

GEWASBESCHERMING

Mededelingenblad van de Koninklijke Nederlandse Plantenziektkundige Vereniging

NUMMER
5

GEWASBESCHERMING | JAARGANG 50 | NUMMER 5 | OKTOBER 2019

*Themanummer:
Onderzoek aan effectoren –
Moleculaire interacties tussen
planten en ziekteverwekkers*



[KNPV

Foto voorpagina: De Jakob Erikssonprijs, uitgereikt aan emeritus hoogleraar Fytopathologie Pierre de Wit voor zijn onderzoek naar de moleculaire interacties tussen planten en plantenziekten.

Gewasbescherming,
het mededelingenblad van de KNPV,
verschijnt zes keer per jaar.

Redactie

Doriet Willemen (KNPV) hoofdredacteur,
e-mail: redactie@knpv.org;
Jeroen Vorstman (NVWA),
secretaris,
j.c.m.vorstman@minlnv.nl;
Marianne Roseboom-de Vries,
administratief medewerker,
m.roseboom2@upcmail.nl;
Erno Bouma
(HAS hogeschool), er.bouma@has.nl;
Dirk-Jan van der Gaag
(NVWA), d.j.vandergaag@nvwa.nl;
Hans Mulder
(Syngenta Seeds), mulder.jg@gmail.com;
Tjarda Everaarts (HLB), t.everaarts@hlbbv.nl.
Kyra Broeders (Nefyto), kbroeders@brabers.nl.

Redactie-adres

Postbus 31, 6700 AA Wageningen

Internet

www.knpv.org, info@knpv.org

Abonnementen en lidmaatschappen

De lidmaatschaps/abonnementskosten
van de KNPV, inclusief het tijdschrift
Gewasbescherming (6x per jaar), bedragen:

- Nederland en België € 30,-¹
- overige landen € 40,-
- lid-donateur (bedrijven
en instellingen) € 75,-¹
- student-lidmaatschap € 15,-²
- losse nummers (ex. porto) € 6,-

Abonnement EJPP

- Personen die lid zijn van de KNPV kunnen
tegen gereduceerd tarief een abonnement
verkrijgen op het *European Journal of
Plant Pathology* (tarief 2017):
€ 230,-¹ incl. lidmaatschap KNPV;
buiten Nederland en België € 240,-.

Lidmaatschappen en abonnementen lopen
van 1 jan. tot en met 31 dec. Ze kunnen op
elk gewenst moment ingaan. Eventuele
beëindiging dient voor 1 december
schriftelijk te worden gemeld.

Correspondentie

Alle correspondentie betreffende de leden-
administratie, contributie en adressen voor
de verzending van Gewasbescherming kunt
u richten aan:

Huijbers' Administratiekantoor,
Postbus 244, 6700 AE Wageningen,
tel.: 0317-421545,
e-mail: administratie@knpv.org.

Alle overige vragen kunt u richten aan de
secretaris van de KNPV, Frits van der Zweep,
Postbus 31, 6700 AA Wageningen,
e-mail: secrknpv@gmail.com.
KvK nummer 40120356.
Rekeningnummers:
NL 11 INGB 0000923165 en
NL 43 ABNA 0539339768, ten name van KNPV,
Wageningen. Betalingen o.v.v. uw naam.

Adreswijzigingen

- zelf aanpassen op www.knpv.org
- doorgeven aan administratie@knpv.org

**Bestuur Koninklijke Nederlandse
Plantenziektkundige Vereniging**

Willem Jan de Kogel (Wageningen
University & Research), voorzitter
Frits van der Zweep, secretaris
Marleen Riemens (Wageningen Plant
Research), penningmeester
Doriet Willemen (KNPV), hoofdredacteur
Gewasbescherming
Rob Kerkmeester (Has Hogeschool,
Den Bosch),
Gerard Korthals (Wageningen Plant Research),
Peter Leendertse (CLM),
Martijn Schenk (NVWA),

KNPV-werkgroepen

Bodempathogenen en bodemmicrobiologie

voorzitter: mw. Joeke Postma (Wageningen
Plant Research)
secretaris: Gera van Os,
Aeres Hogeschool
e-mail: g.van.os@aeres.nl

Fusarium

voorzitter: Cees Waalwijk (Wageningen
Plant Research)
secretaris: Anne van Diepeningen
Wageningen University & Research, postbus 16,
6700 AA Wageningen,
e-mail: anne.vandiepeningen@wur.nl

Oömyceten

voorzitter: Peter Bonants (Wageningen
Plant Research)
e-mail: peter.bonants@wur.nl

Nematoden

voorzitter: Leendert Molendijk (Wageningen
Plant Research)
secretaris: Natasja Poot,
Eurofins Agro Holland BV, Postbus 170,
6700 AD Wageningen
e-mail: natasja.poot@eurofins-agro.com

Graanziekten

voorzitter: Gert Kema (Wageningen
Plant Research)
secretaris: Theo van der Lee
(Wageningen Plant Research)
e-mail: theo.vanderlee@wur.nl

Fytobacteriologie

voorzitter: Leo van Overbeek (Wageningen
Plant Research)
secretaris: Roland Willman (Syngenta Seeds)
e-mail: roland.willmann@syngenta.com

Gewasbescherming en Maatschappelijk Debat

contactpersoon: Rob Kerkmeester
(Has Hogeschool Den Bosch)
e-mail: r.kerkmeester@has.nl
Jan Buurma (Wageningen Economic Research)
Peter van Kampen (NVWA)
Peter Leendertse (CLM)
Petra van der Goes (Dummen Orange/Plant
Quality Control)

Jongeren

contactpersoon: Kees Westerdijk
(Aeres Hogeschool, Dronten)
e-mail: k.westerdijk@aeres.nl

Fungicidenresistentie

voorzitter: Huub Schepers (WUR-Open Teelten)
secretaris: Ivonne Elberse (NVWA)
e-mail: i.elberse@nvwa.nl

Insecticidenresistentie

voorzitter: Guy Smagghe (Universiteit Gent)
secretaris: Claudia Jilesen (NVWA)
e-mail: c.j.t.j.jilesen@nvwa.nl

Onkruidbeheersing

voorzitter: Corné Kempenaar
(WUR-Plant Research)
secretaris: Erwin Mol (NVWA)
e-mail: e.s.n.mol@nvwa.nl

KNPV-Commissies

**Bijzondere Normcommissie 14:
Nederlandse Namen van Plantenziekten**

voorzitter: Ko Verhoeven (NVWA)
e-mail: j.th.j.verhoeven@nvwa.nl
secretaris: Hans de Gruyter (NVWA)
e-mail: j.de.gruyter@minlnv.nl

Richtlijnen voor auteurs

Deze zijn te vinden op de internetpagina
www.knpv.org.
Het volgende nummer verschijnt in december.
Bijdragen graag uiterlijk 2 december aanleveren.

Druk en vormgeving

GVO drukkers & vormgevers B.V., Ede,
vormgeving: Michel Hildebrand.

ISSN 0166-6495

De redactie van Gewasbescherming en het bestuur
van de KNPV aanvaarden geen aansprakelijkheid
voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen
ontstaan bij het gebruik van de gegevens die in
deze uitgave zijn gepubliceerd.

¹ Bij machtiging automatische incasso voor Nederland € 5 korting.

² Bij machtiging automatische incasso voor Nederland € 2,50 korting.

Themanummer: Onderzoek aan effectoren

Doriet Willemen

Hoofdredacteur
Gewasbescherming

In 2018 ontving emeritus hoogleraar Pierre de Wit in Boston de Jakob Erikssonprijs, een oeuvreprijs voor zijn baanbrekende onderzoek naar de moleculaire interacties tussen planten en plant-pathogenen. Het toekennen van de prijs was aanleiding hem te vragen een overzichtsartikel te schrijven voor *Gewasbescherming*. Pierre de Wit gaf aan graag mee te werken en dit resulteerde al snel in een uitgebreid artikel over veertig jaar onderzoek aan de bladvlekkenziekte van tomaat. Naast persoonlijke ervaringen over zijn werk als onderzoeker, vertelt hij ook over de historie van het moleculaire plant-microbe onderzoek en geeft uitleg over de reacties die ten grondslag liggen aan de gen-om-gen relatie.

Jubileumnummer

Besloten werd vervolgens om het artikel van Pierre de Wit te gebruiken als basis voor een themanummer over de rol van effectoren bij plantenziekten. Een effector is, kort gezegd, een eiwit van een schimmel (of van een andere ziekteverwekker) dat

de afweer van een plant saboteert. Effectoren spelen dan ook een belangrijke rol in het infectieproces en bij het ziekteverloop. Er wordt in Nederland op meerdere plaatsen onderzoek gedaan naar uiteenlopende effectoren, zowel bij schimmels als ook binnen andere plant-parasiet systemen. Dit jubileumnummer van *Gewasbescherming* – dit kalenderjaar verschijnt de 50^e jaargang – besteedt hier uitgebreid aandacht aan.

De geneugten van het onderzoek

Onderzoek doen, een wetenschappelijke doorbraak, het lijkt soms – zeker achteraf – zo gemakkelijk. Maar er is vaak hard werken en een enorm geploeter aan vooraf gegaan. Bovendien kan in de loop van een onderzoeksproject de vertwijfeling toeslaan: Hoe kan ik deze resultaten verklaren? Zit ik eigenlijk wel op de goede weg?? Waarom ben ik hier ooit aan begonnen??? Menig onderzoeker kan er over meepraten. Zo ook de winnaar van de Jakob Erikssonprijs. De Wit begon zijn promotieonderzoek aan



Pierre de Wit ontving in 2018 in Boston de 12e Jakob Eriksson Prijs uit handen van prof. Mauritz Ramstedt (links), voorzitter van de Jacob Eriksson Commissie, en Ulla Gjørstrøm (rechts), afgevaardigde van het Zweeds Consulaat), in aanwezigheid van zijn familie.

Cladosporium fulvum met de nodige strubbelingen. Gelukkig zette hij door. Misschien is het een kleine aanmoediging voor de huidige promovendi en andere onderzoekers, die – om wat voor reden dan ook – soms tegenslagen te verduren krijgen bij hun experimenten. Wanneer er na verloop van tijd toch een resultaat ligt en er weer een beetje meer inzicht verkregen is in de moleculaire mechanismen van plantenziekten, kan dat veel voldoening geven.

Toepassing van kennis in de praktijk

Het onderzoek aan effectoren heeft zich in de loop der tijd flink ontwikkeld en uitgebreid. Waar het ooit begon met onderzoek aan uitsluitend schimmelziekten, zijn er in de loop der jaren ook bij oömyceten, bacteriën en nematoden effectoren gevonden. Ook de onderliggende mechanismen worden steeds verder ontrafeld. Er blijken niet alleen ‘simpele’ gen-om-gen relaties te

bestaan, maar er zijn ook groepen effectoren ontdekt die breed voorkomen en op meerdere punten kunnen aangrijpen. Drie Nederlandse hoogleraren, verbonden aan respectievelijk de Universiteit van Amsterdam, Universiteit Utrecht en Wageningen Universiteit, hebben voor dit themanummer ook een artikel geschreven. Ze doen verslag van de onderzoeken in hun laboratoria en wat deze bevindingen kunnen betekenen voor de gewasbescherming in de praktijk. Het is vaak een lange weg van nieuw verworven kennis tot praktische toepassing, maar er zijn zeker genoeg aanknopingspunten, waarbij extra financiering en versoepeling van de wetgeving rondom CRISPR-Cas de ontwikkelingen zouden kunnen versnellen.

De artikelen in dit nummer zijn af en toe best pittig. Maar dat mag. Wie er eens goed voor gaat zitten, krijgt een mooi compleet overzicht van de eerste historische ontdekkingen tot de meest recente inzichten.

Veertig jaar onderzoek aan de bladvlekken- ziekte van tomaat

Pierre J.G.M. de Wit

*Emeritus hoogleraar
Fytopathologie,
Laboratorium voor
Fytopathologie, Wageningen
Universiteit & Research*

Inleiding

Toen ik op 5 juni 2014 afscheid nam als hoogleraar Fytopathologie, had ik bijna 40 jaar onderzoek gedaan aan de schimmel *Cladosporium fulvum*, de veroorzaker van de bladvlekkenziekte van tomaat. Na mijn afstuderen in de plantenziektenkunde aan de toenmalige Landbouwhogeschool in 1974 met Biochemie, Fytopathologie en Plantenfysiologie als afstudeervakken, startte ik in september van hetzelfde jaar met mijn promotieonderzoek aan dit pathosysteem bij de vakgroep Fytopathologie.

Bij de vakgroep Fytopathologie kwam in doctoraalcolleges en *capita selecta* de gen-om-gen hypothese vaak aan de orde, een hypothese opgesteld door Harold Flor in de jaren 40 van de vorige eeuw op grond van zijn onderzoek aan vlas en de vlasroestschimmel *Melampsora lini* (Flor, 1942). Minder bekend is dat professor Oort, de voorganger van professor Dekker, een vergelijkbare hypothese had opgesteld voor stuifbrand van tarwe veroorzaakt door de schimmel *Ustilago tritici* (Oort, 1944). Oorts werk werd echter niet vaak geciteerd in de literatuur omdat

hij het gepubliceerd had in het Nederlandstalige Tijdschrift over Plantenziekten, de voorganger van The Netherlands Journal of Plant Pathology, nu The European Journal of Plant Pathology. Flor toonde aan dat de vererving van resistentie in de waardplant en het vermogen van het pathogeen om de waardplant aan te tasten berust op een genenpaar: een gen in de plant, het resistentiegen (*R*) en een gen in het pathogeen het avirulentiegen (*Avr*) (Figuur 1). Planten met een specifiek *R* gen zijn resistent tegen isolaten van pathogenen met een bijpassend *Avr* gen. Ik was zeer geïnteresseerd in het onderzoek naar de genetische en biochemische basis van de gen-om-gen relatie, maar ik ben bij toeval in dit fytopathologisch onderzoek terecht gekomen. Na mijn afstuderen stond ik op het punt een contract te tekenen bij de Hogere Landbouwschool in Den Bosch (nu Hogere Agrarische School) om docent biologie en scheikunde te worden, toen professor Dekker mij een promotieplaats aanbood die ik meteen accepteerde. In die tijd waren er weinig promotieplaatsen beschikbaar en als promovendus kreeg je nog vaak de vrijheid om met een eigen onderzoeksvoorstel te komen.

Genetisch model:

Schimmel: Avirulentiegen	Plant: Resistentiegen	
	<i>R</i>	<i>r</i>
<i>Avr</i>	Resistent	Vatbaar
<i>avr</i>	Vatbaar	Vatbaar

Biochemisch model:

Schimmel: Avr eiwit

Avr: 

avr: 

Resistent (OR)	Vatbaar (geen OR)	Plant: R protein
		R: 
Vatbaar (geen OR)	Vatbaar (geen OR)	
		r: 

Figuur 1. Genetisch en biochemisch model voor Flors gen-om-gen hypothese.
Afkortingen: Avr, avirulentiegen; avr, gemuteerd of afwezig avirulentiegen; OR, overgevoeligheidsreactie.

Keuze voor het pathosysteem *Cladosporium fulvum*-tomaat

Tijdens mijn studie verschenen de eerste berichten over nevenwerkingen van het gebruik van pesticiden in de literatuur en het boek 'Silent Spring' van Rachel Carson (1962) deed alarmbellen rinkelen. Bij de vakgroep Fytopathologie werd veel onderzoek gedaan aan werkingsmechanismen van fungiciden en al snel werd duidelijk dat schimmels vroeg of laat resistentie tegen deze middelen ontwikkelen. Dus naast hun onwenselijke nevenwerkingen werden deze middelen op den duur ook onbruikbaar. Het leek mij daarom aantrekkelijker om onderzoek te gaan doen naar natuurlijke resistentie van planten tegen pathogenen. Planten en hun pathogenen hebben gedurende miljoenen jaren een gezamenlijke evolutie doorgemaakt in genencentra en daarvan zouden we gebruik kunnen maken voor de exploitatie van natuurlijke resistentie. Natuurlijke resistentie leek mij ook 'duurzamer' dan het werk aan fungiciden omdat de ontrafeling van het werkingsmechanisme en resistentiemechanisme van één bepaald fungicide geen garantie biedt voor de ontwikkeling van een nieuw beter werkend fungicide. Hiermee is niet gezegd dat natuurlijke resistentie van planten tegen pathogenen altijd duurzamer is, maar wel dat nevenwerkingen minimaal zijn. Mijn keuze viel op de bladvlekkenziekte van tomaat, niet alleen omdat dit destijds een probleem was in de tomatenteelt, maar vooral ook omdat in tomaat reeds resistentiegenen (*Cf*-genen) waren geïntroduceerd die bescherming boden tegen bepaalde fysio's van deze schimmel, terwijl een aantal *Cf*-genen ook reeds was doorbroken door enkele fysio's van deze schimmel. Stapeling van resistentiegenen zou mogelijk een oplossing kunnen bieden, maar niemand had destijds nog enig idee hoe resistentiegenen eruit zagen, en hoe een schimmel deze zou kunnen doorbreken. De gen-om-gen hypothese was reeds voor een groot aantal pathosystemen vastgesteld, vooral voor interacties tussen obligate pathogenen en hun waardplanten zoals roesten, echte en valse meeldauwen, maar ook voor biotrofe schimmels zoals *Cladosporium fulvum* die de bladvlekkenziekte van tomaat veroorzaakt. Werken met obligate parasieten was erg moeilijk omdat ze niet op kunstmatig medium gekweekt kunnen worden en het onderzoek dus aan geïnfecteerde waardplanten zou moeten plaatsvinden. *C. fulvum* parasiteert onder natuurlijke omstandigheden levende cellen van tomaat, maar kan ook op kunstmatig voedingsmedium gekweekt worden. Een ander groot voordeel was dat Ietje Boukema op het Instituut voor de Veredeling van Tuinbouwgewassen (IVT) isogene lijnen van de

tomatencultivar Moneymaker had ontwikkeld met verschillende *Cf* genen, en dat Nico Hubbeling op het Instituut voor Planteziektenkundig Onderzoek (IPO) een collectie van fysio's van *C. fulvum* had opgebouwd. Op verschillende onderzoeksinstellingen in de wereld was men naarstig op zoek naar de identiteit van de *R* en *Avr* genproducten en naar de ontrafeling van resistentiereacties. Naast de accumulatie van plantenafweerstoffen met antimicrobiële activiteit (fytalexinen), treedt na infectie van resistente planten ook vaak een overgevoeligheidsreactie (OR) op, een respons die vaak wordt waargenomen bij planten die resistent zijn tegen obligate en biotrofe pathogenen. Men was op zoek naar *Avr* factoren (nog onbekende producten van avirulente fysio's van pathogenen) die de accumulatie van fytalexinen en de OR specifiek konden induceren in resistente maar niet in vatbare planten.

Van Dijkman en Kaars Sijpesteijn (1973) hadden reeds gepubliceerd dat lekkage van ³²P-gelabelde verbindingen uit tomatenbladponsjes van resistente planten na infiltratie met hoogmoleculaire verbindingen uit cultuurfiltraat van avirulente fysio's van *C. fulvum* hoger was dan na infiltratie met vergelijkbare verbindingen van virulente fysio's. De hoogmoleculaire verbindingen bestonden uit (glyco)proteïnen met een molecuulgewicht hoger dan 25 kilodalton. In de samenvatting van hun artikel concludeerden ze dat (i) de gen-om-gen relatie tussen *C. fulvum* en tomaat berust op interactie tussen specifieke schimmelproducten en membraanreceptoren van de plant die leiden tot een OR en dat (ii) deze schimmelproducten de producten van *Avr* genen zouden kunnen zijn en de membraanreceptoren de producten van de *Cf* genen.

Bij aanvang van mijn promotieonderzoek leek mij de door Van Dijkman en Kaars Sijpesteijn beschreven biotoets een uitstekende basis om de hoogmoleculaire verbindingen van virulente en avirulente fysio's nader te karakteriseren. Mijn onderzoek vond plaats in het kader van de TNO Werkgroep Interne Therapie van Planten die in 1950 was opgericht door professor Oort. Deze werkgroep had twee subgroepen, een bij de Vakgroep Fytopathologie in Wageningen en een bij het Organisch Chemisch Instituut TNO in Utrecht. Elke zes weken werden er werkbesprekingen gehouden, alternerend in Utrecht en Wageningen. Van Dijkman had na zijn promotie (van Dijkman, 1972) het instituut verlaten. Ook was enige jaren eerder Jan Raa bij het instituut gepromoveerd op vergelijkbaar onderzoek aan het pathosysteem *Venturia inaequalis*-appel (Raa, 1968) waarvoor ook de gen-om-gen relatie was vastgesteld.

Tegenslag in mijn promotieonderzoek

In de eerste maanden van mijn promotieonderzoek probeerde ik de experimenten van Van Dijkman en Kaars Sijpesteijn (1973) te herhalen. Tomatenponsjes van isogene Cf lijnen werden gelabeld met ^{32}P en hoogmoleculaire fracties uit cultuurfiltraten van verschillende avirulente fysio's werden geïnfiltreerd om vervolgens lekkage van ^{32}P uit de behandelde ponsjes te meten. Mijn enthousiasme voor het gekozen onderzoeksobject verminderde toen ik de experimenten niet kon herhalen. Nadat ik over de negatieve resultaten enkele malen had gerapporteerd tijdens werkbesprekingen in Utrecht en Wageningen besloot ik met Anton van Dijkman contact op te nemen om mijn resultaten te bespreken. Dit bracht mij niet veel verder dan de conclusie van Anton van Dijkman dat werken met *C. fulvum* moeilijk was. Hij suggereerde mij contact op te nemen met Jan Raa die inmiddels werkzaam was als hoogleraar Fysiologische Microbiologie aan de Universiteit van Tromsø in Noorwegen. Na de eerste briefwisseling nodigde Jan Raa me uit om enige maanden in Tromsø te komen werken. Die uitnodiging accepteerde ik graag, en in juni 1975 ben ik samen met mijn vrouw Els naar Tromsø afgereisd waar we zeer gastvrij werden ontvangen. Ik was van plan mijn experimenten daar te herhalen, maar tot mijn grote teleurstelling werkte Jan Raa inmiddels niet meer aan *V. inaequalis*. Hij deed nu biochemisch onderzoek aan proteases en protease remmers in vis en hun effect op de houdbaarheid van vis. Omdat het laboratorium van Jan Raa beschikte over een uitstekend geoutilleerde microscopie afdeling, besloot ik een scanning electronmicroscopisch onderzoek te starten naar de infectie van tomaat door *C. fulvum*. Het microscopisch onderzoek gaf me beter inzicht in wat er tijdens de eerste dagen na infectie gebeurt in vatbare en resistente planten. Het onderzoek leidde tot de eerste publicatie die in mijn proefschrift zou verschijnen (de Wit, 1977), maar stond ver van het vinden van een biochemische verklaring voor de gen-om-gen hypothese.

Van aspecifieke naar fysio-specifieke elicitors

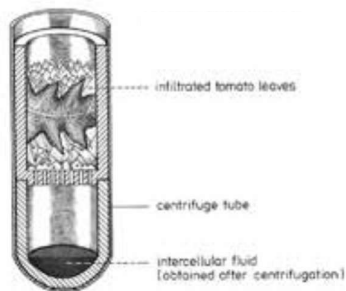
Noël Keen introduceerde de term elicitor (Keen, 1975). Een elicitor werd gedefinieerd als een component afkomstig van een pathogeen die in de waardplant fytoalexinen induceert die de kolonisatie van de plant door het pathogeen kunnen remmen. Van diverse pathogene schimmels konden elicitors geïsoleerd worden die fytoalexinen in hun waardplanten induceren zoals glyceoline

in sojaboon, phaseoline in boon, pisatine in erwten en rishitine in aardappel (Kuc, 1972). Ook van *C. fulvum* konden we elicitors isoleren die in tomaat rishitine, faltarinal en faltarindiol induceren (de Wit and Kodde, 1981a). Alle elicitors bleken echter aspecifiek en induceerden even snel en evenveel fytoalexinen in vatbare als in resistente tomatenplanten. De aspecifieke elicitors van *C. fulvum* zijn glycoproteïnen die zowel uit cultuurfiltraat als de schimmelcelwand geïsoleerd kunnen worden (de Wit & Kodde, 1981b). Toch was er indirect bewijs voor het bestaan van fysio-specifieke elicitors of fysio-specifieke suppressoren van *C. fulvum* omdat tijdens infectie sneller en meer fytoalexinen en pathogenesegerelateerde (PR) eiwitten geproduceerd worden in resistente dan in vatbare tomatenplanten. Het is dus aannemelijk dat tijdens infectie van een plant, naast aspecifieke elicitors ook specifieke suppressoren geproduceerd worden door virulente fysio's van *C. fulvum* waardoor in vatbare planten afweerreacties onderdrukt worden (de Wit & Davidse, 1980). Een alternatieve verklaring kon zijn dat alleen tijdens infectie fysio-specifieke elicitors worden geproduceerd en dat de uit cultuurfiltraat geïsoleerde aspecifieke elicitors artefacten zijn die tijdens infectie van de plant niet of nauwelijks aanwezig zijn. Om deze twee hypothesen te toetsen werd intercellulaire vloeistof van *C. fulvum*-geïnfecteerde bladeren van vatbare planten geïsoleerd die geanalyseerd werd op het vermogen om de inductie van afweerreacties (fytoalexinen en OR) door aspecifieke elicitors te onderdrukken, of op de aanwezigheid van specifieke elicitors die wel in resistente, maar niet in vatbare planten afweerreacties kunnen induceren. Het laatste bleek het geval. We konden aantonen dat tijdens infectie van tomatenblad *C. fulvum* fysio-specifieke elicitors uitscheidt die herkend worden door resistente planten, maar niet door vatbare planten (De Wit & Spikman, 1982) (Figuur 2). We hadden dus bewijs voor de productie van Avr2, Avr4, Avr5 en Avr9 factoren die een OR konden induceren in tomatenplanten met het Cf-2, Cf-4, Cf-5, respectievelijk het Cf-9 gen. We konden nu met behulp van deze biotoets de Avr factoren uit intercellulaire vloeistof van geïnfecteerd tomatenblad isoleren en zuiveren.

Identificatie van Avr factoren en klonering van Avr genen

De identificatie van Avr factoren bleek geen makkelijke opgave met de destijds beschikbare technieken. Al snel was duidelijk dat de Avr factoren eiwitten waren aangezien hun OR-inducerende activiteit teniet gedaan kon worden na

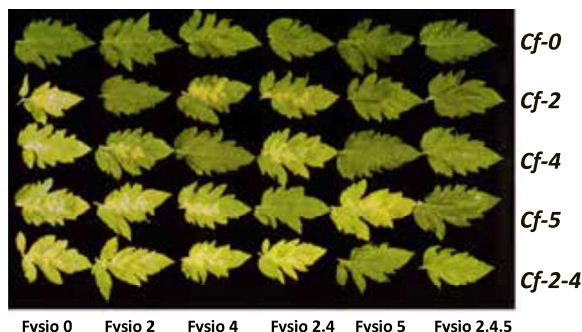
- Isolatie van intercellulaire vloeistof van *Cladosporium-fulvum*-geïnfecteerd tomatenblad



- Injectie van intercellulaire vloeistof in tomatencultivars met verschillende *Cf* genen



- Fysio-specifieke overgevoelighedsreacties in tomatencultivars met verschillende *Cf* genen



Figuur 2. *Cladosporium fulvum* produceert fysio-specifieke elicitors tijdens infectie van tomaat.

Intercellulaire vloeistoffen van *Cladosporium fulvum*-geïnfecteerde tomatenplanten bevatten fysio-specifieke elicitors die een overgevoelighedsreactie kunnen induceren in tomatencultivars met een bijpassend *Cf* gen (aangepast naar de Wit & Spikman, 1982).

behandeling met proteasen. Aanvankelijk werd gebruik gemaakt van klassieke scheidingstechnieken waarbij eiwitten op grootte en lading werden gescheiden. Omdat de Avr9 factor een sterke OR gaf op tomaat met het *Cf-9* gen, en de Avr9 factor tamelijk stabiel was, werd aan zuivering en identificatie van dit eiwit de hoogste prioriteit gegeven. Het eiwit bleek echter erg klein en erg moeilijk te zuiveren. De doorbraak kwam toen we van hogedruk-vloeistofchromatografie (HPLC) gebruik konden maken en voldoende zuiver Avr9 eiwit in handen konden krijgen om de aminozuurvolgorde van 20-30 aminozuren aan het N-terminale uiteinde van het eiwit te bepalen met behulp van de Edman-degradatie. De aminozuurvolgorde van het Avr9 eiwit stelde ons in staat het Avr9 gen in het genoom van *C. fulvum* op te sporen. Met behulp van een synthetisch radioactief gelabeld oligonucleotide gebaseerd op de aminozuurvolgorde werd een cDNA bibliotheek van een met *C. fulvum*-geïnfecteerde vatbare tomatenplant gescreend en een van de klonen bleek te coderen voor het Avr9 eiwit dat tijdens infectie uitscheiden wordt door *C. fulvum* (van Kan et al., 1991). Het Avr9 eiwit wordt na uitscheiding in de intercellulaire ruimte door proteases ingekort tot een eiwit van 28 aminozuren. Avr9 was het eerste Avr gen dat ooit van een pathogene schimmel gekloneerd werd. Opvallend was dat het rijpe Avr9 eiwit 6 cysteïne residuen bevat die drie zwavelbruggen vormen waardoor het eiwit zeer compact

en stabiel is. Met behulp van NMR kon ook de tertiaire structuur van het Avr9 eiwit bepaald worden. Het behoort tot de klasse van 'cystine-knot' eiwitten (van den Hooven et al., 2001), een configuratie die veel in inhibitor-eiwitten voorkomt. Structureel lijkt het Avr9 eiwit op een protease remmer maar deze activiteit hebben we nooit kunnen aantonen.

Enige jaren later kon ook het Avr4 eiwit op een vergelijkbare wijze worden gezuiverd, en het coderende *Avr4* gen worden gekloneerd (Joosten et al., 1994). Ook het Avr4 eiwit bleek cysteïne-rijk en het *Avr4* gen wordt alleen tijdens infectie van tomaat geïnduceerd. Inmiddels werden in andere laboratoria op vergelijkbare wijze van intercellulaire-groeiende pathogene schimmels Avr eiwitten geïsoleerd en hun coderende genen gekloneerd. Veel Avr eiwitten van deze schimmels bleken eveneens cysteïne-rijk te zijn, zoals de Avr eiwitten van *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* die worden uitgescheiden in het xyleem van tomaat (Rep et al., 2004).

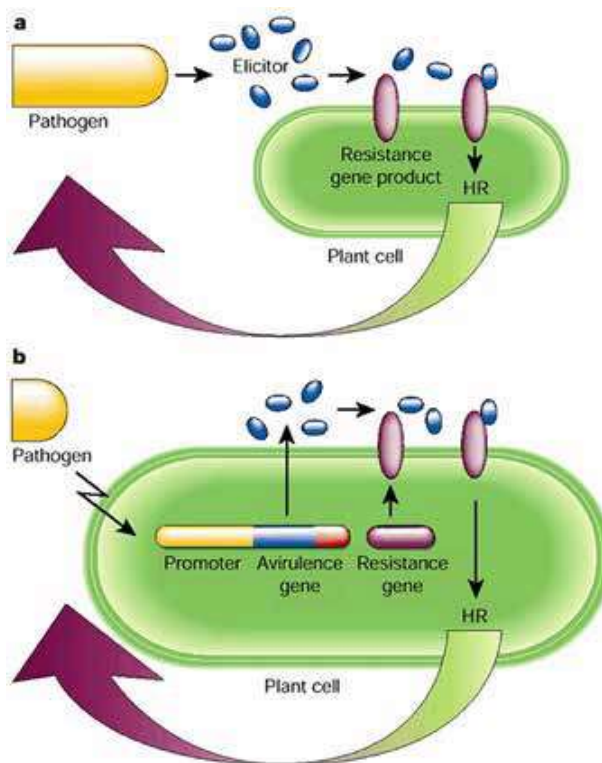
Later werden ook het Avr2, het Avr4E en het Avr5 gen van *C. fulvum* gekloneerd met geavanceerde genom-, transcriptoom- en proteoomtechnieken (Luderer et al., 2002; Rooney et al., 2005; Westerink et al., 2004; Mesarich et al., 2014) die inmiddels ter beschikking waren gekomen. Ook deze Avr genen bleken te coderen voor kleine cysteïne-rijke Avr eiwitten. Naast de genoemde Avr eiwitten van *C. fulvum* zijn nog andere eiwitten opgespoord die

bij screening van wilde tomatenlijnen specifieke OR induceren. Deze wilde planten bezitten dus nieuwe *Cf* genen die in toekomstig veredelingsonderzoek gebruikt kunnen worden. Het onderzoek naar Avr eiwitten heeft dus een methode opgeleverd om nieuwe *R* genen op te sporen in wilde planten (Laugé et al., 2000). Uit genomonderzoek aan verschillende schimmels blijkt dat het aantal Avr eiwitten in een pathogeen varieert van enkele tientallen zoals bij *C. fulvum* tot enkele honderden zoals bij *P. infestans* (Vleeshouwers & Oliver, 2014).

Identificatie van *Cf* genen in tomaat en *R* genen tegen ander pathogene schimmels

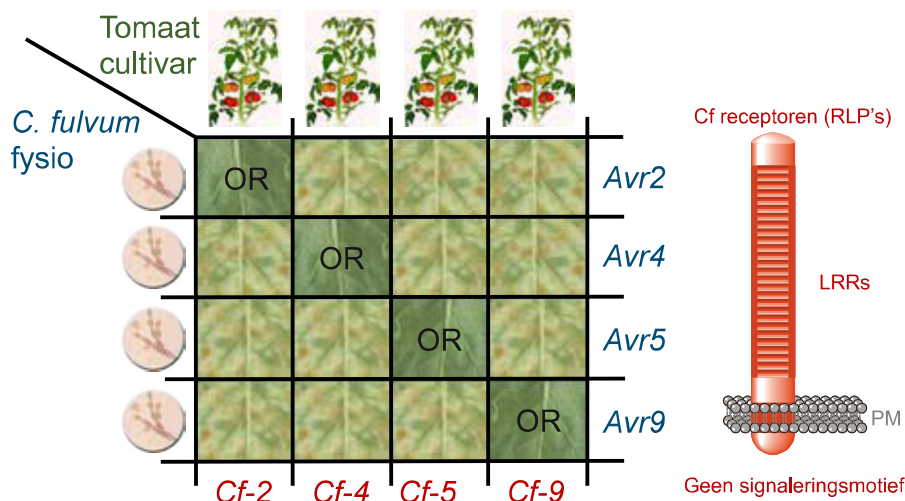
De onderzoeksgroep van Jonathan Jones op het Sainsbury Laboratorium in Norwich (UK) kon op een elegante manier, gebruikmakend van het gekloneerde *Avr9* gen en transposon mutagenese, het *Cf-9* gen in tomaat kloneren dat codeert voor

de receptor van het *Avr9* eiwit. Het *Cf-9* gen was een van de eerste schimmelresistentiegenen die gekloneerd werden in de jaren 90 van de vorige eeuw (Jones et al., 1994). Het *Cf-9* gen codeert voor een zogenaamd 'receptor-like protein' (RLP). We hebben destijds het *Avr9/Cf-9* genenpaar gepatenteerd voor het ontwikkelen van transgene planten met dit genenpaar onder controle van een pathogeen-induceerbare promotor, om ze resistent te maken tegen verschillende obligate en biotrofe schimmels (de Wit, 1990). Deze schimmels zouden bij infectie van waardplanten met deze genencassette hun eigen graf graven omdat een OR wordt geïnduceerd die verdere kolonisatie onmogelijk maakt. In die tijd werkten we nauw samen met het plantenbiotechnologiebedrijf Mogen International N.V. in Leiden om het patent met vervolgonderzoek te onderbouwen (Stuiver & Custers, 2001) (Figuur 3). Na overname van Mogen International N.V. door Zeneca en vervolgens door Syngenta raakte het patent in



Figuur 3. De genencassette. Het genereren van breed spectrum resistentie tegen biotrofe schimmels met behulp van een fysio-specifieke elicitor en bijbehorend resistentiegenproduct.

(a) de overgevoeligheidsreactie (HR=OR) wordt geïnduceerd na herkenning door een resistentiegenproduct van een fysio-specifieke elicitor (geproduceerd door een Avr gen); de OR en geassocieerde afweerreacties stoppen de groei van het pathogeen. (b) Transgene plant met een genencassette die het resistentiegen bevat en een bijpassend Avr gen onder controle van een promotor die aangezet wordt na infectie door biotrofe schimmels. De binnendringende schimmel zal de promotor van het Avr gen induceren en de productie van de Avr elicitor in gang zetten die in aanwezigheid van het resistentiegenproduct een OR zal induceren die de groei van de binnendringende biotrofe schimmels zal remmen.



Figuur 4. De structuur van Cf immuunreceptoren.

Cf immuunreceptoren zijn leucine-rijke repeat (LRR) receptor-like proteins (RLP's) zonder signaleringsmotief (PM: Plasmamembraan). Cf2, Cf-4, Cf5 en Cf-9 verschillen alleen in het aantal LRR's dat ze bezitten. Later is gevonden dat de Cf immuun receptoren geassocieerd zijn met receptor-like proteïne kinases SOBIR1 en BAK1 die wel een signaleringsmotief bevatten en signalen kunnen doorgeven na interactie van een Cfeiwit met een bijpassend *C. fulvum* Avr eiwit (Liebrand et al., 2013).

de 'ijskast'. De pathogeen-induceerbare promotor was de zwakste schakel van het systeem. De promotor van de genencassette mocht niet reageren op andere biologische signalen dan die van pathogenen omdat anders de plant zichzelf zou beschadigen.

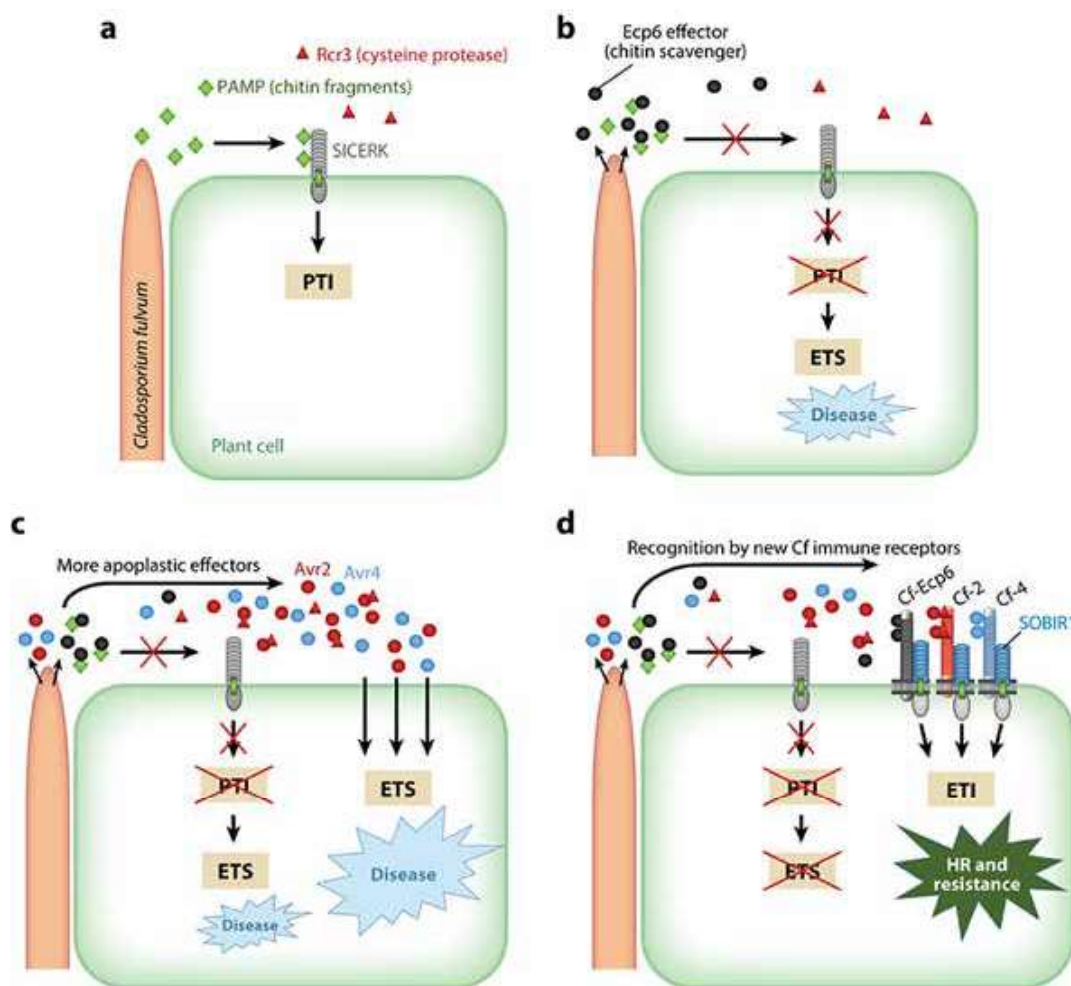
In daaropvolgende jaren werden ook de bijpassende Cf-genen met uitzondering van het Cf-4E gen gekloneerd door de groep van Jonathan Jones (Dixon et al., 1996; Thomas et al., 1997; Dixon et al., 1998; Takken et al., 1999). Alle Cf-genen coderen voor RLP's met een variabel aantal leucine-rijke motieven (LRR's) (Figuur 4). Het is een klasse van membraangebonden receptoreiwitten die niet alleen van belang is voor herkenning van extracellulaire schimmelpathogenen zoals *V. inaequalis*, *F. oxysporum*, en *Leptosphaeria maculans*, maar ook resistentie kunnen geven tegen *Phytophthora infestans*. Het is opvallend dat RLP's geen signaleringsmotief bevatten dat na herkenning van de bijpassende Avr factor een cascade van afweerreacties in gang zet. Later werd gevonden dat RLP's receptor-like kinases (RLK's) rekruteren zoals SOBIR1 en BAK1 die wel het vermogen bezitten om signalen door te geven (Liebrand et al., 2013) en het afweersysteem kunnen aanschakelen (zie ook Figuur 5).

Tegen bacteriën, schimmels, oömyceten, nematoden en insecten die Avr eiwitten produceren die waardplantcellen binnendringen, coderen de bijpassende R-genen voor nucleotidebindende, leucine-rijke receptoreiwitten (NB-LRR's) die in

het cytoplasma of in de kern van de waardplant zijn gelokaliseerd en daar de binnengedrongen Avr eiwitten herkennen (Jones & Dangl, 2006). NB-LRR's bezitten meestal wel een signaleringsmotief dat na interactie met het bijpassende Avr eiwit een opeenvolging van afweerreacties in gang kan zetten.

PAMPs en effectoren: een nieuw paradigma voor plant-pathogeen interacties

Volgens de gen-om-gen hypothese worden producten van Avr genen door producten van R genen herkend waarna een OR optreedt. Maar wat is de primaire functie van Avr eiwitten voor de ziekteverwekker? De meeste planten worden beschermd tegen pathogenen door het bezit van fysische (cuticula, celwand) en chemische (fytalexinen, PR eiwitten zoals chitinases en glucanases) barrières. Slechts enkele pathogenen zijn in staat om deze barrières te doorbreken en vervolgens ook het gen-om-gen immuunsysteem dat de plant voor hen opwerpt te omzeilen. Hoewel in de loop der jaren reeds veel Avr eiwitten waren geïdentificeerd, was nog weinig bekend over hun intrinsieke functie. Een andere vraag was hoe aspecifieke schimmel-elicitors zoals chitine, β -glucanen en glycoproteïnen pasten in het gen-om-gen immuunsysteem. Zoals eerder vermeld, induceren aspecifieke elicitors afweerreacties in alle planten ongeacht of ze wel of geen waardplant zijn voor een bepaald



Figuur 5. Schematisch overzicht van de wapenwedloop tussen *Cladosporium fulvum* en tomaat.

(a) *C. fulvum* aanwezig in de apoplast van tomaat. Het is nog geen echt pathogeen omdat tomaat zijn PAMP's (o.a. chitinefragmenten) herkent middels de chitine receptor (SICERK) waarna PTI wordt geïnduceerd. The PTI respons is niet sterk, maar sterk genoeg om *C. fulvum* onder controle te houden. (b) In een continu evolutionair proces ontwikkelt *C. fulvum* een nieuw wapen om virulenter te worden. *C. fulvum* scheidt het Ecp6 effector eiwit uit dat chitinefragmenten kan wegvangen waardoor ze geen PTI kunnen induceren. Dit geeft een zwakke vorm van effector-getriggerde vatbaarheid (ETS) met zwakke ziektesymptomen. (c) Om nog virulenter te worden scheidt *C. fulvum* nog meer effectoren uit zoals Avr2 en Avr4, waardoor de de schimmel virulenter wordt en ziektesymptomen sterker worden. (d) Dit alles zet een wapenwedloop in gang waarbij tomaat terugvecht en achtereenvolgens Cf-Ecp6, Cf-2, en Cf-4 immuunreceptoren ontwikkelt die de effectoren Ecp6, Avr2 en Avr4 van *C. fulvum* herkennen en middels interactie met receptor kinase SOBIR1 (en BAK1) effector-getriggerde immuniteit (ETI) geven (aangepast naar De Wit, 2016).

pathogeen. Eerder genoemde aspecifieke elicitoren worden tegenwoordig vaak aangeduid als pathogeen-geassocieerde moleculaire patronen (PAMP's) of ook wel microbe-geassocieerde moleculaire patronen (MAMP's) omdat ze in bijna alle pathogenen en microben voorkomen en door plant en dier herkend worden door patroon herkenningsreceptoren (PRR's) die via

hun signaleringsmotief PAMP- of MAMP- getriggerde immuniteit (PTI of MTI) induceren (Jones & Dangl, 2006). PTI en MTI zijn dus toereikend voor een plant om het overgrote deel van potentiële pathogenen buiten de deur te houden. Een doorbraak in ons begrip over plant-microbe interacties kwam toen er biologische functies werden gevonden voor een aantal Avr eiwitten. Door

hun coderende genen uit te schakelen of tot over-expressie te brengen of via structuur-functie analyses van de Avr eiwitten bleek dat ze meestal het immuunsysteem van de waardplant (waaronder PTI) onderdrukken (Stergiopoulos & de Wit, 2009). Dit geldt voor Avr eiwitten van pathogene schimmels, bacteriën, oömyceten, nematoden en insecten. Bij *C. fulvum* werd gevonden dat het Avr4 eiwit chitine bindt en zo de chitine in de celwand van *C. fulvum* en andere schimmels tegen afbraak door chitinases van de waardplant beschermt (van den Burg et al., 2006). Het Avr2 eiwit van *C. fulvum* remt cysteine proteases van tomaat, waaronder Rcr3, en kan zo de afbraak van belangrijke schimmel-eiwitten remmen (van Esse et al., 2008). Ecp6 is een ander eiwit dat wordt uitgescheiden door *C. fulvum* dat bindt aan kleine chitine fragmenten van binnendringers om te voorkomen dat ze als PAMP's PTI kunnen induceren (de Jonge et al., 2010). De meeste Avr eiwitten zijn dus virulentiefactoren die tegenwoordig meestal effectoren genoemd worden. Tijdens de evolutie hebben planten op hun beurt receptoren ontwikkeld om deze effectoren te herkennen waarna effector-getriggerde immuniteit (ETI) geïnduceerd wordt die vaak resulteert in een OR die de kolonisatie van de plant door het pathogeen verhindert (Jones & Dangl, 2006). De Cf-2, Cf-4, Cf-4E, Cf-5 en Cf-9 genen van tomaat coderen voor membraanreceptoren die de Avr2, Avr4, Avr5, Avr4E en respectievelijk Avr9 effector herkennen en ETI induceren. In veel gevallen blijkt de herkenning van effectoren door R receptoren indirect te zijn. R receptoren bewaken virulentietargets van effectoren, en zodra een effector interacteert met het virulentietarget, wordt de R receptor gealarmeerd, en het afweersysteem in gang gezet. Dit is ook het geval voor de Cf-2 receptor. Deze bewaakt het Rcr3 protease van tomaat. Zodra de Avr2 effector interacteert met Rcr3 wordt de Cf2 receptor gealarmeerd (Rooney et al., 2005). Interessant is dat de Cf-2 receptor van tomaat multifunctioneel is en ook resistentie geeft tegen een nematode die pathogeen is op tomaat (Lozano-Torres et al., 2012). Een schematisch model voor de wapenwedloop tussen *C. fulvum* en tomaat is weergegeven in Figuur 5.

De wapenwedloop tussen plant en pathogeen

Reeds bij aanvang van mijn promotieonderzoek was bekend dat bepaalde fysio's van *C. fulvum* Cf genen kunnen doorbreken. Inmiddels weten we dat dit gebeurt door mutaties in effectorgen waardoor effectoren geproduceerd worden die niet meer door bijpassende Cf receptoren herkend worden. Omzeiling van herkenning van

effectoren door Cf receptoren kan plaatsvinden door (i) verlies van een effectorgen (verlies van het Avr9 gen in fysio's die het Cf-9 gen omzeilen), (ii) mutaties in een effectorgen (Avr4) die leiden tot de inbouw van één of meer andere aminozuren in het effectoreiwit waardoor dit niet meer herkend wordt door de Cf-4 receptor, (iii) mutaties in een effectorgen (Avr2) die leiden tot productie van kleinere effectoren die een bepaald domein missen waardoor ze niet meer herkend worden door de Cf-2 receptor, of (iv) door insertie van een transposon in een effectorgen waardoor geen functioneel effectoreiwit meer geproduceerd wordt (de Wit, 2016). Hieruit zou de conclusie getrokken kunnen worden dat de inbouw van Cf genen in tomaat niet duurzamer is dan het gebruik van fungiciden, maar toch biedt het gebruik van R genen in het algemeen, en Cf genen in het bijzonder, meer mogelijkheden dan het gebruik van fungiciden. In de jaren 60 en 70 van de vorige eeuw werd vaak maar een enkel Cf gen geïntroduceerd in tomatencultivars dat redelijk snel doorbroken werd. Nu we de Cf genen gekloneerd hebben en weten op welke chromosomen ze liggen, kunnen door gerichte kruisingen of genetische modificatie meerdere Cf genen gestapeld worden in één cultivar, waardoor de schimmel zich moeilijker kan aanpassen. In de praktijk is dit ook gebeurd. De tomatenzaden die tegenwoordig op de markt worden gebracht bezitten meerdere Cf genen en nieuwe uitbraken van de bladplekkenziekte komen niet vaak meer voor. Als er toch uitbraken zijn, dan blijken die meestal voor te komen bij telers die cultivars gebruiken die slechts één enkel Cf gen bezitten. Zo werd fysio 9 de laatste jaren regelmatig gevonden in kassen waar cultivars geteeld werden die alleen het Cf-9 bezaten. Stapeling van R genen is dus een zeer efficiënte methode om de wapenwedloop tussen plant en schimmel te beteugelen (Koller et al., 2018).

Effector-gestuurde resistentieveredeling

Tegen veel pathogene schimmels zijn voldoende R genen voorradig in genetische bronnen waaruit ze geïsoleerd kunnen worden door ze te screenen met effectoren. Planten die reageren met een OR bezitten hoogstwaarschijnlijk een functioneel R gen. Deze methode is de laatste jaren met succes toegepast om nieuwe resistentiegenen in wilde voorouders van cultuurplanten op te sporen tegen pathogenen waaronder *C. fulvum*, *F. oxysporum*, *P. infestans*, *L. maculans*, *Magnaporthe grisea* en *Verticillium dahliae* (Laugé et al., 2000; Vleeshouwers & Oliver, 2014). Ook zijn er effectoren gevonden die in meerdere pathogenen

voorkomen en gebruikt kunnen worden om *R* genen op te sporen die werkzaam zijn tegen verschillende pathogenen (Stergiopoulos et al., 2010; Lozano-Torres et al., 2012). Met behulp van nieuwe DNA technieken zoals CRISPR-Cas is het nu ook mogelijk om aangrijpingspunten van effectoren in planten gericht te muteren zodat effectoren ze niet meer herkennen en ze het immuunsysteem van de plant niet langer kunnen onderdrukken (Langner et al., 2018).

Acceptatie van nieuwe veredelings technieken

Hoewel het stapelen van *R* genen een goed alternatief is voor het gebruik van fungiciden, is er in de maatschappij veel weerstand tegen het

gebruik van nieuwe veredelings technieken. De burger wil het liefst onbespoten voedsel en voedsel waaraan niet gesleuteld is. Het is onze taak om heldere informatie te verschaffen over de gang van zaken in de moderne landbouw. We kunnen de wereldbevolking niet meer blijven voeden zonder opbrengstverhoging en bescherming van gewassen. Cultuurmaatregelen en biologische bestrijding moeten, waar mogelijk, toegepast worden, maar ze bieden slechts in beperkte mate soelaas. *R* genen zijn beschikbaar tegen biotrofe en obligate pathogenen maar minder tegen necrotrofe pathogenen en bodempathogenen. Om onze gewassen te beschermen tegen laatstgenoemde pathogenen, zijn vaak nog bestrijdingsmiddelen nodig, maar gelukkig bezitten de moderne bestrijdingsmiddelen minder nevenwerkingen dan die in de tijd van Rachel Carson werden toegepast.

Referenties

- Carson, R. (1962) Silent Spring. First published by Houghton Mifflin in 1962.
- De Jonge, R., van Esse, H.P., Kombrink, A., Shinya, T., Desaki, Y., Bours, R., van der Krol, S., Shibuya, N., Joosten, M.H.A.J. & Thomma, B.P.H.J. (2010) Conserved fungal lysM effector Ecp6 prevents chitin-triggered immunity in plants. *Science* 329:953-955.
- De Wit, P.J.G.M. (1977) A light and scanning-electron microscopic study of the infection of tomato plants by virulent and avirulent races of *Cladosporium fulvum*. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 83:109-122.
- De Wit, P.J.G.M. (1981) Physiological studies on cultivar-specific resistance of tomato plants to *Cladosporium fulvum*. PhD thesis, Wageningen University
- De Wit, P.J.G.M. (1990) Method for the protection of plants against pathogens. Patent US 5866776 A.
- De Wit, P.J.G.M. & Davidse, L.C. (1980) Initiële interacties tussen plant en parasitaire schimmel; herkenning en eerste afweer. *Vakblad voor Biologen* 60:399-403.
- De Wit, P.J.G.M. & Kodde, E. (1981a) Induction of polyacetylenic phytoalexins in *Lycopersicon esculentum* after inoculation with *Cladosporium fulvum* (Syn. *Fulvia fulva*). *Physiological Plant Pathology* 18:143-148.
- De Wit, P.J.G.M. & Kodde, E. (1981b) Further characterization and cultivar-specificity of glycoprotein elicitors from culture filtrates and cell walls of *Cladosporium fulvum* (Syn *Fulvia fulva*). *Physiological Plant Pathology* 18:297-314.
- De Wit, P.J.G.M. & Spikman, G. (1982) Evidence for the occurrence of race and cultivar-specific elicitors of necrosis in intercellular fluids of compatible interactions of *Cladosporium fulvum* and tomato. *Physiological Plant Pathology* 21:1-11.
- De Wit, P.J.G.M. (2016) *Cladosporium fulvum* effectors: weapons in the arms race with tomato. *Annual Review of Phytopathology* 45: 1-23.
- Dixon, M.S., Hatzixanthis, K., Jones, D.A., Harrison, K. & Jones, J.D.G. (1998) The tomato *Cf-5* disease resistance gene and six homologs show pronounced allelic variation in leucine-rich repeat copy number. *Plant Cell* 10:1915-1925.
- Dixon, M.S., Jones, D.A., Keddie, J.S., Thomas, C.M., Harrison, K. & Jones, J.D.G. (1996) The tomato *Cf-2* disease resistance locus comprises two functional genes encoding leucine-rich repeat proteins. *Cell* 84:451-459.
- Flor, H.H. (1942) Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. *Phytopathology* 32:653-669.
- Jones, D.A., Thomas, C.M., Hammond-Kosack, K.E., Balint-Kurti, P.J. & Jones, J.D.G. (1994) Isolation of the tomato *Cf-9* gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. *Science* 266:789-793.
- Jones, J.D.G. & Dangl, J.L. (2006) The plant immune system. *Nature* 444:323-329.
- Joosten, M.H.A.J., Cozijnsen, T.J. & De Wit, P.J.G.M. (1994) Host resistance to a fungal tomato pathogen lost by a single base-pair change in an avirulence gene. *Nature* 367:384-386.
- Keen, N.T. (1975) Specific elicitors of plant phytoalexin production- determinants of race-specificity in pathogens. *Science* 187:74-75.
- Koller, T., Brunner, S., Herren, G., Hurni, S. & Keller, B. (2018) Pyramiding of transgenic Pm3 alleles in wheat results in improved powdery mildew resistance in the field. *Theoretical and Applied Genetics* 131: 861-871.
- Kuc, J., (1972) Phytoalexins, *Annual Review of Phytopathology*. 10: 207-232.
- Langner, T., Kamoun, S. & Belhaj, K. (2018) CRISPR crops: plant genome editing toward disease resistance. *Annual review of Phytopathology* 56: 479-512.
- Laugé, R., Goodwin, P.H., De Wit, P.J.G.M. & Joosten, M.H.A.J. (2000) Specific HR-associated recognition of secreted proteins from *Cladosporium fulvum* occurs in both host and non-host plants. *Plant Journal* 23:735-745.

- Liebrand, T.W.H., van den Berg, G.C.M., Zhang, Z., Smit, P., Cordewener, J.H.G., America, A.H.P., Sklenar, J., Jones, A.M.E., Tameling, W.I.L., Robatzek, S., Thomma, B.P.H.J. & Joosten, M.H.A.J. (2013) Receptor-like kinase SOBIR1/EVR interacts with receptor-like proteins in plant immunity against fungal infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110:10010-10015.
- Lozano-Torres, J.L., Wilbers, R.H.P., Gawronski, P., Boshoven, J.C., Finkers-Tomczak, A., Cordewener, J.H.G., America, A.H.P., Overmars, H.A., Van 't Klooster, J.W., Baranowski, L., Sobczak, M., Ilyas, M., van der Hoorn, R.A.L., Schots, A., de Wit, P.J.G.M., Bakker, J., Goverse, A. & Smant, G. (2012) Dual disease resistance mediated by the immune receptor Cf-2 in tomato requires a common virulence target of a fungus and a nematode. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109:10119-10124.
- Luderer, R., Takken, E.L.W., De Wit, P.J.G.M. & Joosten, M.H.A.J. (2002) *Cladosporium fulvum* overcomes Cf-2-mediated resistance by producing truncated Avr2 elicitor proteins. *Molecular Microbiology* 45:875-884.
- Mesarich, C.H., Griffiths, S.A., van der Burg, A., Okmen, B., Beenen, H.G., Etalo, D.W., Joosten, M.H.A.J. & de Wit, P.J.G.M. (2014) Transcriptome sequencing uncovers the *Avr5* avirulence gene of the tomato leaf mold pathogen *Cladosporium fulvum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 27:846-857.
- Oort, A.J.P. (1944) Onderzoekingen over stuifbrand. II. Overgevoeligheid van tarwe voor stuifbrand (*Ustilago tritici*) with a summary: hypersensitiveness of wheat to loose smut. *Tijdschrift over Plantenziekten* 50:73-106.
- Raa, J. (1968) Natural resistance of apple plants to *Venturia inaequalis*; a biochemical study of its mechanism. PhD thesis University Utrecht.
- Rep, M., van der Does, H.C., Meijer, M., van Wijk, R., Houterman, P.M., Dekker, H.L., de Koster, C.G. & Cornelissen, B.J.C. (2004) A small cysteine-rich protein secreted by *Fusarium oxysporum* during colonization of xylem vessels is required for I-3-mediated resistance in tomato. *Molecular Microbiology* 53: 1373-1383.
- Rooney, H.C.E., Van 't Klooster, J.W., Van der Hoorn, R.A.L., Joosten, M.H.A.J., Jones, J.D.G. & De Wit, P.J.G.M. (2005) *Cladosporium* Avr2 inhibits tomato Rcr3 protease required for Cf-2-dependent disease resistance. *Science* 308:1783-1786.
- Stergiopoulos, I. & de Wit, P.J.G.M. (2009) Fungal effector proteins. *Annual Review of Phytopathology* 47:233-263.
- Stergiopoulos, I., van den Burg, H.A., Okmen, B., Beenen, H.G., van Lie, S., Kema, G.H.J. & De Wit, P.J.G.M. (2010) Tomato Cf resistance proteins mediate recognition of cognate homologous effectors from fungi pathogenic on dicots and monocots. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107:7610-7615.
- Stuiver, M.H. & Custers, J. (2001) Engineering disease resistance in plants. *Nature* 411:865-868.
- Takken, E.L.W., Thomas, C.M., Joosten, M.H.A.J., Golstein, C., Westerink, N., Hille, J.H., Nijkamp, J.J., De Wit, P.J.G.M. & Jones, J.D.G. (1999) A second gene at the tomato Cf-4 locus confers resistance to *Cladosporium fulvum* through recognition of a novel avirulence determinant. *Plant Journal* 20:279-288.
- Thomas, C.M., Jones, D.A., Parniske, M., Harrison, K., Balint-Kurti, P.J., Hatzixanthis, K. & Jones, J.D.G. (1997) Characterization of the tomato *Cf-4* gene for resistance to *Cladosporium fulvum* identifies sequences that determine recognitional specificity in Cf-4 and Cf-9. *Plant Cell* 9:2209-2224.
- Van den Burg, H.A., Harrison, S.J., Joosten, M.H.A.J., Vervoort, J. & De Wit, P.J.G.M. (2006) *Cladosporium fulvum* Avr4 protects fungal cell walls against hydrolysis by plant chitinases accumulating during infection. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19:1420-1430.
- Van den Hooven, H.W., van den Burg, H.A., Vossen, P., Vervoort J. & de Wit, P.J.G.M. (2001) Disulfide bond structure of the Avr9 elicitor of the fungal tomato pathogen *Cladosporium fulvum*: evidence for a cystine knot. *Biochemistry* 40:3458-3468.
- Van Dijkman, (1972) Natural resistance of tomato plants to *Cladosporium fulvum*, a biochemical study. PhD thesis University Utrecht.
- Van Dijkman, A. & Kaars Sijpesteijn, A., (1973) Leakage of preabsorbed P32 from tomato leaf discs infiltrated with high molecular weight products of incompatible races of *Cladosporium fulvum* . *Physiological Plant Pathology* 3: 57-67.
- Van Esse, H.P., Van 't Klooster, J.W., Bolton, M.D., Yadeta, K.A., Van Baaren, P., Boeren, S., Vervoort, J., De Wit, P.J.G.M. & Thomma, B.P.H.J. (2008) The *Cladosporium fulvum* virulence protein Avr2 inhibits host proteases required for basal defense. *Plant Cell* 20:1948-1963.
- Van Kan, J.A.L., Van den Ackerveken, G.F.J.M. & De Wit, P.J.G.M. (1991) Cloning and characterization of cDNA of avirulence gene *Avr9* of the fungal pathogen *Cladosporium fulvum*, causal agent of tomato leaf mold. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 4:52-59.
- Vleeshouwers, V.G.A.A. & Oliver, R.P. (2014) Effectors as tools in disease resistance breeding against biotrophic, hemibiotrophic and necrotrophic plant pathogens. *Molecular plant-Microbe Interactions* 27: 196-206.
- Westerink, N., Brandwagt, B.F., De Wit, P.J.G.M. & Joosten, M.H.A.J. (2004) *Cladosporium fulvum* circumvents the second functional resistance gene homologue at the Cf-4 locus (Hcr9-4E) by secretion of a stable avr4E isoform. *Molecular Microbiology* 54:533-545.

De zoete vruchten van het onderzoek aan *Fusarium* verwelkingsziekte in Amsterdam

Martijn Rep &
Frank Takken

Fytopathologie (Molecular
Plant Pathology),
Universiteit van Amsterdam

Inleiding

Nadat Ben Cornelissen in 1992 werd aangesteld als hoogleraar Fytopathologie aan de Universiteit van Amsterdam koos hij de interactie tussen de bodemschimmel *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) en tomaat als modelsysteem voor fytopathologisch onderzoek in Amsterdam. De eerste avirulentiefactor van een schimmel – Avr9 van *Cladosporium fulvum* – was een jaar eerder geïdentificeerd door de groep van Pierre de Wit in Wageningen (van Kan et al. 1991). Het bestaan van dominante resistentie (R) genen in tomaat (*I*, *I-2* en *I-3*) tegen *Fusarium* verwelkingsziekte – en de aanwezigheid van corresponderende fysio's in Fol – deed het vermoeden rijzen dat resistentie tegen Fol ook gebaseerd is op de herkenning van dergelijke avirulentie-eiwitten (Avr's). Deze Avr's zouden dan door Fol in de plant uitgescheiden worden, waarna ze door het resistentiegenproduct herkend kunnen worden. De zoektocht naar tomaat resistentiegenen en Fol avirulentiegenen ging van start.

Identificatie van het eerste R gen tegen een bodemschimmel

Het eerste succes was de identificatie, in samenwerking met het bedrijf KeyGene, van het eerste R gen dat bescherming geeft tegen een wortel-infecterend pathogeen: *I-2* tegen Fol (Simons et al., 1998). Dit gen codeert voor een intracellulaire immuunreceptor van het Nucleotide-binding Leucine-rich repeat Receptor (NLR) type, wat impliceerde dat Avr2 door de plantencel wordt opgenomen. Verder onderzoek aan de *I-2* immuunreceptor in Amsterdam heeft aangetoond dat uitwisseling van ADP voor ATP de receptor activeert en daarmee immuniteit induceert (Tameling et al., 2002). Dit werkingsprincipe blijkt ook van toepassing op andere NLR-type

immuunreceptoren en heeft geleid tot een baanbrekend model van de werking van dit type eiwitten (Takken & Tameling, 2009).

Gen-om-gen in het xyleem

Fol stammen kunnen niet worden gekruist wat de zoektocht naar avirulentiegenen bemoeilijkt. De groep liet zich hierdoor echter niet uit het veld slaan en de eerste poging om avirulentiegenen in Fol te identificeren was door het uitvoeren van parasexuele kruisingen met behulp van protoplastfusie. Een veel en variabel voorkomend transposon, Foxy, werd gebruikt als genetische merker voor het maken van een genetische kaart. Dit werk leidde tot de eerste genetische kaart van *Fusarium oxysporum* (Fo), maar helaas niet tot het kloneren van een avirulentiegen (Teunissen et al., 2003).

Uiteindelijk werden de drie avirulentiefactoren, die corresponderen met de resistentiegenen *I*, *I-2* en *I-3*, geïdentificeerd met behulp van massaspectrometrie van eiwitten in xylemsap van met Fol geïnfecteerde tomatenplanten (Houterman et al., 2007) (Tabel 1). De eerste Avr was Avr3, ook bekend als Six1 (Secreted in xylem 1) (Rep et al., 2004). Vervolgens werd aangetoond dat Six4 wordt herkend door *I* en Six3 door *I-2*, die vervolgens werden hernoemd tot Avr1 (=Six4) en Avr2 (=Six3) (Houterman et al., 2008; Houterman et al., 2009). Recentelijk zijn *I* en *I-3* door de groep van David Jones gekloneerd en deze blijken te coderen voor extracellulaire immuunreceptoren gelokaliseerd op de plasmamembraan van de plantencel (respectievelijk een receptor-like protein (RLP) en een S-receptor-like kinase (SRLK)) (Catanzariti et al., 2017; Catanzariti et al., 2015). Hiermee waren de drie 'gen-om-gen' paren voor de tomaat-Fol interactie compleet. Jones' groep heeft recent in tomaat ook nog een vierde R gen tegen Fol gevonden, *I-7*, welke codeert voor een RLP waarvoor

Tabel 1: Resistentie (R) genen in tomaat tegen *Fusarium* verwelkingsziekte.

R gen	Ingekruist vanuit	Type	Avirulentiefactor	Alternatieve naam
<i>I</i>	<i>Solanum pimpinellifolium</i>	RLP	Avr1	Six4
<i>I-2</i>	<i>Solanum pimpinellifolium</i>	NB-LRR	Avr2	Six3
<i>I-3</i>	<i>Solanum pennellii</i>	SRLK	Avr3	Six1
<i>I-7</i>	<i>Solanum pennellii</i>	RLP	onbekend	

Tabel 2: Fysio's van *Fol*, avirulentiegenen en resistentie in tomaat.

Fysio	Avirulentiegenen			Resistentie door
1	<i>AVR1</i>	<i>AVR2</i>	<i>AVR3</i>	<i>I</i> (<i>I-2</i> and <i>I-3</i> worden onderdrukt)
2	-	<i>AVR2</i>	<i>AVR3</i>	<i>I-2</i> en <i>I-3</i>
3	-	<i>avr2</i> *	<i>AVR3</i>	<i>I-3</i>

* *Fysio 3* isolaten hebben puntmutaties in *Avr2* waardoor geen herkenning door *I-2* plaatsvindt.

de avirulentiefactor nog niet bekend is (Tabel 1). Het doorbreken van *I*-gemedieerde resistentie (het ontstaan van *Fol* fysio 2 uit fysio 1) bleek een gevolg van deleties van het *AVR1/SIX4* locus, terwijl *I-2*-gemedieerde resistentie (het ontstaan van *Fol* fysio 3 uit fysio 2) doorbroken werd door de verandering van één specifiek aminozuur in *Avr2/Six3*, waarbij het eiwit en haar functie behouden blijft (Houterman et al., 2009; Biju et al., 2017). Ook bleek resistentie gemedieerd door *I-2* of *I-3* te kunnen worden onderdrukt door *Avr1* (Houterman et al., 2008) (Tabel 2).

Een pathogeniteitschromosoom

In 2008 werd de DNA genomesequentie van een *Fol* isolaat bepaald door het Broad Institute. Hierdoor kon worden vastgesteld dat de genen coderend voor de 14 *Six* eiwitten aanwezig in xylemsap van *Fol* geïnfecteerde tomatenplanten (Schmidt et al., 2013) zich allemaal bevinden op één van de 15 chromosomen van dat isolaat. In Amsterdam werd vervolgens experimenteel de horizontale overdracht van dit 'pathogeniteitschromosoom' naar een niet-pathogeen aangevend, waarbij dat isolaat ook het vermogen verkreeg om tomaat te infecteren (L. J. Ma et al., 2010). Later werd aangetoond dat verlies van dit chromosoom leidt tot verlies van pathogeniteit (Vlaardingbroek et al., 2016).

Functie van *Six* eiwitten in tomaat en andere gewassen

Van sommige *Six* eiwitten, inclusief *Avr2/Six3* en *Avr3/Six1*, is aangetoond dat ze bijdragen aan virulentie van *Fol* (Rep et al., 2004; Houterman et al., 2009). Van een homoloog van *Avr3/Six1* in een banaan-infecterend isolaat (*Fo* f.sp. *cubense* tropical race 4) is dit, in samenwerking met de groep van prof. Gert Kema in Wageningen, nu ook aangetoond (Widinugraheni et al., 2018). Ook is inmiddels de eerste avirulentiefactor van meloen-infecterende *Fo* f.sp. *melonis*, *AvrFOM2*, gevonden (Schmidt et al., 2016) waarvoor al eerder

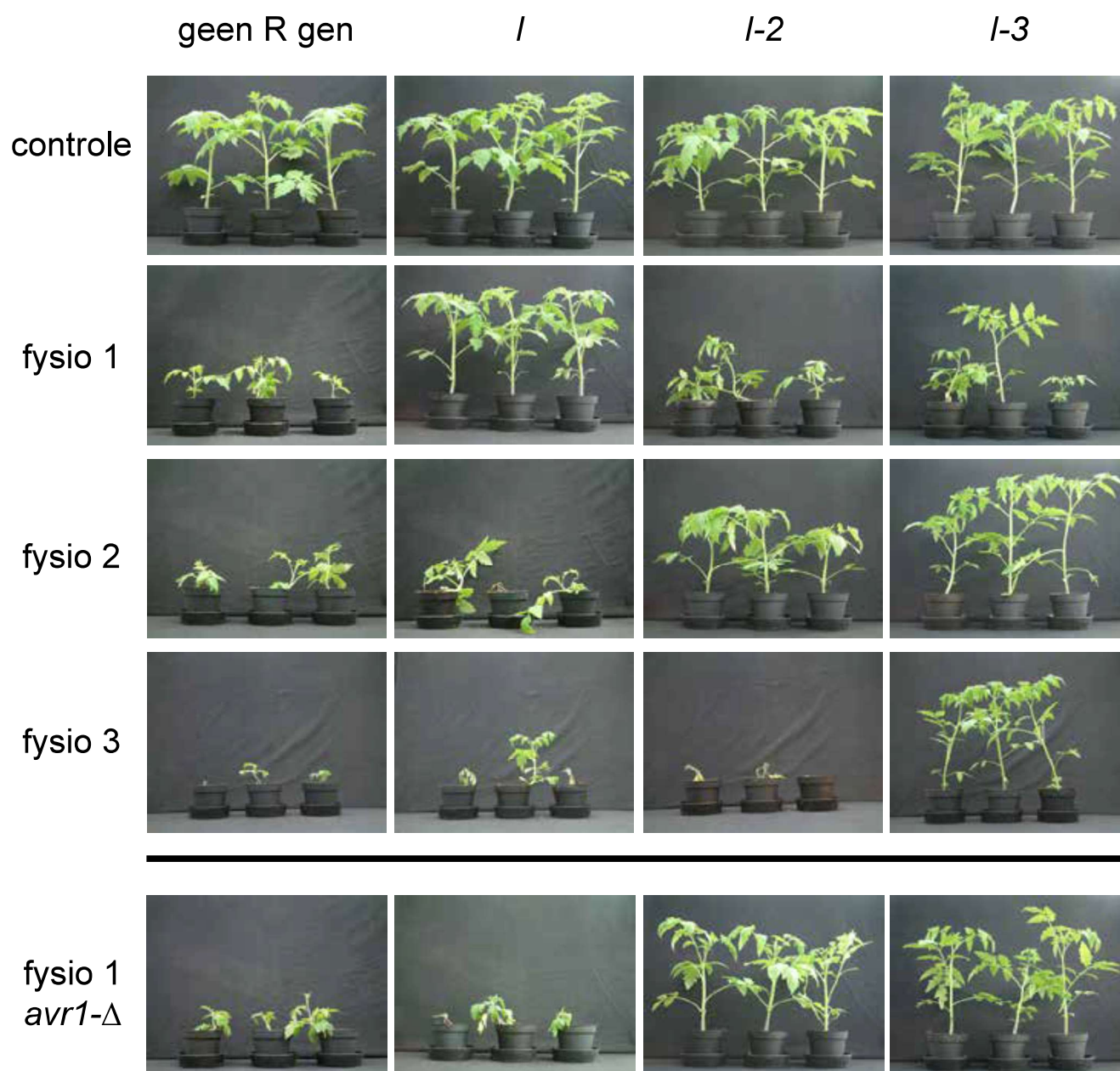
het bijpassende NLR resistentie-gen was geïdentificeerd (Joobeur et al., 2004).

De moleculaire functie van de *Six* eiwitten in de gastheer zijn grotendeels onbekend. Wel weten we dat *Six5* en *Avr2/Six3* een 'paar' vormen en beiden nodig zijn voor zowel virulentie als ook *I-2*-gemedieerde resistentie (L. Ma et al., 2015). Dit kan waarschijnlijk worden toegeschreven aan de rol van *Six5* in het intercellulaire transport van *Avr2* via plasmodesmata (Cao et al., 2018). Dit gebeurt na opname van *Avr2* door een plantencel (L. Ma et al., 2013; Di et al., 2016), waar deze het basale plant afweersysteem onderdrukt (Di et al., 2017). Naast het verder onderzoeken van de functie van *Six* eiwitten en het identificeren van hun *host targets* is het onderzoek naar *Fusarium* verwelkingsziekte uitgebreid naar andere gewassen dan tomaat.

Zoete vruchten

Door het analyseren van genomesequenties van *Fo* isolaten behorende tot verschillende *formae speciales*¹ worden doorlopend nieuwe kandidaat-(a)virulentiegenen en pathogeniteitschromosoom ontdekt (van Dam et al., 2016). Met deze informatie worden moleculaire toetsen ontwikkeld waarmee *formae speciales* en soms zelfs fysio's eenduidig kunnen worden geïdentificeerd (van Dam et al., 2018). Het molecuulair kunnen onderscheiden van ziekteverwekkende van neutrale of zelfs gunstige en weerstandverhogende *Fo* isolaten is een belangrijke 'vrucht' van het onderzoek in Amsterdam. Daarnaast leidt begrip van de moleculaire basis van de interactie tussen planten en *Fo* tot nieuwe strategieën om de weerstand van een gewas tegen ziektes te verhogen, bijvoorbeeld door gebruik te maken van combinaties van *R* genen, het gericht uitschakelen van gevoeligheidsgenen of door de resistentie-inducerende activiteit van niet pathogene *Fo* isolaten te verhogen.

¹ Een *forma specialis* ofwel gastheer-specifieke vorm is een verzameling van isolaten die ziekte veroorzaken in hetzelfde gewas



Figuur 1: Gen-om-gen relatie tussen Fol en tomaat.

De drie bekende fysio's van Fol onderscheiden zich door het patroon van virulentie op tomatenlijnen met resistentiegenen I, I-2 of I-3 (zie ook tabel 2). Een mutant van fysio 1 waarin AVR1 is uitgeschakeld (fysio 1 avr1-Δ) gedraagt zich als fysio 2: virulent op I, avirulent op I-2 en I-3 lijnen, beide vanwege het verlies van Avr1.

Referenties

- Biju, V. C., Fokkens, L., Houterman, P. M., Rep, M. & Cornelissen, B. J. (2017). Multiple evolutionary trajectories have led to the emergence of races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Appl Environ Microbiol*, 83(4), doi:10.1128/AEM.02548-16.
- Cao, L., Blekemolen, M. C., Tintor, N., Cornelissen, B. J. C. & Takken, F. L. W. (2018). The *Fusarium oxysporum* Avr2-Six5 effector pair alters plasmodesmatal exclusion selectivity to facilitate cell-to-cell movement of Avr2. *Mol Plant*, 11(5), 691-705, doi:10.1016/j.molp.2018.02.011.

- Catanzariti, A. M., Do, H. T., Bru, P., de Sain, M., Thatcher, L. F., Rep, M. & Jones, D.A. (2017). The tomato I gene for *Fusarium* wilt resistance encodes an atypical leucine-rich repeat receptor-like protein whose function is nevertheless dependent on SOBIR1 and SERK3/BAK1. *Plant J*, 89(6), 1195-1209, doi:10.1111/tpj.13458.
- Catanzariti, A. M., Lim, G. T. & Jones, D. A. (2015). The tomato I-3 gene: a novel gene for resistance to *Fusarium* wilt disease. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *New Phytologist*, 207(1), 106-118, doi:10.1111/nph.13348.
- Di, X., Cao, L., Hughes, R. K., Tintor, N., Banfield, M. J. & Takken, F. L. W. (2017). Structure-function analysis of the *Fusarium oxysporum* Avr2 effector allows uncoupling of its immune-suppressing activity from recognition. *New Phytologist*, 216(3), 897-914, doi:10.1111/nph.14733.
- Di, X., Takken, F. L. & Tintor, N. (2016). How phytohormones shape interactions between plants and the soil-borne fungus *Fusarium oxysporum*. [Review]. *Front Plant Sci*, 7, 170, doi:10.3389/fpls.2016.00170.
- Houterman, P. M., Cornelissen, B. J. & Rep, M. (2008). Suppression of plant resistance gene-based immunity by a fungal effector. *PLoS Pathogens*, 4(5), e1000061.
- Houterman, P. M., Ma, L., van Ooijen, G., de Vroomen, M. J., Cornelissen, B. J. C., Takken, F. L. W. & Rep, M. (2009). The effector protein Avr2 of the xylem colonizing fungus *Fusarium oxysporum* activates the tomato resistance protein I-2 intracellularly. *Plant Journal*, 58, 970-978.
- Houterman, P. M., Speijer, D., Dekker, H. L., de Koster, C. G., Cornelissen, B. J. C., & Rep, M. (2007). The mixed xylem sap proteome of *Fusarium oxysporum*-infected tomato plants. *Molecular Plant Pathology*, 8(2), 215-221.
- Joobeur, T., King, J. J., Nolin, S. J., Thomas, C. E., & Dean, R. A. (2004). The *Fusarium* wilt resistance locus Fom-2 of melon contains a single resistance gene with complex features. *Plant J*, 39(3), 283-297.
- Ma, L., Cornelissen, B. J., & Takken, F. L. W. (2013). A nuclear localization for Avr2 from *Fusarium oxysporum* is required to activate the tomato resistance protein I-2. *Front Plant Sci*, 4, 94, doi:10.3389/fpls.2013.00094.
- Ma, L., Houterman, P. M., Gawehns, E., Cao, L., Sillo, F., Richter, H., et al. (2015). The AVR2-SIX5 gene pair is required to activate I-2-mediated immunity in tomato. *New Phytologist*, 208(2), 507-518, doi:10.1111/nph.13455.
- Ma, L. J., van der Does, H. C., Borkovich, K. A., Coleman, J. J., Daboussi, M. J., Di Pietro, A., et al. (2010). Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*. *Nature*, 464(7287), 367-373, doi:10.1038/Nature08850.
- Rep, M., van der Does, H. C., Meijer, M., van Wijk, R., Houterman, P. M., Dekker, H. L., et al. (2004). A small, cysteine-rich protein secreted by *Fusarium oxysporum* during colonization of xylem vessels is required for I-3-mediated resistance in tomato. *Mol. Microbiol.*, 53(5), 1373-1383.
- Schmidt, S. M., Houterman, P. M., Schreiber, I., Ma, L. S., Amyotte, S., Chellappan, B., et al. (2013). MITEs in the promoters of effector genes allow prediction of novel virulence genes in *Fusarium oxysporum*. *Bmc Genomics*, 14, doi:10.1186/1471-2164-14-119.
- Schmidt, S. M., Lukasiwicz, J., Farrer, R., van Dam, P., Bertoldo, C., & Rep, M. (2016). Comparative genomics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* reveals the secreted protein recognized by the Fom-2 resistance gene in melon. *New Phytologist*, 209(1), 307-318, doi:10.1111/nph.13584.
- Simons, G., Groenendijk, J., Wijbrandi, J., Reijans, M. G., J., Diergaarde, P., van der Lee, T., et al. (1998). Dissection of the *Fusarium I2* gene cluster in Tomato reveals six homologs and one active gene copy. *Plant Cell*, 10, 1055-1068.
- Takken, F. L. W. & Tameling, W. I. L. (2009). To nibble at plant resistance proteins. *Science*, 324(5928), 744-746.
- Tameling, W. I., Elzinga, S. D., Darmin, P. S., Vossen, J. H., Takken, F. L. W., Haring, M. A., et al. (2002). The tomato R gene products I-2 and MI-1 are functional ATP binding proteins with ATPase activity. *Plant Cell*, 14(11), 2929-2939.
- Teunissen, H. A., Rep, M., Houterman, P. M., Cornelissen, B. J. C., & Haring, M. A. (2003). Construction of a mitotic linkage map of *Fusarium oxysporum* based on Foxy-AFLPs. *Mol. Genet. Genomics*, 269(2), 215-226.
- van Dam, P., de Sain, M., Ter Horst, A., van der Gragt, M., & Rep, M. (2018). Use of comparative genomics-based markers for discrimination of host specificity in *Fusarium oxysporum*. *Appl Environ Microbiol*, 84(1), doi:10.1128/AEM.01868-17.
- Van Dam, P., Fokkens, L., Schmidt, S. M., Linmans, J. H., Kistler, H. C., Ma, L. J., et al. (2016). Effector profiles distinguish *formae speciales* of *Fusarium oxysporum*. *Environ Microbiol*, 18(11), 4087-4102, doi:10.1111/1462-2920.13445.
- Van Kan, J. A., van den Ackerveken, G. F. & de Wit, P. J. G. M. (1991). Cloning and characterization of cDNA of avirulence gene *avr9* of the fungal pathogen *Cladosporium fulvum*, causal agent of tomato leaf mold. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 4(1), 52-59.
- Vlaardingerbroek, I., Beerens, B., Schmidt, S. M., Cornelissen, B. J. & Rep, M. (2016). Dispensable chromosomes in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Molecular Plant Pathology*, 17(9), 1455-1466, doi:10.1111/mpp.12440.
- Widungraheni, S., Nino-Sanchez, J., van der Does, H. C., van Dam, P., Garcia-Bastidas, F. A., Subandiyah, S., et al. (2018). A *SIX1* homolog in *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4 contributes to virulence towards Cavendish banana. *Plos One*, 13(10), e0205896, doi:10.1371/journal.pone.0205896.

Naam: Ava Verhoeven

Leeftijd: 29



In 'De Jonge Gewasbeschermers' komen studenten (MBO/HBO/universiteit) en pas afgestudeerden aan het woord over hun werk, stage of onderzoek. Deze jonge onderzoekers, beleidmakers en ondernemers vertellen hier over hun motivatie en over hun belangstelling voor het vakgebied.

Promoveren op nematodenspeeksel

Opleiding:

BSc plantenwetenschappen, MSc Plant Sciences, nu promovendus bij Plant-Nematode Interacties: Leerstoelgroep Nematologie aan de Wageningen Universiteit.

Waarom gekozen voor deze opleiding/onderzoek?

Mijn interesse ging altijd al uit naar planten en wat er op en in planten leeft, dus dieper in de planten duiken was de meest logische keuze. Ook na mijn studie bleef het me fascineren hoe de interactie tussen plant en belager werkt. Vandaar dat het me nuttig leek om nog meer kennis en ervaring op te doen in dit veld op weg naar een proefschrift.

Is/was het zoals je verwachtte?

Jawel. Ik dacht alleen halverwege de studie dat de moleculaire kant me minder zou interesseren, terwijl ik die onverwacht toch heel interessant vond!

'Favoriete' plantenziekte en waarom:

Meloidogyne incognita (wortelknobbelaaltje). Dit plant-parasitaire aaltje kan in de wortels van opvallend veel verschillende gewassen voorkomen. In de wortels initiëren de aaltjes de aanleg van voedingscellen door de plant met allerlei eiwitten uit zijn speeksel te beïnvloeden. Er vormen zich gallen en het hele wortelstelsel wordt ontregeld. Toch weten we nog te weinig om er echt iets tegen te kunnen doen.

Huidig onderzoek:

Promotieonderzoek naar een specifiek eiwit in het speeksel van een wortelknobbelaaltje. De vraag was voornamelijk of dit speekseiwit een rol heeft als effector in het hele infectieproces. Vrij snel was duidelijk dat dit inderdaad het geval is, en nu rest natuurlijk de vraag hoe dat dan precies werkt.

Waar:

Leerstoelgroep Nematologie aan Wageningen Universiteit

Wanneer:

2016-2020

Waarom:

Steeds meer populaties van wortelknobbelaaltjes zijn niet langer gevoelig voor het enige bekende resistentiegen

in tomaat. Een bijkomend probleem is het verbod op de meeste nematode-specifieke pesticiden. Door een gebrek aan effectieve bestrijding kosten de aaltjes ons wereldwijd elk jaar miljoenen. Er is dus echt onderzoek op dit gebied nodig.

Resultaat:

'Mijn' speekseiwit uit het wortelknobbelaaltje blijkt inderdaad te helpen bij het tot stand komen van gallen in tomaat. Het bindt in de plant met een nog nauwelijks onderzocht tomateneiwit. Homologen in *Arabidopsis* functioneren in de biosynthese van jasmonzuur: een bekend plantenhormoon. Ik verwacht dat het wortelknobbelaaltje de productie van jasmonzuur remt, waardoor de verdediging van de plant niet optimaal werkt. Met behulp van bioassays en RNA-seq op mutanten proberen we alle processen in kaart te brengen, en alle andere genen die ook nog een functie hebben in dit proces te identificeren.

Wat vindt je mooi hieraan?

Ik vind het prachtig dat zo'n minuscule aaltje het hele immuunsysteem van een plant kan aanpassen zodat het een perfecte gastheer wordt, gallen voor hem aanlegt om in te wonen en hem blijft voeden tot zijn levenscyclus voltooid is. Het mooiste is natuurlijk om te onderzoeken hoe we dit kunnen voorkomen, maar daarvoor zullen we eerst moeten snappen hoe het allemaal werkt.

Wat is je opgevallen?

Er is ontzettend veel over plantenhormonen te vinden in de literatuur, maar stiekem hebben we nog geen idee hoe het precies werkt. Hetzelfde geldt voor de speekseiwitten: het merendeel heeft nog geen bekende functie.

Wat hoop je voor de toekomst?

Voor de toekomst zou het mooi zijn als we de kennis vanuit het lab naar het veld kunnen vertalen. In een systeem als dit lijkt het aardig te lukken omdat het wortelknobbelaaltje meer dan 3000 plantensoorten kan aantasten. Hierdoor kunnen we in het lab gewoon met *Arabidopsis* en zelfs ook *Nicotiana benthamiana* werken, terwijl het in de meeste gevallen weer terugvertaald kan worden naar tomaat.

De fascinerende diversiteit van microbiële NLP effectoren

Guido van den
Ackerveken

Universiteit Utrecht

Inleiding

Bacteriën, schimmels en oömyceten gebruiken een breed scala aan mechanismen om de gastheerplant te infecteren. Ze produceren daarvoor, onder andere, zogenaamde effectoren (eiwitten of andere moleculen) om een grote verscheidenheid aan processen in de plant te beïnvloeden zodat de microbiële ziekteverwekkers kunnen groeien en ziekte veroorzaken. Op het eerste gezicht zou je denken dat verschillende micro-organismen ook erg uiteenlopende infectiemechanismen gebruiken, maar het blijkt dat sommige gereedschappen toch gebruikt worden door heel verschillende groepen micro-organismen. Een mooi voorbeeld hiervan zijn de NLP genen die voorkomen in bepaalde bacteriën, schimmels en vooral oömyceten (Seidl & van den Ackerveken, 2019).

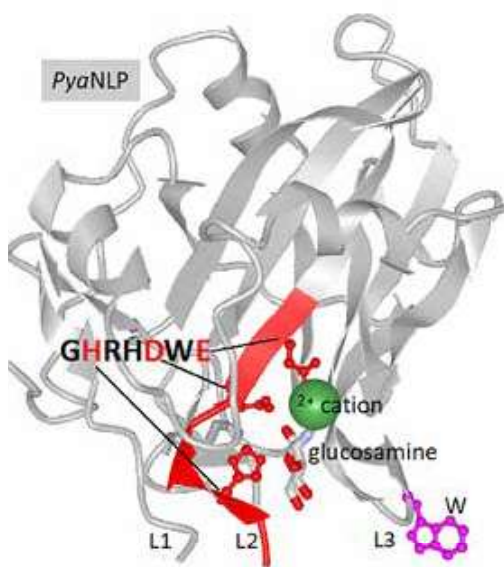
NLP staat voor Nep1-like protein; eiwitten die lijken op het Nep1 eiwit van *Fusarium*. Dicotyle, maar niet monocotyle planten zijn erg gevoelig voor het Nep1 eiwit wat necrose veroorzaakt, vandaar de naam Necrose- en Ethyleen-inducerend Protein 1 (Bailey, 1995). NLPs met een vergelijkbare activiteit zijn vervolgens gevonden in andere schimmelsoorten, maar ook in bacteriën en oömyceten.

NLP eiwitten geven celdood of necrose als ze worden geïnfilteerd in de intercellulaire ruimte (de apoplast) van bladeren van dicotyle planten. De reactie wordt gestart door hun cytolytische activiteit, d.w.z. dat ze de celmembraan permeabel maken voor ionen (Ottmann et al., 2009). Een groot aantal cytotoxische NLPs zijn gevonden in diverse micro-organismen, waarvan de meeste plant-geassocieerd zijn (Seidl & van den Ackerveken, 2019). Cytotoxische NLPs van ziekteverwekkers dragen mogelijk bij aan celdood tijdens de necrotrofe fase van infectie. Dit is echter alleen overtuigend aangetoond voor *Pectobacterium* (voorheen *Erwinia*) bacteriën, die NLPs gebruiken om rotting van aardappelweefsel te bevorderen, en waar de NLP Nip dus een virulentiefactor is (Mattinen et al., 2004).

Membraanverschillen verklaren verschil in gevoeligheid

Door de opheldering van de structuur van het cytotoxische PyaNLP eiwit van *Pythium aphanidermatum* (Ottmann et al., 2009) en recent de ontdekking van de binding van PyaNLP aan membraanlipiden (Lenarcic et al., 2017) snappen we nu beter waarom deze eiwitten alleen cytotoxisch zijn op dicotyle planten (van den Ackerveken, 2017). De grafische weergave van de driedimensionale structuur (Figuur 1) laat een aantal belangrijke functionele elementen zien. In rood is het zogenaamde heptapeptide motief zichtbaar met drie aminozuren (H, D en E) die belangrijk zijn voor de binding van een tweewaardig kation. In de structuur is dat Mg^{2+} , maar dat kan in vivo ook Ca^{2+} zijn. Daaronder is een glucosamine molecuul zichtbaar wat gebonden wordt door het NLP eiwit. De affiniteit voor bepaalde suikers maakt dat PyaNLP kan binden aan de suikerresiduen van glycosyl-inositol phosphorylceramide (GIPC), een sphingolipide in de membraan van de plant. PyaNLP kan zowel GIPCs van dicotyle als monocotyle planten binden. Bij dicotyle planten zijn er twee terminale suikergroepen en kan het gebonden NLP eiwit met de lipiden in de membraan interacteren, mogelijk met het vrijgekomen tryptofaanresidue (W, in paars aangegeven), wat door de suikerbinding meer naar buiten is gekomen. De interactie met de membraan en mogelijke multimerisatie leiden uiteindelijk tot lysis van de cel. Echter, in monocotyle planten hebben de GIPCs drie terminale suikers wat ertoe leidt dat het gebonden NLP eiwit mogelijk te ver van de membraan verwijderd is om enige lytische of toxische activiteit te hebben. Het verschil in aantal terminale suikers op GIPC sphingolipiden maakt of het NLP eiwit toxisch is of niet. Als laatste vormen twee cysteïne residuen een disulfidebrug die essentieel is voor de toxische activiteit en die mogelijk belangrijk is voor de stabiliteit van het eiwit in de apoplast (niet weergegeven).

Een analyse van de UniProt eiwitdatabank (2018) liet zien dat hierin ongeveer 1800 NLP eiwitten aanwezig waren. Van de meer dan 10.000 verschillende soorten organismen in de databank (van bacteriën tot de mens) bleken er slechts 500 één of meer NLP eiwitten te coderen in hun genoom. Taxa met veel NLP genen zijn actinomyceten en proteobacteriën, ascomyceet schimmels en



Figuur 1: Eiwitstructuur van PyaNLP met de aminozuurresiduen van het heptapeptidemotief die belangrijk zijn voor cation binding (in rood) alsmede de suiker-bindingsplaats waarin hier glucosamine is gebonden (Lenarcic et al, 2017).

oömyceten. De schimmel- en oömyceetsoorten coderen in veel gevallen voor meerdere NLP eiwitten. Een belangrijk deel hiervan blijkt niet cytotoxisch te zijn. Analyse van de NLP familie van de valse meeldauw van Arabidopsis (*Hyaloperonospora arabidopsidis*) liet zien dat geen van de 12 eiwitten necrose induceert op tabak of Arabidopsis (Cabral et al., 2012). Dit is niet onverwacht omdat valse meeldauw een obligaat biotrofe ziekteverwekker is en dus afhankelijk is van levende gastheercellen voor groei en reproductie. Maar wat is dan de functie van niet-cytotoxische NLPs voor het infectieproces als ze geen celdood induceren?

Verrassende andere activiteit van NLP eiwitten

Een mogelijke bijdrage van niet-cytotoxische NLPs aan het verhogen van de vatbaarheid van planten voor infectie werd getest in transgene Arabidopsis planten die het HaNLP3 eiwit van *H. arabidopsidis* tot overexpressie brachten. Tot onze verrassing werden deze planten juist resistent en bleven ze ook erg klein. Het bleek dat HaNLP3 herkend werd door het immuunsysteem van Arabidopsis en daarmee de afweer activeerde en de plant resistent maakte (Oome et al., 2014). Het is al langer bekend dat activatie van immuniteit vaak leidt tot vermindering van de groei...iets wat ook gebeurde in

onze transgene HaNLP3 planten. Gelijktijdig werd gevonden dat inactieve vormen van het cytotoxische PpNLP eiwit (door mutatie of hitte-inactivatie) ook het immuunsysteem van Arabidopsis aanschakelde (Bohm et al., 2014). Een klein deel van HaNLP3 (een peptide van 24 aminozuren, nlp24) of PpNLP (een peptide van 20 aminozuren, nlp20) bleek voldoende om het immuunsysteem van Arabidopsis te stimuleren (Oome et al., 2014; Bohm et al., 2014). Behandeling van bladeren met synthetische peptiden was voldoende om typische immunresponsen te geven zoals de productie van reactieve zuurstof en ethyleen, de activatie van afweergenen, en de inductie van resistentie tegen ziekteverwekkers zoals valse meeldauw. Naast Arabidopsis en meerdere andere Brassica soorten bleek ook sla de peptiden te herkennen en een immunrespons te geven (Bohm et al., 2014; Raaymakers, 2018).

Door optimaal gebruik te maken van de modelplant Arabidopsis konden op een efficiënte manier de receptoren gekloneerd worden. Biochemische en genetische studies toonden aan dat de NLP peptiden nlp20 en nlp24 binden aan het membraangebonden Receptor-Like Protein 23. Omdat RLP23 geen intracellulair kinase domein heeft, zoals de meeste receptoren, is het afhankelijk van de co-receptor SOBIR1, een receptor-like kinase (Albert et al., 2015). Samen met een derde receptor, de receptor-like kinase BAK1, leidt herkenning tot de activatie van immuniteit. Deze zogenaamde



Figuur 2: De valse meeldauw van Arabidopsis. Sporulatie op kiemblad: duidelijk zichtbaar zijn de vertakte sporendragers waarop de ongeslachtelijke sporangiosporen worden gevormd, ook zijn links een aantal bladharen van de plant zichtbaar.

pattern-recognition receptoren maken onderdeel uit van het innate of aangeboren immuunsysteem van de plant en zorgen voor de detectie van extracellulaire moleculen (Raaymakers & van den Ackerveken, 2016). De RLP23 receptor komt niet voor in andere plantensoorten terwijl de coreceptoren SOBIR1 en BAK1 sterk geconserveerd zijn binnen het plantenrijk. Aardappelplanten, die normaal geen NLP herkennen, worden door transformatie met een RLP23 transgen nu gevoelig voor nlp20 (Albert et al., 2015). Deze planten laten ook een verminderde vatbaarheid voor *Phytophthora infestans* en *Sclerotinia sclerotiorum* zien, twee ziekteverwekkers die NLP eiwitten produceren. De toepassing van dit soort genen wordt helaas beperkt door onze GMO regelgeving, maar zou anders kunnen bijdragen aan het verhogen van resistentie tegen pathogenen.

Fascinerende ontdekkingen

NLP effectoren zijn een fascinerende groep eiwitten doordat ze geproduceerd worden door vele verschillende microbiële taxa en diverse activiteiten hebben. In het afgelopen decennium is duidelijk geworden dat cytotoxische NLPs alleen actief zijn op membranen van dicotyle planten door een verschil in sphingolipiden met monocotyle planten. Een tweede belangrijke activiteit van NLPs is de activatie van immuniteit in een aantal plantensoorten door receptoren die specifiek NLP fragmenten detecteren. Een belangrijke laatste activiteit blijft onbekend: wat is een mogelijke virulentierol van niet-cytotoxische NLPs? Het feit dat NLPs ook worden geproduceerd door niet-ziekteverwekkers suggereert dat ze mogelijk effecten hebben buiten het plantenrijk. We kijken uit naar nieuwe ontdekkingen over de NLP eiwitten en hun rol voor de micro-organismen die ze produceren.

Referenties

- Albert I., Bohm H., Albert M., Feiler C.E., Imkamp J., Wallmeroth N., et al (2015). An RLP23-SOBIR1-BAK1 complex mediates NLP-triggered immunity. *Nature Plants*. 1:15140. Epub 2015/01/01. doi: 10.1038/nplants.2015.140. PubMed PMID: 27251392.
- Bailey B.A. (1995) Purification of a protein from culture filtrates of *Fusarium oxysporum* that induces ethylene and necrosis in leaves of *Erythroxylum coca*. *Phytopathology* 85:1250-1255. PubMed PMID: 14387007996701536210related:0m8ZlIzrqMcJ.
- Bohm H., Albert I., Oome S., Raaymakers T.M., Van den Ackerveken G. & Nurnberger T. (2014) A conserved peptide pattern from a widespread microbial virulence factor triggers pattern-induced immunity in Arabidopsis. *PLoS Pathog.* 10(11):e1004491. doi: 10.1371/journal.ppat.1004491. PubMed PMID: 25375108; PubMed Central PMCID: PMC4223075.
- Cabral A., Oome S., Sander N., Kufner I., Nurnberger T. & Van den Ackerveken G. (2012) Nontoxic Nep1-like proteins of the downy mildew pathogen *Hyaloperonospora arabidopsidis*: repression of necrosis-inducing activity by a surface-exposed region. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 25(5):697-708. doi: 10.1094/MPMI-10-11-0269. PubMed PMID: 22235872.
- Lenarcic T., Albert I., Bohm H., Hodnik V., Pirc K., Zavec A.B., et al. (2017) Eudicot plant-specific sphingolipids determine host selectivity of microbial NLP cytotoxins. *Science* 358(6369):1431-4. Epub 2017/12/16. doi: 10.1126/science.aan6874. PubMed PMID: 29242345.
- Mattinen L., Tshuikina M., Mae A. & Pirhonen M. (2004) Identification and characterization of Nip, necrosis-inducing virulence protein of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 17(12):1366-75. Epub 2004/12/16. doi: 10.1094/MPMI.2004.17.12.1366. PubMed PMID: 15597742.
- Oome S., Raaymakers T.M., Cabral A., Samwel S., Bohm H., Albert I. et al. (2014) Nep1-like proteins from three kingdoms of life act as a microbe-associated molecular pattern in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 111(47):16955-60. doi: 10.1073/pnas.1410031111. PubMed PMID: 25368167; PubMed Central PMCID: PMC4250136.
- Ottmann C., Luberacki B., Kufner I., Koch W., Brunner E., Weyand M., et al. (2009) A common toxin fold mediates microbial attack and plant defense. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106(25):10359-64. Epub 2009/06/13. doi: 10.1073/pnas.0902362106. PubMed PMID: 19520828; PubMed Central PMCID: PMC2695407.
- Raaymakers T.M. (2018) Activation of plant immunity by microbial NEP1-like protein patterns, PhD thesis.
- Raaymakers T.M., Van den Ackerveken G. (2016) Extracellular recognition of oomycetes during biotrophic infection of plants. *Frontiers in Plant Science*. 7:906. doi: 10.3389/fpls.2016.00906. PubMed PMID: 27446136; PubMed Central PMCID: PMC4915311.
- Seidl M.F. & Van den Ackerveken G. (2019) Activity and phylogenetics of the broadly occurring family of microbial Nep1-Like Proteins. *Annual Review of Phytopathology*. Epub 2019/07/10. doi: 10.1146/annurev-phyto-082718-100054. PubMed PMID: 31283435.
- Van den Ackerveken G. (2017) How plants differ in toxin-sensitivity. *Science* 358(6369):1383-4. Epub 2017/12/16. doi: 10.1126/science.aar4188. PubMed PMID: 29242331.

Zonder strijd geen overwinning

Een geïntegreerde aanpak om *Phytophthora* uit te schakelen

Francine Govers

Laboratorium voor
Fytopathologie
Wageningen University
francine.govers@wur.nl

Plantenvernietigers

Phytophthora soorten zijn desastreuze ziekteverwekkers. De meest bekende en meest beruchte is *Phytophthora infestans*, de veroorzaker van de aardappelziekte. Deze soort is in 1876 voor het eerst beschreven door Anton De Bary, de grondlegger van de mycologie, en was de eerste in een geslacht dat nu ruim 150 soorten telt, allemaal 'plantenvernietigers' - het Griekse woord 'phyton' betekent plant en 'phthora' vernietiging. En nog steeds worden er nieuwe *Phytophthora* soorten ontdekt. De laatste decennia zijn regelmatig *Phytophthora* soorten in het nieuws die bomen aantasten en toeslaan in bosrijke gebieden. Een voorbeeld is *Phytophthora ramorum*, voor het eerst waargenomen in de jaren negentig van de vorige eeuw in het westen van de Verenigde Staten als veroorzaker van Sudden Oak Death en inmiddels ook massaal in opmars in Engeland waar met name lariksen het slachtoffer zijn. Andere voorbeelden zijn *Phytophthora kernoviae*, ontdekt in Engeland in 2003 op beuk en rododendrons en met een brede waardplantenreeks, en *Phytophthora alni* die wijdverbreid in Europa elzen aantast. In veel gevallen blijkt het te gaan om een soort die ontsnapt is uit zijn oorsprongsgebied. Door de toenemende wereldwijde handel in bomen en siergewassen neemt de kans op introductie van nieuwe soorten toe. Uit een jarenlange inspectie van 732 Europese kwekerijen (bomen, struiken en siergewassen) is gebleken dat daar 68 *Phytophthora* soorten/taxa aanwezig waren waaronder 47 exotische soorten en zeven die voor de eerste keer in Europa waren aangetroffen (Jung et al., 2016). Voldoende reden om alert te zijn en nog betere detectiesystemen te ontwikkelen en te implementeren.

De oömyceet *Phytophthora infestans*

Toen de aardappelziekte voor het eerst toesloeg in Europa, en de Ieren massaal ten onder gingen aan de hongerdood, tastte men in het duister over de oorzaak. Was het de industrialisatie die de planten verzwakte of was het een straf van God, die ontstemd was over de toenemende bevolkingsgroei, en donder en bliksem inzette om de oogst

te vernietigen? In het midden van de 19^{de} eeuw was de idee dat micro-organismen ziektes kunnen veroorzaken nog niet geland. De verzwakte planten raakten weliswaar beschimmeld maar dit werd eerder gezien als gevolg en niet als oorzaak. In de tijd dat Louis Pasteur de 'microbe-theorie' ontwikkelde (rond 1860) en het causale verband aantoonde tussen bepaalde ziekten bij de mens en microbiële ziekteverwekkers, experimenteerde Anton de Bary met het schimmelachtige organisme dat geïsoleerd was uit zieke aardappelplanten. Hij gebruikte de sporen gevormd in reincultuur om gezonde planten te inoculeren en leverde daarmee het bewijs dat dit organisme de oorzaak is van de aardappelziekte. Hij gaf de 'aardappelschimmel' de naam *Phytophthora infestans* en gezien de groeiwijze in de vorm van hyfen en de verspreiding via sporen, was het niet verwonderlijk dat *P. infestans* toentertijd werd ingedeeld in het schimmelryk en wel in de klasse der oömyceten. Dit zijn waterschimmels die het beste gedijen in een vochtige omgeving en eivormige geslachtelijke sporen vormen, zogeheten oösporen. Naast de ~150 *Phytophthora* soorten zijn er nog vele andere oömyceten die plantenziekten veroorzaken zoals de valse meeldauwen en de vele *Pythium* soorten. Classificatie op basis van morfologie is echter misleidend. Uit DNA analyses is gebleken dat oömyceten geheel onafhankelijk van schimmels zijn geëvolueerd en ze worden nu geclassificeerd in de Straminopila samen met onder andere bruinwieren en kiezel diertjes. Het vermoeden dat oömyceten anders zijn dan schimmels bestond echter al langer. Ze bezetten dezelfde ecologische niche en oefenen vergelijkbare functies uit maar het mechanisme verschilt. *Phytophthora* soorten maken bijvoorbeeld geen sterolen en zijn daarom ongevoelig voor SBIs, chemische bestrijdingsmiddelen die de ergosterol biosynthese remmen. Ook chitinases, een van de PR eiwitten ('pathogenesis related proteins') die planten aanmaken als ze worden aangevallen door een ziekteverwekker, hebben geen vat op oömyceten. Wel op schimmels want die hebben chitine in hun celwand terwijl de celwand van oömyceten voornamelijk uit cellulose bestaat. Andere typische eigenschappen zijn de zwemsporen (zoösporen) met twee verschillende zweepdraden alsook de diploidie.

Bestrijding van de aardappelziekte; een geïntegreerde aanpak

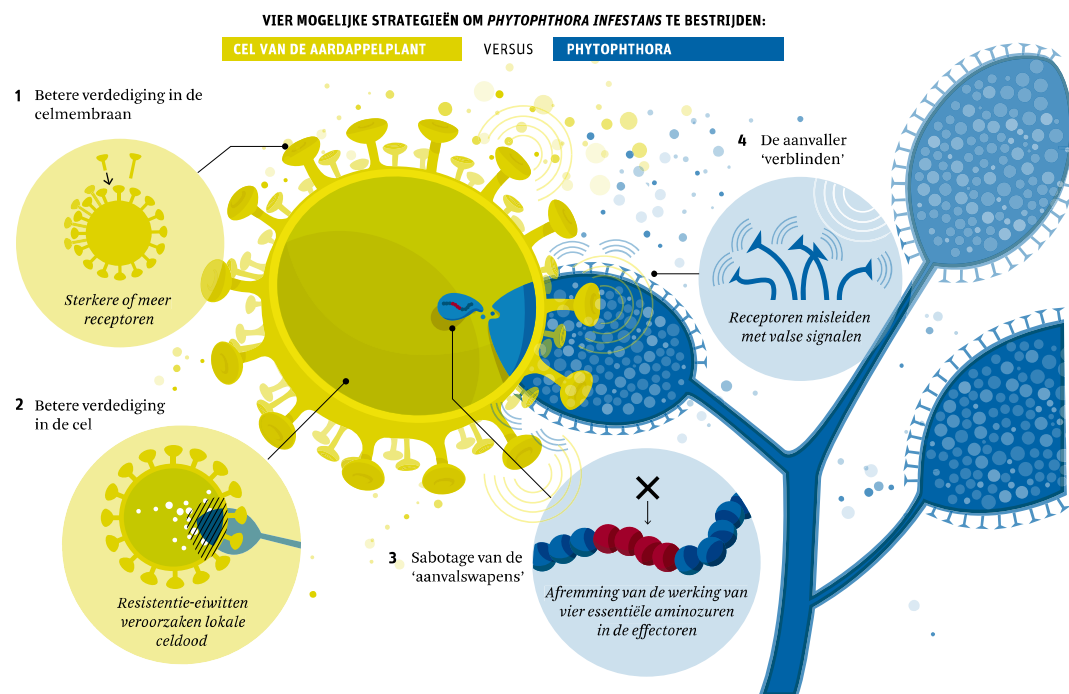
Dat *Phytophthora infestans* een geduchte ziekteverwekker is en moeilijk te bestrijden, is alom bekend. In de aardappelveredeling is *Phytophthora* resistentie een van de eigenschappen die hoog op het verlanglijstje staat. De beschikbaarheid van resistente cultivars is echter te beperkt en de meeste telers passen chemische bestrijding toe om een rendabele oogst te waarborgen. Bestrijding van de aardappelziekte vereist een geïntegreerde aanpak: versterking van afweer in de plant en verzwakking van de ziekteverwekker (schematisch weergegeven in Figuur 1). Voor het ontwikkelen van nieuwe strategieën is het essentieel om inzicht te hebben in de wapenwedloop tussen plant en ziekteverwekker en de verdedigings- en aanvalsmechanismes te ontrafelen.

Twee verdedigingslijnies

De eerste barrière die een ziekteverwekker tegenkomt is de celwand direct gevolgd door de

celmembraan. In de celmembraan zitten allerlei verschillende receptoren waaronder een aantal die geactiveerd worden als een ziekteverwekker probeert binnen te dringen. Voor sommigen van deze receptoren is aangetoond dat ze bijdragen aan afweer tegen *P. infestans* (Wang & Bouwmeester, 2016; Bouwmeester et al., 2014; Du et al., 2015). Als het coderende gen gemuteerd is wordt de plant gevoeliger voor infectie, en als de expressie opgeschroefd wordt, waardoor er meer van de betreffende receptor in de celmembraan terecht komt, is de plant minder gevoelig. In dat laatste geval wordt *P. infestans* geremd, en zijn de lesies kleiner of verschijnen later. Dergelijke studies laten zien dat het de moeite waard is om deze receptoren verder te onderzoeken en te kijken of met gerichte technieken geselecteerd kan worden voor de best werkende varianten van deze receptoren.

De tweede en best bestudeerde verdedigingslinie bevindt zich in de cel. Dat zijn de resistentie-eiwitten (R-eiwitten) die hun oorsprong hebben in wilde *Solanum* soorten uit Midden- en Zuid-Amerika, en waarvan activatie voldoende is om infectie volledig te blokkeren (Vleeshouwers et



Figuur 1. Artistieke weergave van de plant-Phytophthora interactie.

Links, in groen, een plantencel met de twee verdedigingslijnies (1,2) en rechts, in blauw, Phytophthora, weergegeven als drie sporangia op een sporangiofoor. Sporangia kunnen direct de plant infecteren of veranderen in een zoösporangium. Hieruit komen zoösporen vrij die al zwemmende op zoek gaan naar een geschikte plek om te infecteren. In alle gevallen gebruikt Phytophthora receptoren om signalen uit de omgeving op te vangen en RXLR-effectoren om afweer in de plant te onderdrukken om zo de weg vrij te maken voor verdere kolonisatie. Doelgerichte 'sabotage' (3) en 'misleiding' (4) lijken effectieve manieren te zijn om het infectieproces te verstoren. Copyright: www.steffiepadmos.com.

al., 2011). Immers, hun activatie leidt tot celdood en als enkele cellen doodgaan op de plek waar *P. infestans* probeert binnen te dringen is dit afdoende om de ziekteverwekker te stoppen. Al in het begin van de vorige eeuw werd begonnen met het kruisen van de cultuuraardappel *Solanum tuberosum*, met een wilde aardappelsoort uit Mexico, *Solanum demissum*, met als doel de *Phytophthora* resistentie uit *S. demissum* over te brengen. Dat lukte, maar de snelheid waarmee de resistentie verloren ging deed vermoeden dat de ziekteverwekker wel zeer behendig was in het aanpassen aan nieuwe omstandigheden. Ook resistenties uit andere wilde *Solanum* soorten houden meestal niet lang stand. Met de kennis die we nu hebben over *P. infestans*, met name over de organisatie van het genoom, kunnen we deze dynamiek verklaren. De ingekruiste wilde *Solanum* genen coderen voor bovengenoemde R-eiwitten. Deze herkennen specifieke eiwitten van de ziekteverwekker – een typische ‘gen-om-gen’ relatie (de Wit, 2019) – en dit leidt tot lokale celdood, de meest effectieve manier om infectie te blokkeren. R-eiwitten die effectief zijn tegen *Phytophthora* herkennen zogeheten RXLR-effectoren. Alle *Phytophthora* soorten beschikken over een groot en divers arsenaal aan RXLR-effectoren (Govers, 2010). Iedere soort heeft zijn eigen set en ze zijn bepalend voor de gastheerspecificiteit. *P. infestans* heeft meer dan 550 RXLR-effector genen waarvan er meer dan 200 actief zijn tijdens infectie van aardappel. *Phytophthora* beschikt over een mechanisme dat ervoor zorgt dat de RXLR-effectoren na uitscheiding naar de binnenkant van de plantencel worden getransporteerd. Eenmaal binnen gaan ze de plantencel manipuleren door allerlei processen te verstoren die de plant gebruikt om zich te verweren tegen ziekteverwekkers. *Phytophthora* kan dan ongestoord zijn gang gaan, voedingstoffen opnemen, het blad koloniseren en sporuleren, terwijl de gastheer ten onder gaat. Dit gebeurt niet in een resistente cultivar waarin het R-eiwit de bijpassende RXLR-effector herkent en celdood activeert. Echter, onder druk van het R-eiwit treden mutaties op in het RXLR-effector gen waardoor *Phytophthora* herkenning kan ontwijken en de resistentie doorbroken is. Als een cultivar over verschillende R-eiwitten beschikt duurt het langer voordat de resistentie doorbroken is en het stapelen van R-genen is dan ook een benadering die veelbelovend is. Als dit dan ook nog gecombineerd wordt met een versterking van de eerste verdedigingslinie, zal *P. infestans* nog meer moeite moeten doen om door te breken.

Phytophthora ontwapenen

Er zijn inmiddels voldoende aanwijzingen dat het belangrijkste wapenarsenaal van *Phytophthora* bestaat uit RXLR-effectoren. Iedere RXLR-effector die tot nu toe bestudeerd is, is uniek en grijpt in op een ander planteneiwit; het hele arsenaal tezamen ontregelt een groot aantal cellulaire processen overal in de cel en in iedere celorganel (Whisson et al., 2016; Wang et al., 2019). Het beeld is nog lang niet compleet maar het is duidelijk dat *Phytophthora* zich niet gemakkelijk overgeeft. Een RXLR-effector is opgebouwd uit een signaalpeptide, een RXLR-domein en een effectordomein. De uniciteit van een RXLR-effector bevindt zich in het effectordomein. Dat varieert in lengte en aminozuursamenstelling en bestaat vaak uit herkenbare motieven die bepalend zijn voor de driedimensionale structuur van het eiwit. Dit is ook het domein dat herkend wordt door een R-eiwit. In veel gevallen blijkt dat mutaties in het effectordomein die tot verlies van herkenning leiden, geen effect hebben op de afweer-onderdrukkende capaciteit van de effector. Het signaalpeptide zorgt ervoor dat *Phytophthora* het eiwit via de normale route kan uitscheiden en wordt daarbij afgesnoerd. Het RXLR-domein bevat het RXLR-motief. Dit bestaat uit vier aminozuren – een arginine (R) op positie 1 en 4, een leucine (L) op positie 3 en een X (elk willekeurig aminozuur) op positie 2 – en is essentieel voor opname van de effector in de plantencel. Hoe dit precies in zijn werk gaat is niet bekend. Wat wel vaststaat is dat een RXLR-effector met een gemuteerd RXLR-motief zijn eindbestemming niet kan bereiken. Is dit nu de zwakke plek die we zoeken? Kunnen we het belangrijkste wapenarsenaal van *Phytophthora* uitschakelen door te voorkomen dat RXLR-effectoren massaal hun eindbestemming missen? En hoe moet dat? Dat is een vraag die veel onderzoekers vanuit verschillende invalshoeken proberen te beantwoorden.

Er bestaan aanwijzingen dat ergens in het proces het RXLR-domein en het effectordomein gesplitst worden en het is aannemelijk dat het RXLR-motief een essentieel herkenningspunt is voor een enzym dat de splitsing bewerkstelligt. Uit studies aan de malariaparasiet *Plasmodium* is gebleken dat het enzym ‘aspartic protease’ (AP) een splitsing katalyseert in effectoren die een motief bevatten dat sterk lijkt op het RXLR-motief. Als onderdeel van het promotieonderzoek van Chara Schoina (Schoina, 2018) hebben wij onderzoek gedaan of *Phytophthora* ook APs heeft en of deze APs belangrijk zijn voor virulentie. Van de twaalf AP genen in *P. infestans* zijn er drie (AP10, AP11 en AP12) die coderen voor een AP dat sterk lijkt op het *Plasmodium* AP. *P. infestans* transformanten

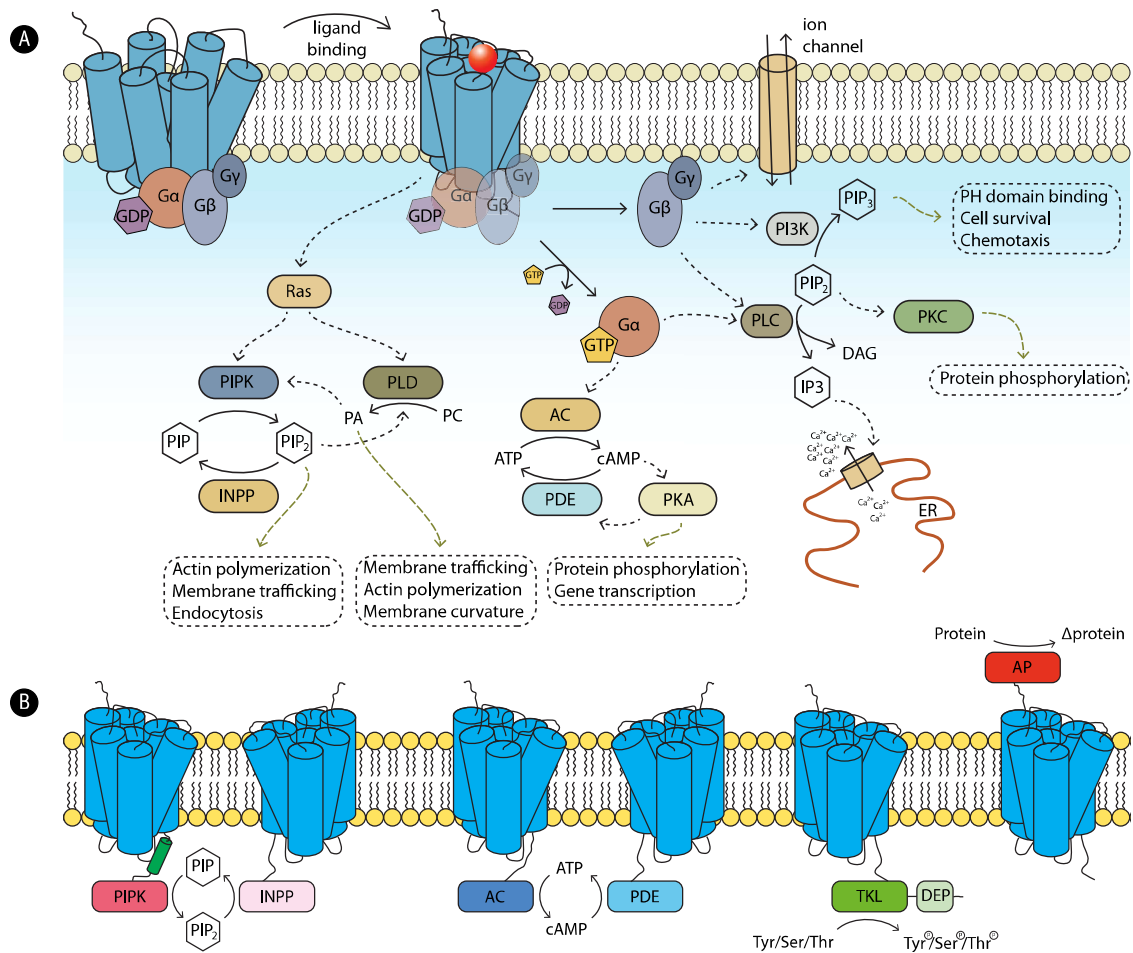
waarin de expressie van het AP10 gen of het AP12 gen verlaagd is bleken minder virulent te zijn (Schoina et al., 2019). Voor AP11 vonden we dat niet. De verminderde virulentie suggereert dat de twee APs een rol hebben in het infectieproces maar of dit het gevolg is van verdwaalde RXLR-effectoren is nog een open vraag die moeilijk te beantwoorden is met de huidige beschikbare detectiemethodes. We hebben wel een in vitro test uitgevoerd en daaruit bleek dat AP10 en AP12, maar niet AP11, een RXLR-effector kunnen knippen: blootstelling aan de APs leidde tot een kleiner Avr4 eiwit. Verder onderzoek moet uitwijzen of ook andere RXLR-effectoren geknipt worden door deze APs, waar precies de splitsing plaatsvindt en of dit ook in vivo gebeurt.

Als ons onderzoek of dat van anderen kan ophelderen wat de cruciale stappen zijn in het afleveren van RXLR-effectoren in de plantencel dan is de volgende stap iets te vinden dat dit proces blokkeert. Als bijvoorbeeld AP10 en/of AP12 cruciaal blijken te zijn, dan kan een specifieke en effectieve remmer van dit enzym al voldoende zijn om *Phytophthora* te verzwakken of in te dammen. Zo'n remmer kan de actieve ingrediënt zijn van een bestrijdingsmiddel of kan als extra verdedigingslinie door de plant worden ingezet. Biologische bestrijding met (gemodificeerde) micro-organismen die een dergelijke remmer produceren zou ook een optie kunnen zijn maar dan met name gericht op *Phytophthora* soorten die via wortels infecteren.

***Phytophthora* misleiden**

Ieder levend organisme is in staat om signalen uit de omgeving op te vangen en daarop te reageren. Voor een ziekteverwekker is het bijvoorbeeld belangrijk om te weten wanneer er een geschikte gastheer in de buurt is zodat de aanval ingezet kan worden. Het ontvangen van externe signalen en de signaaloverdracht in de cel die tot cellulaire responsen leidt, wordt nauwlettend gereguleerd en vereist het optimaal functioneren van zeer complexe regelsystemen (Figuur 2A). Zo'n 20 jaar geleden zijn we begonnen met het ontrafelen van signaaloverdracht in *Phytophthora*, met name de signalering via G-eiwitten en fosfolipiden, met de idee dat we hiermee zwakke plekken in deze ziekteverwekker zouden kunnen blootleggen. Als immers blijkt dat het gericht uitschakelen van een component in de signaaloverdracht leidt tot een kreupele ziekteverwekker die niet langer kan infecteren dan is die betreffende component, mits uniek, interessant als doelwit voor een bestrijdingsmiddel. De drie geteste componenten in de

G-eiwit signalering, de $G\alpha$ -, $G\beta$ - en $G\gamma$ -subeenheid die tezamen het heterotrimere G-eiwit vormen, bleken cruciaal te zijn voor sporulatie en/of infectie (Latijnhouwers 2003a; 2003b). Zo bepaalt de $G\alpha$ -subeenheid het zwemgedrag van zoösporen en zonder een goed functionerende $G\alpha$ -subeenheid kan *Phytophthora* zijn waardplant niet vinden. Zonder een goed functionerende $G\beta$ worden geen sporen gevormd. De subeenheden van het heterotrimere G-eiwit zijn echter universele eiwitten die in alle eukaryoten voorkomen en zeer geconserveerd zijn en daarom niet geschikt als doelwit. Een vierde geteste component, ook met een rol in sporulatie en infectie, is echter wel uniek (Hua et al., 2013) Dit eiwit (genaamd GPCR-PIPK-4), dat lijkt op een antenne-eiwit met een G-eiwit gekoppelde receptor (GPCR) in de celmembraan en een intracellulair domein met een functie in de fosfolipide-signaaloverdracht, is aanwezig in alle oömyceten en daarnaast alleen in een zeer beperkt aantal micro-organismen, allen waterminnende soorten. Daarbuiten komt het niet voor en dit maakt het een interessant doelwit voor bestrijding. Als onderdeel van zijn promotieonderzoek heeft Johan van den Hoogen (van den Hoogen, 2018) vergelijkende genom analyses uitgevoerd en aangetoond dat oömyceten veel meer van dergelijke unieke antenne-eiwitten hebben. GPCR-PIPK-4 behoort tot een familie met 12 leden die allen tot expressie komen tijdens de levenscyclus van *Phytophthora* maar verschillen in het stadium waarin ze het meest actief zijn (Hua et al., 2013). Dit wijst op een specialisatie in functie binnen de familie. Ook GPCRs komen universeel voor in alle eukaryoten maar in tegenstelling tot de drie G-eiwit subeenheden zijn ze veel minder geconserveerd en heeft ieder organisme een groot aantal van deze receptoren met daarin een grote diversiteit. Zo heeft de mens meer dan 1000 GPCRs die in allerlei lichaamsprocessen een rol spelen en een uiterst belangrijke functie hebben in het ontvangen van allerlei verschillende externe signalen. Dat een juiste, nauw gereguleerde signaaloverdracht van buiten naar binnen van levensbelang is, blijkt wel uit het feit dat merendeel van onze geneesmiddelen een GPCR als doelwit hebben. *Phytophthora* heeft 132 GPCR genen en 44 daarvan zijn bijzonder omdat ze coderen voor zogeheten 'GPCR-bigrams'. GPCR-PIPK-4 is hiervan een voorbeeld. 'GPCR-bigrams' beschikken over een extra enzymatisch domein naast het GPCR domein (Figuur 2B) en lijken daarmee in staat signalen direct door te schakelen naar intracellulaire signaaloverdrachtroutes, zonder een tussenstap via het heterotrimere G-eiwit (van den Hoogen & Govers, 2018). Dit is een uiterst interessante hypothese die niet eerder beschreven is en uiteraard getest moet worden.



Figuur 2. Opmerkelijke vindingen in signaaloverdracht in oömyceten.

Het ontvangen van externe signalen en de signaaloverdracht in de cel die tot cellulaire responsen leidt, wordt nauwlettend gereguleerd en vereist het optimaal functioneren van zeer complexe regelsystemen. In (A) staan signaaloverdrachtroutes weergegeven die representatief zijn voor nagenoeg alle eukaryoten die op dit niveau onderzocht zijn. Het is aannemelijk dat ook oömyceten vergelijkbare regelsystemen gebruiken. Opmerkelijk genoeg ontbreekt in Phytophthora een gen dat codeert voor fosfolipase C (PLC), een sleutelenzym in de fosfolipide signalering. Het is mogelijk dat Phytophthora over andere eiwitten beschikt met vergelijkbare enzymactiviteit maar die we niet als zodanig kunnen herkennen en classificeren als 'onbekend'. Daarnaast beschikken oömyceten over een bijzondere set aan zogeheten 'GPCR-bigrams' weergegeven in (B). Het fictief plaatsen van GPCR-PIPK, GPCR-INPP, GPCR-AC en GPCR-PDE in het generieke overzicht in (A) wekt de suggestie dat oömyceten in staat zijn externe signalen direct door te schakelen naar intracellulaire signaaloverdrachtroutes, zonder een tussenstap via het heterotrimer G-eiwit. Of dit ook daadwerkelijk gebeurt, is nog niet onderzocht.

(A). In signaaloverdracht in eukaryoten spelen G-eiwitten een sleutelrol. Een G-eiwit gekoppelde receptor (GPCR) bestaat uit zeven transmembraan helices (blauwe cylinders) en is geassocieerd met het inactieve heterotrimer G-eiwit waarin de $G\alpha$ -subeenheid gebonden is aan GDP. Door een extern signaal, veelal een peptide of een anorganische component, al dan niet vluchtig (liganden), verandert de conformatie van de GPCR waardoor het heterotrimer G-eiwit vrijkomt van de GPCR en dissocieert in een $G\alpha$ en $G\beta\gamma$. De geactiveerde $G\alpha$ and $G\beta\gamma$ subeenheden activeren op hun beurt de volgende componenten in de signaaloverdracht route. Ook kleine G-eiwitten zoals Ras, kunnen andere, verderop gelegen componenten activeren. De verschillende signaaloverdrachtroutes leiden uiteindelijk tot een diversiteit aan cellulaire responsen (weergegeven in blokken). Afkortingen: AC: adenylate cyclase; PDE: phosphodiesterase; PKA: protein kinase A; PKC: protein kinase C; PLC: phospholipase C; PI3K: phosphatidylinositol kinase; PIPK: phosphatidylinositolphosphate kinase; INPP: inositol polyphosphate phosphatase; PIP: phosphatidylinositolphosphate; PLD: phospholipase D; PA: phosphatidic acid; PC: phosphatidylcholine; ER: endoplasmic reticulum; IP3: inositoltrisphosphate; DAG: diacylglycerol. Overgenomen uit van den Hoogen, 2018.

(B). Schematische weergave van de opbouw van 'GPCR-bigrams' in oömyceten en hun voorspelde katalytische activiteit. Het G-eiwit gekoppelde receptor domein (blauwe cylinders) bestaat uit zeven transmembraan helices. De katalytische domeinen zijn PIPK (phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase) en INPP (inositol polyphosphate phosphatase), beide betrokken bij fosfolipide signalering, AC (adenylate cyclase) en PDE (phosphodiesterase) met een rol in conversie van een cyclisch nucleotide, TKL (tyrosine kinase-like) voor eiwitfosforylering en het protease AP (aspartic protease). Phytophthora infestans heeft 12 genen die coderen voor een GPCR-PIPK, 7 voor GPCR-INPP, 4 voor GPCR-AC, 3 voor GPCR-PDE, 17 voor GPCR-TKL en 1 voor AP-GPCR. PIP = phosphatidylinositol; DEP = Dishevelled, Egl-10 and Pleckstrin. Overgenomen uit van den Hoogen et al., 2018.

Het feit dat vijf van zes type 'GPCR-bigrams' uniek zijn voor oömyceten – alleen GPCR-PIPKs zijn ook gevonden in een beperkt aantal waterminnende micro-organismen – biedt aanknopingspunten voor oömyceet-specifieke bestrijdingsmiddelen die andere organismen ongemoeid laten. Vergelijkbaar met geneesmiddelen die op GPCRs inwerken zou zo'n bestrijdingsmiddel kunnen bestaan uit een ligand, bijvoorbeeld een peptide of een anorganisch molecuul dat specifiek bindt aan een GPCR en zo deze receptor misleidt. Wat de natuurlijke liganden zijn van de 'GPCR-bigrams' in *Phytophthora* weten we nog niet en identificatie hiervan vereist nogal wat inzet. Alvorens hierin te investeren is het van belang om uit te zoeken welke van de 'GPCR-bigrams', na uitschakeling, *Phytophthora* zodanig ontwapenen dat deze niet meer kan infecteren. Zoals boven genoemd hebben we dat al getest voor een 'GPCR-bigram', GPCR-PIPK-4, door het coderende gen te 'silencen', en daarmee het expressieniveau aanmerkelijk te reduceren. De 'gesilencede' transformanten waren minder virulent en hun sporen waren gedeformeerd, voldoende aanwijzingen om GPCR-PIPK-4 als aantrekkelijk doelwit te typeren (Hua et al., 2013). Met 'gene-silencing' is het echter niet mogelijk het coderende gen volledig uit te schakelen; dat kan in theorie wel met CRISPR-Cas, een 'gene-editing' methode gebaseerd op het immuunsysteem in bacteriën en sterk in opmars in de levenswetenschappen. CRISPR-Cas werkt aantoonbaar in sommige *Phytophthora* soorten, waaronder *P. sojae* en *P. capsici*, maar vooralsnog niet in *P. infestans*. Onze pogingen en ook die van onderzoeksgroepen elders, hebben nog niet tot het gewenste resultaat geleid. Als CRISPR-Cas in *P. infestans* eenmaal werkt kan veel gericht en efficiënter onderzocht worden welke doelwitten prioriteit hebben en ligt de weg open voor de volgende stap, identificatie van de liganden.

Andere doelwitten in *Phytophthora*

De strijd voeren via ontwapening en misleiding vereist gedegen kennis van de vijand. Door de DNA-revolutie en het ontrafelen van genoom-sequenties is het onderzoek aan *Phytophthora* en andere oömyceten in een stroomversnelling geraakt. Maar ook andere technische ontwikkelingen in de levenswetenschappen leveren een belangrijke impuls. CRISPR-Cas 'genoom-editing' is al genoemd. 'Live-cell imaging' biedt weer andere openingen: het kijken in de levende cel met de mogelijkheid het gedrag van individuele eiwitten op subcellulair niveau te bestuderen. In nauwe samenwerking met Tijs Ketelaar van het Laboratorium voor Celbiologie (WUR)

onderzoeken wij het cytoskelet in *Phytophthora*, het netwerk van eiwitten en eiwitcomplexen dat de cel stevigheid, vorm en beweeglijkheid geeft. Actine en tubuline zijn belangrijke bouwstenen van het cytoskelet en van beiden hebben we het gedrag in *Phytophthora* met 'live cell imaging' in beeld gebracht. Het actine cytoskelet in hyfen bestaat uit kabels en zogeheten 'plaques', bolvormige structuren waarin actine verweven is, waarschijnlijk in een netwerk van verschillende eiwitten waaronder actine-bindende eiwitten (Figuur 3) (Meijer et al., 2014). In appressoria, de druklichaampjes die *Phytophthora* vormt tijdens het infectieproces om de plant te kunnen binnendringen, zien we een stervormige, kortlevende actine-structuur (Kots et al., 2017). De 'plaques' hebben onze speciale aandacht, wederom vanwege het feit dat ze alleen in oömyceten voorkomen en daarmee mogelijk een interessant doelwit zijn voor bestrijding. Actine is sterk geconserveerd in eukaryoten en daarom niet geschikt als doelwit. Als we kunnen achterhalen welke andere eiwitten onderdeel uitmaken van de 'plaques' kunnen we mogelijk wel een doelwit vinden dat bij gerichte afbraak *Phytophthora* kan ontwapenen. Immers behandeling van *Phytophthora* met latrunculin B, een stof die actinestructuren depolymeriseert, leidt tot groeiremming en deformatie, een toestand die de vitaliteit van *Phytophthora* aantast.



Figuur 3. Kiemende cysten van *Phytophthora infestans*. Het actine cytoskelet bestaande uit kabels en 'plaques' is zichtbaar gemaakt met 'live cell imaging' van een *P. infestans* transformant waarin een fluorescerend eiwit gekoppeld is aan actine. De tips van de hyfen zijn verdikt en zullen spoedig uitgroeien tot appressoria, infectiestructuren die na hechting aan het plantoppervlak een penetratiepin vormen om de celwand te doorboren. Foto: Kiki Kots.

Tot slot

De strijd tussen *Phytophthora* en de waardplant wordt op vele fronten gevoerd en hetzelfde geldt voor onze strijd tegen *Phytophthora*. Onze huidige kennis over de biologie van oömyceten is vooral gebaseerd op onderzoek aan een paar *Phytophthora* soorten die van oudsher beschouwd worden als de meest prominente ziekteverwekkers omdat ze belangrijke landbouwgewassen aantasten, *P. infestans* op aardappel en *P. sojae* op soja. Recentelijk is er steeds meer aandacht voor andere soorten zoals bijvoorbeeld *P. ramorum*, *P. capsici* en *P. palmivora* en worden overeenkomsten en verschillen tussen soorten in kaart gebracht. De verdedigingslinies in de waardplant zijn veelal gericht op individuele *Phytophthora* soorten en dit geldt zeker voor de tweede linie, de *R* genen. Voortdurend worden er nieuwe *R* genen ontdekt en via marker-gestuurde veredeling ingekruisd

in cultivars. Ook genetisch gemodificeerde (GM) gewassen winnen langzaam terrein en de eerste GM aardappels met resistentie tegen *P. infestans* zijn in de Verenigde Staten al op de markt. In tegenstelling tot *R* genen, die gericht zijn tegen slechts een *Phytophthora* soort, zijn middelen die interfereren met doelwitten in *Phytophthora* veel breder inzetbaar. Immers, ontwapening door RXLR-effector opname te blokkeren of misleiding door valse signalen voor receptoren aan te bieden, en zelfs het destabiliseren van oömyceet-specifieke cytoskelet onderdelen, zullen op elke soort een negatief effect hebben. Hoewel de vertaling van fundamentele kennis naar een concrete toepassing nog niet in zicht is, is het perspectief veelbelovend. De unieke eigenschappen van oömyceten bieden voldoende mogelijkheden om zeer selectieve bestrijdingsstrategieën te ontwikkelen. De kansen liggen voor het grijpen, de beperking is de financiering.

Referenties

- Bouwmeester, K., Han, M., Blanco-Portales, R., Song, W., Weide, R., Guo, L.Y., van der Vossen, E.A.G. & Govers, F. (2014) The Arabidopsis lectin receptor kinase LecRK-I.9 enhances resistance to *Phytophthora infestans* in Solanaceous plants. *Plant Biotechnology Journal* 12, 10-16. doi: 10.1111/pbi.12111.
- de Wit, P.J.G.M. (2019) Veertig jaar onderzoek aan de bladvlekkenziekte van tomaat. *Gewasbescherming* 50 (5): 173-182
- Du, J., Verzaux, E., Chaparro-García, A., Bijsterbosch, G., Keizer, L.C.P., Zhou, J., Liebrand, T.W.H., Xie, C.H., Govers, F., Robatzek, S., van der Vossen, E.A.G., Jacobsen, E., Visser, R.G.F., Kamoun, S. & Vleeshouwers, V.G.A.A. (2015) Elicitor recognition confers enhanced resistance to *Phytophthora infestans* in potato. *Nature Plants* 1, 15034.
- Hua, C., Meijer, H.J.G., de Keijzer, J., Zhao, W., Wang, Y. & Govers, F. (2013) GK4, a G-protein-coupled receptor with a phosphatidylinositol phosphate kinase domain in *Phytophthora infestans*, is involved in sporangia development and virulence. *Molecular Microbiology* 88 (2), 352-370.
- Govers, F. (2010) *Phytophthora infestans*, een dynamische ziekteverwekker. *Gewasbescherming* 41 (3), 128 - 132.
- Jung, T., Orlikowski, L., Henricot, B., Abad-Campos, P., Aday, A.G., Aguin Casal, O., Bakonyi, J., Cacciola, S.O., Cech, T., Chavarriaga, D., Cravador, A. & Wenneker, M. (2016) Widespread *Phytophthora* infestations in European nurseries put forest, semi-natural, and horticultural ecosystems at high risk of *Phytophthora* diseases. *Forest Pathology* 46, 134-163.
- Kots, K., Meijer, H.J.G., Bouwmeester, K., Govers, F. & Ketelaar, T. (2017) Accumulation of filamentous actin in *Phytophthora infestans* during cell wall plug formation and plant cell penetration. *Cellular and Molecular Life Sciences* 74, 909-920. DOI: 10.1007/s00018-016-2383-y.
- Latijnhouwers, M.J.M. (2003a) The role of heterotrimeric G-proteins in development and virulence of *Phytophthora infestans*. PhD thesis WU Wageningen, The Netherlands. 157 pp. <https://library.wur.nl/WebQuery/wda/1679698>
- Latijnhouwers, M.J.M. (2003b) De rol van heterotrimere G-eiwitten in de ontwikkeling en virulentie van *Phytophthora infestans*. *Gewasbescherming* 34 (5) 171-174. <https://edepot.wur.nl/44215>
- Meijer, H.J.G., Hua, C., Kots, K., Ketelaar, T. & Govers, F. (2014) Actin dynamics in *Phytophthora infestans*; rapidly reorganizing cables and immobile, long-lived plaques. *Cellular Microbiology* 16, 948-961.
- Schoina, C. *Phytophthora infestans* enzymes and their role in the interaction with its hosts. PhD thesis, WU Wageningen, The Netherlands. 200 pp. <http://dx.doi.org/10.18174/449017>.
- Schoina, C., Verbeek-de Kruif, N., Govers, F. & Bouwmeester, K. (2019) Clade 5 aspartic proteases of *Phytophthora infestans* are virulence factors implied in RXLR effector cleavage. *European Journal of Plant Pathology* 154, 17-29.
- van den Hoogen, D.J., Meijer, H.J.G., Seidl, M.F. & Govers, F. (2018) The ancient link between G-protein coupled receptors and C-terminal phospholipid kinase domains. *mBio* 9 (1): e02119-17. DOI:10.1128/mBio.02119-17.
- van den Hoogen, D.J. & Govers, F. (2018) GPCR-bigrams: enigmatic signaling components in oomycetes. *Plos Pathogens* 14(7): e1007064. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007064>
- van den Hoogen, D. J. (2018) Dissecting cellular signalling in *Phytophthora*. PhD thesis, WU Wageningen, The Netherlands. 144 pp. <http://dx.doi.org/10.18174/447045>

- Vleeshouwers, V.G.A.A., Raffaele, S., Vossen, J.H., Champouret, N., Oliva, R., Segretin, M.E., Rietman, H., Cano, L.M., Lokossou, A., Kessel, G., Pel, M.A. & Kamoun, S. (2011) Understanding and exploiting late blight resistance in the age of effectors. *Annu Rev Phytopathol*, 49, 507-531.
- Wang, Y. & Bouwmeester, K. (2017) L-type Lectin Receptor kinases; new forces in plant immunity. *PLoS Pathogens* 13(8): e1006433. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006433>
- Wang, Y, Tyler, B.M. & Wang, Y. (2019) Defense and counterdefense during plant-pathogenic oomycete infection. *Annual Review of Microbiology* 73, 667-696.
- Whisson SC, Boevink PC, Wang S, & Birch PR.J. (2016). The cell biology of late blight disease. *Current Opinion in Microbiology* 34, 127-135.



INTERNATIONAL YEAR OF
PLANT HEALTH
2020

KNPV-prijs

De KNPV doet een oproep om kandidaten voor te dragen voor de KNPV-prijs, die eens in de paar jaar toegekend wordt aan een persoon of instantie die zich buitengewoon verdienstelijk heeft gemaakt voor de plantenziektkunde. De KNPV is voornemens om in 2020, tijdens het Internationale Jaar van de Plantgezondheid, de prijs weer uit te reiken.

De KNPV-prijs bestaat uit een aandenken en een geldbedrag (2500 euro). Een onafhankelijke jury zal zich buigen over de voordrachten en tot een oordeel komen. De KNPV-prijs is tot nu toe vijf keer eerder uitgereikt, te weten aan Gerrit Bollen (1999), Jan Carel Zadoks (2002), Frank Wijnands (2005), Joop van Lenteren (2008) en Jan Bouwman (2013).

Het reglement en verslagen van de juryrapporten van de eerdere prijswinnaars zijn te vinden op onze website.

Voordragen van kandidaten is mogelijk t/m 31 december 2019 door een e-mail te sturen naar de secretaris van de KNPV (Frits van der Zweep): secknpv@gmail.com.

KNPV-Najaarsbijeenkomst

Biologische bestrijding in open teelten

Op 10 december 2019 zal de KNPV haar najaarsbijeenkomst houden met als thema 'Biologische bestrijding in open teelten'. Er is voor gekozen de bijeenkomst deze keer in het westen van het land te organiseren op een toepasselijke locatie voor dit thema, namelijk bij Koppert in Berkel en Rodenrijs.

Het programma start rond 11.00 uur met een rondleiding in het Experience Centre van Koppert, gevolgd door een lunch, waarna diverse sprekers uit praktijk en onderzoek een presentatie zullen houden.

Er is ruimte voor maximaal 80 aanmeldingen. Toelating zal gebeuren op volgorde van aanmelding. Bij verhindering graag tijdig afmelden.

De toegang is gratis. Echter, bij afwezigheid zonder tegenbericht zullen we genoodzaakt zijn om 30,- euro in rekening te brengen.

Het complete programma en de opening van inschrijving zullen binnenkort via e-mail en website bekend gemaakt worden.

Lector deelt toekomstvisie over vitale bodem

Judith van de Mortel is benoemd tot lector 'Gezonde plant op een vitale en duurzame bodem' aan HAS Hogeschool. Tijdens haar inaugurele rede 'Lang leve de bodem' keek zij vooruit naar het jaar 2030. Zij voorziet dat dan alle agrarische bodems in Nederland duurzaam worden beheerd.

Een vitale bodem is de basis voor ecologische stabiliteit en daarmee voor duurzame gewasproductie. Die vitaliteit wordt bepaald door de kwaliteit en gezondheid van de bodem. Je kunt daarbij denken aan de structuur van de bodem, het waterbergend vermogen, het aanbod van voedingsstoffen, de samenstelling van het bodemleven of de veerkracht bij ongunstige omstandigheden.

Toegepaste kennis

Tijdens die rede maakt ze duidelijk dat de bodem een belangrijke rol speelt in ons dagelijks bestaan. De bodem speelt een rol in de regulatie van het klimaat en in de productie van gezond en duurzaam voedsel. Maar de relatie tussen bodem en plant is complex. De kennis over de rol van de bodem, het bodemleven en de invloed daarvan op plantengroei en plantgezondheid is vaak beperkt tot laboratoriumstudies. Met gericht onderzoek wil Van de Mortel theoretische kennis over een duurzame bodem en plantgezondheid vertalen naar praktijktoepassingen.

Toekomstvisie

Tijdens het uitspreken van de rede verplaatste Van de Mortel zich met de aanwezigen naar het jaar 2030 aan de hand van de krant GCL Next uit 2030. Op de voorpagina van die krant is te zien dat er veel bereikt is: alle agrarische bodems in Nederland worden inmiddels duurzaam beheerd. Agrariërs monitoren hun gewassen met sensoren, passen mengteelten toe en gebruiken gewasresten, compost en bodembedekkers om de bodem te verbeteren. Teelten van nieuwe gewassen als sorghum, miscanthus en vezelhennep dragen bij aan verhoging van het organische stofgehalte van de bodem.

Ook binnen het groene onderwijs, zowel op mbo en hbo-niveau, heeft duurzaam bodembeheer een plaats gevonden in het curriculum. In de krant staan verder berichten over hoe je bodemkwaliteit meet, hoe je flexibele gewassen kunt inzetten en hoe een vitale bodem een rol speelt bij de productie van gezonde voeding of opslag van CO₂.

Bron: Groenkennisnet, 6 september 2019

Bestuivers verhogen zaadproductie het meest

Niet kunstmest en water, maar bestuivers als hommels zijn de belangrijkste productiefactor bij de teelt van preizaad. Dat ontdekte promovendus Thijs Fijen. Telers moeten daarom zorgen voor agrarische landschappen met veel wilde bestuivers.

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

- *het bericht moet relevant zijn voor de gewasbescherming,*
- *het mag geen reclameboodschap bevatten,*
- *het moet afkomstig zijn van een van de erkende agrarische nieuwsbrenkende 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 nieuws-items bij de redactie aan te dragen.

Fijen deed onderzoek in productievelden van groentezadenproducent BASF in Frankrijk en Italië, waar contractboeren preizaad produceren. BASF wilde weten hoe belangrijk de bestuivers waren voor de zaadproductie. Fijen bestudeerde op 36 commerciële preivelden het beheer (meststoffen en irrigatie), de hoeveelheid hommels, solitaire wilde bijen, zweefvliegen en honingbijen, en de zaadopbrengst van vijf preivariëteiten.

Zijn conclusie: de bestuiving was net zo belangrijk voor de zaadopbrengst als al het andere agrarisch beheer tezamen. Nog opmerkelijker waren de uitkomsten toen Fijen de productiefactoren mest, water en bestuivers halveerde. Halvering van de bestuiving – om de dag ging er een net over de preiplanten – leidde gemiddeld tot veertig procent minder preizaad. Halvering van water leidde tot tien procent minder preizaad en halvering van de meststoffen had geen of een positief effect.

'De uitkomsten zijn interessant, want de boeren zijn het hele jaar bezig met irrigatie en bemesting', zegt Fijen. 'Het belang van wilde bestuivers lijken ze te onderschatten. Het kan lonen om ook daarin te investeren.'

Een andere opmerkelijke uitkomst van het onderzoek is dat hommels, solitaire bijen en zweefvliegen zorgden voor de bestuiving, maar honingbijen niet of nauwelijks. De pogingen van BASF om een tekort aan bestuivers aan te vullen door imkers met honingbijen in te huren, bleek niet erg effectief. 'Zaadbedrijven en boeren kunnen beter investeren in een productielandschap dat vriendelijk is voor wilde bestuivers', zegt Fijen.



Gewone aardhommel (Bombus terrestris) op bloeiende prei: bestuiving blijkt net zo belangrijk voor de zaad-opbrengst als al het andere agrarisch beheer samen (foto: Wikipedia Commons, GFDL).

Fijen denkt dat zijn inzichten niet alleen voor de productie van preizaad van belang zijn. Bestuiving is essentieel voor alle hybride groentezaden. 'Nu de biodiversiteit enorm aan het teruglopen is, weten we dat het landbouwsysteem om moet. Ik denk dat het onderzoek naar bestuivers een hele mooie manier is voor ecologen en boeren om samen de productie én de biodiversiteit te verhogen.'

Bron: Resource, 5 september 2019

Aanvullende eis Bemisia tabaci bij verhandeling bloemisterijgewassen binnen de EU

Per 1 september 2019 worden EU-maatregelen met betrekking tot *Bemisia tabaci* (tabakswittevlieg) voor bloemisterijgewassen aangescherpt. Alle vormen van de volgende gewassen die bestemd zijn voor eindgebruikers in Groot-Brittannië, Ierland, Zweden en specifieke gebieden van Portugal moeten vrij zijn van *Bemisia tabaci*: Ajuga, Begonia, Crossandra, Dipladenia, *Euphorbia pulcherrima* (kerstster), Hibiscus, Mandevilla en *Nerium oleander*.

Deze eis bestond sinds 2018 al voor de gewassen Begonia, Dipladenia, Hibiscus, Mandevilla en *Nerium oleander*. Daar worden per 1 september 2019 Ajuga, Crossandra en *Euphorbia pulcherrima* aan toegevoegd. Finland is per 1 september 2019 niet langer beschermd gebied voor *Bemisia tabaci*.

Mogelijkheden

Er zijn twee mogelijkheden om aan deze eis te voldoen: Het compartiment waarin de planten geteeld worden is vrij van *Bemisia tabaci*. Dit is niet van toepassing op buiten geteelde gewassen;

Of de planten zijn vrij bevonden van *Bemisia tabaci* door een partij-inspectie. Dit geldt alleen voor planten die bestemd zijn voor de eindconsument. Dit moet af te leiden zijn van de verpakking.

Meer informatie

Meer informatie over de eisen, specifieke voorwaarden en partij-inspecties is te vinden op de website van Naktuinbouw

Bron: Nieuwsbericht NVWA, 3 september 2019

Ctgb vraagt EFSA honingdauw mee te wegen bij beoordeling middelen

Het College voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen en biociden (Ctgb) vraagt European Food Safety Authority (EFSA) om de blootstellingsroute van bijen via honingdauw op te nemen in de beoordelingskaders van gewasbeschermingsmiddelen. Dat schrijft minister Schouten van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit (LNV) in antwoord op vragen vanuit de Tweede kamer.

Een recent onderzoek (zie volgend nieuwsbericht) handelt over de blootstelling aan de neonicotinoïden imidacloprid en thiamethoxam van enkele nuttige insecten (sluipwespen en zweefvliegen) via honingdauw. Deze insecten vallen in de risicobeoordeling van stoffen onder de categorie niet-doelwit arthropoden. De beoordeling van blootstelling van nietdoelwit arthropoden is momenteel gebaseerd op contactblootstelling aan de werkzame stof en niet op basis van het eten van honingdauw.

Ook in het (nog niet vastgestelde) EFSA-bijenrichtsnoer wordt de blootstellingsroute via honingdauw nog niet meegenomen. Het Ctgb voert overigens bij de middelbeoordeling wél een risicobeoordeling uit voor de blootstelling van honingbijen aan honingdauw.

Het Ctgb heeft inmiddels toegezegd om op basis van het nieuwe onderzoek er bij EFSA op aan te dringen om de blootstellingsroute via honingdauw op te nemen in beide beoordelingskaders, dus zowel in het beoordelingskader van niet-doelwit arthropoden als in het EFSA-bijenrichtsnoer. Het Ctgb heeft begin dit jaar, samen met andere lidstaten, bij de Europese Commissie al aangedrongen op een spoedige herziening van het beoordelingskader voor niet-doelwit arthropoden.

Bron: Ministerie van LNV, 2 september 2019



Een zweefvlieg (*Sphaerophoria rueppellii*) voedt zich met honingdauw (foto: IVIA, Valencia, Spanje).

Nieuwe inzichten in effect van neonicotinoïden op nuttige insecten

Recente studies laten zien dat insectenpopulaties snel achteruitgaan. Een belangrijke vraag is hoe groot de rol van insecticiden hierin is. De meest gebruikte insecticiden zijn wereldwijd de neonicotinoïden. Onderzoekers van het Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, de Universiteit van València en Wageningen University & Research hebben een nieuwe route van blootstelling van nuttige insecten aan neonicotinoïden ontdekt. De studie is gepubliceerd in "Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA" (PNAS).

Neonicotinoïden zijn systemische insecticiden die zich door heel de plant verspreiden; ze worden gespoten, via de grond toegediend of via het zaad om insecten te bestrijden. Ze hebben echter ook een negatief neveneffect op diverse nuttige insecten. Neveneffecten zijn tot nu toe vooral gerapporteerd voor bijen die nectar en stuifmeel uit de bloemen consumeren.

In 2018 heeft de Europese Commissie besloten drie neonicotinoïden te verbieden voor gebruik in open teelten. Deze beslissing is genomen op basis van de wetenschappelijke evidentie voor de risico's van deze neonicotinoïden voor bestuivende insecten zoals bijen. De European Food Safety Authority (EFSA) vraagt de lidstaten en stakeholders momenteel om advies met betrekking tot de risicobeoordeling van pesticiden met betrekking tot bijen in de EU.

Giftige honingdauw

Het onderzoeksteam heeft nu ontdekt dat nuttige insecten zoals biologische bestrijders of bestuivers óók blootstaan aan neonicotinoïden via een bron die veel meer voorkomt dan nectar van bloemen: honingdauw. Insecten als bladluizen, wolluizen, wittevliegen en bladvlooiën zuigen de plantensappen op van met

neonicotinoïden bespoten of bewerkte planten. De neonicotinoïden hebben zich door de plant verspreid en worden via de sappen opgenomen door de insecten. Nu blijkt dat de neonicotinoïden ook in de uitscheiding, honingdauw, van deze insecten terecht komt. Deze honingdauw wordt daardoor giftig voor nuttige insecten zoals sluipwespen en zweefvliegen en leidt tot sterfte binnen enkele dagen. Honingdauw is een voedselrijke en belangrijke voedselbron die gebruikt wordt door veel nuttige insecten zoals bijen, mieren, sluipwespen, zweefvliegen en andere vijanden van plantetende insecten. Sterfte van nuttige insecten door blootstelling aan neonicotinoïden via honingdauw is tot nu toe niet in de risicobeoordelingen meegenomen.

Neonicotinoïden

De kans dat met neonicotinoïden besmette honingdauw veel voorkomt is aannemelijk omdat deze insecticiden wereldwijd worden toegepast in zeer veel gewassen waarin sapzuigende insecten voorkomen die honingdauw produceren. In vergelijking met nectar, die alleen beschikbaar is als de gewassen bloeien, is honingdauw aanwezig gedurende het hele seizoen en dus veel langer beschikbaar als voedselbron voor nuttige insecten.

De effecten van deze systemische insecticiden is waarschijnlijk veel groter dan tot nu toe gedacht. De nieuwe route van blootstelling verdient opname in de risicobeoordeling door de EFSA. Deze belangrijke studie onderstreept opnieuw dat nieuwe gewasbeschermingsstrategieën ontwikkeld moeten worden die niet afhankelijk zijn van breedwerkende insecticiden zoals neonicotinoïden.

Bron: Wageningen University & Research, 5 augustus 2019

20 miljoen voor onderzoek naar plantenstress

Een consortium onder leiding van de Universiteit van Amsterdam ontvangt ruim 20 miljoen euro subsidie om de relatie tussen planten en de micro-organismen op hun wortels te onderzoeken. Dit project zal op termijn een belangrijke bijdrage leveren aan het duurzaam verbeteren van de wereldvoedselvoorziening.

De zwaartekrachtsubsidie van het Ministerie van Onderwijs, Cultuur en Wetenschappen (OCW) is toegekend aan een ambitieus consortium van Nederlandse levenswetenschappers die met de nieuwst beschikbare technieken de interactie tussen planten en hun wortelmicrobioom willen bestuderen. Het wortelmicrobioom is het geheel aan bacteriën en schimmels die leven in, op en rond de wortels van planten. De bacteriën en schimmels helpen nutriënten vrij te maken uit de bodem, beschermen de plant tegen bijvoorbeeld droogte en zijn belangrijk voor de gezondheid van de plant. Toch is er nog weinig bekend over hoe planten deze gunstige



Het speciaal ontwikkelde kweekstelsel om de wortels van de planten goed te kunnen observeren (foto: Jörn van Heck).

micro-organismen aantrekken en hoe ze de plant helpen en beschermen.

Samenwerking

Het project is MiCRop gedoopt en is een samenwerking tussen de Universiteit van Amsterdam (projectleider prof. dr. Harro Bouwmeester), Wageningen Universiteit (prof. dr. Christa Testerink en prof. dr. Marcel Dicke), Vrije Universiteit Amsterdam (prof. dr. Toby Kiers), Universiteit Utrecht (prof. dr. ir. Corné Pieterse), en het Nederlands Instituut voor Ecologisch Onderzoek (prof. dr. Jos Raaijmakers).

Het project wordt geleid door Harro Bouwmeester, hoogleraar Plant Hormone Biology aan de Universiteit van Amsterdam. Hij licht toe: 'Onder de planten die we gaan onderzoeken zijn wilde planten, maar ook veel belangrijke voedselgewassen, zoals: kool, aardappel, tomaat, bonen, granen, komkommer en pompoen. We gaan met de nieuwste technieken bestuderen hoe onder suboptimale omstandigheden - zoals droogte, een voedselarme grond, of de aanwezigheid van ziektes en insecten - de samenwerking tussen de plant en de bacteriën en schimmels op hun wortels verandert. Vervolgens gaan we tot op detailniveau uitzoeken welke mechanismes de plant gebruikt om die nuttige microben aan te trekken en met welke processen de microben op hun beurt de plant helpen de stress te doorstaan.'

Verbetering landbouw en wereldvoedselvoorziening

Het gaat de onderzoekers niet alleen om het opdoen van fundamentele kennis, maar ook om het toepassen ervan. Bouwmeester: 'We werken samen met zo'n vijftientig industriële partners uit de wereld van zaadverdeling en biologische. Maar wat voor ons ook heel belangrijk is, is de samenwerking met acht CGIAR instituten.' CGIAR (Consultative Group for International Agricultural Research) is een wereldwijde, intergouvernementele organisatie die zich inzet voor de verbetering van landbouw en de wereldvoedselvoorziening, vooral in zich ontwikkelende landen. Bouwmeester: 'Er valt met name in deze landen nog zo veel te winnen als het gaat om het resistenter maken van planten tegen allerlei stressoren, zoals droogte en plagen. Wij hopen daar met ons onderzoek een belangrijke bijdrage aan te leveren.'

Bron: Universiteit van Amsterdam, 30 augustus.

Xylella-besmetting door cicaden

De gevreesde bacterieziekte Xylella, die een groot aantal siergewassen kan aantasten, kan worden overgedragen door cicaden. *Philaenus spumarius* (het schuimbeestje) en *Aphrophora alni* lijken de belangrijkste Xylella-vectoren.



Het schuimbeestje, *Philaenus spumarius*, is een van de cicaden die *Xylella* kunnen overbrengen (foto: R.M. Rinkle, CCA-SA 4.0).

De schadelijke bacterie *Xylella fastidiosa* werd in Europa in 2013 voor het eerst ontdekt in olijfbomen in Italië, waarna de bacterie ook werd gevonden in andere plantensoorten zoals oleanders en amandelbomen. De bacterie, die in houtvaten leeft, wordt als zeer schadelijk beschouwd. Na infectie kunnen delen van de plant afsterven. Sinds de eerste vondst in 2013 lijkt de bacterie zich langzamerhand te verspreiden. Binnen de EU heeft dit organisme een quarantainestatus gekregen.

Cicaden

De ziekte *Xylella* komt van oorsprong uit Zuid- en Midden-Amerika. Handel en transport van planten lijkt een belangrijke rol te spelen bij de verspreiding van de ziekte, maar xyleemzuigende cicaden kunnen de bacterie ook overbrengen. Onderzoekers van EIS kenniscentrum hebben op basis van veld- en literatuuronderzoek geïnventariseerd welke cicaden mogelijk vectoren van *Xylella* zijn.

In het rapport 'Xyleemzuigende cicaden, potentiële vectoren van *Xylella fastidiosa*' worden de resultaten van het onderzoek beschreven. De onderzoekers vingen op twaalf locaties 98 verschillende cicadensoorten. Daarvan waren er acht xyleemzuigend. Mogelijk kunnen er nog drie xyleemzuigende soorten aan deze acht worden toegevoegd. Daarnaast worden in de literatuur nog zes

niet-xyleemzuigende soorten genoemd die mogelijk ook de bacterie over kunnen brengen. In het rapport worden de verschillende potentiële *Xylella*-vectoren beschreven.

Schuimbeestje

Van alle soorten zijn voor Nederland *Aphrophora alni* en *Philaenus spumarius*, het schuimbeestje, de belangrijkste potentiële *Xylella*-vectoren. Daarnaast worden enkele andere soorten genoemd, zoals *Aphrophora pectoralis* en *Aphrophora salicina* (op wilg) en *Graphocephala fen-nahi* (op rododendron). In het rapport wordt naast de beschrijving van de verschillende soorten ook aandacht besteed aan de verschillende vangmethoden.

Bron: Groenkennisnet, 29 augustus 2019

Platform Stop invasieve exoten pleit voor verkoopverbod Japanse duizendknoop

Stichting platform Stop invasieve exoten heeft minister van Schouten van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit (LNV) gevraagd om de verkoop van Japanse duizendknoop, inclusief de zogeheten polygonumstokken, zo snel mogelijk te verbieden. Aanleiding is een recent onderzoek van Stad+Groen, waaruit blijkt dat de schadelijke woekerplant door diverse bloemisten wordt verkocht. "Bestrijding van de exotische plant terwijl de verkoop ervan gewoon doorgaat, is dweilen met de kraan open", aldus het platform.

Japanse duizendknoop is een grote plant die inheemse planten verdringt, inclusief de bijbehorende inheemse fauna. De plant is zeer moeilijk te bestrijden, en kan bij afmaaien of afgraven bovendien makkelijk verder worden verspreid. De exoot is ook schadelijk voor funderingen en wegen, en ook kan de plant gaan woekeren op landbouwgrond.

Uit een recent onderzoek van Stad+Groen blijkt dat Japanse duizendknoop als 'polygonumstokken' of 'Hollandse bamboe' verkocht wordt bij bloemisterijen. Bij drie van de acht onderzochte bloemisterijen waren ze voorradig, bij drie waren ze tijdelijk uitverkocht maar zou er weer een voorraad komen. Bij de bloemisterij van Intratuin stond de plant niet op de bestellijst, omdat dat bedrijf vorig jaar besloot geen Japanse duizendknoop meer te verkopen. Er is een kans dat de stengels na gebruik in een bloemstuk op een nieuwe plek terechtkomen, waar ze vervolgens uitgroeien tot nieuwe planten.

Japanse duizendknoop wordt momenteel op diverse plekken bestreden. Die bestrijding kost jaren en is ook behoorlijk kostbaar. Bestrijding van deze beruchte invasieve exotische plant terwijl de verkoop en introductie gewoon doorgaat, is dweilen met de kraan open. Daarom is een verkoopverbod absoluut noodzakelijk. Dat de plant nog niet op de lijst staat met planten die in de Europese

Unie verboden zijn, vormt voor zo'n verkoopverbod geen enkele belemmering. Integendeel, de Europese Verordening Invasieve Uitheemse Soorten waarop de Unielijst gebaseerd is, biedt de minister juist expliciet de ruimte om op nationaal niveau zo'n verbod in te stellen.

Het verzoek van het platform betreft ook een verkoopverbod voor de twee andere zogeheten Aziatische duizendknopen: de Sachalinse duizendknoop en de Boheemse duizendknoop, die ook wel bastaardduizendknoop wordt genoemd. Deze planten zijn nog groter dan de Japanse duizendknoop, en minstens zo schadelijk.

Bron: Stichting platform Stop invasieve exoten, 29 augustus 2019

Innovatiesubsidie voor gewasbeschermingsmiddelen en biociden

Het programma Horizon 2020 van de Europese Commissie biedt subsidiemogelijkheden voor onder andere innovaties op het gebied van actieve stoffen voor gebruik in de agrarische bedrijfsvoering en de agri-food keten. Het doel moet zijn problematische stoffen te vervangen (bijv. rodenticiden). Daarbij kan het gaan om de ontwikkeling van nieuwe werkzame stoffen, maar ook om de ontwikkeling van niet-chemische alternatieven.

De relevante onderwerpen staan opgesomd in het werkprogramma onder SFS-04-2019-2020 part B. Voorstellen kunnen tussen 15 oktober 2019 en 22 januari 2020 worden ingediend bij de Funding and tender opportunities op de site van de Europese Commissie.

Bron: Ctgb, 28 augustus 2019

Plagbestrijding bij biologische spruitjesteelt

Omdat spruitkool lang op veld staat, is het gewas vatbaar voor plagen. Dit maakt het telen van spruiten een hele uitdaging. In Biokennis wordt aandacht besteed aan de teelmaatregelen die de biologische teler kan nemen om plagen te voorkomen of te verminderen. In het project Bio-IPM hebben Bionext, Wageningen University & Research, Agrifirm, plantenkwekers, telers en adviseurs de knelpunten en oplossingsrichtingen in de biologische spruitkoolteelt verkend.

Geïntegreerde plaagbeheersing

Geïntegreerde plaagbeheersing (of Integrated Pest Management, IPM) is een werkwijze waarbij de teler ziekten en plagen zoveel mogelijk voorkomt en zo weinig mogelijk bestrijdingsmiddelen gebruikt. Dit begint bij preventie, daarna monitoring. Pas als de plaagdruk te groot wordt, worden bestrijdingsmiddelen ingezet. Plagen ontstaan later in het seizoen. Belangrijke plagen



In de biologische teelt van spruitjes zijn preventie en monitoring belangrijk (foto: E. Hunt, GFDL).

zijn onder andere: de koolvlieg, rupsen, trips en de witte vlieg. Omdat de correctiemethoden in biologische teelt beperkt zijn, komt het vooral aan op preventie.

Preventie

Bij preventie kan aan verschillende zaken gedacht worden. Hieronder een aantal zaken op een rijtje gezet:

- Raskeuze. Soorten kiezen die snel hun spruit laten groeien of waarbij voldoende ruimte tussen de spruiten op de stam blijft.
- Gezond wortelstelsel. Door de juiste bemesting te kiezen (vaste mest, drijfmest en vinassekali).
- Zaailingen afharderen. Binnen opgekweekte planten geleidelijk laten wennen aan de buitenlucht.
- Insectengaas gebruiken.
- Grond fijn maken. Tegen slakken.
- Natuurlijke vijanden de ruimte geven. Zaaian van een bloemenrand, dit trekt veel vijanden. Of compost gebruiken om roofvijanden te voeden. Nadeel hiervan is dat compost slakken kan aantrekken.
- Vroeger toppen. Het gewas krijgt meer lucht en licht.
- Beregenen. Beregening zorgt in warme periodes dat het gewas blijft groeien waardoor het minder aantrekkelijk wordt voor de trips en koolluis.

- Gewasrotatie van 1:6. Dit zorgt voor een goede bodemgezondheid.
- Voorvrucht. Het planten van stikstofleverende voorvruchten zoals (gras)klaver en luzerne. Nadeel kan zijn dat slakken aangetrokken worden.

Monitoring

Naast preventie is het voor de teler belangrijk de ontwikkeling van insecten in de gaten te houden. Tellen is dan belangrijk om te bekijken wanneer er ingegrepen moet worden. Wanneer een populatie toeneemt, wil je ingrijpen. Dat neemt heel nauw, soms kan één dag het verschil maken. Je moet goed de biologie kennen om te weten op welke manier je moet ingrijpen. Monitoring is mogelijk bij de koolmot, de kookvlieg en de trips. De koolvlieg is te volgen d.m.v. klokbeekers met lokstof. De koolmot juist weer met deltavallen met daarin een gummetje dat mannetjes lokt. De vluchten van de trips zijn te voorspellen met de graaddagen-app in combinatie met plakplaten in het veld.

Bestrijdingsmiddelen

De uitdaging is altijd de balans zoeken wanneer er wel met bestrijdingsmiddelen gespoten moet worden en wanneer nog niet. Het goede moment en de goede manier van toedienen zijn essentieel om een effect te hebben en om te voorkomen dat je voor niets spuit. Door middel van monitoring kan het gebruik van standaard-spuitschema's voorkomen worden.

Bron: Groenkennisnet, 24 augustus 2019

Planten communiceren via geurstoffen, kunnen we die boodschap kraken?

Dat planten met elkaar kunnen communiceren is niets nieuws, maar hoe doen ze dat nu precies en welke boodschappen geven ze aan elkaar door? Onderzoekers van Wageningen University & Research hebben een model ontwikkeld om dit nader te onderzoeken.

Als planten aangevreten worden door rupsen produceren ze tientallen tot honderden verschillende geurstoffen. De natuurlijke vijanden van deze rupsen, zoals sluipwespen kunnen deze stoffen ruiken en komen vervolgens op de aangetaste plant af. Ook buurplanten ruiken deze stof en zetten hun verdediging alvast op *stand by*. Van de vele vluchtige stoffen die planten uitscheiden blijkt slechts een klein aantal geurstoffen aantrekkelijk te zijn voor sluipwespen. Welke stoffen deze boodschap doorgeven is veelal onbekend.

Iedere geurstof heeft zijn eigen betrouwbaarheid

In dit onderzoek is een model ontwikkeld waarmee de effecten worden nagebootst van de geurstoffen zodra die in de lucht terecht komen. Het blijkt dat sommige geurstoffen betrouwbare signaalstoffen zijn dat een

plant aangevreten is, terwijl andere geurstoffen slechte voorspellers blijken. Of een geurstof betrouwbaar is wordt deels bepaald door de chemische eigenschappen. Sommige geurstoffen worden onder invloed van ozon en andere stoffen zo snel afgebroken dat de concentraties heel laag blijven en ze moeilijk te detecteren zijn. Andere geurstoffen blijven zó lang intact dat ze geen goede informatie geven over de locatie van de bron. Ook blijkt dat sommige geurstoffen nog geproduceerd worden en in de lucht blijven hangen nadat de rups al gestopt is met eten, waardoor een sluipwesp onterecht denkt dat de rups er nog is. De modelberekeningen van de onderzoekers komen goed overeen met veldwaarnemingen en studies in het laboratorium. Het model is toegepast op populier, maar kan ook ingezet worden voor andere soorten zodra de juiste gegevens beschikbaar zijn.

Ontcijferen van de taal van planten

Met deze studie is een eerste stap gezet in het ontcijferen van de taal van planten. Aangezien een plant tientallen tot honderden geurstoffen produceert is het bijna ondoenlijk om experimenteel te testen welke stoffen aantrekkelijk zijn voor de natuurlijke vijanden van de rupsen. Het model dat ontwikkeld is in deze studie kan gebruikt worden om kandidaatstoffen te identificeren, die vervolgens experimenteel getest kunnen worden. Vervolgens zou je in veredelingsprogramma's kunnen selecteren op planten die de juiste geurstoffen in verhoogde mate produceren. Verder kan je dit model gebruiken om push-pull systemen te optimaliseren. Push-pull is een manier in de landbouw om plagen in bedwang te houden, waarbij je een gewas (vaak mais of sorghum) combineert met een voor de plaag aantrekkelijk ruikende en niet aantrekkelijk ruikende soort.

Bron: Wageningen University & Research, 22 augustus 2019

Een wereld zonder insecten?

In 63 beschermde Duitse natuurgebieden is het aantal insecten in 27 jaar tijd met ruim 75 procent afgenomen. Ook in Nederland lijkt de hoeveelheid insecten met tientallen procenten te zijn gedaald. Wat zijn mogelijke oorzaken en gevolgen van deze insectenafname? En kunnen we deze achteruitgang nog terugdringen?

Hierover vertelt professor Hans de Kroon, ecoloog verbonden aan de Radboud Universiteit Nijmegen, in een twintig minuten durend filmpje van de Universiteit van Nederland. De Kroon publiceerde in 2018 met zijn onderzoeksgroep een onderzoek naar de afname van insecten.

Functionies van insecten

Insecten zijn belangrijk voor bestuiving, als onderdeel van de voedselketen en voor de afbraak van organisch materiaal in de bodem. Bestuiving is het overbrengen van stuifmeel van de ene bloem op de andere. Dit is cruciaal



Hans de Kroon schetst hoe een toekomst zonder insecten eruit zal zien. De video is terug te kijken op <https://universiteitvannederland.nl/college/>.

voor voedselgewassen en wilde planten. Bij een afname van insecten zal fruit telen moeilijk worden en zal fruit in de toekomst een luxeproduct kunnen worden. Ook zijn insecten belangrijk als onderdeel van de voedselketen. Voor veel dieren zijn insecten een direct voedingsmiddel. Bij afname van insectenaantallen zullen sommige soorten geen voedsel meer hebben en zullen ze niet overleven. Dit is bijvoorbeeld al te zien in de achteruitgang van insectenetende vogels. Tot slot zijn insecten belangrijk voor de bodem. In de winter bevinden insecten zich in de bodem als ei, pop of larve. Daar zorgen zij ook voor de afbraak van organisch materiaal.

Hoe afname vaststellen?

De afname van insecten wordt vastgesteld met behulp van malaisevalen. Kampeerders herkennen vast het fenomeen van een tent vol met insecten tegen de top van de tent na het open laten staan van je tentdeur. Een malaiseval is ook een soort tent waar insecten in terecht komen. Aan de top van deze tent zit een sluisje dat naar een pot alcohol leidt waar de insecten in opgevangen worden. De biomassa van de insecten wordt vervolgens gewogen en vergeleken met andere metingen. De gegevens van de afgelopen 27 jaar laten zien dat het gewicht aan insecten in de potjes met alcohol steeds lager is geworden.

Te kleine natuurgebieden

Wat de oorzaken zijn van de afname van insecten was de onderzoekers niet meteen duidelijk. Weergegevens en luchtfoto's werden geanalyseerd. Zowel veranderingen in het weer, als veranderingen in landschap en plantensoortenrijkdom bleken de afname in de hoeveelheid insecten niet te kunnen verklaren. Waarschijnlijk zijn er meerdere oorzaken die allemaal te maken hebben met het feit dat onze natuurgebieden hele kleine stukjes natuur zijn geworden in een landschap wat gedomineerd wordt door de mens, aldus de Kroon. In deze kleine stukjes natuur zijn de omstandigheden verre van optimaal voor insecten. Meststoffen of bestrijdingsmiddelen kunnen namelijk natuurgebieden binnendringen. Omliggende

gebieden trekken ook insecten aan. Veel insecten kunnen vliegen en belanden zo in een omgeving waar ze niet in kunnen overleven.

Ecosysteem herstellen

Eén belangrijke stap is inmiddels al gezet, namelijk dat wij ons realiseren dat het aantal insecten behoorlijk afgenomen is en dat er wat moet veranderen. Door te zorgen voor betere omstandigheden kunnen wij zorgen dat insecten beter overleven en kunnen ecosysteem herstellen. Insecten hebben grote veerkracht doordat ze veel nakomelingen maken in een korte tijd. Als wij de omstandigheden beter maken, komen de insecten vanzelf in aantallen terug. Mogelijke oplossingen zijn houtwallen aanleggen en bloemrijke akkerlanden terugbrengen. Zelf kunnen mensen ook denken aan bloemrijke perken in de tuin. Dit is positief voor insecten, maar ook voor wilde planten en vogels.

Bron: Groenkennisnet, 21 augustus 2019

NVWA start gerichte inspecties naar verkoop 'groene' gewasbeschermingsmiddelen

De Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) gaat vanaf komend najaar risicogericht inspecties uitvoeren naar de verkoop van 'groene' gewasbeschermingsmiddelen. Gewasbeschermingsmiddelen die verkocht worden als 'groene middelen' maar die niet zijn toegelaten als gewasbeschermingsmiddel kunnen risico's opleveren voor mens, dier en milieu omdat de veiligheid niet is aangetoond. De inspecties vinden plaats bij producenten en leveranciers van deze middelen.

Groene middelen worden met verschillende claims en onder verschillende namen op de markt gebracht. Denk aan biostimulanten, plantversterkers, bodemverbeteraars, planten- en kruidenextracten, micro-organismen en middelen van natuurlijke oorsprong.

Gewasbeschermingsmiddelen

Middelen die worden verkocht voor de bescherming van planten tegen ziekten, plagen of onkruiden vallen in veel gevallen onder de definitie van een gewasbeschermingsmiddel, óók als dit niet wordt geclaimd. Gewasbeschermingsmiddelen mogen alleen op de markt worden gebracht en gebruikt als ze door het College voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen en biociden (Ctgb) zijn beoordeeld en toegelaten. Naast de regels voor gewasbeschermingsmiddelen gelden er ook regels voor zogenoemde RUB-middelen en basisstoffen. De NVWA gaat ook de verkoop van deze producten controleren.

RUB-middelen

RUB-middelen zijn gewasbeschermingsmiddelen en biociden die waren toegelaten op basis van de Regeling uitzondering bestrijdingsmiddelen (RUB-lijst). Omdat de risico's van deze middelen nooit zijn beoordeeld, voldoen deze middelen niet aan de Europese regelgeving. De regeling is daarom in 2017 ingetrokken. De RUB-middelen moeten óf worden beoordeeld volgens de Europese regelgeving, óf van de markt verdwijnen. Tot februari 2018 konden belanghebbenden RUB-middelen bij het Ctgb aanmelden voor een reguliere toelating. Middelen die niet zijn aangemeld mochten tot 1 oktober 2018 worden verkocht en mogen tot 1 oktober 2019 worden gebruikt. RUB-middelen die wel zijn aangemeld en door het Ctgb zijn geplaatst op een speciale lijst, mogen voorlopig nog wel worden verkocht en gebruikt.

Basisstoffen

Basisstoffen zijn producten die worden verkocht voor een ander doel dan gewasbescherming, maar ze kunnen daarnaast wel nuttig zijn als gewasbeschermingsmiddel. Alleen basisstoffen die zijn goedgekeurd door de Europese commissie mogen worden gebruikt voor gewasbeschermingsdoeleinden, maar mogen niet worden verkocht als gewasbeschermingsmiddel.

Bron: NVWA, 22 augustus 2019

Appels beschermen tegen schimmelziekten en plagen met 'Cabrio-kap'

Hoe kun je appelteelt beschermen tegen schimmelziekten en plagen met zo min mogelijk gewasbeschermingsmiddelen? Onderzoekers van Wageningen University & Research komen met een mogelijk antwoord: de cabrio-kap, een innovatieve overkapping die sluit als het regent.

De helft van een appelperceel (0,3 hectare) op Proeftuin Randwijk is overdekt met de cabrio-kap. Als het regent sluit de overkapping, net zoals het dak van de Johan Cruijff Arena in Amsterdam, waardoor het gewas onder de kap droog blijft. En dat in slechts 2,5 minuut. 'Tijdens het telen van appels kunnen vruchtrot, schurft en vruchtboomkanker veel schade veroorzaken. Deze ziekten kunnen waarschijnlijk worden voorkomen door het drooghouden van het gewas,' zegt onderzoeker Rien van der Maas. 'De cabrio-kap kan mogelijk ook een enkele plaag buiten de deur houden: zo kunnen we bijvoorbeeld de zijkanalen tijdelijk sluiten tegen de groene appelwants. Telers hoeven dan geen gewasbeschermingsmiddelen in te zetten om hun appelteelt tegen deze schimmelziekten en plagen te beschermen.'

Gebruik van opgevangen regenwater

De cabrio-kap is uniek in Europa, doordat dit systeem open en dicht kan. Het open systeem zorgt ervoor dat

natuurlijke bestrijders van plagen, zoals sluipwespen, hun werk kunnen blijven doen. Ook de uitwisseling van bestuivers met de omgeving wordt zo maximaal benut. Van der Maas: 'In de kersenteelt worden in Nederland al permanente overkappingen gebruikt. Maar we weten uit buitenlands onderzoek bij appel dat bijvoorbeeld appelbloedluis en meeldauw toenemen onder zo'n overkapping. Het dak moet dus het grootste gedeelte van de tijd open staan. Naast de kap staat een bassin van 1000 m³. Het regenwater dat op de cabrio-kap terecht komt, wordt opgevangen in goten en via buizen getransporteerd naar het bassin. Het water gebruiken we vervolgens om de appelbomen te irrigeren via twee systemen: ingegraven druppelirrigatieslagen voor de grasstroken en minisprinklers voor boomstroken. Zo blijft de bodemgesteldheid in stand. Regen- en oorwormen kunnen dan hun nuttige werk blijven doen.' De Cabrio-kap sluit binnen 2,5 minuut, zodra het begint te regenen.

Groene gewasbescherming en bestuivers

Deze cabrio-foliekas is het belangrijkste onderdeel van het innovatieve teeltsysteem 'Beschermd Appelteelt' waarnaar Wageningen University & Research sinds 2018 onderzoek doet. Het teeltsysteem combineert onder meer natuurlijke bestrijding (via de natuurlijke bestrijders) en fysieke bescherming zoals met de cabrio-kap en het gericht vangen van plagen zoals de appelzaagwesp. 'Ons teeltsysteem maakt weer deel uit van een groter onderzoek, gefinancierd door het ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Voedselkwaliteit' zegt Van der Maas. Binnen het project 'Groene gewasbescherming en bestuivers' worden nieuwe teeltsystemen onderzocht die teelten als die van aardbei, lelie, appel en akkerbouwgewassen sterk verminderd afhankelijk maken van gewasbeschermingsmiddelen, terwijl telers wel hun marktpositie behouden.'

Zeventig tot negentig procent daling gewasbeschermingsmiddelen

De onderzoekers zullen de marktpositie van telers die de cabrio-kap gaan gebruiken in een later stadium onder de loep nemen. Het systeem is nu nog stevig aan de prijs: zo'n € 40,- per vierkante meter. Van der Maas verwacht dat, als het werkt, er leveranciers te vinden zijn die de overkapping tegen een scherpere prijs kunnen produceren. Daarnaast is er met de cabrio-kap in de teelt nog meer te winnen dan alleen het droog houden om ziekten te voorkomen.

De onderzoekers houden ook rekening met het landschappelijk aspect van de cabrio-kap in overleg met o.a. medewerkers ruimtelijke ordening van de provincie, want de overkapping zal in het oog springen binnen het boerenlandschap. 'We krijgen terug dat er regelgeving gaat komen rond de plaatsing van de overkappingen, zoals met hagelnetten is gebeurd. Dit zal in een stroomversnelling komen als de resultaten van het onderzoek goed zullen zijn, bijvoorbeeld op gebied van natuurlijke



Cabrio-kap: bij regen sluit het dak boven de appelbomen (foto: WUR).

bestuivers. Onze hypothese is dat we met Beschermd Appelteelt het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen met 70 tot 90 procent kunnen terugdringen. Zo werken we aan een verschuiving van gewasbeschermingsmiddelen naar fysieke en natuurlijke methoden om schimmelsiekten en plagen te lijf te gaan.'

Bron: Wageningen University & Research, 15 augustus 2019

Toxiciteit gewasbeschermingsmiddelen

Voor telers is vooral de werkzaamheid van gewasbeschermingsmiddelen van belang. Maar wat zijn de effecten van gewasbeschermingsmiddelen op de gezondheid en milieu? En is landbouw zonder chemische gewasbescherming mogelijk?

In het artikel uit het vakblad "Boer&Tuinder" wordt gesproken met Pieter Spanoghe, werkzaam binnen de vakgroep Gewasbescherming aan de UGent, en Dany Bylemans, werkzaam aan de KU Leuven. Daarnaast heeft ook het RIVM een rapport uitgebracht over gewasbeschermingsmiddelen in oppervlaktewater.

Toxiciteit in voeding

De vakgroep van Pieter Spanoghe analyseert onder andere gewasbeschermingsmiddelen in voeding en in het milieu. Volgens Pieter Spanoghe is het van belang om te

weten op welke manier en in welke mate mensen en de biodiversiteit aan gewasbeschermingsmiddelen worden blootgesteld. Bij voedsel kan het er om gaan hoeveel je van het betreffende voedingsmiddel binnen krijgt. Als voorbeeld noemt hij kruiden. Kruiden eet je maar heel weinig, dus de impact van bestrijdingsmiddelen op kruiden is klein. Verder hoeft chemisch niet persé giftiger te zijn dan biologisch. Spanoghe noemt als voorbeeld dat slangengif biologisch is, maar toch giftig. Het kan dus zo zijn dat een bio-appel giftiger is dan een gangbare appel. Verder bekijkt de vakgroep milieu-aspecten en krijgen bestrijdingsmiddelen op basis van de schadelijkheid voor het milieu een groene, oranje of rode kleur.

Met het eten van meer groente en fruit krijg je meer gewasbeschermingsmiddelen binnen. De gezondheidsvoordelen van het eten van groenten en fruit stijgen echter ver uit boven het risico dat er wat residu van gewasbeschermingsmiddelen in kan zitten, aldus Dany Bylemans. Zonder bestrijdingsmiddelen wordt voeding duurder en zullen sommige mensen kiezen voor goedkopere, maar minder gezonde producten. Dit brengt grotere gezondheidsrisico's met zich mee.

Toxiciteit in oppervlaktewater

Wat gewasbeschermingsmiddelen voor invloed hebben op het oppervlaktewater wordt bekeken in de tussenevaluatie van de nota 'Gezonde Groei, Duurzame Oogst'. Hieruit blijkt dat de normen voor

gewasbeschermingsmiddelen in oppervlaktewater bij landbouwpercelen nog te vaak overschreden worden. Dit kan omdat de normen voor de beoordeling van stoffen soms minder streng zijn dan de normen voor de waterkwaliteit. Deze normen moeten dus op elkaar afgestemd worden. Ook zou er meer aandacht moeten komen voor het meten van de waterkwaliteit en kunnen er preventieve maatregelen genomen worden waardoor er minder bestrijdingsmiddelen nodig zijn.

Bron: Groenkennisnet, 14 augustus 2019

Unielijst invasieve exoten uitgebreid met 17 soorten

De Unielijst invasieve exoten is per 15 augustus uitgebreid met dertien exotische planten en vier exotische dieren. Vanaf deze datum geldt een import- en verkoopverbod voor deze soorten.

De lijst is de tweede aanvulling van de zogeheten Unielijst, waarmee het aantal 'voor de Europese Unie zorgwekkende invasieve uitheemse soorten' op 66 komt. Het doel van deze lijst is om onder andere de inheemse flora en fauna te beschermen tegen de schadelijke effecten van deze exoten.

De lijst is uitgebreid met de volgende soorten:

Planten

- *Acacia saligna* (Goudwilg)
- *Ailanthus altissima* (Hemelboom)
- *Andropogon virginicus* (Amerikaans bezemgras)
- *Cardiospermum grandiflorum* (Blaasklimop)
- *Cortaderia jubata* (Hoog pampasgras)
- *Ehretia calycina* (Roze rimpelgras)
- *Gymnocoronis spilanthoides* (Smalle / Senegalese theeplant)
- *Humulus scandens* (Oosterse / Japanse hop)
- *Lygodium japonicum* (Japanse klimvaren)
- *Lespedeza cuneata* (Chinese struikklaver)
- *Prosopis juliflora* (Mesquite)
- *Salvinia molesta* (Grote vlotvaren)
- *Triadica sebifera* (Talgboom)

Dieren

- *Acridotheres tristis* (Treurmaina)
- *Arthurdendys triangulatus* (Nieuw-Zeelandse platworm)
- *Lepomis gibbosus* (Zonnebaars)
- *Plotosus lineatus* (Gestreepte koraalmeerval)

'Opsteker'

Wilfred Reinhold, voorzitter van platform Stop invasieve exoten: 'Deze aanvulling is een opsteker voor de natuur, het waterbeheer en de gezondheid. Toevoeging van deze soorten aan de Unielijst betekent dat de overheid deze soorten actief moet gaan bestrijden en beheren. Er staan

ook diverse planten en dieren op de lijst die hier nu nog niet of nauwelijks in de natuur voorkomen, maar die er wel een bedreiging voor vormen.'

Meer informatie over de Unielijst is te vinden op de website van de NVWA.

Bron: Boom in business, 14 augustus 2019

<https://www.boom-in-business.nl/article/30542/>

[unielijst-invasieve-exoten-uitgebreid-met-17-soorten](#)

Aantal buxuskwekers (en buxusmotten) sterk afgenomen

Het aantal buxuskwekers is de afgelopen tien jaar sterk afgenomen, met de buxusmot als meest waarschijnlijke oorzaak. De mot veroorzaakte in 2017 en 2018 veel overlast en vrat tuinen door heel Nederland kaal.

Nederland telt momenteel nog driehonderd kwekerijen met buxus in het assortiment. In 2010 waren dat er nog bijna drie keer zoveel: destijds waren er 850 buxuskwekers. Door de opkomst van de buxusmot lijkt het kweken van deze soort een stuk minder lucratief en houden kwekers hun handen af van buxus. Tuinbezitters die aangevreten buxus hadden, kiezen ter vervanging liever een andere soort.

Buxusmot op retour

In de vlindertelling van de Vlinderstichting stond de buxusmot vorig jaar nog op de zevende plaats met ruim 4.000 waarnemingen, dit jaar heeft de buxusmot niet eens de top 25 gehaald. De reden daarvan is simpel. De mot lijkt zijn eigen graf te graven. Hij vreet zo intens aan de Nederlandse buxusplanten dat deze verdwijnen uit de tuinen. Daarmee is er voor de motten ook niets meer te vreten. Er zijn weliswaar rapportages dat de mot zich incidenteel vergrijpt aan een andere plant, maar dat lijken incidenten.

Behalve de verminderde aanwezigheid van fris groeiende buxusplanten zou ook predatie door vogels een rol kunnen spelen. Bekend is dat het altijd even duurt voordat een vogel een nieuw prooidier ontdekt heeft.

Bron: Boom in business, 5 en 21 augustus 2019

https://www.boom-in-business.nl/upload/berichten/30449_groot.jpg?uid=2

<https://www.boom-in-business.nl/article/30647/>

[enorme-afname-buxusmot](#)

Kennis over aanpak buxusmot gebundeld

De buxusmot houdt tuinliefhebbers bezig. Deze vlinder kan veel schade veroorzaken in de buxus. Meer dan 16.500 Vlamingen abonneerden zich op een nieuwsbrief van SOS Buxusmot om zo op de hoogte te blijven van de beste aanpak.



De buxusmot heeft een behoorlijke impact gehad op tuinbezitters en buxuskwekers (foto: Gewasbescherming).

De buxusmot (*Cydalima perspectalis*) komt van oorsprong uit Azië en werd voor het eerst waargenomen in 2006 in het zuidwesten van Duitsland. Sindsdien breidt de mot zich gestaag uit in Europa. De mot veroorzaakt veel schade aan de Buxus omdat de rupsen een plant helemaal kaal kunnen vreten.

Aanvankelijk valt de schade nog niet zo op. De kleine rupsjes die in het voorjaar uit het ei komen, vreten aan de onderzijde van het blad het bladmoes weg. Pas als de rupsen vervellen en groter worden, eten ze het hele blad op totdat de twijgen kaal worden.

Biologische bestrijding

Wil je de buxusmot in de hand houden, dan is het belangrijk dat je in het begin haarden met poppen en eitjes verwijdert, zo blijkt uit de informatie op de website SOS buxusmot. Bij een zware aantasting kun je een biologisch middel gebruiken, bijvoorbeeld een middel met parasitaire aaltjes.

De website SOS Buxusmot is een initiatief van een aantal Vlaamse organisaties: ILVO, PCS, Landelijke Gilden en AVBS. Op die site vind je informatie over de leefwijze van de mot en aanwijzingen voor de juiste aanpak. Je kunt er vragen stellen en je abonneren op nieuwsbrieven. Voor de nieuwsbrieven is veel belangstelling, zo blijkt uit een artikel in vakblad Sierteelt & Groenvoorziening. Vorig jaar waren er meer dan 16.500 abonnees.

Vragen over buxusmot

Uit de informatie van de website blijkt dat er drie perioden zijn waarin je de rupsen kunt aanpakken. De eerste periode is in april en mei, wanneer de rupsen uit hun overwinteringsplaats tevoorschijn komen. In juli en augustus - de tweede periode - kun je de eerste generatie rupsen aanpakken die uit de eitjes komen. In september en oktober pak je de rupsen van de tweede generatie aan.

Dat mensen met veel vragen zitten, blijkt uit het overzicht van veel gestelde vragen: Wat doe je met je snoeiafval? Kunnen buxusplanten herstellen? Of zijn er vogels die buxusmot eten? Het snoeiafval van buxus kun je het best in afgesloten zakken afvoeren, zo is te lezen op de website van Landelijke Gilden, een van de partners van SOS Buxusmot. Buxusstruiken kunnen herstellen, mits de schade niet te groot is. En de vlinders van de buxusmot worden wel gegeten door diverse vogelsoorten, maar de rupsen zelf hebben een slechte smaak.

Bron: Groenkennisnet, 25 juli 2019

NVWA: Verenigd Koninkrijk verscherpt de voorwaarden voor het binnenbrengen van rozenproducten in verband met het Rose Rosette Virus

Het Verenigd Koninkrijk (VK) heeft met ingang van 23 juli 2019 de importmaatregelen voor rozen (Rosa Sp.) uit Canada, India, Mexico of de Verenigde Staten (VS) verscherpt. Aanleiding zijn de aanhoudende problemen in deze landen met het Rose Rosette Virus. De maatregelen hebben betrekking op alle rozenproducten uit deze landen; bijvoorbeeld vermeerderingsmateriaal, weefselkweek en snijbloemen. Rozenzaad is uitgezonderd.

Wat zijn de gevolgen van deze maatregelen voor de Nederlandse rozensector?

In principe hebben de maatregelen geen verstrekkende gevolgen voor de Nederlandse rozensector: het gaat alleen om rozenplanten afkomstig uit Canada, India, Mexico en de VS. Rozenplanten uit deze landen die via Nederland worden doorgevoerd vallen wel onder de maatregelen. Het is mogelijk dat de plantgezondheidsautoriteiten in het VK op termijn ook certificaten voor deze rozenplanten gaat controleren.

Wat houden de maatregelen precies in?

De maatregelen houden in dat de rozen uit de vier landen met een fyto-sanitair certificaat met specifieke bijschrijving vergezeld moeten worden. De bijschrijvingsverplichting op het certificaat is nieuw en toont aan dat de rozen afkomstig zijn van een productielocatie die vrij is van het virus. Ook geeft het aan dat de planten op de juiste manier zijn verpakt voor vervoer. Het VK geeft aan dat zij de controles op zendingen rozen afkomstig uit Canada, India, Mexico en de Verenigde Staten na 23 juli geleidelijk gaan opbouwen.

Waarom treft het VK deze maatregelen?

Het VK neemt de maatregelen omdat er in Canada, India, Mexico en de VS problemen zijn met het Rose Rosette Virus (RRV) en een mijt (*Phyllocoptes fructiphilus*) die het virus verspreidt. Het virus wordt onvoldoende beheerst op Indiase rozenproductiebedrijven en vormt



De eikenprocessierups was afgelopen zomer massaal aanwezig en heeft op veel plaatsen voor enorme overlast gezorgd (foto: Henry Kuppen, Terra Nostra).

al jarenlang een probleem in de Amerikaanse sierteelt-sector. Het virus heeft schadelijke gevolgen voor de productkwaliteit; de ziektesymptomen maken producten in de regel onverkoopbaar.

Bron: NVWA, 26 juli 2019

VK stopt met import van grotere eiken vanwege processierups

Het Verenigd Koninkrijk heeft de import van grotere eiken (laanbomen) vanuit alle EU-landen verboden.

Het verbod geldt voor alle *Quercus* (uitgezonderd *Q. suber*) met een omtrek van meer dan acht centimeter op 1,2 meter hoogte. De aanpassing geldt sinds 15 juli 2019, 19.00 uur voor export naar Engeland en voor Schotland sinds 16 juli 2019. Voor Wales en Noord-Ierland wordt deze aanpassing ook verwacht.

Rupsen voorkomen

De eikenprocessierups komt slechts op beperkte schaal voor in het Verenigd Koninkrijk en men wil nieuwe introducties voorkomen. Daarom mogen eiken alleen geïmporteerd worden als er geen eikenprocessierups op aanwezig is. Afgelopen zomer hebben de fytosanitaire autoriteiten van het VK meerdere vondsten gedaan van deze rups op bomen die afgelopen jaar door Nederland

zijn geleverd. De bomen zijn afkomstig van zeker zeven verschillende bedrijven verspreid over Nederland. Het VK wil voorkomen dat er nog meer bomen met deze rups binnenkomen en heeft daarom de eisen aangescherpt. Omdat de vondsten vooralsnog alleen zijn gedaan op laanbomen, mogen de kleinere bomen (inclusief bos en haagplantsoen) nog wel geïmporteerd worden.

Advies

De NVWA adviseert kwekers en handelaren dringend om per direct zeer terughoudend te zijn met export van grotere eiken naar het Verenigd Koninkrijk en naar Ierland; ook voor Ierland gelden ZP-vereisten. De eikenprocessierups komt in vrijwel geheel Nederland voor en op allerlei plaatsen, zowel in bossen, lanen en bij particulieren. De plaagdruk is dit jaar veel groter dan voorheen en de kans op besmetting van plantmateriaal daarmee eveneens. Ook bij export van kleinere bomen adviseert de NVWA grote zorgvuldigheid in acht te nemen. Vanwege de huidige hoge plaagdruk is het niet ondenkbaar dat vrouwtjes ook op de kleinere bomen eitjes gaan afzetten. Kijk bijvoorbeeld ook goed in de omgeving of er nesten van eikenprocessierups aanwezig zijn.

Maatregelen bij vondst

Als momenteel bij inspectie in het VK een eikenprocessierups wordt aangetroffen, worden alle eiken uit deze partij getraceerd en vernietigd. Dit is binnen de

EU-wetgeving een gebruikelijke maatregel bij vondsten van quarantaine-organismen. Ook strengere maatregelen zijn toegestaan. Dit geldt ongeacht het type partij, dus ook bij vondsten in partijen bos en haagplantsoen.

*Bron: Boom in business, 22 juli 2019
<https://www.boom-in-business.nl/article/30345/vk-stopt-met-import-van-grotere-eiken-vanwege-processierups>*

Nieuw Kennisplatform Eikenprocessierups opgericht

In opdracht van minister Carola Schouten van LNV is het Kennisplatform Eikenprocessierups opgericht, een nieuw kenniscentrum over de eikenprocessierups die deze zomer op veel plaatsen voor een enorme overlast zorgde. Het kennisplatform is een samenwerkingsverband tussen verschillende organisaties met als hoofddoel de hoge plaagdruk van processierupsen verminderen en voorkomen.

Processierups.nu is online

Een van de eerste acties is de lancering van een voorlichtingswebsite: Processierups.nu. De experts van het Kenniscentrum Eikenprocessierups geven hier op meer dan 100 vragen een antwoord. Deze vragen zijn in verschillende categorieën ondergebracht, zoals moestuinigenaar, patiënt, boomeigenaar en gemeente/provincie/waterschappen.

Partners

Partners van het Kennisplatform Processierups zijn: Ministerie van LNV, Kenniscentrum Eikenprocessierups, Leerstoelgroep Milieusysteemanalyse Wageningen University, Hellingman Onderzoek en Advies, Terra Nostra, Jans Consultancy Gezondheid en Milieu, Stichting voor Duurzame Ontwikkeling, Nature Today, Wageningen Environmental Research, RIVM, KAD en GGD GHOR Nederland.

*Bron: Stad+Groen, 5 juli 2019
<https://www.stad-en-groen.nl/article/30244/nieuw-kennisplatform-eikenprocessierups-opgericht>*

Onderwijsmateriaal over groenbemers beschikbaar

Groenbemers leveren een waardevolle bijdrage aan de kwaliteit van de bodem. Voor het onderwijs geeft het nieuwe dossier 'Groenbemers' informatie in de vorm van een handboek, factsheets, powerpointpresentaties en opdrachten.

De belangstelling voor de teelt van groenbemers is sterk gegroeid. Naast bemesting en beheersing van

bodemziekten spelen nu ook biodiversiteit, klimaatadaptatie, organische stoffen en de daarmee samenhangende Europese regelgeving een belangrijke rol.

Keuze voor groenbemers

Groenbemers kun je voor verschillende doelen telen, zoals het in stand houden van de biologische bodemvruchtbaarheid, de beheersing van ziekten en plagen, of voor de versterking van de biodiversiteit. Daarnaast is de teelt voor een groenbemester of vanggewas soms verplicht als gevolg van regelgeving. Er zijn diverse gewassen die je als groenbemester kunt telen.

Elke groenbemester heeft andere eigenschappen. Zo kunnen vlinderbloemigen een belangrijke rol spelen bij de stikstofvoorziening. Voor de onderdrukking van het wortelstelselaaltje kun je juist weer Japanse haver of afrikaantjes gebruiken. Het is voor telers belangrijk dat ze voor elk perceel de juiste afwegingen maken bij de keuze voor een groenbemester.

Casussen voor onderwijs

Om de actuele kennis over groenbemester voor het onderwijs te ontsluiten is in een WURKS-project lesmateriaal ontwikkeld in de vorm van een handboek, factsheets, powerpointpresentaties voor het onderwijs en opdrachten. Dit materiaal is beschikbaar via het nieuwe dossier 'Groenbemers' van Groen Kennisnet. Verschillende groepen groenbemers worden uitvoerig belicht, zoals kruisbloemigen, grasachtigen en vlinderbloemigen. Daarnaast is er aandacht voor mengsels, regelgeving, vanggewassen na de teelt van maïs en het onderwerken van groenbemers. Naast het handboek en de factsheets bevat het dossier ook zes casussen of opdrachten die in het onderwijs gebruikt kunnen worden.

Bron: Groenkennisnet, 17 juli 2019

Slimme vallen met led: in de ban van het licht

Het was een beetje een feestelijk moment in de reusachtige kas van chrysantenkwekerij G&G Flowers in Gameren. In ieder geval voor entomoloog Rob van Tol. De nog wat plomp ogende kubus die hij hier gaat testen, is het prototype van een nieuwe generatie insectenvallen. Weg met de platte gekleurde lijmplaten waarmee veel kwekers nu nog hun plaaggeesten monitoren en/of bestrijden. Insecten vangen nieuwe stijl doe je met zorgvuldig gecomponeerd licht.

Insectenvallen in de tuinbouw zijn in de kern hopeloos ouderwets en inefficiënt, legt Van Tol (Biointeractions & Plant Health) uit. 'Van de trips die worden aangetrokken door een gekleurde plaat, gaat maar vijf tot vijftien procent ook daadwerkelijk landen. De rest ontsnapt. Waarom? Kennelijk is er iets mis met het visuele aspect van de val. De beestjes komen er wel op af, maar eenmaal

dichtbij de val raken ze de weg kwijt, raken ze gedesoriënteerd. De weinige die wel landen, zijn eigenlijk de crashers, de sukkels die min of meer neerstorten.'

Ledval als levenswerk

De lijmplaten zijn bruikbaar om insecten te monitoren, maar niet om ze massaal te vangen. Toch moet dat kunnen, denkt Van Tol. 'Eigenlijk is al het onderzoek naar insectenvallen tot nu toe voornamelijk empirisch geweest. Het hele kleurenpalet is onderzocht op aantrekkingskracht. Er zijn vergelijkingen gemaakt tussen verschillend gekleurde platen, maar er is nooit dieper gekeken. Wat zien insecten eigenlijk? Hoe oriënteren ze zich en welke aspecten spelen daarbij een rol? Die basiskennis wil ik vertalen naar betere vallen, waarop insecten wel besluiten te landen.' Met geld en steun van LTOGlaskracht, Koppert en de Topsector Tuinbouw is Van Tol al ruim twee jaar bezig aan wat hij zelf min of meer als zijn levenswerk is gaan zien: de ledval. En het prototype is dus die witte kubus, gebouwd in de PSG-werkplaats Tupola, die zijn eerste kunstjes mag vertonen in Gameren.

De kubus bestaat uit acht vakken, die elk afzonderlijk aangelicht kunnen worden. Plakfolie aan de buitenkant dekt de vakken af. Aan dat op het oog simpele ontwerp is veel testwerk voorafgegaan. In een vier meter lange windtunnel in Radix test Van Tol het gedrag van trips en behaarde wantsen bij verschillende kleuren ledlicht. Twee infraroodcamera's maken het mogelijk om van elk insect afzonderlijk de route in 3D vast te leggen. Die opstelling heeft al opmerkelijke resultaten opgeleverd. Een voorbeeld: trips vliegt een val altijd benedenwinds aan. Van Tol: 'Ze landen altijd tegen de wind in. Vliegen met meewind lukt wel, maar landen niet. Dan vliegen ze de val voorbij en keren tegen de wind terug.' Dat lijkt triviaal, maar dat is het volgens Van Tol niet. 'Voor het ontwerp van een goede insectenval is dit belangrijk. Zo'n val moet niet plat zijn, maar driedimensionaal, zodat er van alle kanten geland kan worden. Daarmee vergroot je de efficiëntie van de val.'

Variërende voorkeuren

Nog zo'n resultaat: trips prefereren geel licht boven blauw. Dat is opmerkelijk, aangezien in de kassen vaak blauwe platen worden gebruikt om de beestjes te lokken. Hebben kwekers het dan altijd verkeerd gedaan? Nee, blijkt uit nader onderzoek. De werkelijkheid is, zoals wel vaker, ingewikkelder dan gedacht. Daar kwamen Van Tol en zijn medewerkers achter toen ze lucht kregen van Duits onderzoek naar trips en hun lichtvoorkeuren. 'Zij vonden precies het tegenovergestelde: hun trips hadden een voorkeur voor blauw licht boven geel.' Die voorkeur voor blauw bleef toen de Duitse trips in de Wageningen opstelling werden getest. 'De insecten reageerden net als in Duitsland. Aan het verschil in proefopstelling kon het dus niet liggen. We onderzoeken nu of er leergedrag in het spel is, dat mogelijk de waardplant waarop de

trips zijn gekweekt een rol speelt. Een andere verklaring zou kunnen zijn dat de beide stammen trips genetisch verschillen.'

Hongerfactor

Mogelijk speelt ook uv-licht een rol. De Duitsers werkten in de kas met echt zonlicht, in plaats van in een windtunnel met door leds nagebootst zonlicht. Maar ook het verschil in uv van de beide testlocaties bleek het verschil niet te verklaren. Een nieuwe serie proeven moet nu uitsluitsel geven. In die experimenten worden alle mogelijke combinaties van geel, blauw, uv en groen licht onderzocht. En om het allemaal nog complexer te maken: ook de hongerfactor zou volgens Van Tol wel eens een rol kunnen spelen. 'Trips vliegt op geel, omdat honger heeft en denkt dat hij een bloem ziet. Maar misschien oriënteert een niet-hongerige trips zich wel op blauw. Het kan zijn dat je meerdere kleuren nodig hebt om alle trips te vangen. Met de nieuwe ledval kunnen we dat allemaal uitzoeken.'

Verleider

Naast kleur en contrast spelen ook patronen een rol in de oriëntatie. Van Tol laat zijn nieuwste speeltjes zien: ledlampen die een patroon van concentrische ringen of radiale (vanuit een middelpunt) strepen of stippen produceren. Alles wordt uit de kast gehaald om de insecten over te halen om te landen. Daarbij wordt (zie kader) ook gekeken naar de werking van het insectenog zelf. De insectenval van de toekomst wordt een perfecte verleider. 'De val moet driedimensionaal zijn, zodat er van alle kanten kan worden geland'

Bron: Resource, 4 juli 2019

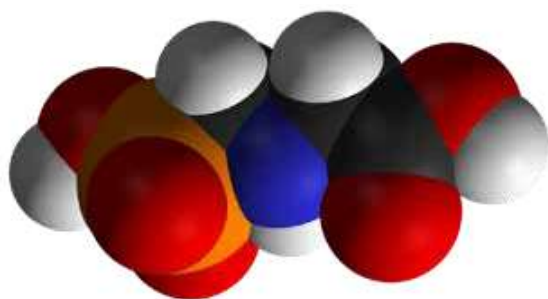
Oostenrijk verbiedt als eerste EU-land glyfosaat

Oostenrijk verbiedt als eerste Europese land het bestrijdingsmiddel glyfosaat. Glyfosaat zit in de wereldwijd bestverkochte onkruidverdelger Roundup en kan kanker veroorzaken, wijst onderzoek van de Wereldgezondheidsorganisatie uit.

De beslissing is in strijd met de Europese wetgeving, die besloot het middel in 2017 vijf jaar langer toe te staan tot 2022, ondanks veel protest tegen het middel. De Europese Unie beoordeelt elke vijf jaar dergelijke middelen. Deskundigen discussiëren al jaren over de mogelijke schadelijke gevolgen van het middel.

Oordeel Ctgb

Het Ctgb stelt dat het middel ongevaarlijk is. 'Het product is veilig voor mens, dier en milieu als het volgens het gebruiksvoorschrift wordt gebruikt,' aldus Ctgb. Er is al jaren een strijd tussen producenten en gebruikers aan de ene kant tegenover gezondheidsorganisaties aan de andere kant.



*Moleculaire structuur van Glyphosate 3D
(foto: Public Domain).*

Schadevergoedingen

Ook in de VS is het middel toegestaan, maar daar zijn al verschillende schadevergoedingen uitgekeerd. Een jury in de Amerikaanse staat Californië stelde in 2018 een minimaal schadevergoeding van bijna 290 miljoen dollar.

Bron: NOS, 2 juli 2019

NVWA treft exotische *Aedes flavopictus*-mug aan in Lelystad

De Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) heeft in een muggenval in de gemeente Lelystad één exemplaar van de *Aedes flavopictus* mug aangetroffen. De *Aedes flavopictus* is een exotische mug die sterk lijkt op de Aziatische tijgermug. Het is de eerste keer dat deze mug buiten zijn natuurlijke verspreidingsgebied (Japan en Korea) is aangetroffen.

De Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit neemt naar aanleiding van deze vondst dezelfde maatregelen die ook genomen worden bij het aantreffen van de Aziatische tijgermug. Dit betekent dat op het betreffende bedrijf en in de directe omgeving alle volwassen (exotische) muggen worden bestreden. Verder worden op en rond de vondstlocatie geschikte broedplaatsen van muggen verwijderd of behandeld met een larvendodend middel om de larven van de mug te bestrijden.

Het is niet bekend hoe de *Aedes flavopictus* in Nederland terecht gekomen is. Dit wordt nader onderzocht. Van andere exotische muggen is bekend dat zij Nederland kunnen bereiken via internationale transporten van bijvoorbeeld gebruikte banden en bamboeplantjes (Lucky Bamboo). De overheid wil voorkomen dat invasieve exotische muggen die mogelijk ziektekiemen kunnen overbrengen zich hier vestigen. Om de introductie van exotische muggen te monitoren staan er daarom muggenvallen op (lucht)havens, in veilinghallen en op risicobedrijven. Als de NVWA bij deze monitoring exotische muggen aantreft, worden deze bestreden.



Laborant onderzoekt een mug (foto: NVWA).

Alleen steekmuggen die besmet zijn met ziektekiemen, kunnen mensen ziek maken. Op dit moment komen in Nederland geen ziekten voor die door muggen worden overgebracht. De *Aedes flavopictus* is voor zover bekend ook niet betrokken bij een muggenoverdraagbare infectieziekteuitbraak.

Bron: Nieuwsbericht NVWA, 26 juni 2019

Tussenevaluatie beleid duurzame gewasbescherming

In de in 2013 uitgebrachte nota Gezonde Groei Duurzame Oogst (2013-2023) streeft de overheid verduurzaming van gewasbescherming na waarbij economische perspectief voor telers behouden blijft. Geïntegreerde gewasbescherming neemt daarbij een belangrijke positie in. En land- en tuinbouw moeten voldoen aan internationale verplichtingen zoals de waternormen. Een tussenevaluatie laat zien wat dat beleid heeft opgeleverd.

Onderzoekers hebben geanalyseerd wat het effect van het gevoerde beleid was over de periode 2010-2016. In drie deelrapporten wordt beschreven wat het effect is op de economische positie van de verschillende sectoren, gewasbeschermingsknelpunten en op de naleving van voorschriften.

Economische positie

Uit een aantal casussen blijkt wat betreft de economische positie dat Nederlandse telers in de meeste gevallen hogere kosten of meer schade hebben als gevolg van het gevoerde beleid. En Nederlandse telers hebben in 2016 vaker een concurrentienadeel dan een voordeel als je het vergelijkt met de positie van Belgische, Franse, Duitse of Engelse telers. Dat komt dan met name - zo is te lezen in het rapport - doordat vrijstellingen van middelen nationaal en niet op Europees niveau gegeven kunnen worden.

Gewasbeschermingsknelpunten

Het deelrapport Knelpunten beschrijft de inventarisatie naar landbouwkundige knelpunten er in de periode van 2010 tot 2016. Per jaar is gekeken naar het aantal knelpunten per sector: akkerbouw, vollegrondsgroenten, bloembollen, fruitteelt, boomkwekerij, glasgroenten, glassierteelt en uitgangsmateriaal. Welke knelpunten zijn opgelost? Welke zijn er bij gekomen?

Het algemene beeld is dat er knelpunten verdwijnen doordat er toelatingen beschikbaar komen, maar dat er ook nieuwe ontstaan doordat toelatingen verdwijnen. Soms verdwijnen knelpunten omdat teelten naar het buitenland verplaatst worden. Als voorbeeld word de verplaatsing van teelten naar België genoemd omdat daar soms meer middelen zijn toegelaten. Dat geldt bijvoorbeeld voor bladgewassen (andijvie), snijbiet of graszaadteelt.

CRISPR-Cas

In Nederland worden knelpunten soms niet opgelost omdat de toelating van groene middelen traag verloopt. Nieuwe technieken zoals cis-genese en CRISPR-Cas kunnen sneller resistente rassen ontwikkelen. Doordat deze technieken niet toegelaten worden vertragen ze de ontwikkeling van niet-chemische oplossingen voor knelpunten, aldus het rapport.

De onderzoekers concluderen dat er zeker knelpunten worden opgelost. Echter ontstaan nieuwe knelpunten sneller door het wegvallen van middelen dan dat ze worden opgelost.

Naleving

Het derde deelrapport Naleving beschrijft de stand van zaken als het gaat om naleving van de wet- en regelgeving op het gebied van gewasbescherming. Volgens beschikbare evaluatierapportages van de akkerbouw (2013), groenteteelt in de vollegrond (2015) en fruitteelt (2016) bedroeg de naleving ongeveer 90%. Als er overtredingen zijn gaat dat meestal om het niet gebruiken van de middelen conform de voorschriften.

Opvallend is dat in 2018 ten opzichte van 2014 de naleving in bloembollen significant is verbeterd, van 55 tot 90%. En ten opzichte van 2012-2014 was er in de sierteelt onder glas in 2016-2017 sprake van een significante verslechtering van de totaalscore op naleving. Ook was meer sprake van het gebruik van niet in de teelt toegelaten middelen, waardoor de naleving op dit aspect dus is verslechterd.

Bron: Groenkennisnet, 26 juni 2019

Nieuw dossier: Japanse duizendknoop

De Japanse duizendknoop is in de 19e eeuw in Europa geïntroduceerd als sierplant, maar vormt nu een grote bron van overlast. Het nieuwe dossier 'Japanse duizendknoop' gaat in op vragen als: Hoe kan je een Japanse duizendknoop herkennen? Wat zijn de risico's en hoe is de plant de bestrijden?

Japanse duizendknoop (*Fallopia japonica*) komt oorspronkelijk uit Azië en is tweehonderd jaar geleden naar



Poging om Japanse duizendknoop die langs een gracht groeit (links) tegen te gaan door afmaaaien (midden) en afdekken (rechts) (foto: Gewasbescherming).

Nederland gebracht als sierplant. In Azië heeft de plant natuurlijke vijanden maar in Europa is dit niet het geval, waardoor de plant bijna overal kan groeien. Door de enorme groeikracht verdringt het andere planten. De plant is zo sterk dat deze zelfs door beton, rioleringen en asfalt kan groeien.

Herkenning

De Japanse duizendknoop is een vaste plant met stevige wortelstokken. De stengels lijken enigszins op bamboe en kunnen wel drie meter lang kunnen worden. De plant groeit onder bijna alle omstandigheden goed. Plaatsen waar je de plant onder andere tegen kan komen zijn wegbermen, bosranden, braakliggende terreinen en tuinen. Meer informatie over de herkenning van de plant staan in het dossier.

Risico's en bestrijding

De plant brengt grote risico's met zich mee voor andere planten en dieren. Maar de plant veroorzaakt ook schade aan gebouwen en infrastructuur. Ook de bestrijding van de plant kost veel geld. Helaas is er nog geen wondermiddel om de plant te bestrijden. Het is bij signalering van de Japanse duizendknoop belangrijk om zo snel mogelijk in te grijpen. Dit om te voorkomen dat de plant zich uitbreidt. Je zou daarbij kunnen denken aan de plant uit de grond trekken of uitgraven.

Niet in gift-bak

Belangrijk is daarbij om de resten van de Japanse duizendknoop niet in de gift-bak of op de composthoop te gooien. Dit omdat kleine stukjes van de Japanse duizendknoop weer kunnen uitgroeien tot een nieuwe plant. De plant moet daarom bij het restafval.

Het nieuwe dossier 'Japanse duizendknoop' gaat dieper in op de problematiek die de soort met zich meebrengt en wat bijvoorbeeld gemeentes doen tegen deze woekeeraar. Bovendien bevat het dossier nuttige bronnen en filmpjes met betrekking tot de Japanse duizendknoop.

Bron: Groenkennisnet, 26 juni 2019

Gewasbeschermingsmiddelen nog steeds dringend nodig - Conclusie van PBL: gebrek aan effectieve alternatieven

Op het gebied van verduurzaming van gewasbescherming is op verschillende terreinen vooruitgang geboekt en is de trend positief. Dat concludeert het Planbureau voor de Leefomgeving in de Tussenevaluatie van de Nota Gezonde Groei, Duurzame Oogst. Nefyto is tevreden over deze hoofdconclusie. De inspanningen van telers, adviseurs, afnemers én industrie leiden dus tot resultaat.

Tegelijkertijd blijkt dat niet alle doelen van het nationale gewasbeschermingsbeleid zijn gehaald. Voorafgaand aan het vaststellen van de doelen is overigens ook niet nagegaan of deze doelen haalbaar waren. Het doel op het gebied van voedselkwaliteit is wél gehaald. Vertraging van wetgeving (Activiteitenbesluit) is naar de mening van Nefyto overigens een belangrijke oorzaak van het niet tijdig bereiken van een aantal doelstellingen. Juist in de laatste periode zijn veel verbeteringen zichtbaar geworden; dit is helaas niet meegenomen in de Tussenevaluatie, want deze kijkt tot 2017.

Het PBL stelt in haar persbericht dat gewasbeschermingsmiddelen nog steeds routinematig worden gebruikt en dat de overheid er goed aan doet om het onderzoek naar niet-chemische alternatieven verder te stimuleren. Nefyto trekt uit het PBL-onderzoek de conclusie dat - zolang alternatieven ontbreken - gewasbeschermingsmiddelen nog steeds dringend nodig zijn voor een gezonde, veilige productie van agrarische producten van goede kwaliteit. Gewasbeschermingsmiddelen zijn de strengst beoordeelde stoffen ter wereld en een veilig en verantwoord gebruik is voor Nefyto en de aangesloten bedrijven uitgangspunt. De beschikbaarheid van gewasbeschermingsmiddelen loopt de laatste tijd echter sterk terug. Vanuit de sectoren zijn er ook zorgwekkende berichten over het steeds vaker ontbreken van de juiste instrumenten.

Bron: Persbericht Nefyto, 21 juni 2019

Ecologische bermen tegen plaaginsecten in de kas

Als je bermen ecologisch beheert, wat betekent dit dan voor de plaaginsecten in de kas? Vormen die bermen een grotere bron van plaaginsecten dan regulier beheerde bermen? Of dragen ze bij aan natuurlijke plaagbestrijding? Een onderzoek in het Westland laat zien dat er weinig verschil is.

In de Poelzone in de gemeente Westland willen gemeente, provincie en hoogheemraadschap biodiversiteit stimuleren. Daarom worden verschillende bermen op een meer natuurlijke manier beheerd. Maar glastuinders vragen zich af wat die ecologisch beheerde bermen voor effect hebben op het optreden van plaaginsecten in de kas. Zijn die bermen een bron van plaaginsecten? Of dragen ze mogelijk bij aan natuurlijke plaagbestrijding? Daarvoor is in de zomer van 2018 een onderzoek uitgevoerd.

Ecologisch beheerde bermen

Op vier locaties in de gemeente Westland zijn stroken berm van vijftig meter tussen april en augustus 2018 vijf keer bemonsterd. In die bermen zijn insecten geteld en werd de vegetatie geïnventariseerd. Om informatie

te verzamelen over de plaaginsecten in omliggende kassen werden enquêteformulieren bij tuinders uitgezet.

Uit het onderzoeksrapport blijkt dat er veel verschillende soorten natuurlijke plaagbestrijders, plaagsoorten, neutrale herbivore soorten voorkomen. Deze soorten komen voor in zowel de regulier beheerde bermen als in de ecologisch beheerde bermen. In de ecologisch beheerde bermen komen meer plantensoorten voor en zijn er ook iets meer insecten aanwezig.

Bladluisbestrijders

Onderzoeker Jan Willem de Vries merkt in een artikel in de Bloemenkrant op dat er in de Poelzone opvallend veel bladluisbestrijders zijn gevonden, zoals lieveheersbeestjes, gaasvliegen, zweefvliegen, sluipwespen, soldaatjes en galmuggen. Hij denkt dat die heel nuttig zijn als ze migreren van de berm naar de kas en dat ze daarom een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan de bestrijding van bladluis. Hij merkt op dat je zo buiten de kas een bankerplantsysteem hebt. Met een bankerplantsysteem kun je een populatie van natuurlijke vijanden creëren en in stand te houden.

Of de insecten uit de bermen ook effect hebben op de plaaginsecten in de kassen is niet duidelijk. De onderzoekers hebben van niet meer dan één kas gegevens ontvangen en dat is te weinig om er conclusies uit te trekken.

Vervolgonderzoek

Uit het rapport blijkt dat er bij de onderzochte locaties in de Poelzone met natuurlijk beheer een iets beter evenwicht tussen plaagsoorten en natuurlijke plaagbestrijders lijkt te bestaan dan in de onderzochte regulier beheerde bermen. De verschillen zijn echter klein. Er zijn daarom aanbevelingen gedaan voor vervolgonderzoek.

Bron: Groenkennisnet, 20 juni 2019

Xylella update: nog geen remedie, snelle controlemaatregelen cruciaal

De European Food Safety Association (EFSA) heeft in een update laten weten dat er voor zover bekend nog steeds geen effectieve remedie is tegen *Xylella fastidiosa*. De organisatie onderschrijft het belang van implementatie van controlemaatregelen en het controleren van de insecten waarvan bekend is dat ze de plantenbacterie overbrengen.

Het Plant Health Panel (PLH) van de EFSA heeft met computermodellen gesimuleerd hoe *Xylella* zich onder verschillende omstandigheden over korte en lange afstanden verspreidt. Het model toonde het belang aan van door de Europese Commissie gespecificeerde controlemaatregelen om verspreiding te voorkomen en zelfs uitbraken van de ziekte uit te roeien. De simulatie

toonde tevens de relatieve effectiviteit van bufferzones van verschillende grootte aan om een geïnfecteerd gebied te besturen.

Controleren insecten

De computersimulaties toonden ook het belang aan van het controleren van insecten - zoals de *Philaenus spumarius* - waarvan bekend is dat ze de ziekteverwekker in Europa overbrengen. Daarnaast blijkt het belangrijk om na detectie zo snel mogelijk controlemaatregelen te nemen, zoals het verwijderen van geïnfecteerde planten en het vaststellen van afgebakende gebieden.

Chemische en biologische bestrijding

De beoordeling bevestigt dat er nog steeds geen bekende manier is om de bacterie uit een zieke plant te elimineren in veldomstandigheden. De effectiviteit van chemische en biologische bestrijdingsmaatregelen is in recente experimenten beoordeeld, aldus de EFSA. Volgens de organisatie laten de resultaten zien dat ze in bepaalde situaties de ernst van de ziekte tijdelijk kunnen verminderen. Er is echter geen bewijs dat ze *Xylella fastidiosa* in veldomstandigheden gedurende een lange periode zouden kunnen elimineren, aldus de EFSA.

Bron: EFSA, 19 juni

3,5 miljoen euro voor onderzoek naar insecten als veevoer

Hoogleraar Marcel Dicke van Wageningen University & Research (WUR) krijgt de coördinatie over een groot, nieuw onderzoek hoe insecten als veevoer kunnen worden ingezet. Dat heeft de Nederlandse organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek (NWO) bekend gemaakt. Het project wordt uitgevoerd in samenwerking met partners, waaronder Universiteit Groningen, NVWA, insectenbedrijven en de Rabobank.

Naast de bijna 3,5 miljoen euro steekt ook de insectensector zelf geld in het onderzoek. Samen met de partners gaat WUR kijken hoe insecten als een soort 'minivee' gekweekt kunnen worden om te dienen als duurzaam veevoer in een circulaire economie. Dat doet de onderzoeksgroep door de productie van insecten te onderzoeken op het gebied van gezondheid, welzijn en intrinsieke waarde. Daarnaast meten ze de gezondheid en het welzijn van pluimvee dat de insecten als voer krijgt én wordt onderzocht wat de economische robuustheid is van de nieuwe insectensector.

Het nieuwe insectenonderzoek is onderdeel van de Nationale Wetenschapsagenda (NWA).

Bron: Wageningen University & Research, 12 juni 2019



*Insectenkweek voor veevoer: larven van de zwarte soldatenvlieg *Hermetia illucens* (foto: MOs810, Biocentre CCA-SA 4.0).*

Welke tropische ziekten komen naar Nederland?

Insecten die ziekten overdragen rukken door de klimaatverandering op naar het noorden. Onderzoekers van onder andere WUR en Erasmus MC gaan daarom uitzoeken hoe Nederland zich beter kan voorbereiden op de komst van vector-overdraagbare ziekten.

De leerstoelgroep Entomologie gaat samenwerken met onderzoekers uit Rotterdam, Nijmegen en Utrecht, het RIVM, de NVWA en bloedbanken in Nederland. De onderzoekers hebben negen miljoen euro gekregen van NWO en hebben in totaal tien miljoen euro te besteden. Entomologie gaat twee promovendi aanstellen. De Rotterdamse viroloog Marion Koopmans leidt het onderzoek.

De onderzoekers gaan met name de risico's van klimaatverandering voor de verspreiding van vectorziekten in kaart brengen, licht de Wageningse entomoloog Willem Takken toe. Nu het warmer wordt, rukken muggen en andere insecten op richting Noord-Europa. Daarmee neemt het risico toe op de komst van nieuwe infectieziekten, zoals het westnijlvirus en dengue. Al aanwezige vectorziekten, zoals de door teken overgebrachte ziekte van Lyme, kunnen meer slachtoffers maken. Het

tekenseizoen gaat langer duren, zegt Takken, waardoor de kans groter wordt dat mensen Lyme oplopen.

De onderzoekers gaan na of de insecten nieuwe virus- en parasieten meenemen en of die zich hier verder verspreiden. WUR beschikt over een onderzoekslab met de hoogste veiligheidsstatus, waarin onderzoekers muggen infecteren met virussen en de verspreiding nagaan. WUR en Erasmus Universiteit gaan zo de risico's van het westnijlvirus, het zikavirus en knokkelkoorts beoordelen.

Bron: Resource, 20 juni 2019

De strijd tegen opkomende vectorziekten

In juni kwamen wetenschappers en beleidsmakers, van over de hele wereld, bij elkaar gekomen om samen nieuwe uitbraken van vectorziekten te voorkomen.

Ieder jaar sterven er meer dan 700.000 mensen aan een door insecten-overgedragen infectieziekte en ondanks deze enorme aantallen is het wetenschappers nog niet gelukt om deze ziekten onder controle te krijgen. De medische wetenschap werkt hard aan medicatie en vaccinaties, maar deze zijn in veel gevallen nog ontoereikend.



*Terwijl de mug *Aedes aegypti* zich voedt met mensenbloed kunnen parasieten overgebracht worden die tropische ziekten veroorzaken. Beheersing van de vector is van het grootste belang om deze infectieziekten tegen te gaan. (foto: M.M. Karim GNU Free Documentation License, Version 1.2).*

Vectorbiologen werken aan de bestrijding van de vectoren, hoofdzakelijk gebaseerd op chemische bestrijdingsmiddelen (insecticiden).

De uitkomst is: Vectorbestrijding

Hoewel deze aanpak zeer succesvol is geweest, met een sterke verlaging van het aantal sterfgevallen, dreigt deze strategie vast te lopen door ontwikkeling van resistentie tegen medicijnen en insecticiden. Als we niet oppassen en een goede methode vinden om deze pathogenen uit te schakelen kan er een gezondheidsrisico ontstaan voor de gehele wereldbevolking.

‘Als we niet oppassen en een goede methode vinden om deze pathogenen uit te schakelen kan er een gezondheidsrisico ontstaan voor de gehele wereldbevolking. We kunnen dit voorkomen, dus we moeten iets doen.’ Willem Takken, professor medische en veterinaire entomologie, Wageningen University & Research Tijdens de internationale conferentie ‘Innovative strategies for vector control’, waren alle aanwezigen het met elkaar eens: willen we deze ziektes echt aanpakken dan moeten we de vector bestrijden. Andere methodes kunnen de ziekte onderdrukken, maar zullen deze nooit helemaal kunnen uitroeien. Dat kunnen we wel realiseren door de insecten te bestrijden.

Om de vector te kunnen bestrijden zijn er nog twee belangrijke uitkomsten benoemd, namelijk het betrekken

van de lokale bevolking en politieke betrokkenheid. De lokale bevolking moet begrijpen waarom het belangrijk is de insecten aan te pakken en hierbij helpen. Denk aan het opruimen van broedplaatsen van muggen etc. Daarnaast is het belangrijk dat overheden blijven investeren in deze projecten in mensen en in geld, want alleen dan kunnen deze projecten slagen.

Global vector control response

De Wereldgezondheidsorganisatie heeft de Global Vector Control Response (GVCR) ontwikkeld om met wetenschappers te zoeken naar een methode die ervoor zorgt dat de insecten de pathogenen niet meer kunnen overdragen. In het bestrijden van malaria zijn er al grote stappen gezet, denk aan muggenvallen en genetisch gemodificeerde muggen die de malariaparasiet niet meer kunnen overdragen.

De ongekende uitbraak van het zikavirus in Zuid-Amerika kwam in 2015 wereldwijd in het nieuws en leidde tot veel bezorgdheid, vooral omdat op dat moment onbekend was hoe de ziekte werd overgedragen en zich verder verspreidde. Met name opvallend was dat vrouwen die tijdens de zwangerschap met het virus waren besmet een verhoogd risico hadden op de geboorte van een kind met microcefalie (onderontwikkelde schedel en hersenen). Tijdens de epidemie werden meer dan achtduizend kinderen geboren met ernstige afwijkingen.

Slechts een paar jaar eerder werden veel mensen in dezelfde regio ziek door een ander virus dat door muggen wordt overgebracht, het chikungunyavirus. Dat virus kan ook nu nog chronische pijn veroorzaken bij patiënten die ooit zijn gestoken door een besmette mug.

Deze nieuwe ziekten trekken veel media-aandacht, vooral omdat ze zich zo snel lijken te verspreiden en omdat ze leiden tot mysterieuze symptomen, zoals microcefalie. Er sterven nog steeds duizenden mensen per jaar door andere ziekten, zoals malaria en olifantsziekte, maar deze cijfers halen de voorpagina's niet. Strategieën om de ziektedragende muggen en vliegen te bestrijden mislukken grotendeels, vooral vanwege wijdverbreide resistentie tegen insecticiden. Snelle en ongeplande verstedelijking, klimaatverandering en toegenomen handels- en reizigersverkeer verergeren deze situatie alleen maar.

Vectorbeheersing

Een positief punt is dat er geen gebrek is aan enthousiasme en gedrevenheid in de academische wereld om met alternatieve oplossingen te komen. Met regelmaat lezen we over 'doorbraken' in het muggenonderzoek. Denk bijvoorbeeld aan het gebruik van genetisch gemodificeerde muggen die geen virussen of parasieten kunnen overbrengen, of nieuwe vallen met stinkende menselijke geurstoffen om massaal muggen te lokken en vangen. De vraag blijft echter in welke mate deze nieuwe innovaties de markt kunnen bereiken, of liever gezegd: de gemiddelde burger die gevaarlijke koorts heeft gekregen door een muggenbeet.

Bron: Wageningen University & Research, 11 juni 2019

Herkennen van trips in kassen belangrijk voor bestrijding

Het aantal tripssoorten dat in Nederlandse kassen voorkomt is de afgelopen jaren sterk toegenomen. Zeker tien soorten zijn gevestigde plagen, waarvan acht een exotische oorsprong hebben. Voor de bestrijding van trips is het belangrijk te weten om welke soorten het gaat. Wageningen University & Research heeft daarom met financiering van het programmafonds glastuinbouw een tripsherkenningsskaart opgesteld om de meest belangrijke soorten te kunnen herkennen.

Trips is al jarenlang een van de grootste bedreigingen voor de Nederlandse sierteelt onder glas. Voor de bestrijding van trips is het belangrijk te weten om welke soort het gaat. Biologische bestrijders werken bijvoorbeeld niet altijd goed tegen alle soorten trips en ook kan chemische bestrijding tegen de ene soort beter werken dan tegen de andere. Verder kan de ontwikkelingsduur, waardplantacceptatie en het verspreidingsgedrag per tripssoort sterk verschillen.

De meeste trips van exotische oorsprong

De meest voorkomende schadelijke soort is de Californische trips, *Frankliniella occidentalis*. Deze trips is in de jaren tachtig ooit met plantmateriaal in Nederland terecht gekomen en sindsdien nooit meer verdwenen. Hetzelfde geldt voor *Echinothrips americanus* die in de jaren negentig ons land binnen kwam en meer recentelijke, de Japanse bloementrips *Thrips setosus*. Met de invasies van nieuwe soorten is de diversiteit van trips sterk toegenomen. In orchideeën komt recentelijk *Dichomothrips corbetti* voor. Een tripssoort die wereldwijd toeneemt is *Scirtothrips dorsalis*. Deze soort komt van oorsprong uit Azië, maar verspreidt zich snel over de wereld en is inmiddels gevestigd in Australië, Midden-Amerika, Centraal Afrika en het Midden Oosten. Sinds een aantal jaar is deze tripssoort waargenomen in Israël en het Verenigd Koninkrijk, waardoor het aannemelijk is dat ze in de nabije toekomst in de Nederlandse glastuinbouw terecht zal komen.

Inheemse soorten trips

Naast de exoten zijn er ook veel inheemse soorten trips die regelmatig in kassen voorkomen, zoals *Frankliniella intonsa*, *Thrips tabaci* en *Thrips fuscipennis*. Onder de inheemse soorten bevinden zich ook veel tripssoorten die vaak de kas binnenvliegen en op vangplaten belanden, maar niet schadelijk zijn, zoals de kleine graantrips *Limothrips cerealeum*.

Herkenningskaart als hulpmiddel

Om de verschillende soorten trips in kasteelten te kunnen herkennen is een tripsherkenningsskaart samengesteld waarin veertien soorten worden weergegeven, waarvan twaalf soorten die regelmatig voorkomen en twee soorten die we in de toekomst kunnen verwachten. De herkenningsskaart is uitklapbaar en op twee niveaus te gebruiken. Met de close-up foto's van de volwassen en larvale stadia en het bijbehorende schadebeeld kan al snel een inschatting gemaakt worden van de vermoedelijke soort.

Om tot een definitieve identificatie te komen moeten een aantal taxonomische kenmerken worden nagelopen. Voor dit tweede niveau is het noodzakelijk om een microscopisch preparaat te maken, zodat de kenmerken één voor één kunnen worden bekeken. Met behulp van de herkenningsskaart kan gekeken worden naar de antenne, kop, het pronotum, de vleugel, het meso- en metanotum en het achterlijf. Het aantal antenneleden en de kleurschakering op deze leden is bijvoorbeeld al een erg belangrijk onderdeel om soorten te kunnen onderscheiden. Ook de beharing bij de kop, het pronotum en de vleugels kan sterk verschillen tussen soorten. Het nalopen van deze kenmerken vergt iets meer inspanning en geduld, maar is voor een enthousiaste amateurtaxonoom goed te doen.

Bron: Wageningen University & Research, 6 juni 2019

Margrietjes leiden bladluizen om de tuin met natuurlijke alarmgeurstof

Een margrietensoort heeft een natuurlijke afweer ontwikkeld tegen bladluizen. De plantjes produceren de alarmgeurstof van bladluizen waardoor ze op de vlucht slaan. Diezelfde geur trekt lieveheersbeestjes aan, op zoek naar bladluizen die er helemaal niet zijn. Een dubbele bescherming voor de lachende margrietjes. Tien jaar onderzoek levert nu eindelijk bewijs voor dit natuurlijke beschermingsmechanisme bij pyrethrum (een verwant van het margrietje). Al sinds begin jaren tachtig bestond de hypothese dat dit fenomeen onder planten bestaat. Nu is het ecologische bewijs geleverd.

Bijzondere ontdekking veldonderzoek China

Onderzoeker Maarten Jongsma van Wageningen University & Research constateerde in 2009 in velden met pyrethrumbloemen in China een hoge dichtheid aan lieveheersbeestjes en vroeg zich af wat die daar deden. Er was niets te eten voor de diertjes en hij vermoedde dat ze op een geur van de bloemen afkwamen. Dat was het begin van een 10-jarig onderzoek samen met de Huazhong Landbouwniversiteit in Wuhan, dat nu wordt gepubliceerd in het tijdschrift *New Phytologist*.

In het veld en het lab werd door de Chinese PhD-student Jinjin Li vastgesteld dat de lieveheersbeestjes door de geur van specifiek de jonge bloemen werden aangetrokken en dat bladluizen van die geur juist schrokken en het op een lopen zetten. De verklarende factor bleek inderdaad de alarmgeurstof die geproduceerd werd door de plant. Het gen voor de geur werd geïsoleerd en daarmee werd aangetoond dat de planten de stof produceren en opslaan precies op de plaats waar normaal gesproken bij verwante soorten de bladluizen zitten.

De alarmgeur

De alarmgeurstof van bladluizen is bij veel luizensoorten hetzelfde. Lieveheersbeestjes kennen die geur heel goed want bij het oppeuzelen van elke bladluis geeft zo'n luis twee druppeltjes met een paar nanogram van die stof af via twee orgaantjes op zijn rug. De geur staat dus gelijk aan lekker eten voor het lieveheersbeestje. De bladluis scheidt de geur af om haar tweelingzusjes (luizen klonen zichzelf) te laten weten dat er noodlottig gevaar dreigt. Bladluizen die toch neerstrijken op een pyrethrumbloem en de zoete sapstroom willen opzuigen zullen op zoek daarnaar met hun zuignuit cellen tegenkomen die gevuld zijn met de alarmstof. Ze zuigen daar al gauw een beetje van op en dat komt even later als honingdauw naar buiten precies waar hun naar achteren gevouwen geurantennes liggen. Dat resulteert in een geurexplosie waar ze vervolgens ook zó van kunnen schrikken dat ze alsnog maken dat ze weggelopen. Al met al een enorm geraffineerd chemisch mimicry systeem dat in duizenden jaren van evolutie tot stand is gekomen om pyrethrum effectief te beschermen tegen haar belagers.



Margriet lokt lieveheersbeestje met alarmgeurstof (foto: Pixabay).

Vervolgonderzoek gaat nu selectief het gen met de alarmgeurstof uitschakelen in de plant om te zien of de planten dan inderdaad veel meer last krijgen van bladluizen en dat de lieveheersbeestjes geen interesse meer hebben voor de planten. Daarmee is straks exact vast te stellen wat de ecologische impact van deze natuurlijke eigenschap is in het veld.

Bron: Wageningen University & Research, 3 juni 2019

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.

Binnenlandse bijeenkomsten**10 oktober 2019**

Bijeenkomst KNPV-werkgroep Fytobacteriologie, Enkhuizen

Info: www.knpv.org

30 oktober 2019

Bijeenkomst KNPV-werkgroep Fusarium, Utrecht

Info: www.knpv.org

14 november 2019

Bijeenkomst KNPV-werkgroep Bodempathogenen en bodemmicrobiologie, Lelystad

Info: www.knpv.org

19 november 2019

Discussie avond Semper Florens/KNPV, 'Influence of new quality labels on food', Forumgebouw, Wageningen

Info en opgave via e-mail: sf.tdlcie@wur.nl

22 november 2019

Bijeenkomst KNPV-werkgroep Nematoden, Wageningen

Info: www.knpv.org

10 december 2019

Najaarsbijeenkomst KNPV 'Biologische bestrijding in de open teelt', Koppert, Berkel en Rodenrijs

Info: www.knpv.org

22-26 juni 2020

25th International Conference on Virus and other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops, ICFV2020, 's-Hertogenbosch

Info: www.plant-virology.nl/ICVF2020

Buitenlandse bijeenkomsten**23-25 oktober 2019**

14e Symposium on the Hazards of Pesticides to Bees, Bern, Zwitserland

Info: www.ICPPR.com

19-20 november 2019

Soil biodiversity: What do we know and how to protect it from adverse plant protection products and other chemicals, Setac Symposium, Brussel, België

Info: www.ssss14.setac.org

25-28 november 2019

Australasian Plant Pathology Society Conference, Melbourne, Australië

Info: www.apps2019.org

16-20 januari 2020

IPS 7th International Conference on 'Phytopathology in Achieving UN Sustainable Development Goals', New Delhi, India

Info: www.ipsdis.org

7-12 juni 2020

14th International Conference Congress on Plant Pathogenic Bacteria 'Plant Pathogenic Bacteria on Plant Health world-wide', Assisi, Italy

Info: www.icppb2020.com

5-8 oktober 2020

International Plant Health Conference 'Protecting Plant Health in a changing world', Helsinki, Finland.

Info: www.ippc.int/en/iyph/chronology/international-conference-on-plant-health/

[VOORWOORD	171
[ARTIKEL	
Veertig jaar onderzoek aan de bladvlekkenziekte van tomaat	173
Wit, P.J.G.M. de	
De zoete vruchten van het onderzoek aan Fusarium verwelkingsziekte in Amsterdam	183
Rep, M. & Takken, F.L.W.	
[DE JONGE GEWASBESCHERMER	
Promoveren op nematodenspeeksel	187
Verhoeven, A.	
[ARTIKEL	
De fascinerende diversiteit van microbiële NLP effectoren	188
Ackerveken, G. van den	
Zonder strijd geen overwinning	191
Een geïntegreerde aanpak om <i>Phytophthora</i> uit te schakelen	
Govers, E.	
[VERENIGINGSNIEUWS	
KNPV-prijs	199
KNPV-Najaarsbijeenkomst	199
Biologische bestrijding in open teelten	
[NIEUWS	200
[AGENDA	223