemen geven bij de tarering en partijen met een index hoger dan 20 geven beslist problemen met de afzet, zeker in jaren wanneer er voldoende aardappelen op de markt zijn.

De rassen verschillen duidelijk in

$$KAI = \frac{((\# \text{ knollen klasse } 0 + 1) * 0) + (\# \text{ knollen klasse } 2 * 10) + (\# \text{ knollen klasse } 3 * 33) + (\# \text{ knollen klasse } 4 * 100)}{\text{totaal aantal beoordeelde knollen}}$$

Tabel 1. Klassenindeling voor beoordeling van knolaantasting door *Meloidogyne chitwoodi* bij aardappel.

Klasse	Symptomen (uitwendig)	Eiprofvorming onder de schil
0	geen knobbels	nee
1	geen knobbels	ja
2	< 30 % knoloppervlakte aangetast	ja
3	30 – 100 % knoloppervlakte aangetast	ja
4	zwaar misvormd	ja

ARTIKEL

Tabel 2. *M. chitwoodi* besmetting na de teelt van aardappel (Pf) en gemiddelde knolaantasting gedurende bewaring; gemiddeld over beide proefjaren.

ras	vroeg- heid*	Pf (L/100 ml)	knolaantasting (KAI) tijdens bewaring						
			nov	dec	jan	febr	mrt	april	
Innovator	7	111 a	6,8	5,7	7,2	4,7	5,7	7,6	
Bildstar	6,5	305 . b	10,0	7,4	8,8	11,5	9,6	7,5	
Saturna	6	337 . b	9,3	10,9	9,5	9,3	10,0	10,7	
Victoria	6	778 . cd	19,1	16,6	16,0	17,8	16,4	14,8	
Diamant	5,5	703 . c	13,4	12,5	12,3	13,1	9,7	10,5	
Hansa	5,5	594 . bc	34,2	30,2	31,0	33,8	29,5	28,7	
Nicola	5,5	463 . bc	10,9	9,4	10,2	11,2	10,0	11,3	
Agria	5	853 . cd	6,4	6,8	7,4	6,3	6,4	6,6	
Asterix	5	1455 . d	8,4	11,0	10,6	9,5	10,6	10,7	
		gemiddeld	13,2	12,3	12,5	13,0	12,0	12,0	

F prob: 0,452 lsd (0,05): 6,4

F prob: 0,233 lsd (0,05): 1,2

* 8 t/m 9 = vroeg, 6,5 t/m 7,5 = middenvroeg, < 6 = middenlaat en laat (rassenlijst landbouwgewassen)

gevoeligheid voor *M. chitwoodi* (zie fig. 1). De rassen Hansa (zie foto 1) en Victoria zijn gevoelig. Ondanks de lage besmetting voor de teelt is de aantasting bij deze rassen zo zwaar dat ze bij aflevering gedeclasseerd worden. Agria en Innovator zijn rassen die weinig aantasting tonen. Innovator is een vrij vroeg ras. Het is mogelijk dat door de kortere groeiperiode dit ras “ontsnapt” aan een zware aantasting. Dit gaat niet op bij het late ras Agria. Dit ras toonde eveneens een zeer lichte aantasting, ondanks dat *M. chitwoodi* zich op dit ras sterk vermeerderd. Agria lijkt, zeker bij lage beginbesmettingen enige mate van tolerantie te bezitten. In beide proefjaren is gemiddeld per ras geen toename van de aantasting gedurende de bewaring waargenomen. Zowel bij vier als bij de negen graden Celsius bewaring neemt de aantasting niet toe. In tabel 2 is de gemiddelde knolaantasting per ras gedurende de bewaring weergegeven; gemiddeld over beide proefjaren en de twee bewaartemperaturen.

Conclusies

Bij een lage *M. chitwoodi*-besmetting voor de teelt is de besmetting na de teelt gerelateerd aan de



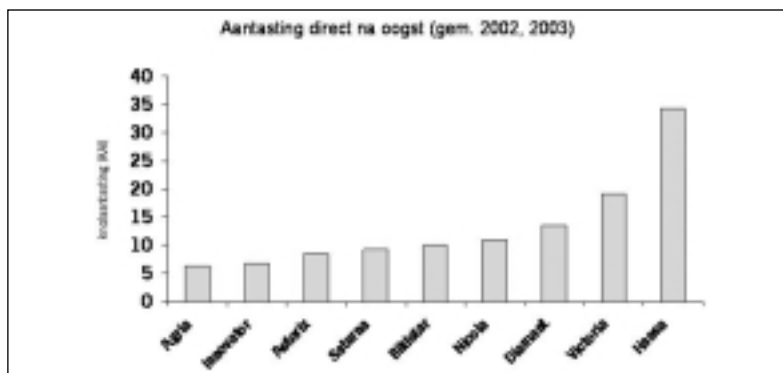
Foto 1. *M. chitwoodi* aantasting op het gevoelige ras Hansa (links) en het meer tolerantere ras Bildstar (rechts).

vroegheid van het aardappelras. Naarmate de rassen later zijn neemt de eindbesmetting toe. Er zijn grote rasverschillen in gevoeligheid voor schade veroorzaakt door *M. chitwoodi*. De rassen Innovator en Agria bleken relatief ongevoelig, terwijl Hansa en Victoria al bij lage beginbesmettingen vrij zwaar aangetast waren. In de proeven is, gemiddeld per ras geen effect van bewaarduur of bewaartemperatuur op de mate van

knolaantasting waargenomen. Het risico dat de schade tijdens de bewaring, bij een bewaartemperatuur lager dan negen toeneemt is klein.

Het advies voor de praktijk blijft vooralsnog geen risico te nemen bij een *Meloidogyne*-besmetting. Dit kan onder andere door een gerichte rassenkeuze en aangetaste partijen zo vroeg mogelijk te leveren.

Literatuurlijst op www.knpv.org



Figuur 1. Knolaantasting door *M. chitwoodi* bij negen aardappelrassen direct na de oogst.

Onkruiden als waardplanten van *Meloidogyne chitwoodi* en *M. fallax*

Frans Zoon en Ate de Heij, Plant Research International

De meeste wortelknobbelaaltjes hebben vele waardplanten. *Meloidogyne chitwoodi* en *M. fallax* behoren tot de meest 'polyfage' wortelknobbelaaltjes-soorten, omdat ze zowel monocotyle als dicotyle planten aantasten. Om vermeerdering van deze soorten te voorkomen kan een braakperiode of een (vrijwel) resistent gewas zoals bladrammenas 'Commodore' worden ingezet.

De vraag is in hoeverre verschillende onkruiden een rol kunnen spelen in de overleving van wortelknobbelaaltjes onder een resistent gewas of 'braak', waardoor het effect van deze maatregel teniet wordt gedaan. Uit een Duitse inventarisatie onder 78 biologische bedrijven kwam naar voren dat de opbrengstderving ten gevolge van plantparasitaire nematoden toenam naarmate er meer onkruiden op de percelen aanwezig waren (Hallmann *et al.* 2004). De waardplantgeschiktheid van onkruiden is waarschijnlijk niet voor elke onkruidsoort en aaltjessoort hetzelfde. In het hier beschreven onderzoek van Plant Research International is onderzocht wat onkruidplanten binnen een aaltjessgeneratie van acht weken met de populatie van *Meloidogyne*-soorten in het veld kunnen doen.

Experiment

Op twee besmette percelen in Zuidoost Nederland werden veldjes geselecteerd met een bekende besmettingsgraad van *M. chitwoodi* (Mc), of *M. fallax* (Mf). Deze

veldjes werden in mei 2003 bewerkt met de rotoreg en vervolgens werden zaailingen van ter plaatse gekiemde onkruiden verzameld en in een regelmatig verband uitgeplant. Als referentie werd ook nog een rijtje Italiaans raaigras (*Lolium multiflorum*) cv Bartali gezaaid, waarvan bekend is dat het een redelijk goede waard is.

Acht weken later werden wortelstelsels (ca 20x20x20 cm) van vijf planten opgegraven en naar het lab vervoerd. Van enkele onkruidsoorten die niet waren uitgeplant, maar bij het oogsten in of vlak rondom de veldjes werden gevonden werden ook wortelstelsels verzameld. De wortelstelsels werden uitgespoeld, gewogen en in een mistkamer gelegd gedurende vier weken. De *Meloidogyne* aaltjes die uitkwamen werden wekelijks verzameld en geteld.

Resultaten en Discussie

Eindpopulaties tot 200.000 *Meloidogyne*-juvenielen per individuele

onkruidplant werden gevonden. Gemiddelden staan vermeld in tabel 1. Onder de beste, en dus de riskantste, *Meloidogyne*-waardplanten zijn de onkruiden zwarte nachtschade, knopkruid, valse kamille en ooievaarsbek. Opvallend is hoederbeet die ondanks een zeer geringe biomassa (Fig 2) een flinke populatie naliet. Een grote groep van andere soorten had ook nog een aanzienlijke aaltjesnakomelingschap, zij het waarschijnlijk niet genoeg om de hoge initiële dichtheid in stand te houden. De nakomelingschappen zijn immers geogst uit ca 4-8 liter grond, ofwel 40-80 keer de eenheid waarin de initiële dichtheden zijn uitgedrukt.

Herderstasje en melganzevoet lijken minder vatbaar voor *M. fallax* dan voor *M. chitwoodi*, gezien het verschil in nakomelingschap bij gelijk wortelgewicht. Bepaalde onkruiden blijken compleet resistent tegen *M. chitwoodi*, terwijl voor *M. fallax* steeds enig nakomelingschap werd gevonden. Dit is misschien ten dele te wijten aan het verschil in initiële besmettingsgraad van de veldjes, maar sluitend is deze verklaring niet.



Figuur 1. Onkruidenexperiment op het moment van 'oogst'.

ARTIKEL



Figuur 2. Ook zeer kleine onkruiden zoals hoenderbeet (midden) vormen een risico.

Verschillende goede waardplanten, zoals zwarte nachtschade en herderstasje, vertoonden weinig of geen wortelknobbels en de slechte waardplant paardebloem vertoon-

de wel enige knobbels. Knobbels zijn dus geen goede indicator voor waardplant-geschiktheid. Om dezelfde reden kunnen slechts bepaalde onkruiden worden gebruikt

om een indruk van de besmetting van percelen te krijgen, zoals nachtschade voor *M.fallax* en knopkruid, valse kamille en hoenderbeet voor *M.chitwoodi*.

Verschillende combinaties van aaltjessoort en onkruidsoort zijn in dit experiment nog niet onderzocht en het zou goed zijn om van de belangrijkste onkruiden de waardplantstatus voor deze moeilijk te beheersen bodemplagen te kennen. Bovendien is nog niet bekend in hoeverre er regionale verschillen in aaltjes- of onkruidpopulaties zijn met betrekking tot de waardplantinteractie. Het is daarnaast van praktisch belang om te weten welke maximale onkruidgroeiduur (ofwel een temperatuursom minder dan een aaltjesgeneratie) en welke kritische dichtheden van verschillende onkruiden te tolereren zijn in afwijking met de benodigde bestrijdingsinspanning.

Tabel 1. *Meloidogyne* vermeerdering op onkruiden na acht weken groei op besmette percelen (*M.chitwoodi* Pi=400-1000/100ml; *M.fallax* Pi=4300/100 ml grond).

Onkruidsoorten		<i>M. chitwoodi</i>			<i>M. fallax</i>		
Nederlandse naam	Latijnse naam	wortels g/plant	aaltjes per plant	wortelknobbels	wortels g/plant	aaltjes per plant	wortelknobbels
Zwarte Nachtschade	<i>Solanum nigrum</i>	20	164.400	weinig	12	59.520	veel
Knopkruid	<i>Galinsoga parviflora</i>	6	109.660	veel	–	–	–
Harig Knopkruid	<i>Galinsoga ciliata</i>	–	–	–	10	*** 69.920	weinig
Valse Kamille	<i>Anthemis arvensis</i>	3	66.286	veel	–	–	–
Ooievaarsbek	<i>Geranium sp.</i>	–	–	–	8	59.580	geen
Hoenderbeet	<i>Lamium amplexicaule</i>	2	24.512	veel	–	–	–
Uitstaande Melde	<i>Atriplex patula</i>	–	–	–	29	20.950	geen
Akkerviooltje	<i>Viola arvensis</i>	–	–	–	5	13.570	weinig
Herderstasje	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	2	6.046	geen	7	*** 543	weinig
Akkerdistel	<i>Cirsium arvense</i>	6	4.194	weinig	–	–	–
Melganzevoet	<i>Chenopodium album</i>	22	3.606	geen	16	746	geen
Perzikkruid	<i>Polygonum persicaria</i>	10	2.884	geen	3	132	geen
Vogelmuur	<i>Stellaria media</i>	3	2.602	geen	6	4.790	geen
Reigersbek	<i>Erodium cicutarium</i>	6	1.906	geen	11	1.294	geen
Straatgras **	<i>Poa annua</i> **	1	1.756	geen	6	2.762	geen
Hanepoot	<i>Echinochloa crus-galli</i>	8	1.060	geen	–	–	–
Italiaans raaigras *	<i>Lolium multiflorum</i> *	4	958	geen	2	1.750	geen
Varkensgras	<i>Polygonum aviculare</i>	6	0	geen	5	280	geen
Zwaluwtong	<i>Polygonum convolvulus</i>	4	0	geen	5	36	geen
Klein Kruiskruid	<i>Senecio vulgaris</i>	6	0	geen	–	–	–
Akkermelkdistel	<i>Sonchus arvensis</i>	44	*** 0	geen	–	–	–
Paardenbloem **	<i>Taraxacum officinale</i> **	7	0	weinig	–	–	–
Kleine Brandnetel	<i>Urtica urens</i>	4	0	geen	14	62	geen

* referentie-gewas ter plaatse gezaaid; ** verzameld rondom; leeftijd onbekend; *** gemiddelde van 2 planten

Dit onderzoek maakt in elk geval duidelijk dat onkruid-waardplanten het opschonend effect van resistente gewassen of braak als maatregel tegen wortelknobbelaaltjes (*Meloidogyne* spp.) teniet kunnen doen. Het belang van onkruidbestrijding ligt daarom naast het voorkómen van concurrentie ook in het verwijderen van 'groene bruggen' voor aaltjes en bodempathogenen.

Referenties

- Hallmann, J., Frankenberg, A., Paffrath, A. & Rau, F., 2004. Occurrence of plant parasitic nematodes in organic farming in Germany. Proceedings XXVII ESN International Symposium, Rome.
- Dit onderzoek werd mogelijk gemaakt door financiering vanuit het DWK-gewasbeschermingsprogramma 397-1 en vanuit EU-QLRT-1999-01462 projekt 'DREAM'. Met dank aan PPO-AGV voor het beschikbaar stellen van de veldjes en de besmettingsgegevens.

Overleving van *Meloidogyne*

C.J. Kok en A. de Heij

Plant Research International

Voor het opstellen van maatregelen om de verspreiding en populatieopbouw van *Meloidogyne*-soorten te beheersen is het van groot belang goede gegevens te hebben over het overleven van *Meloidogyne* in een situatie zonder waardplant. Op grond van dit soort gegevens kan het effect van een braakperiode, het verbouwen van een niet-waardplant en van de keuze van het zaai- en oogsttijdstip worden ingeschat. Verder kan het risico op insleep via grond, machines, schoeisel e.d. worden bepaald als duidelijk is hoe lang belangrijke *Meloidogyne* soorten kunnen overleven in deze omstandigheden.

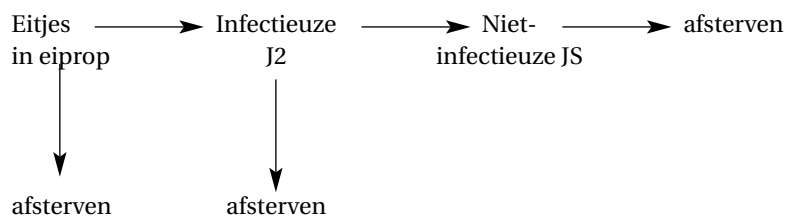
Meloidogyne soorten kunnen overleven als ei in de eiproop of in het tweede juveniele stadium (J2). Behalve de mate van overleven is ook de vraag van belang of overlevende aaltjes nog een plant kunnen infecteren. Schematisch kan het afsterven van een *Meloidogyne* populatie als volgt worden voorgesteld (zie figuur 1).

Eitjes in eiproppen kunnen afsterven door ongunstige uitwendige omstandigheden en door antagonistische micro-organismen, zoals eiparasitaire schimmels. Onder gunstige omstandigheden (voldoende vocht en gunstige

temperatuur) komen de eitjes uit en leveren goed gevoede, infectieuze J2's. Door ongunstige uitwendige omstandigheden en door allerlei antagonisten kunnen deze J2's afsterven. Indien de J2's lange tijd geen waardplant vinden, zullen zij eerst hun infectieuze vermogen verliezen en daarna sterven.

De belangrijkste omgevingsfactoren die het overleven van *Meloidogyne* eieren en J2's bepalen zijn waterpotentiaal (zuigspanning) en temperatuur. De temperatuur bepaalt hoe snel de energiereserves opgebruikt worden. Verder zal bij extreme temperaturen directe sterfte optreden. Het is te verwachten dat J2's en in mindere mate eitjes in eiproppen gevoelig zijn voor droogte.

Effect van uitdrogen op het overleven van eitjes in eiproppen en J2's. Vanuit praktisch oogpunt is overleven van eitjes en J2 aan de lucht (bijvoorbeeld via schoeisel, banden enz) en in kleine hoeveelheden grond (kluiten aan machines, aanhangende grond bij aardappels of ander poot- en plantgoed) van belang om de risico's op verspreiding van *Meloidogyne* in te schatten. Onder deze omstandigheden zal uitdroging een belangrijke factor zijn, die de sterfte van de aal-



Figuur 1: schematische weergave van het afsterven van *Meloidogyne* zonder waardplant.

ARTIKEL

Tabel 1. Alle waterpotentialen zijn gegeven met machten van 10 dus superscript van laatste digit (bv. $-9.8 \cdot 10^6$ of $-9.8 \cdot 10^6$)

% water in de grond (w/w)	Water potentiaal (hP)	Max. overleving (weken)	Uitkomen van eitjes
0	$-9,8 \cdot 10^6$	0	–
1	$-5,5 \cdot 10^5$	> 9*	–
2	$-1,6 \cdot 10^4$	> 9	–
4	$-1,8 \cdot 10^3$	> 9	+
8	$-1,6 \cdot 10^2$	> 9	+

*) zeer weinig overleving

tjes bepaalt. Vooral voor het voorkomen van verspreiding van de quarantaine soorten *Meloidogyne chitwoodi* en *M. fallax* zijn deze gegevens van groot belang. Om het overleven van *M. chitwoodi* in grond en aan de lucht te bepalen is een experiment gedaan waarbij aaltjes en eiproppen aan de lucht gedroogd werden op een objectglas (70-75 % r.v., 16 °C). Verder zijn eiproppen bewaard in zand met verschillend watergehalte. Tot negen weken na het inzetten van de proef is het overleven van de aaltjes bepaald. Het bleek dat zowel J2's als eitjes in eiproppen drogen aan de lucht niet overleefden. De resultaten van de bewaring in zand zijn samengevat in Tabel 1. Ook uit deze proef blijkt dat eitjes in eiproppen zeer droge omstandigheden niet kunnen

overleven, maar al bij lage wateractiviteit werden 9 weken na het inzetten van de proef nog levende eitjes aangetroffen. Bij een waterpotentiaal van $-1.8 \cdot 10^3$ hP en hoger kwamen de eitjes uit en werden er J2's in de monsters gevonden.

Het effect van temperatuur op het overleven in grond

Het effect van temperatuur op het overleven van drie *Meloidogyne* soorten is bepaald in een experiment waarin J2's en eiproppen zijn geïncubeerd in zand bij temperaturen van 5 – 10 – 15 – 20 – 25 °C. Gedurende 300 dagen

(voor het experiment met J2's) en 188 dagen (voor het experiment met eiproppen) zijn monsters genomen en het aantal overlevende aaltjes is geteld. Verder is in het experiment met J2's het vermogen tot het infecteren van een waardplant bepaald met een biotoets. Dit alles leverde een groot aantal overlevingsgrafieken op. De resultaten zijn samengevat in Tabel 2.

Het blijkt dat vooral bij lage temperaturen alle drie de soorten goed in staat zijn om te overleven. Bij hogere temperaturen neemt eerst het infectievermogen en daarna de overleving af. Vooral *M. chitwoodi* verliest bij hogere temperaturen het vermogen tot infecteren zeer snel. Opvallend is dat vooral bij *M. hapla* en *M. fallax* bij lagere temperaturen

Tabel 2. Maximale overleving van J2's en eiproppen van drie *Meloidogyne* soorten in zand bij 5 – 10 – 15 – 20 en 25 graden Celcius en de lengte van de infectieuze periode van J2's bij die vijf temperaturen in dagen.

Soort	Max. overleving J2			Max. overleving eitjes	
	Temperatuur (°C)	Overlevingsduur (dagen)	Infectieuze periode (dagen)	Periode van uitkomen (dagen)	Percentage uitgekomen (t.o.v. 25 °C)
<i>M. fallax</i>	5	> 300	>300	–	0
	10	> 300	218	188	102,2
	15	140	140	104	79,6
	20	140	61	83	92,4
	25	140	61	34	100
<i>M. chitwoodi</i>	5	>300	>300	69	11,5
	10	>300	140	181	62,3
	15	61	9	90	79,0
	20	61	9	55	72,1
	25	61	9	34	100
<i>M. hapla</i>	5	>300	>300	–	0
	10	220	140	188	39,5
	15	140	140	104	91,8
	20	62	21	83	97,8
	25	21	21	62	100

een laag percentage van de eitjes uitkomt. Dit verschijnsel is minder sterk bij *M. chitwoodi*. *M. chitwoodi* eitjes kwamen bij 5 °C voor een deel nog uit. Hieruit blijkt dat de in de literatuur aangenomen activiteitsdrempel van 5 °C voor *M. chitwoodi* te hoog is.

Temperatuurmodellen voor nematoden

De ontwikkeling van nematoden onder invloed van de temperatuur wordt vaak weergegeven met behulp van een temperatuursom gebaseerd op zogenaamde graaddagen. Hierbij wordt het aantal graaddagen berekend door de som te nemen van het verschil tussen de gemiddelde temperatuur op iedere dag en een drempelwaarde. Deze drempelwaarde is de temperatuur waarbij de ontwikkeling van de nematode juist stil ligt. In het algemeen wordt een lineair verband aangenomen tussen de temperatuur en de ontwikkelingssnelheid van de nematode, zolang de temperatuur niet zo hoog wordt dat de nematode daar schade door ondervindt (Trudgill en Perry, 1994). Uit dit simpele, lineaire model volgt dat alle nematoden in het zelfde ontwikkelingsstadium zullen zijn, als ze een bepaalde tem-

peratuursom gehad hebben, onafhankelijk van de feitelijke temperatuur waaraan de nematoden waren blootgesteld (zolang deze temperatuur hoger is dan de drempelwaarde en lager is dan de temperatuur waarbij schade gaat optreden). Uit de resultaten van het experiment met het uitkomen van eitjes bij verschillende temperaturen blijkt dat deze veronderstelling niet juist is. Vooral bij *M. hapla* en *M. fallax* komt een belangrijk deel van de eitjes niet uit bij lage temperaturen, zelfs niet na zeer lange incubatie. Het lijkt alsof de populatie in subpopulaties is verdeeld, die allemaal een eigen activiteitsdrempel hebben. Bij *M. chitwoodi* is dit effect nauwelijks vast te stellen. Het effect van het patroon van uitkomen van *M. hapla* en *M. fallax* in het veld zou kunnen zijn dat de populatie in het voorjaar, als de temperatuur langzaam oploopt, in de tijd verspreid uitkomt. Dit zou zowel de intraspecifieke als de interspecifieke concurrentie tussen de nematoden kunnen verminderen.

Conclusies

Uit de resultaten kan worden opgemaakt dat *M. chitwoodi* complete uitdroging zeer slecht overleeft, maar wel behoorlijk tolerant is voor droge omstandigheden in

grond. De lange overlevingsduur van dit aaltje in droge grond geeft aan dat kluiten en aanhangende grond een gevaarlijke bron kunnen zijn van verspreiding.

M. chitwoodi, *M. hapla* en *M. fallax* kunnen in de grond bij lage temperaturen goed overleven en blijven ook lang infectieus. Bij hogere temperaturen verliezen de aaltjes hun infectieuze vermogen sneller en overleven ook minder lang. Op basis van de resultaten kan geconcludeerd worden dat *M. chitwoodi* het beste aan lage temperaturen aangepast is, gevolgd door *M. fallax* en *M. hapla*. Het bleek dat het vaak gebruikte temperatuursommodel voor de onderzochte aaltjessoorten niet klopt.

Om op basis van de temperatuur de ontwikkelingssnelheid of het afsterven van de aaltjes te voorspellen, zijn ingewikkeldere modellen nodig. Aan de ontwikkeling van deze modellen wordt momenteel gewerkt.

Referenties

Trudgill, D.L. en Perry, J.N. (1994) Thermal time and ecological strategies - a unifying hypothesis. *Ann. Appl. Biol.* 125: 521-532.

Het onderzoek waar dit artikel op gebaseerd is, vindt plaats in het kader van het onderzoeksprogramma 397 van het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij.

ARTIKEL

Bodemweerbaarheid en biologische bestrijding tegen *Meloidogyne*

C.J. Kok

Plant Research International, Wageningen; hanscj.kok@wur.nl

Meloidogyne-aaltjes hebben een grote reeks natuurlijke vijanden of antagonisten. Verschillende soorten bacteriën, schimmels, roofaaltjes, mijten en andere mesofauna kunnen op *Meloidogyne* parasiteren dan wel zich ermee voeden. Door de gezamenlijke activiteit van deze natuurlijke vijanden kunnen niet alle in de bodem aanwezige *Meloidogyne* aaltjes een waardplant bereiken en infecteren. Het verschijnsel dat maar een bepaald gedeelte van het de bodempopulatie ook echt schade aan een waardplant aanricht wordt bodemweerbaarheid ofwel soil suppressiveness genoemd. In meer recente studies wordt dit begrip gebruikt als een kwantitatieve maat voor de bodemfactoren die de schadelijkheid van een pathoogpopulatie beïnvloeden.

Er is een aantal situaties bekend waarin de bodemweerbaarheid tegen plantenparasitaire aaltjes in de tijd toenam tot een niveau waarop de schade miniem was. Een duidelijk voorbeeld is het teruglopen van de populaties van het havercystenaaltje *Heterodera avenae* onder monocultures van graan in Groot Brittanië. Dit fenomeen, ook wel decline van de populatie genoemd, kon worden toegeschreven aan de toenemende activiteit van microbiële antagonisten. Het feit dat de aaltjespopulatie aanvankelijk gedurende meerdere jaren op hoog niveau bleef, wordt gezien als de sleutelfactor bij het opbouwen van de populatie van de antagonisten tot

op een niveau waarop een sterke onderdrukking van de aaltjes plaats kon vinden. Dit lijkt een algemeen kenmerk te zijn van het ontstaan van een hoge bodemweerbaarheid: gedurende een lange periode moet er een hoge aaltjespopulatie aanwezig zijn om de antagonisten voldoende te stimuleren.

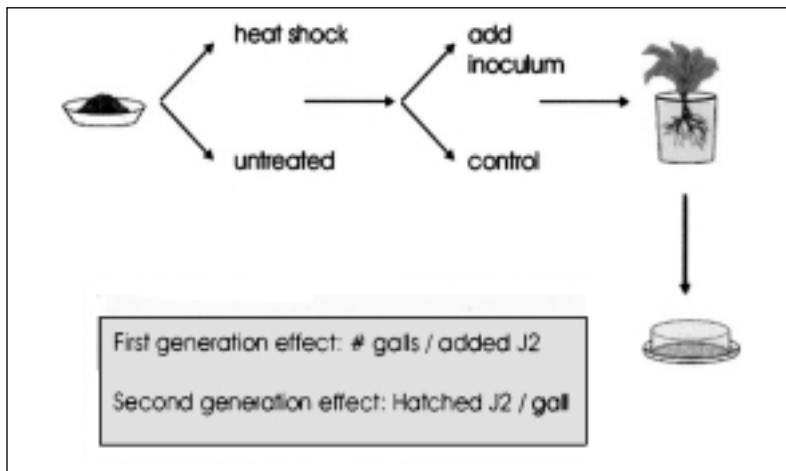
Ook in Nederland wordt er onderzoek gedaan naar bodemweerbaarheid tegen aaltjes, in het bijzonder tegen *Meloidogyne*, en ook naar de mogelijkheden om bodemweerbaarheid te stimuleren dan wel te behouden. Bij het bestuderen van bodemweerbaarheid tegen *Meloidogyne* moet rekening gehouden worden met de levenscyclus van het aaltje en de verschillende typen antagonisten die hierop aan kunnen grijpen. In principe zijn alleen de stadia van de levenscyclus die met de bodem in contact staan beschikbaar voor antagonisten. Er zijn geen aanwijzingen dat de stadia die in de wortel leven in belangrijke mate door antagonisten beïnvloed worden. Voor *Meloidogyne* betekent dit dat met name de eieren in de eiproppen en de mobiele tweede-stadium juvenielen (J2) bloot staan aan de activiteit van antagonisten. De antagonisten die eieren aantasten vormen een duidelijk andere groep dan de antagonisten die zich op de J2's richten. Eiparasieten zijn meestal algemeen voorkomende rhizosfeerschimmels die voor hun overleven niet afhankelijk zijn van de aaltjes (facultatieve parasieten). Tot deze groep beho-

ren schimmels als *Pochonia* (vroeger *Verticillium*), *Fusarium*, *Cylindrocarpon* en *Paecilomyces*. Antagonisten van J2's zijn o.a. aaltjesvangende schimmels als *Arthrobotrys* en *Monacrosporium*. Deze groep is ook facultatief parasitair. Andere schimmels, zoals *Harposporium* en *Hirsutella* infecteren de aaltjes via sporen. Deze schimmels zijn wel obligaat parasitair.

Meten van bodemweerbaarheid

Als het begrip bodemweerbaarheid kwantitatief gebruikt wordt, moeten er ook methoden zijn om bodemweeraarheid kwantitatief te bepalen. Voor een behoorlijk aantal bodemgebonden plagen en pathogenen zijn deze meetmethoden inderdaad ontwikkeld. Het algemene principe van deze methoden is dat een bekende hoeveelheid inoculum van het pathogeen wordt toegevoegd aan een toetsplant die in de te onderzoeken grond groeit. De details van de uitvoering hangen af van het pathogeen en de gekozen toetsplant. Dit soort toetsen wordt uitgevoerd onder geconditioneerde omstandigheden. Veldomstandigheden zijn te variabel om bruikbare resultaten te verkrijgen. Voor *Meloidogyne* is een toets ontwikkeld waarin de effecten van antagonisten van J2's en eiparasieten onafhankelijk gemeten kunnen worden. De opzet van deze methode wordt getoond in figuur 1.

ARTIKEL



Figuur 1. Opzet van de meetmethode voor bodemweerbaarheid tegen *Meloidogyne*.

Bij de methode wordt het bodemonmonster gesplitst in een deel dat een korte hittebehandeling krijgt om de antagonisten uit te schakelen en een deel dat onbehandeld blijft. Aan de grondmonsters wordt een bepaalde hoeveelheid inoculum toegevoegd en het aantal knobbels op de toetsplant wordt geteld. Hiermee wordt de effectiviteit van de antagonisten van J2's bepaald. De maat voor de effectiviteit van de antagonisten van de J2's is het verschil tussen het aantal knobbels op de planten in verhitte en niet-verhitte grond. Het effect van eiparasieten wordt bepaald door het meten van het aantal nieuwe J2's dat geproduceerd wordt. Hiertoe worden wortelstelsels van de biotoetsplanten in een mistkamer gelegd. De effectiviteit van eiparasieten wordt gemeten in het aantal uitgekomen J2's per knobbel.

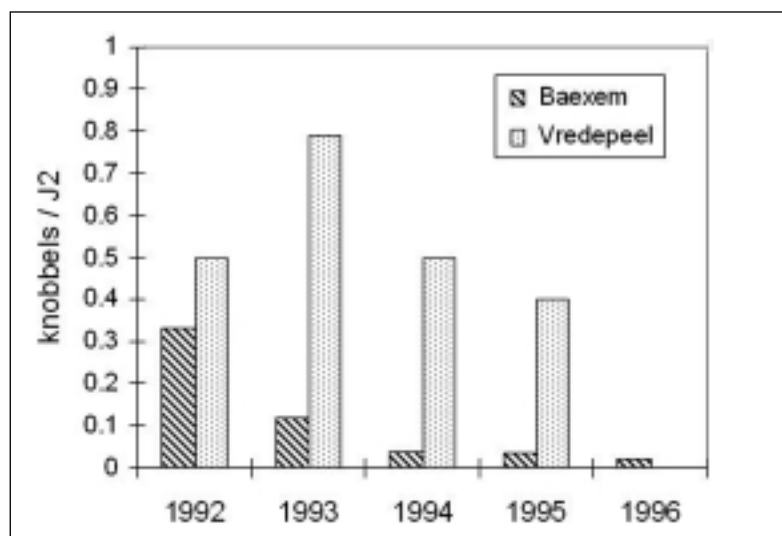
Natuurlijke weerbaarheid tegen *M. fallax*

Het beste voorbeeld van het ontstaan van bodemweerbaarheid tegen aaltjes in Nederland is het proefveld te Baexem, waar in het begin van de jaren negentig van de vorige eeuw proeven gedaan werden met waardplantgeschiktheid

en schadegevoeligheid voor *Meloidogyne fallax* met een grote reeks landbouwgewassen. Op dit proefveld werd de populatie van *M. fallax* bepaald met zowel extractie van de aaltjes als met een biotoets. Hierdoor kon worden vastgesteld dat de aantallen aaltjes gemeten via de biotoets sterk afnam in de tijd, terwijl de aantallen gemeten via extractie niet afnamen. De conclusie uit de resultaten was dat de inoculum-efficiëntie in de bioassay in de tijd sterk afnam in de monsters uit Baexem, terwijl dit in monsters van de locatie Vredepeel, die tegelijkertijd verwerkt zijn, niet het geval was (zie Fig. 2). De verklaring die hiervoor aangenomen

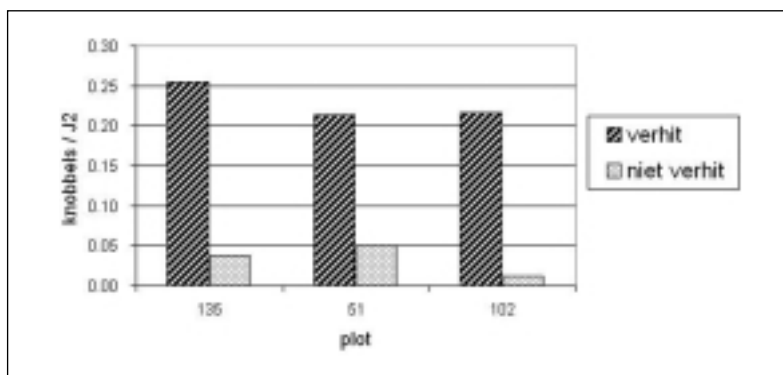
werd is dat de bodemweerbaarheid in de tijd sterk toegenomen is. Het effect van de toegenomen bodemweerstand was zo groot dat het proefveld in 1996 opgegeven werd. In de periode na 1996 kon gedurende enkele jaren *M. fallax* niet meer worden aangetoond in Baexem. Op dit moment wordt *M. fallax* op Baexem sporadisch aangetroffen, maar kunnen ook gewassen die zeer schadegevoelig zijn zonder problemen geteeld worden.

In bepalingen van de bodemweerbaarheid van monsters uit Baexem werd vastgesteld dat verhitten de mate van antagonisme op de J2's sterk verminderde, maar geen effect had op de mate waarin de aaltjes zich vermenigvuldigden (zie Fig. 3 en 4). De conclusie die hieruit getrokken werd is dat de afnemende inoculum-efficiëntie die gevonden werd op Baexem het gevolg is van antagonisten van J2's. De antagonisten die het vaakst werden aangetroffen in Baexem zijn de aaltjesvangende schimmels *Arthrobotrys superba*, *Monacrosporium gephyropagum* en *Monacrosporium parvicolle*. Deze schimmels worden op dit moment nog onderzocht als potentiële biologische bestrijdingsmiddelen tegen *Meloidogyne*.

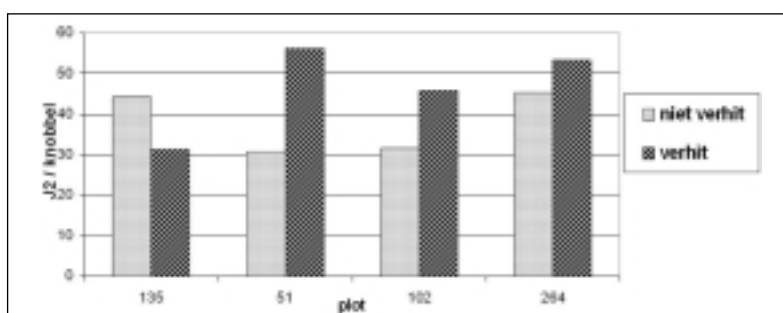


Figuur 2. Het verloop van de inoculum-efficiëntie in biotoetsen voor *Meloidogyne* van de proeflocaties Baexem en Vredepeel 1992-1996 (bron PPO-AGV).

ARTIKEL



Figuur 3. Effect van verhitting op de inoculumefficiëntie van toegevoegde J2's van *Meloidogyne fallax* in drie grondmonsters van proeflocatie Baexem.



Figuur 4. Effect van verhitting op de vermenigvuldiging van *Meloidogyne fallax* op biotoetsplanten in vier grondmonsters van proeflocatie Baexem. Verschillen tussen verhitte en niet-verhitte monsters waren niet significant ($P > 0.05$).

Het onderzoek naar bodemweerbaarheid tegen aaltjes richt zich op dit moment vooral op het stimuleren van bodemweerbaarheid. In de meeste gevallen is het praktisch gezien niet mogelijk gedurende een aantal jaren een hoge populatie van *Meloidogyne* te tolereren, om de antagonistische een kans te geven een hoge populatie op te bouwen. Daarom wordt geprobeerd de opbouw van de populatie van antagonistische te versnellen via verschillende toevoegingen aan de bodem, zoals compost en andere organisch materiaalbronnen.

Biologische bestrijding van *Meloidogyne*

Een manier om de bodemweerbaarheid te vergroten is het toevoegen van antagonistische, ofwel

biologische bestrijding. In tegenstelling tot het stimuleren van natuurlijk voorkomende antagonistische wordt biologische bestrijding met micro-organismen door de wet gezien als bestrijdingsmaatregel en vallen de microbiële middelen onder de bestrijdingsmiddelenwet. Dit heeft belangrijke gevolgen, vooral voor de toelating van biologische middelen. De strenge eisen die de wet stelt maken toelating van een bestrijdingsmiddel tot een kostbare zaak. Alleen als een biologisch middel een grote markt heeft zeer goede eigenschappen wat betreft effectiviteit, houdbaarheid en toedieningswijze, kan verwacht worden dat de investering in de toelating zich zal lonen. Juist door de hoge kosten en de ingewikkelde procedure van toelating is het aantal biologische bestrijdingsmiddelen gebaseerd op micro-organismen dat legaal verkrijgbaar is in Nederland gering. Voor bestrijding van nemato-

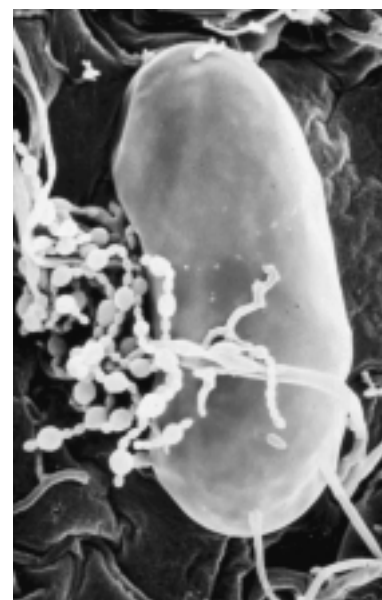
den is zelfs in het geheel geen microbiële middel toegelaten. Wel zien we dat er internationaal een aantal producten ontwikkeld wordt, dat waarschijnlijk binnen enkele jaren op de markt zal verschijnen.

Een antagonist moet aan verschillende voorwaarden voldoen, om geschikt te zijn als basis voor een biologisch bestrijdingsmiddel. Behalve een goede effectiviteit tegen het doelorganisme onder verschillende omstandigheden zijn ook kweekbaarheid en houdbaarheid sleuteleigenschappen voor een succesvol middel. Hiermee moet in feite al rekening gehouden worden op het moment dat een organisme gekozen wordt voor onderzoek naar biologische bestrijding.

Enkele organismen die mogelijkheden bieden als biologische bestrijdingsmiddelen zijn:

Pochonia chlamydosporia (= *Verticillium chlamydosporium*)

Dit organisme is een eiparasiet van aaltjes die actief is tegen zowel cystenaaltjes als *Meloidogyne*. Onder gunstige omstandigheden kan deze schimmel de vermenigvuldiging van *Meloidogyne* sterk rem-



Figuur 5. *Pochonia chlamydosporia* hyphen penetreren een nematode.

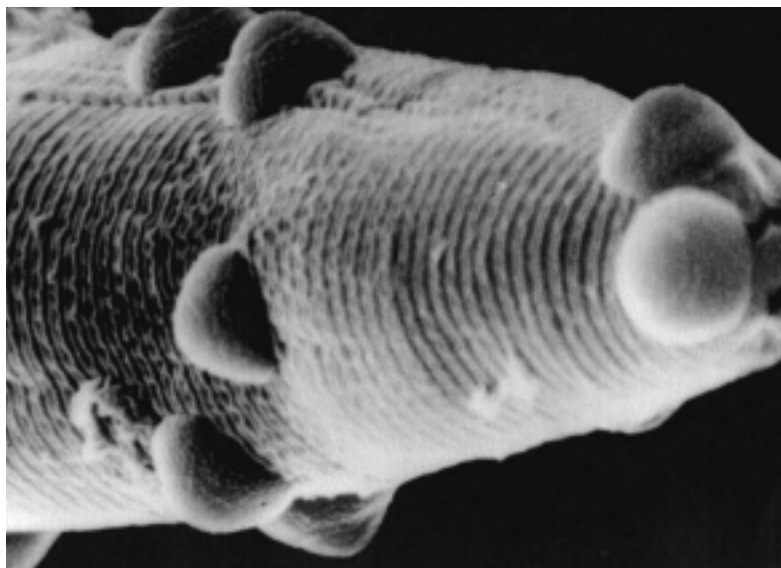
men. *Pochonia* is sinds het begin van de tachtiger jaren uitgebreid onderzocht, maar er zijn nog steeds problemen met de effectiviteit, vooral bij waardplanten waar de eiproppen van *Meloidogyne* ook in de wortel kunnen voorkomen. Verder lijken de problemen rond een efficiënte massakweek nog niet opgelost.

Paecilomyces lilacinus

Deze schimmel is een eiparasiet en is met succes getest tegen *Meloidogyne* en *Radopholus* op banaan. Een commercieel middel gebaseerd op deze schimmel was enkele jaren verkrijgbaar in de Filipijnen en Australië, maar de firma die dit middel op de markt bracht is niet meer actief. Het Duitse bedrijf Prophyta werkt momenteel aan de massakweek van deze schimmel en aan een toelating voor Europa.

Pasteuria penetrans

Pasteuria penetrans is een bacterie die een obligate parasiet is van aaltjes. Sporen van deze bacterie kunnen zich aan nematoden hechten, waarna de bacterie zich in het aaltje kan ontwikkelen. *Pasteuria* sporen kunnen bijzonder lang overleven in de bodem (tot 12 jaar). Twee grote problemen hebben tot nu toe de ontwikkeling van *Pasteuria* als commercieel middel bemoeilijkt. Ten eerste hebben veel stammen van *Pasteuria* een beperkte gastheerrange, zodat het lastig is een middel te maken dat breed inzetbaar is. Ten tweede was *Pasteuria* tot voor kort niet te kweken zonder



Figuur 6. *Pasteuria penetrans* sporen aangehecht aan een nematode.

nematoden. De problemen rond de toepasbaarheid van *Pasteuria* lijken nu voor een belangrijk deel opgelost. Uitgebreide testen met veel isolaten van *Pasteuria* hebben laten zien dat een aantal isolaten wel een brede gastheerrange heeft. Verder heeft een Japans bedrijf een methode ontwikkeld om *Pasteuria* zonder nematoden als gastheer op grote schaal te kweken. Hoewel deze methode geheim gehouden wordt, stelt dit bedrijf wel materiaal ter beschikking voor onderzoek.

Bij de ontwikkeling van microbiële middelen tegen nematoden lijken de belangrijkste problemen niet te liggen op het gebied van het vinden van efficiënte antagonisten. Het grootste probleem is duidelijk de investering die nodig is voor de toelating van een bestrijdingsmiddel. Verder zijn efficiënte kweekmetho-

den en formuleringen die een langdurige bewaring mogelijk maken cruciale stappen, die vaak onvoldoende onderzocht zijn. Toch is het duidelijk dat er een grote belangstelling is voor het ontwikkelen van biologische middelen, vooral in het kader van het wegvallen van efficiënte en goedkope chemische nematiciden. De wereldwijde uitbanning van het belangrijkste nematicide, methylbromide, is een stimulans voor de ontwikkeling van alternatieven. Maar het lijkt onwaarschijnlijk dat biologische middelen een vergelijkbare efficiëntie en lage prijs zullen bereiken als dergelijke chemische middelen.

Dit artikel is onder andere gebaseerd op onderzoek dat wordt uitgevoerd in het programma 397 van het ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij. Resultaten van het onderzoek van Leendert Molendijk (PPO-AGV) zijn in dit artikel verwerkt.

Digitaal maakt aaltjeskennis toegankelijk

Thea van Beers

PPO-agv, Lelystad



ARTIKEL

Al in de jaren zestig werd alle kennis over plantparasitaire aaltjes zo complex dat de behoefte ontstond een en ander schematisch weer te geven. Hijink en Oostenbrink publiceerden in 1968 de eerste versie van het aaltjesschema. De systematiek uit dat schema vormt de basis voor het aaltjesschema zoals dat nu nog gebruikt wordt door PPO.

In de loop der jaren is het schema verder uitgebreid met andere aaltjessoorten en gewassen en worden de stippen en kleuren aangepast aan de recente onderzoeksgegevens.

Momenteel omvat het totale aaltjesschema 113 gewassen (akkerbouw en vollegrondsgroenten, groenbesters en bolgewassen) en 37 aaltjes (cysteaaltjes, wortelknobbelaaltjes, stengelaaltjes, wortelsieaaltjes, vrijlevende wortelaaltjes en bladaaltjes) en door aaltjes overgebrachte virussen.

Systematiek van het aaltjesschema

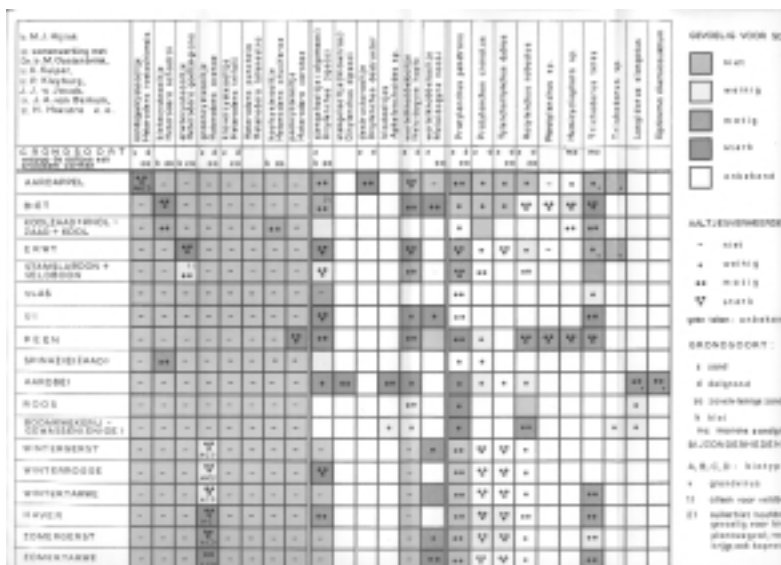
In het schema wordt de waardplantgeschiktheid van aaltjes op een gewas weergegeven met stippen. De kleur (hier in grijs-tinten) geeft de schadegevoeligheid weer. De waardplantgeschiktheid is de mate waarin een aaltje zich op een gewas kan vermeerderen. Aaltjes die meerdere generaties per jaar op een gewas voortbrengen, kunnen in één seizoen de besmetting van lage dichtheden tot maximale dichtheden opkrikken. Hoe hoog die maximale dichtheid is, hangt

vooral af van het gewas. De absolute aantallen verschillen sterk per aaltjessoort. De waardplantgeschiktheid is in het aaltjesschema daarom opgedeeld in de vermeerderingsklassen zoals in tabel 1 is weergegeven.

Met schadegevoeligheid wordt aangegeven in welke mate het ge-

was schade ondervindt van de betreffende aaltjessoort. Schade wordt veroorzaakt door de combinatie van schadegevoeligheid van het gewas en het aantal aaltjes bij aanvang van de teelt (besmettingsniveau).

De schade kan slaan op verlies in fysieke opbrengst maar kan ook betrekking hebben op de kwaliteit.



Figuur 1. Oorspronkelijk aaltjes schema van M.J. Hijink en M. Oostenbrink (1968).

Symbol	Actie	Beschrijving
?	onbekend	
--	actieve afname	Het gewas veroorzaakt gericht een afname van de aaltjes. Deze afname is sterker dan bij zwarte braak.
-	niet	Het aaltje kan zich niet vermeerderen. Tijdens de teelt van een dergelijk gewas daalt de populatie net zo sterk als wanneer het perceel in een volledige zwarte braak zou liggen?
•	slecht	Het aaltje kan zich op dit gewas maar weinig vermeerderen. De nagelaten besmettingsniveaus zijn laag?
••	matig	Het gewas laat matige besmettingsniveaus na?
•••	goed	Het gewas laat hoge aantallen aaltjes na.
R	rasafhankelijk	Geeft aan dat binnen de weergegeven vermeerdering rasverschillen bestaan.

Met de volgende kleuren wordt de schadegevoeligheid weergegeven:

wit	onbekend	
groen	niet	schade is nooit waargenomen, ook niet bij hoge aantallen
geel	weinig	zelfs bij hoge aantallen aaltjes treedt slechts beperkte schade (5 - 15%) op.
oranje	matig	Bij lage aantallen aaltjes valt geen schade te verwachten. Hogere aantallen leiden tot schade-niveaus tussen 15 en 33%.
paars	sterk	Een gering aantal aaltjes kan al forse schade veroorzaken. Een taelt van een dergelijk gewas vraagt om problemen en een volledige misoogst is mogelijk.



Figuur 4. Openings scherm digitaal.

Digitaal

Om de kennis die er is op het gebied van schade en vermeerdering door aaltjes op verschillende gewassen beter toegankelijk te maken is met financiering door Hoofdproductschap Akkerbouw (HPA) en LNV (programma 397-4-017) door PPO AGV te Lelystad een database aangelegd. Hiermee kan uit het totale aaltjesschema een uitsnede gemaakt worden van de gewassen en aaltjes die voor de gebruiker relevant zijn. Deze database, Digitaal, is vrij toegankelijk via www.kennisakker.nl onder het kopje advies in de bovenste balk.

Digitaal is een gereedschap dat behulpzaam kan zijn bij het maken van de juiste bouwplankeuzes. De teler kiest via een menu de gewenste gewassen en het systeem genereert vervolgens in Excel een aaltjesschema. Het systeem combineert zelf de relevante aaltjes bij de gekozen gewassen maar biedt ook de optie om zelf een keuze te maken uit de aaltjessoorten die bijvoorbeeld op een perceel gevonden zijn.

De toegevoegde waarde van Digitaal is de achtergrondinformatie die wordt ontsloten met behulp van het schema. Een klik op een vakje opent de informatie voor de betreffende gewas-aaltje combinatie.

Elk vakje in het schema is een hyperlink naar achtergrondinformatie aangevuld met fotomateriaal en bestrijdingsadviezen. Het schema maakt eenvoudig inzichtelijk waar de teler risico's loopt op het gebied van aaltjesbeheersing. Het systeem genereert geen bouwpladviezen, maar het systeem is een handig gereedschap bij het maken van aaltjesmanagement plannen.

Plannen voor 2004 en 2005

De eerst opzet van Digitaal was vanuit de akkerbouw en vollegrondsgroentesector, inmiddels is de informatie uit de bloembollensector toegevoegd. De volgende groep gewassen zijn de vaste planten en bomen. Mede op basis van de reacties van gebruikers zal het systeem verder ontwikkeld worden.

Een volgende stap is het toevoegen van hyperlinks naar relevante onderzoeksrapporten en vakblad-artikelen.

GEWASNAAM	Jaar	Volgr	Aardappelcysteaaltje	Glabodera rostocincosus / G. pallida	Witte bietencysteaaltje	Heterodera schachtii	Gele bietencysteaaltje	Heterodera betulae	Noordelijk wortelmotbeetlaaltje	Meloidogyne aprici	Meloidogyne mobilis	Meloidogyne chlamidati	Bedrieglijk maaiswortelmotbeetlaaltje	Meloidogyne fabae	Wortelcysteaaltje	Pratylenchus penetrans	Stengelbeetlaaltje	Ditylenchus dipsaci	Destructoraaltje	Ditylenchus destructor	geen nederlandse naam	Trichostrongylus axei	Tabakstralelvirus	Tabaksmotbeetlaaltje
aardappel	1	1	●●●●●						●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●
Bladammenaz	1	2				●●●																		
Suikerbiet	2	1				●●●	●●●																	
Zonewegst	3	1																						
Vaspen	4	1								●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●

Figuur 5. Uitsnede van enkele gewassen uit het totale PPO aaltjes schema.

ARTIKEL

'Kennis over quarantaine wortelknobbelaaltjes leidt tot betere maatregelen'

Frans Zoon (PRI, Wageningen), Leendert Molendijk (PPO, Lelystad) en Loes den Nijs (PD, Wageningen)

E-mail: Frans.zoon@wur.nl ; URL: www.nematodes.nl

ARTIKEL

Begin oktober 2003 vond in Wageningen een internationale workshop plaats over 'Quarantine Root-knot Nematodes in Europe' ('Quarantaine Wortelknobbelaaltjes in Europa'). Bijna honderd deelnemers debatteerden over de nieuw verworven kennis over deze kleine wormvormige plaagorganismen en de toepassing daarvan in plaagbeheersing, preventie en regelgeving. Het initiatief hiervoor lag bij Plant Research International (PRI), Praktijkonderzoek Plant en Omgeving (PPO) en de Nederlandse Plantenziektenkundige Dienst (PD). Deelname uit zestien landen en uit alle sectoren van agrarische (plantaardige) productie, handel, keuringsinstanties en beleid mag uniek genoemd worden. Zowel in de congreszaal als op het proefveld vond een dynamische uitwisseling van kennis en opinies plaats.

De wortelknobbelaaltjes *Meloidogyne chitwoodi* en *M. fallax* zijn een bedreiging voor de Europese landbouw. Vooral aardappel, schorseneer en peen ondervinden ernstige kwaliteitsschade door deze polyfage aaltjes, waardoor hele partijen onverkoopbaar worden. De aaltjes komen tot nu toe lokaal of regionaal voor, o.a. in Nederland en België. Ze zijn in Europa aangemerkt als quarantaine-aaltjes en dus onderworpen aan regels die verspreiding moeten voorkomen. Deze regels zijn geformuleerd op basis van kennis die toentertijd aanwezig was, maar

ook op ervaring met andere plaagorganismen en op (handels)politieke argumenten. Negeren van het probleem kan leiden tot onverwachte financiële rampspoed voor agrarische bedrijven en sectoren, met name in de export en verwerkende industrie.

De uitdaging voor de workshop was om de kennis die recentelijk vooral in Nederlandse en Europese onderzoeksprojecten is opgedaan te benutten voor verbetering van de beheersing op besmette percelen (uitroeiing is praktisch onmogelijk), voor betere preventie en controle, en voor rationele regelgeving in Europa en afzonderlijke landen. Deelnemers waren afkomstig uit dertien Europese landen en Canada, de VS en Nieuw Zeeland. Hun achtergrond varieerde van fundamenteel en praktijkgericht onderzoek tot voorlichting, inspectie, handel en beleid.

In de workshop werd de huidige kennis gepresenteerd over de bio-

logie, de beheersing in de teelt, resistentieveredeling in gewassen, verspreidingsrisico's en detectiemogelijkheden in grond en producten. Vervolgens werden aspecten van fytosanitaire regelgeving belicht vanuit Europees en nationaal standpunt en vanuit de positie van een pootaardappelexporteur. Ook een indrukwekkende excursie naar een PPO-proefveld in Noord-Limburg stond op het programma. Daar kon men de problematiek (schadesymptomen in verschillende gewassen) en het effect van resistente gewassen in de vruchtwisseling 'in levende lijve' aanschouwen.

De workshop heeft laten zien dat er mogelijkheden zijn om op basis van een aaltjesbeheersingsstrategie met de problemen om te gaan, vooral zodra de voorziene resistente gewassen beschikbaar komen voor de praktijk. Wel zal de keuzevrijheid van telers met betrekking tot hun gewasrotatie wor-



Veldexcursie te Smakt als onderdeel van de internationale workshop (foto PPO-AGV).

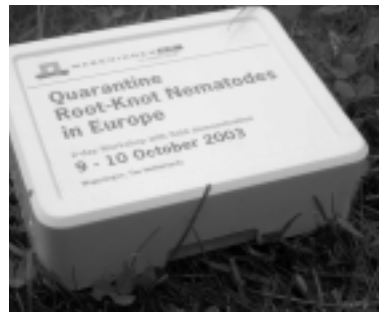
den beperkt. Voor de vermeerderers van plantmateriaal blijft er een groot probleem, vanwege een nultolerantie in verhandelde producten. Het Nederlands bedrijfsleven heeft laten zien vooruit te lopen in het herkennen en erkennen van de problematiek en heeft een voortvarende aanpak voor ogen. Handelaren in plant- en pootgoed zijn zich bewust geworden dat hun lange-termijn belang afhangt van vertrouwen in een product zonder verborgen gebreken en treffen daarom steeds vaker zelf maatregelen om het verhandelen van besmet materiaal te voorkomen. Ook zullen de uitkomsten van de workshop naar verwachting leiden tot harmonisering van de Europese en nationale regels die dienen om de verspreiding van deze quarantaine aaltjes te voorkomen.

Wetenschappelijk nieuws

Het is niet uitgesloten dat er nieuwe *Meloidogyne* soorten opduiken die de quarantaine-status verdienen. Een mogelijke nieuwe quarantainesoort, *Meloidogyne minor* (zie Karssen elders in dit nummer), heeft net als bovengenoemde quarantainesoorten zowel monocotyle (eenzaadlobbige) als dicotyle (tweezaadlobbige) waard-

planten en komt onder meer in Groot-Brittannië en Ierland voor op golfvelden. De nieuwe soort is vaak in combinatie met twee andere *Meloidogyne* soorten gevonden, waarvan de ene alleen dicotyle en de andere alleen monocotyle planten aantast. Er is gesuggereerd dat deze nieuwe polyfage soort zou kunnen zijn ontstaan door kruising tussen deze 'monofage' soorten. Het wachten is op het bewijs van afstamming in de vorm van DNA- en eiwit-onderzoek.

Nieuws is er ook op het gebied van plantresistentie en aaltjesvirulentie. Bij Plant Research International in Wageningen wordt een collectie van wortelknobbelaaltjes van verschillende herkomst bewaard en vermeerderd. De populaties die het goed doen op resistente (wilde) aardappels zijn andere dan die zich kunnen vermeerderen op bladrammenas (*Raphanus sativus*) of Italiaans raaigras (*Lolium multiflorum*). Elk gewas heeft blijkbaar verschillende resistentiegenen; bij aardappel en paprika meestal herkenbare dominante genen, bij bladrammenas en raaigras sets van gestapelde genen. Combinatie van beide typen resistentiegenen in een gewasrotatie draagt sterk bij aan de duurzaamheid van de resistentie, omdat selectie van virulente aaltjestypen wordt beperkt of nietgedaan. De virulentiegenen



Kennisoverdracht 'broodnodig'!

die in het kader van een Europees onderzoeksproject (www.eu-dream.nl) zijn gevonden kunnen bijdragen aan het ontwikkelen van gerichte tegenacties in planten.

Het gevaar van verspreiding van de aaltjes via plantgoed is niet denkbeeldig. In aardappelknollen kunnen *Meloidogyne*-eitjes zich onder de schil ontwikkelen. Zelfs in kleigrond, waar wortelknobbelaaltjes zich -in tegenstelling tot zandgrond- niet erg thuis voelen, is het mogelijk via besmette aardappelknollen de aaltjes te introduceren en vervolgens aangetaste dochterknollen te krijgen. Onderzocht wordt nog in hoeverre de vestiging in de grond op langere termijn standhoudt.

Door optimalisering van de vruchtwisseling en teeltmaatregelen kan er op besmette percelen toch rendabel worden geteeld. Slimme bouwplannen zijn geba-

ARTIKEL



Misvormde peen als gevolg van late aantasting door *Meloidogyne chitwoodi* (foto PPO-AGV).



Aardappelknol met knobbels waarin zich *Meloidogyne*-wijfjes met eieren bevinden (foto PPO-AGV).

seerd op het inzetten van de meest resistente voorvrucht voor het meest gevoelige gewas in de rotatie (Molendijk, 2000). Verwaarlozing van onkruidbestrijding kan echter roet in het eten gooien; in zwarte nachtschade (*Solanum nigrum*) en knopkruid (*Galinsoga* spp.) werden binnen acht weken tot 200.000 nakomelingen per plant gevonden. Het optreden van dergelijke onkruiden in resistente tussengewassen of in braakperiodes moet worden voorkomen.

Conclusie

Geleidelijk aan wordt duidelijk hoe we dit quarantaine-probleem geografisch zo beperkt mogelijk kunnen houden, waardoor minder onnodige handelsbelemmeringen optreden en er meer tijd is voor het vinden van oplossingen. Daarnaast wordt duidelijk hoe we veilig (en concurrerend) pootaardappels en ander plantgoed (bollen, bomen etc) kunnen blijven exporteren en importeren vanaf niet-besmette percelen. Hierbij is goede bemonstering en detectie, registratie door telers, handel en in-

spectie, en deugdelijke PD regulering van belang.

Door verbeterde gewasresistentie en 'slimme' gewasrotaties zal het mogelijk worden om ondanks besmetting met *Meloidogyne chitwoodi* of *M. fallax* toch knobbelvrije consumptieaardappels en gave peen te blijven produceren op een rendabele manier en met minimaal gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen.

Referenties:

Molendijk L.P.G. 2000. Aaltjesmanagement in de Akkerbouw. Kerngroep MJP-G, Ede. 36 pp met bijlage.

ARTIKEL

Visie van de pootgoedhandel op fytosanitaire maatregelen tegen *Meloidogyne*

G.A.M. Bovée (hoofd Productie/ logistiek HZPC Holland B.V.)

HZPC is één van de grootste pootgoedhandelshuizen in Europa en zelfs van de gehele wereld, met meer dan honderd jaar ervaring. HZPC exporteert naar meer dan zestig landen, verspreid over de gehele wereld.

De handel in pootaardappelen is een vertrouwenshandel, welke een belangrijke schakel is in de totale aardappelketen.

De teelt en verkoop van pootaardappelen zijn namelijk de basis van de hierboven genoemde aardappelketen. De kwaliteit en de uiteindelijke waarde van het product zijn uiteindelijk pas na acht maanden na ontvangst bekend voor de afnemer. Op dat moment heeft de afnemer zijn eindproduct, consumptieaardappel, in handen en kan pas dan de waarde van zijn aangekochte uitgangsmateriaal daadwerkelijk beoordelen.

De handel in pootaardappelen is lange termijn business. De periode van rasonwikkeling tot definitieve commercialisering beslaat gemiddeld genomen een periode van vijftien jaar.

Meloidogyne is voor de pootaardappel, als ook voor de leverancier en de afnemer, een serieuze bedreiging. Om die reden is het leveren van *Meloidogyne* vrij uitgangsmateriaal van essentieel belang.

De volgende maatregelen moeten genomen worden, om besmetting van pootaardappelen te voorkomen:

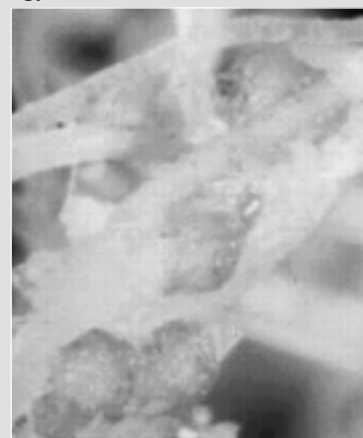
- | | |
|---------------------------------------|---|
| ● Studie van de ziekteverwekker | In beeld brengen van de: levenscyclus van de ziekteverwekker, de waardplanten en de symptomen |
| ● Inventarisatie van kennis | Telers van informatie voorzien |
| ● Localiseren van mogelijke infecties | Nemen van de noodzakelijke regelingen |
| ● Eliminatie van productievelden | Consequenties voor het perceel |

Conclusie:

We moeten leren van het verleden en werken aan de toekomst.

Het heeft geen zin, om met de vingers te gaan wijzen.

De sector zal de situatie in beeld moeten brengen, in goede samenwerking met overheid, wetenschap, handel en telers, om het vertrouwen dat de sector uitstraalt te behouden voor de toekomst.



Nieuws

Deze nieuwsrubriek brengt items over gewasbescherming die de redactie interessant vindt. Belangrijke criteria voor plaatsing van het nieuwsitem zijn:

- het bericht moet relevant zijn voor de gewasbescherming;
- het mag geen reclameboodschap bevatten;
- het moet afkomstig zijn van een van de erkende agrarische nieuwsbrennende tijdschriften, kranten, nieuwsbrieven, internetsites of autoriteiten;
- het moet naspeurbaar zijn naar de oorspronkelijke bron, die waar mogelijk wordt weergegeven.

Opinies van individuen of belangenorganisaties en visies en andere interpretaties van actuele onderwerpen kunnen als citaat worden opgenomen mits de bron bekend is.

Van harte nodigen wij u uit nieuwsitems bij de redactie aan te dragen.

Bruinrot blijkt Hollandse winter te overleven

De bruinrotbacterie blijkt taaier te zijn dan verwacht. Uit onderzoek van Leo van Overbeek van Plant Research International (PRI) blijkt dat de tropische bacterie watertemperaturen van vier graden overleeft. De bacterie blijkt dan niet meer virulent te zijn, maar in de natuur blijken volop virulente bacteriën aanwezig te zijn na de winter. Van Overbeek begrijpt dat eerder onderzoek niet kon laten zien dat de bacterie overleefde. "Het doodgaan van bacteriën is moeilijk vast te stellen. De bacterie gaat bij die temperatuur over in een ander stadium." Van Overbeek is geïnteresseerd in hoe de bacterie na de winter toch virulent kan blijken te zijn of hoe de knop weer omgaat naar virulentie.

Van Overbeek denkt dat de bacterie in het milieu mogelijk beschermd is tegen lage temperatuur. "Dat kan in de plant bitterzoet langs de waterkanten zijn of in diep water of modder. Feit is dat vanaf 1995 elk jaar grote hoeveelheden bruinrotbacteriën gevonden zijn in het kanaalwater. Dat zijn ook virulente vormen." In vervolgonderzoek wil PRI zich

richten op de milieukant van de bruinrot. Dan gaat het dus om hoe de bacterie overleeft en ziekmakend blijft. Verder werkt het Wageningse instituut samen met de Universiteit van Groningen. Bij dit onderzoek gaat het om de laboratoriumstudie van het organisme. Voor het onderzoek is gedeeltelijk geld beschikbaar. Het HPA betaalt mee aan de ontwikkeling van middelen. Bij het CTB ligt een aanvraag voor het waterbehandelingsmiddel Clarmarin op basis van waterstofperoxide en azijnzuur. Van Overbeek hoopt op geld van LNV voor ecologisch onderzoek. Bruinrot is een quarantaineziekte. In risicogebieden geldt een beregeningsverbod voor pootgoed.

Bron: Agrarisch Dagblad, 10-07-2004

Russen vertrouwen de PD niet

Een gebrek aan vertrouwen in de Nederlandse Plantenziektenkundige Dienst (PD) is de voornaamste reden voor de Russische importstop voor Nederlandse sierteelt die eind vorige maand is ingesteld.

Die conclusie trekt het Hoofd-

drijfschap Agrarische Groothandel (HBAG) uit het eerste gesprek dat de Nederlandse ambassadeur gisteren heeft gevoerd met het hoofd van de Russische federale dienst voor veterinaire en fytosanitaire controle in Moskou. Daar is het vermoeden gerezen dat de Nederlandse PD niet conform internationale eisen zou werken. Dat vermoeden wordt ondersteund nu blijkt dat Nederlandse sierteelt die in het buitenland is gecertificeerd wel geïmporteerd wordt. Directe aanleiding voor de importstop is dat in een partij fuchsia's het insect trips was aangetroffen.

Het blijkt theoretisch mogelijk de Russische importstop te omzeilen. Het HBAG maakt melding dat Nederlandse bloemen en planten die zijn voorzien van een niet-Nederlands fytocertificaat wel worden toegelaten in Rusland. Directeur Peter van Ostaijen van het HBAG kent de omzeiling van de Russische eisen, maar ziet het niet als een uitkomst. De Russische importstop komt hard aan. In totaal is 75 procent van de daar verkochte sierteelt afkomstig uit Nederland. De export naar Rusland groeide met 15,7 procent zeer sterk in de eerste maanden van het jaar. Verwachting was dat Rusland de Verenigde Staten dit jaar zou verdringen als grootste afzetmarkt -buiten de Europese Unie.

Bron: Westlandsche Courant, 09-07-2004

Biologische landbouw krimpt tegen de trend in

Terwijl de Europese Unie de biologische landbouw de komende tijd flink wil laten groeien, is deze vorm van landbouw in Nederland

NIEUWS

juist achterop. De bedrijfstak is in de eerste maanden van dit jaar opnieuw gekrompen.

Dat blijkt uit cijfers van stichting Skal, die de certificaten voor de biologische landbouw uitgeeft. Volgens de laatste peiling, op 1 april 2004, wordt 41.318 hectare landbouwgrond gebruikt voor biologische akkerbouw en veeteelt. Dat is 3,7 procent minder dan begin dit jaar. In diezelfde periode besloten 87 boeren (5,7 procent) te stoppen met de biologische productie.

Een enkeling heeft de landbouw voorgoed vaarwel gezegd. Anderen zijn teruggeschakeld naar de gangbare landbouw. Skal laat in de Eko-Monitor van Biologica, het platform voor biologische landbouw en voeding, weten dat de meeste boeren uit de biologische boot zijn gestapt omdat zé niet meer geloven in een grote markt voor hun producten. Of dat terecht is, valt nog te bezien. Ondanks de economische malaise en de prijzenslag in de supermarkten hebben consumenten in het eerste kwartaal meer biologisch voedsel gekocht. Kochten zij in de eerste drie maanden van 2003 samen voor 98 miljoen euro van deze producten, dit jaar was dat 102 miljoen euro.

De krimp in de biologische landbouw is in 2002 ingezet. Toen werd nog op 42.610 hectare landbouwgrond biologisch verbouwd. Vorig jaar was daar nog 41.865 hectare van over. De EU besloot vorige maand juist tot promotiecampagnes voor biologische producten en tot steun aan boeren die willen overstappen op biologische teelt.

Bron: Trouw, 10-07-2004

Tijdelijke vrijstelling voor grondontsmetter in bollen

Minister Veerman heeft vrijstelling gegeven voor het gebruik vanaf

vandaag van de grondontsmetingsmiddelen Nematrap en Telone-Cis in de bollenteelt.

Deze vrijstelling is een andere vrijstelling dan de overige vrijstellingen die de laatste tijd zijn gegeven voor het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen. De vrijstelling voor het gebruik van grondontsmetters op basis van de stof cis-dichloorpropeen is afgegeven omdat dit middel nodig is voor de bestrijding van stengelaaltjes in bollen. Stengelaaltjes gelden als een quarantaine-organisme en moeten worden bestreden op grond van een Europese verordening. De bollenteelt heeft weliswaar de beschikking over grondontsmetingsmiddelen op basis van de stof metamnatrum, maar deze middelen zijn niet effectief genoeg tegen het stengelaaltje. Volgens het landbouwministerie wordt het stengelaaltje jaarlijks in veertig tot vijftig hectare bollen vastgesteld.

Bron: Agrarisch Dagblad, 09-07-2004

NAV: economie stuurt gewasbeschermingsbeleid

Het verminderen van het gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen is een prima doel maar die reductie moet ook bedrijfseconomisch verantwoord zijn voor de akkerbouwers. Dat zegt de Nederlandse Akkerbouw Vakbond (NAV) in reactie op de kabinetsnota Duurzame gewasbescherming.

De akkerbouwvakbond constateert dat de economie de akkerbouwer vaak stuurt in de richting van het gebruik van chemische middelen in plaats van richting niet-chemische.

De NAV waardeert het dat het kabinet met de nota probeert de impasse die was ontstaan rond

gewasbescherming te doorbreken. De nota is niet alleen een goede stap om een brug te slaan tussen economische en maatschappelijke duurzaamheid, maar biedt ook aanknopingspunten om met nieuw elan te werken aan landbouw die met minder chemische middelen toe kan.

De NAV vindt dat de kabinetsomschrijving van geïntegreerde gewasbescherming niet compleet is. Daarnaast constateert de NAV dat economische prikkels richting geïntegreerde gewasbescherming ontbreken. De vakbond roept het kabinet op zich maximaal in te spannen om te voorkomen dat de ontheffingen voor het gebruik van onmisbare middelen worden gefrustreerd door beroepsprocedures.

Bron: Agrarisch Dagblad, 08-07-2004

'Eikenprocessierups landelijk bestrijden'

De eikenprocessierups moet landelijk bestreden worden. CDA-Kamerlid Ormel pleit voor een nationaal gecoördineerd bestrijdingsprogramma tegen de rups, waarvan de brandhaartjes huid, ogen en luchtwegen irriteren. De rups rukt behoorlijk op nadat hij ook al boven de grote rivieren was gesignaleerd.

Elke rups, die alleen in eikenbomen voorkomt, produceert een miljoen brandhaartjes, die in het ergste geval zelfs blijvend letsel kunnen veroorzaken.

Bron: Telegraaf, 07-07-2004

Syngenta wil toezichthouder voor gentech

Syngenta, het grootste agrochemieconcern ter wereld, pleit voor een onafhankelijke toezichthouder binnen de Europese Unie die de

ontwikkeling van genetisch gemanipuleerde gewassen volgt.

Nu hebben Europese toezichthouders te nauwe banden met nationale lidstaten. In dat opzicht zou de EU een voorbeeld kunnen nemen aan de 'Environmental Protection Agency' in de Verenigde Staten, wiens rol wettelijk is vastgelegd, zo zei de bestuursvoorzitter van Syngenta, Michael Pragnell, tijdens een persconferentie in Londen.

'Dat is de fundamentele uitdaging waar we in Europa voor staan, en het is geen uitdaging die snel wordt aangegaan', zei Pragnell.

Syngenta beschikt over vier onderzoekslaboratoria voor genetisch gemodificeerde organismen (ggo's): drie in Europa en één in de VS.

'We willen die tot drie terugbrengen om wetenschappers dichterbij te brengen en innovatie te versnellen', zei Pragnell.

Het in Basel gevestigde biotechbedrijf liet vorige week weten die activiteiten naar North Carolina in de VS te verplaatsen, waar het klimaat voor gevoedsel volgens Syngenta veel vriendelijker is. Die verplaatsing gaat gepaard met het verlies van 130 banen bij de Britse vestiging. De overgebleven 900 onderzoekers richten zich nog enkel op landbouwchemicaliën.

De EU versoepelde in mei haar zes jaar durende moratorium op goedkeuring van nieuwe biotechnologische voedselproducten en stond daarmee in principe de import toe van de door Syngenta ontwikkelde Bt-11-maïs, een 'zoete' variant van maïs. Daarop liet André Goig, directeur van de Europese tak van Syngenta, weten het genetisch veranderde maïs voorlopig niet in de EU te gaan verkopen, omdat de levensmiddelenindustrie door de publieke weerstand tegen gentech-gewassen huiverig is om genetisch gemodificeerde maïs af te nemen.

EU-milieucommissaris Margot Wallström liet weten voorlopig geen licenties te zullen verstrekken wegens het risico op besmetting van conventionele en biologische

producten door ggo's en wegens mogelijke gezondheidsrisico's.

Bron: *Financieele Dagblad*, 06-07-2004

Coëxistentie kost per gewas honderden miljoenen euro's

De EU is veel geld kwijt om te kunnen waarborgen dat transgene gewassen traditionele en biologische varianten niet besmetten. Dat brengt alleen al voor de teelt van maïs en koolzaad respectievelijk 300 en 450 miljoen euro met zich mee.

Dat stelt het Europees Economisch en Sociaal Comité (EESC), een EU-adviesorgaan. Daarbij is ervan uitgegaan dat tachtig procent van de geteelde maïs en koolzaad beschermd moet worden tegen transgene bestuiving.

Alleen die kosten al wijzen er volgens het EESC op dat wetgeving voor coëxistentie (naast elkaar telen van transgene en traditionele gewassen) moeilijk is, meldt Agra-Europe. Het adviesorgaan is kritisch en wil dat de Europese Commissie veel strengere eisen stelt. Brussel wil veel overlaten aan de lidstaten, maar de EESC zegt dat veel op EU-niveau moet worden geregeld. Het gaat dan om onder meer eisen voor een "goede transgene landbouwpraktijk", financiering van de kosten die ermee gepaard gaan en het regelen van de aansprakelijkheid voor eventuele schade.

De Europese Commissie komt in september met een voorstel over hoe hoog het toevallige transgene gehalte van zaden mag zijn. Zij heeft eerder gesuggereerd dat die grens moet liggen tussen 0,3 en 0,7 procent, afhankelijk van het gewas. De EESC wil dat die grens wordt gesteld op het laagst meetbare niveau. Dat is nu ongeveer 0,1 procent.

Bron: *Agrarisch Dagblad*, 06-07-2004

Broeikaseffect: vaker oogstschade

De land- en tuinbouw krijgen veel vaker te maken met oogstschade, als de uitstoot van broeikasgassen niet wordt teruggedrongen. Iedere vijf a tien jaar treedt dan schade op in de orde van grootte van 1 miljard euro.

Dat zei Pier Vellinga, van het Instituut voor Milieuvraagstukken van de Vrije Universiteit Amsterdam, gisteren op een congres over het klimaatprobleem. Het beleidsvoornemen van staatssecretaris Pieter van Geel (milieu) - een reductie van de uitstoot van broeikasgassen met 30 procent in 2020 ten opzichte van 1990 - is volgens hem minimaal nodig, wil de samenleving niet met hoge kosten opgepadeld worden door opwarming van aarde.

De forse stijging van de zeespiegel die dat tot gevolg heeft, vormt een bedreiging voor het vestigingsklimaat in Nederland, zei hij. In de landbouw kunnen warmere zomers leiden tot meer opbrengst, maar ook tot meer mis-oogsten: door de warmte regent het meer, of droogt de grond juist uit. "De frequentie van heftige schommelingen neemt toe. Waar eerder eens in de 15 jaar een mis-oogst was, wordt dat nu twee keer zo vaak." Precieze berekeningen zijn nog niet beschikbaar.

Boeren kunnen op de klimaatverandering inspelen via de waterhuishouding of door te kiezen voor bepaalde gewassen. Vellinga verwacht dat meer gewassen in kassen worden verbouwd, omdat daar het klimaat te beheersen is. CPB en RIVM ramen de kosten voor Nederland van een emissiereductie met 30 procent op 0,8 procent van het reëel nationaal inkomen. Voorwaarden zijn dat ontwikkelingslanden meedoen en dat het systeem van emissie-han-

NI EUWS

del goed werkt. Anders worden de kosten veel hoger. Nederland zal naar verwachting 50 tot 80 procent van de emissiebesparing kopen in het buitenland.

Bron: *Agrarisch Dagblad*, 01-07-2004

LNV: Flora- en Faunawet geen belemmering voor biologische bestrijding

TIJS KIERKELS

Sinds de Flora- en Faunawet van 2002 is de inzet van biologische bestrijders gereguleerd. Momenteel moet iedereen die deze beestjes wil gebruiken een ontheffing aanvragen, maar omdat niemand dat een gewenste situatie vindt, werkt het ministerie van LNV aan een aparte Algemene Maatregel van Bestuur. Deze regelt vrijstelling van het verbod op uitzetten van dieren in de vrije natuur - naast een aantal andere zaken. Voor het zomerreces gaat deze Algemene Maatregel van Bestuur naar de ministerraad en daarna naar de Tweede Kamer. Dat betekent dat de vrijstelling in de loop van de herfst van kracht kan worden. En niet nog voor de zomer, zoals belangenvereniging Artemis aanneemt.

Ook de huidige wet biedt dus een mogelijkheid tot ontheffing. Maar dat is een procedure met veel administratieve lasten, die bovendien openstaat voor bezwaar en beroep en dus lang kan duren. Zowel het ministerie als het bedrijfsleven zien liever een eenvoudigere procedure voor beestjes waarvan vaststaat dat ze niet schadelijk zijn voor onze natuur.

De beoordeling van de huidige biologische bestrijders op schadelijkheid voor de natuur is gereed. Het wachten is echter nog op de wet. Daarna kan de vrijstellingslijst

gepubliceerd worden. Voor nieuwe biologische bestrijders zal vrijstelling of ontheffing aangevraagd moeten worden. Als het om een inheems insect, mijt of aaltje gaat waar al vrij veel over bekend is, zal dat vaak vrij soepel gaan. Dan moet alleen beoordeeld worden of het uitzetten van grote aantallen - wat bij biologische bestrijding aan de orde is - tot schade kan leiden. Bij buitenlandse soorten zal het ingewikkelder zijn. Dit zijn overigens wel de meeste gebruikte soorten in kassen. Artemis voert aan dat hoge onderzoekskosten voor de toelating de innovatie zullen frustreren. Het ministerie beaamt dat een goede beoordeling van eventuele schadelijkheid geld kost, maar denkt dat de Flora- en Faunawet niet voor belemmeringen zal zorgen.

Dat leert het voorbeeld van de Californische lieveheersbeestjes. Die werden in de natuur verzameld en door gemeenten ingezet bij de luisbestrijding. Toen de bezwaren daartegen aangekaart werden, schakelden de producenten over op de kweek van inheemse soorten. Die zijn minder schadelijk en kwamen bovendien niet uit de natuur. Het voorbeeld leert dat het bedrijfsleven wel degelijk de flexibiliteit heeft om rekening te houden met nieuwe eisen. "De sector staat nog aan het begin van de ontwikkeling. De bedrijven zijn begonnen met soorten die weinig onderzoek vergden. Meer selectie en effectiever zoeken naar nieuwe soorten biedt zeker nog perspectief. Duidelijkheid over de voorwaarden kan ook juist een stimulans zijn voor innovatie."

Bovendien valt aan regulering niet te ontkomen. Nederland heeft in internationaal verband afgesproken de natuur te beschermen tegen invasieve soorten. Ook andere landen moeten die afspraken in wetgeving vertalen. En Nederland wil daarbij zeker niet strenger zijn dan het buitenland, aldus LNV. Aan het ontwerp zit overigens nog een internationale kant. Ook bij export mogen de biologische be-

strijders, die in Nederland gebruikt worden, geen ecologische risico's veroorzaken. Dat vergt bijvoorbeeld dat sluipwespen die in de groenteteelt gebruikt worden en mogelijk met groenten mee geëxporteerd worden, in het land van bestemming geen schade kunnen veroorzaken. De Plantenziektenkundige Dienst studeert nog hoe dit gereguleerd moet worden.

Bron: *Agrarisch Dagblad*, 12-06-2004

Inspectie mineervliegen

Op teeltmateriaal van vaste planten moet tenminste drie maanden vóór aflevering een maandelijke inspectie op de mineervliegen *Liriomyza huidobrensis* en *Liriomyza trifolii* zijn uitgevoerd. In 2003 is deze regelgeving van toepassing geworden en leverde nogal wat weerstand op. Ook bij de aanvang van de inspecties waren er dit jaar enkele problemen. Deze zijn na toezending van aanvullende informatie aan de betrokken bedrijven grotendeels opgelost. De twee soorten mineervliegen die als Quarantaine-organismen zijn aangemerkt zijn tot nu toe niet aange troffen, wel een aantal andere mineervlieg-soorten.

Bron: *NAKTUINBOUWNIEUWS juni 2004*

Toets op resistentie tegen slaluis

Naktuinbouw Laboratoria heeft een biotoets ontwikkeld, waarmee de resistentie van slarassen bepaald kan worden tegen luizen. Tegen *Nasonovia ribisnigri*, een luizensoort die veel in sla voorkomt en daar grote schade veroorzaakt, is al langere tijd resistentie in sla bekend. Uit

onderzoek is gebleken dat de resistentie berust op één dominant gen. Ook is bekend dat de slaplant géén voor slaluizen giftig stofje aanmaakt ter verdediging, maar de beestjes als het ware de eetlust ontnemen. Gevolg is, dat de luizen niet verder groeien en/of nakomelingen produceren. 'Onze' luizen Inmiddels zijn al heel wat slarassen en -lijnen van veredelaars in binnen- en buitenland aan 'onze' luizen aangeboden, om na een tijd te kunnen meten of de luizenpopulatie gegroeid is en / of schade op de slaplanten heeft veroorzaakt. Onze' luizen zeggen we heel bewust, omdat *N. ribisnigri*, het prachtige oranje biotype, bij Naktuinbouw met veel succes zelf voor de toetsen wordt gekweekt!

Bron: NAKTUINBOUWNIEUWS juni 2004

Verticillium dahliae detectie op spinaziezaad

Onlangs is een schimmeltoets beschikbaar gekomen binnen Naktuinbouw Laboratoria, die *Verticillium dahliae* kan aantonen in spinaziezaad.

Verticillium dahliae is een belangrijke, bodemgebonden schimmel die in een groot aantal gewassen schade kan veroorzaken. Naktuinbouw gebruikt al jaren een toets om microsclerotien, typische microscopische persistente overlevingsstructuren van deze schimmel, in grond aan te tonen. Hierbij wordt een bepaalde zeeffractie uitgeplaat op het voor *V. dahliae* ontwikkelde semi-selectieve medium MSEA (Modified Soil Extract Agar). Onderzoek in de USA (Lindsey du Toit, Washington State University) heeft aangetoond dat spinazie ook een waardplant is van *V. dahliae*. De schade door de schimmel kwam met name tevoorschijn in percelen voor zaadproductie. Het bleek dat *V. dahliae* systemisch in

de planten aanwezig kan zijn. Met behulp van de filtreerpapiermethode bleek ook dat spinaziezaaden besmet kunnen zijn met deze schimmel. Inmiddels heeft Mexico fytosanitaire maatregelen getroffen waardoor zaadpartijen met een hogere besmettingsgraad dan 10% niet meer worden toegelaten.

Nieuwe toets

Binnen de afdeling Onderzoek & Ontwikkeling is nagegaan of we *V. dahliae* op zaad kunnen aantonen. Hierbij zijn zaden van een besmette partij getoetst met behulp van uitleggen op het MSEA-medium en met de Amerikaanse filtreerpapiermethode. Uit de resultaten bleek dat het aantal besmette zaden significant hoger was, wanneer het semi-selectieve medium werd gebruikt. Typische microsclerotien op de zaadhuid en in het medium konden na incubatie op MSEA-medium makkelijk gevonden worden, doordat andere schimmels nauwelijks groeien op het semi-selectieve medium. Door het toevoegen van een kiemremmer aan het MSEA-medium kon bovendien de kieming van de zaden geremd worden, waardoor beoordeling van de zaden vergemakkelijkt werd. Inmiddels kan de toets aan belangstellenden worden aangeboden.

Bron: NAKTUINBOUWNIEUWS juni 2004

Inzet roofmijt tegen spint en mijt in laanbomen

In het Praktijknetwerk Telen met toekomst zijn onlangs in Opheusden de eerste roofmijten uitgezet in verschillende laanboomgewassen tegen bonespint en roestmijt. Met dit uitzetten wil PPO Bomen bezien hoe plagen met behulp van

natuurlijke vijanden onder controle te houden zijn. De komende maanden nemen we om de drie weken bladmonsters van *Fraxinus*, *Tilia*, *Acer* en *Carpinus* om de ontwikkeling van roestmijt en spint te volgen. Op deze manier kunnen we goed na gaan hoe de verhouding is tussen de plaag en de ontwikkeling van de roofmijt. De gebruikte roofmijt (*Amblyseius andersoni*) is gevonden in struikroenteelt en overwintert gewoon buiten. We hebben deze roofmijt verder gekweekt voor toepassing als natuurlijke vijand in diverse boomkwekerijgewassen. De bedoeling is deze roofmijt ook uit te zetten tegen bonespint op twee bedrijven met struikroenteelt, ook deelnemers van het project Telen met Toekomst.

Bron: PPO, Wageningen-UR

Roettoets - Hyacint

Veel partijen hyacintenbollen worden standaard ontsmet tegen roet, omdat in het verleden veel aantasting voorkwam. Ook worden kleine maten en weinig gevoelige cultivars soms uit voorzorg meebehandeld. Bovendien worden soms partijen ontsmet terwijl er geen besmetting in de partij of op het bedrijf aanwezig is.

Om zeker te zijn van de noodzaak van een ontsmettingsbehandeling heeft PPO een speciale roettoets voor hyacint ontwikkeld, die uitgevoerd kan worden op monsters van partijen waar men twijfelt over heeft. Op deze manier kan de toets onnodig ontsmetten voorkomen en daarmee de kans op andere witsnot en leeglopers te voorkomen.

Op deze pagina kunt u informatie vinden over het nemen van een monster, hoe u een roettoets kunt aanvragen en hoe u aan de hand van de toetsuitslag kunt beslissen over een eventuele ontsmetting.

Bron: PPO, Wageningen-UR

Brussel akkoord met Fonds kleine toepassingen

De Europese Commissie is akkoord gegaan met de steunmaatregel 'Fonds kleine toepassingen'. Minister Veerman van LNV had voor dit fonds goedkeuring van Brussel nodig.

Uit het fonds wordt financiële steun verleend aan toelatingsaanvragen voor gewasbeschermingsmiddelen. Het moet dan gaan om kleine toepassingen, dus toepassingen in situaties waarin de kosten van toelating zich niet verhouden tot de mogelijkheden voor de fabrikant om die terug te verdienen. Ook uitbreidingsaanvragen van reeds toegelaten middelen kunnen steun krijgen uit het fonds. Voor de periode 2004-'08 is jaarlijks maximaal 1.700.000 aan steun beschikbaar. Het ministerie van LNV vult de ene helft van het fonds, de andere helft komt uit heffingen van het Hoofdproductschap Akkerbouw en het Productschap Tuinbouw. De Plantenziektenkundige Dienst is belast met het secretariaat en de uitvoering. Het Fonds kleine toepassingen is een belangrijk instrument om een effectief pakket gewasbeschermingsmiddelen samen te stellen. Deze steunmaatregel is een van de afspraken in het Convenant Duurzame Gewasbescherming.

Bron: Boerderij eindredactie, 13 juli 2004

Biologische bestrijding wellicht beter met mengteelten

De sluipwesp *Diadegma semiclausum* weet koolplanten die verstopt zijn tussen gerst nog uitstekend op te sporen. En als de kool tussen mosterdplanten staat, komen er zelfs éxtra sluipwespen op af. Door

slim gebruik te maken van mengteelten kan men in de toekomst de biologische bestrijding van plagen wellicht verbeteren. Dat blijkt uit promotieonderzoek van Tibor Bukovinszky aan Wageningen Universiteit.

Het telen van uitgestrekte percelen met slechts één gewas is vragen om moeilijkheden. Je organiseert zo immers een massale picknick voor plaagorganismen die maar al te graag in grote aantallen komen opdagen. Het is bekend dat in mengteelten de problemen met plagen veel beter te beheersen zijn. Aan mengteelten kleven echter wel allerlei praktische nadelen. Bovendien is nog nauwelijks bekend welke effecten plantengemengsels precies hebben op verschillende plaagorganismen en hun natuurlijke vijanden.

Bukovinszky heeft in zijn promotie-onderzoek door experimenten en veldobservaties geprobeerd uit te zoeken waarom er in mengteelten minder plaaginsecten voorkomen en hoe natuurlijke vijanden reageren op vegetatiediversiteit. Bukovinszky vond dat plaaginsecten als de melige koolluis, het koolwitje en de koolmot zich heel verschillend verspreiden als de koolplanten hier en daar in een veld gerst staan. De luizen gaan niet echt actief op zoek naar spruitkool, maar verspreiden zich voornamelijk passief met de wind. Het koolwitje, dat actief op zoek gaat en relatief veel gebruik maakt van visuele informatie, weet de koolplanten goed te vinden. De

koolmot, die vooral op geursignalen afgaat, heeft vooral veel moeite de kleinere plekken met koolplanten op te sporen.

Om het effect van mengteelt op natuurlijke vijanden te onderzoeken werden experimenten uitgevoerd met de sluipwesp *Diadegma semiclausum*, die haar eitjes legt in de rupsen van de koolmot. Deze sluipwesp wordt aangetrokken door de geur van spruitkool, maar nog meer door de geur van witte mosterd. Op zowel spruitkool als witte mosterd komen rupsen van de koolmot voor. De kwaliteit van de rupsen op mosterd is voor de sluipwesp waarschijnlijk beter, waardoor ze een voorkeur voor de geur van mosterdplanten ontwikkeld hebben, aldus Bukovinszky. De aanwezigheid van mosterdplanten trekt populaties van sluipwespen aan en houdt deze sluipwespen ook langer vast. Voor gerstplanten geldt het omgekeerde: ze zorgen voor een afname van de populatie doordat er minder sluipwespen immigreren. Bukovinszky denkt dat met dit 'trek- en duwsysteem' in de toekomst de biologische bestrijding van plagen in het open veld misschien beter gestuurd kan worden. Met een lokgewas kun je de sluipwespen op de juiste plaats krijgen en omdat sluipwespen leren van hun ervaringen kunnen ze dan wellicht ook de plaag in het andere gewas snel en efficiënt aanpakken.

Bron: WB(Weekblad voor Wageningen UR), 24/06/04

De redactie van Gewasbescherming besteedt bij het verzamelen van de informatie voor de rubriek Nieuws aandacht en zorg aan de juistheid van deze informatie, maar kan deze niet garanderen. De items in de rubriek Nieuws geven de zienswijze van de betreffende bron weer en uitdrukkelijk niet die van de redactie of van de KNPV. De redactie is niet verantwoordelijk en/of aansprakelijk voor eventuele fouten en onvolkomenheden in de verstrekte informatie.