

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

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

## Inleiding

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

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

## Verschillen tussen aaltjessoorten

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

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

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



Aardappel met het maïswortelknobbelaaltje *Meloidogyne chitwoodi*.

ARTIKEL

**Tabel 1:** Verschillende aaltjessoorten en hun aggregatie-coëfficiënten

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

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

## Distributiepatronen

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

De kleinschalige verdeling  
De verdeling binnen een klein gebied – meestal een tot maximaal vier m<sup>2</sup> - wordt primair veroorzaakt door de plantafstand en de beworteling van waardplanten. Bij de meeste gewassen is niet de hele bouwvoor doorworteld. De doorworteling hangt af van de afstand in een rij, afstand tussen de rijen en grootte van het wortelsysteem. Bovendien volgt een plantenwortel de weg van de minste weerstand door de grond. De clustering die hierdoor ontstaat kan weer enigszins teniet worden gedaan door de eigen beweging van aaltjes. Uit tot nu toe bekende gegevens blijkt dat de meeste aaltjes, ook *Meloidogyne* spp, geclusterd in de grond voorkomen. Bijna altijd is deze verdeling goed te benaderen met een negatief binomiale

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

De kleinschalige verdeling wordt gebruikt voor twee doelen. Ten eerste voor de ontwikkeling van bemonsteringsmethoden voor wetenschappelijk gebruik. Bijvoorbeeld de schatting van de populatiedichtheden in plots van veldproeven. Ten tweede fungeert de kleinschalige verdeling als integraal onderdeel van grotere ruimtelijke verdelingen. Daardoor kunnen kansberekeningen worden uitgevoerd en risico-vragen worden beantwoord. Bijvoorbeeld de vraag: met welke kans kunnen nematoden worden aangetoond in een monster van x gram grond verzameld uit een raster van a x b m<sup>2</sup>?

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

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

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

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

## Laboratoriumprocedures

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

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

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

## De verdeling op middelgrote schaal

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

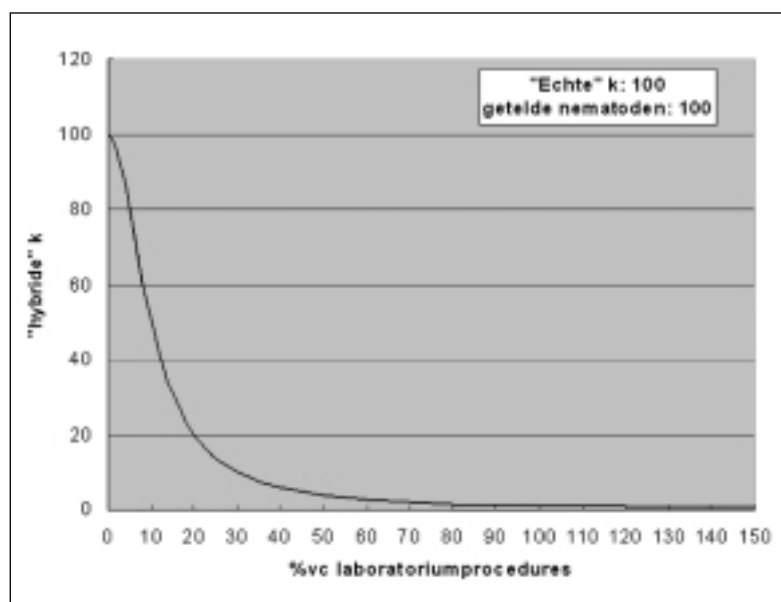
name van aaltjesdichtheden met de afstand. Ook verschillen in verticale verdeling van verschillende aaltjessoorten kunnen voor verdere complicaties zorgen.

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

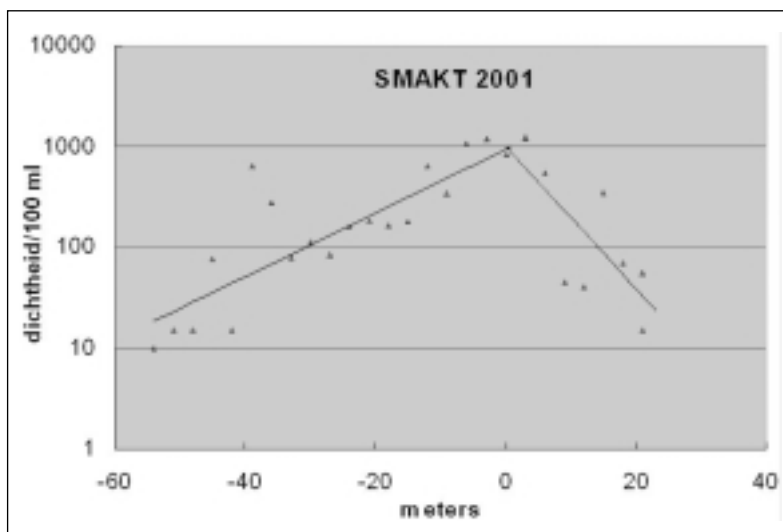
Bij aardappelcysteaaltjes komen beginnende besmettingen vaak voor in de vorm van besmettingshaarden. Onderzoek heeft aangetoond dat deze een goed te voorspellen vorm bezitten. Deze vorm is afhankelijk van de bewerkingrichting en bepaalt samen met het bemonsteringsraster en monstergrootte de kans op detectie.

Onderzoek tot nu toe geeft aan dat beginnende besmettingen van *Me-*

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



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



Figuur 2. Gradiënten afkomstig van proefveld Smakt 2001.

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

geen rekening houden met lokale verschillen in grondsoort binnen een perceel waardoor *Meloidogyne* zich beter of slechter zou kunnen vermeerderen en verspreiden, dan is een haard met een centrale dichtheid van 500 aaltjes/100 ml 150 meter lang en 28 meter breed met een totale oppervlakte van 4200 m<sup>2</sup>. Een haard met een centrale dichtheid van 1000 aaltjes/100 ml een oppervlakte van 300 (l) x 60 (b) = 36000 m<sup>2</sup>.

## Nabeschuwing

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

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