

De werkgroep Meloidogyne

Hier volgen de samenvattingen van de bijeenkomst van 20 maart jongstleden van de KNPV-werkgroep Meloidogyne.

Kwantitatieve multiplex-detectie van aaltjes

Carolien Zijlstra en Richard van Hoof

Plant Research International (PRI),
Postbus 16, 6700 AA Wageningen,
Carolien.Zijlstra@wur.nl

Er bestaat behoefte aan een methode voor kwantitatieve, simultane, eenduidige detectie van meerdere aaltjessoorten in nematodensuspensies. Momenteel gebeurt dit via herkenning op grond van morfologische kenmerken, wat veel expertise vereist aangezien deze soms lastig te interpreteren zijn. Vaak moeten meerdere ontwikkelingsstadia bekeken worden om een oordeel te kunnen vellen, wat de procedure langdurig maakt. PCR-technieken bieden veel voordelen: ze geven een eenduidig resultaat onafhankelijk van ontwikkelingsstadium, ze kunnen door vrijwel iedereen worden toegepast en een fractie van een aaltje is voldoende om een analyse op uit te voeren.

Voor kwantitatieve detectie is real-time PCR nodig, waarbij de mate van amplificatie tijdens de reactie gemeten wordt middels fluorescentie in een fluorescentiemeter. Een vorm van real-time PCR is TaqMan-PCR. TaqMan-PCR is vaak specifiek dan gewone PCR omdat naast specifieke primers ook een specifieke probe gebruikt wordt. Er zijn bij PRI TaqMan-PCRs ontwikkeld voor onder andere *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax*, *M. hapla*,

M. minor, *Globodera pallida* en *G. rostochiensis*. Er is ook een multiplex TaqMan-PCR ontwikkeld voor simultane detectie van *M. chitwoodi* en *M. fallax*. Onderzoek heeft echter uitgewezen dat accurate kwantificering van meerdere soorten, voor iedere te detecteren soort een onafhankelijke TaqMan-PCR vereist, met voor iedere soort een specifieke set van primers (Zijlstra & van Hoof, 2006). Om dus vijftig verschillende aaltjessoorten in een nematodensuspensie kwantitatief aan te tonen dienen vijftig afzonderlijke TaqMan-PCRs uitgevoerd te worden op DNA dat uit de nematodensuspensie geïsoleerd is. Dit vergt relatief veel pipetteerwerk en vereist PCR-ingrediënten voor minstens 1250 µl reactievolume (25 µl per reactie).

Het Biotrove OpenArray systeem biedt perspectief. Het maakt gebruik van een metaal plaatje ter grootte van een objectglasje, de zogenaamde OpenArray. Hierop zijn op het eerste oog 48 vierkantjes zichtbaar, *subarrays* genoemd. Iedere *subarray* bevat 64 gaatjes met ieder een volume van slechts 33 nl. In deze gaatjes kunnen real-time PCR-reacties worden uitgevoerd door de OpenArray in een speciale PCR-machine te plaatsen. In ieder gaatje van een *subarray* kunnen door Biotrove gewenste primers en probes geplaatst worden. Door vervolgens per *subarray* in één stap het te analyseren monster-DNA en PCR-ingrediënten te pipetteren, kunnen in één keer 64 onafhankelijke real-time PCR-reacties worden uitgevoerd op het te analyseren monster-DNA. Aangezien een OpenAr-

ray 48 *subarrays* bevat en er gelijktijdig 3 OpenArrays in de PCR machine geanalyseerd kunnen worden betekent dit dat in één experiment van 3x48 monsters gelijktijdig de aanwezigheid en hoeveelheid van 64 DNA-sequenties kan worden vastgesteld met een minimale inspanning aan pipetteerwerk en een minimale behoefte aan PCR-ingrediënten van slechts 2 µl per monster (30 nl per reactie).

Dit multiplex kwantitatieve detectiesysteem wordt door PRI succesvol toegepast gebruikmakend van SYBR-green-PCR en PCR in combinatie met *padlock probes*. Voor onze vraagstelling om meerdere aaltjessoorten kwantitatief te detecteren in aaltjessuspensies wordt onderzocht wat de mogelijkheden zijn in combinatie met TaqMan-PCR. Het *proof of principle* wordt uitgewerkt met de bestaande TaqMan-PCRs voor *M. hapla*, *M. minor*, *G. pallida* en *G. rostochiensis*. Deze zijn onder Biotrove-condities getest in een normale TaqMan-PCR machine. Resultaten wezen uit dat hoeveelheden DNA van 100 fg en meer betrouwbaar konden worden aangetoond en gekwantificeerd in aanwezigheid van achtergrond-DNA van nematodensuspensies. Vervolgexperimenten moeten uitwijzen hoe de TaqMan-PCRs presteren wanneer ze in het Biotrove-systeem worden uitgevoerd.

Literatuur

Zijlstra, C. & Hoof, R.A. van, 2006. A multiplex real-time polymerase chain reaction (TaqMan) assay for the simultaneous detection of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. *Phytopathology* 96, 1255-1262.



Meloidogyne chitwoodi en M. fallax: vergelijking visuele beoordeling en Taqman-PCR aan pootaardappelen

Eisse de Haan en Gé van den Bovenkamp
Nederlandse Algemene Keuringsdienst voor Landbouwgewassen NAK, Postbus 1115, 8300 BC Emmeloord; e-mail: ehaan@nak.nl

Partijen pootaardappelen uit gebieden die door de Plantenziektenkundige Dienst zijn aangewezen als besmet met de wortelknobbelaaltjes *Meloidogyne chitwoodi* Golden, O'Bannon, Santo & Finley, 1980 en/of *M. fallax* Karssen, 1996, worden onderworpen aan een verscherpt inspectieregime. Monsters van tweehonderd knollen per partij worden, na het bereiken van een voldoende aantal graaddagen, visueel door de NAK beoordeeld (inclusief aansnijden) op het vóórkomen van wortelknobbelsymptomen. Indien deze aanwezig zijn wordt het monster naar de PD gestuurd voor verificatie. Besmet bevonden partijen kunnen niet meer worden afgezet als pootgoed.

Hoewel het hier een officiële methodiek betreft, staat het gebruik van de visuele beoordeling ter discussie. Door de NAK werd een real-time multiplex Taqman-PCR (Zijlstra & Hoof, 2006) gevalideerd en geoptimaliseerd voor de detectie van beide quarantaine-organismen rechtstreeks aan de knol. Kruisreacties met andere nematoden konden niet worden aangetoond. De gevoeligheid van de test is een eiprop (vrouwetje) in honderd gram schilgewicht.

Winter 2006/2007 werd een representatieve steekproef van pootaardappelmonsters van

de lichtere gronden (n=246) onderzocht met beide methodieken. De monstergrootte bedroeg tweehonderd knollen. Na de visuele beoordeling (2150 graaddagen bereikt) werden per submonster honderd individuele knollen geschild. Submonsters (n=483) van honderd samengevoegde schillen werden onderzocht met de Taqman-PCR op aanwezigheid van beide pathogenen. Uit het onderzoek bleek dat de NAK Taqman-PCR zeer geschikt is voor het aantonen van deze organismen rechtstreeks aan de knol. Met het gebruik van de PCR-test neemt de kans op detectie toe.

Literatuur

Zijlstra, C. & Hoof, R.A. van, 2006. A multiplex real-time PCR (TaqMan) assay for the simultaneous detection of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. *Phytopathology* 96, 1255-1262.

Detectie van Meloidogyne spp. in grondmonsters – een vergelijking van twee technieken

Peter Veenhuizen¹, Niels Schoenmakers¹, Johan Vos¹, Frans Versteegen¹, Renske Landeweert¹, Gerrit Karssen², Hans Helder³

¹Blgg Oosterbeek, Postbus 115, 6860 AC, Oosterbeek;

²Plantenziektkundige dienst, Postbus 9102, 6700 HC, Wageningen;

³Laboratorium voor Nematologie, Wageningen Universiteit, Postbus 8123, 6700 ES, Wageningen.

Routinematige detectie van *Meloidogyne* spp. in grondmonsters afkomstig uit de Nederlandse akkerbouw gebeurt tot op heden uitsluitend op basis van morfologie. Een geïntegreerde methode voor de detectie van *Meloidogyne* spp. (een combinatie van morfologie, isozymen,

DNA en waardplanten) wordt sinds enige jaren bij de Plantenziektenkundige Dienst toegepast, maar is te kostbaar voor routinematig gebruik door bijvoorbeeld servicelaboratoria. *Meloidogyne chitwoodi* en *M. fallax* behoren tot de meest gevreesde wortelknobbelaaltjes van de gematigde gebieden. Ze zijn nauw aan elkaar verwant en vertonen morfologisch grote overeenkomsten. Morfologische identificatie is daarom lastig, met name wanneer zij niet door een *Meloidogyne*-expert wordt uitgevoerd. Op DNA-niveau zijn beide soorten echter goed van elkaar te onderscheiden. Dat geldt ook voor *M. minor*, *M. hapla* en *M. naasi*.

In samenwerking met het Laboratorium voor Nematologie (WU) heeft Blgg daarom een aantal moleculaire toetsen ontwikkeld, waarmee in grondmonsters het voorkomen van *M. chitwoodi*, *M. fallax*, *M. minor*, *M. hapla* en *M. naasi* kwantitatief kan worden aangetoond. Bij de ontwikkeling van deze toetsen is gebruik gemaakt van een DNA-sequentiedatabase die werd samengesteld door het Laboratorium voor Nematologie (Holterman *et al.*, 2006). Deze database bevat rDNA-sequenties (SSU en LSU) van ruim twaalfhonderd geïdentificeerde nematoden. Voor het ontwikkelen van soortspecifieke primers zijn verschillende populaties *Meloidogyne* spp. bemonsterd en werd het SSU en LSU rDNA van verschillende individuen uit elke populatie van iedere soort gesequenced. Er werden reguliere PCR-testen en kwantitatieve SYBRGreen Q-PCR-testen ontwikkeld.

In 2005 en 2006 zijn bij Blgg 717 grondmonsters tweemaal geanalyseerd op het voorkomen van de vijf *Meloidogyne*-soorten. In eerste instantie is de detectie



van de *Meloidogyne*'s uitgevoerd op basis van morfologie, met de microscoop. In tweede instantie is de detectie - in dezelfde monsters - uitgevoerd op basis van DNA, met de nieuw-ontwikkelde moleculaire toetsen. De nematodensuspensies (honderd milliliter) die werden verkregen uit de vijfhonderd milliliter grondmonsters na Oostenbrink-extractie werden in 2005 deels microscopisch geanalyseerd (twee keer tien milliliter) en in 2006 volledig microscopisch geanalyseerd (een keer honderd milliliter). De volledige nematodensuspensies (honderd milliliter, 2005 en 2006) werden geanalyseerd met de moleculaire techniek. Er werden daartoe geen nematoden uit de suspensies gevestigd. In plaats daarvan werd DNA geëxtraheerd uit de gehele suspensies en werd dit DNA - na zuivering - gebruikt voor de soortspecifieke DNA toetsen.

De vergelijking van de microscopische analyses met de moleculaire analyses laat zien dat met de moleculaire techniek vaker *Meloidogyne*-soorten in monsters worden aangetoond, met name bij lage aantallen *M. chitwoodi*. *M. chitwoodi* en/of *M. fallax* werden in 47 monsters gevonden met de microscoop, naast 65 monsters met *M. chitwoodi* en drie monsters met *M. fallax* met de moleculaire techniek. Terwijl *M. minor* microscopisch niet werd gevonden, werd *M. minor* in drie monsters aangetoond met de moleculaire techniek. *M. naasi* en *M. hapla* werden respectievelijk in 230 en twintig monsters gevonden met de microscoop, naast respectievelijk 325 en 35 monsters met de moleculaire techniek.

Dit vergelijkend experiment met nematodensuspensies verkregen uit 717 grondmonsters laat zien dat met name de morfologische determinatie van

M. chitwoodi en *M. fallax* lastig is. De detectie van *Meloidogyne* spp. met de door Blgg ontwikkelde primers blijkt dan ook specifieker en gevoeliger dan de detectie op basis van morfologie. Behalve dat de uitkomsten van moleculaire detectie niet morfologie-, ontwikkelingsstadium- en/of geslachtsafhankelijk zijn, maken moleculaire testen het ook mogelijk om in één analyse grote nematodensuspensies (> 40.000 individuele nematoden) te onderzoeken. Het onderzoeken van deelmonsters zoals microscopisch vaak noodzakelijk is, behoort daarmee tot het verleden.

In de (nabije) toekomst verwacht Blgg een groot deel van haar nematodenonderzoek moleculair uit te voeren. De routinematige inzet van moleculaire technieken zorgt er waarschijnlijk voor dat er vaker plantparasitaire nematoden zullen worden aangetroffen in grondmonsters. De implementatie van moleculaire detectiemethodieken is daarom onlosmakelijk verbonden aan de hernieuwde discussie rond beleid en regelgeving, in het bijzonder rond de detectie van quarantaineorganismen.

Literatuur

Holterman, M., Wurff, A., van der, Elsen, S., van den, Megen, H. van, Holovachov, O., Bakker, J. & Helder, J., 2006. Phylum-wide analysis of SSU rDNA reveals deep phylogenetic relationships among nematodes and accelerated evolution towards crown clades. *Molecular Biology and Evolution* 23, 1792-1800.

Het Instituut voor Landbouw- en Visserijonderzoek in Vlaanderen

Nicole Viaene
ILVO, Burg. Van Gansberghelaan 96,
9820 Merelbeke, België; e-mail: nicole.viaene@ilvo.vlaanderen.be

Inleiding

Sinds begin vorig jaar heeft het oude CLO (Centrum Landbouwkundig Onderzoek) van Merelbeke, België, een nieuwe naam en structuur gekregen. Dit alles ten gevolge van de regionalisatie van de landbouw, die vroeger een federale materie was. Nu heten we Instituut voor Landbouw- en Visserijonderzoek (ILVO) en werden de zeven departementen heringedeeld in vier eenheden (Plant, Dier, Technologie & Voeding en Landbouw & Maatschappij). Er zijn enkele verschuivingen van personeelsleden opgetreden, de administratie is veranderd, maar het onderzoek blijft doorgaan, zij het misschien met een iets andere focus. Hierna worden de voornaamste feiten opgenoemd, met bijzondere aandacht voor het onderzoeksdomein Gewasbescherming.

Missie

Het ILVO behoort als Wetenschappelijke Instelling tot het beleidsdomein Landbouw en Visserij van de Vlaamse Overheid. Het heeft als missie het uitvoeren en coördineren van beleidsonderbouwend wetenschappelijk onderzoek en de daaraan verbonden dienstverlening met het oog op een duurzame landbouw en visserij in economisch, ecologisch, sociaal en maatschappelijk perspectief. Het ILVO informeert regelmatig het beleid, de sectoren en de maatschappij over het uitgevoerde onderzoek en aanverwante thema's.

Personeel en infrastructuur

Binnen het ILVO zijn circa vijfhonderd personeelsleden tewerkgesteld. Meer dan één-derde van de personeelsleden zijn onderzoekers. Het ILVO beschikt over circa tweehonderd hectare proefvelden, 15.000 m²

kasruimte en meer dan 20.000 m² proefstallen. Er zijn diverse analyse- en detectielaboratoria, een diagnosecentrum en geaccrediteerde labs voor planten, veevoerders, spuittechniek, voeding en GGO's. Het ILVO beschikt ook over testbanken, een proefmelkinstallatie, een zaadontvangst- en verwerkingseenheid en een proefzuivelfabriek.

Structuur onderzoek

Aan het hoofd van het ILVO staat de administrateur-generaal (prof. dr. ir. Erik Van Bockstaele). Deze wordt ondersteund door een algemeen directeur, een onderzoeks- en een communicatiedirecteur. Een raadgevend comité en overlegorgaan waken over de prioriteiten en de beleidsrelevantie van de onderzoeksthema's (Fig. 1). De onderzoeksactiviteiten worden gestuurd via vier

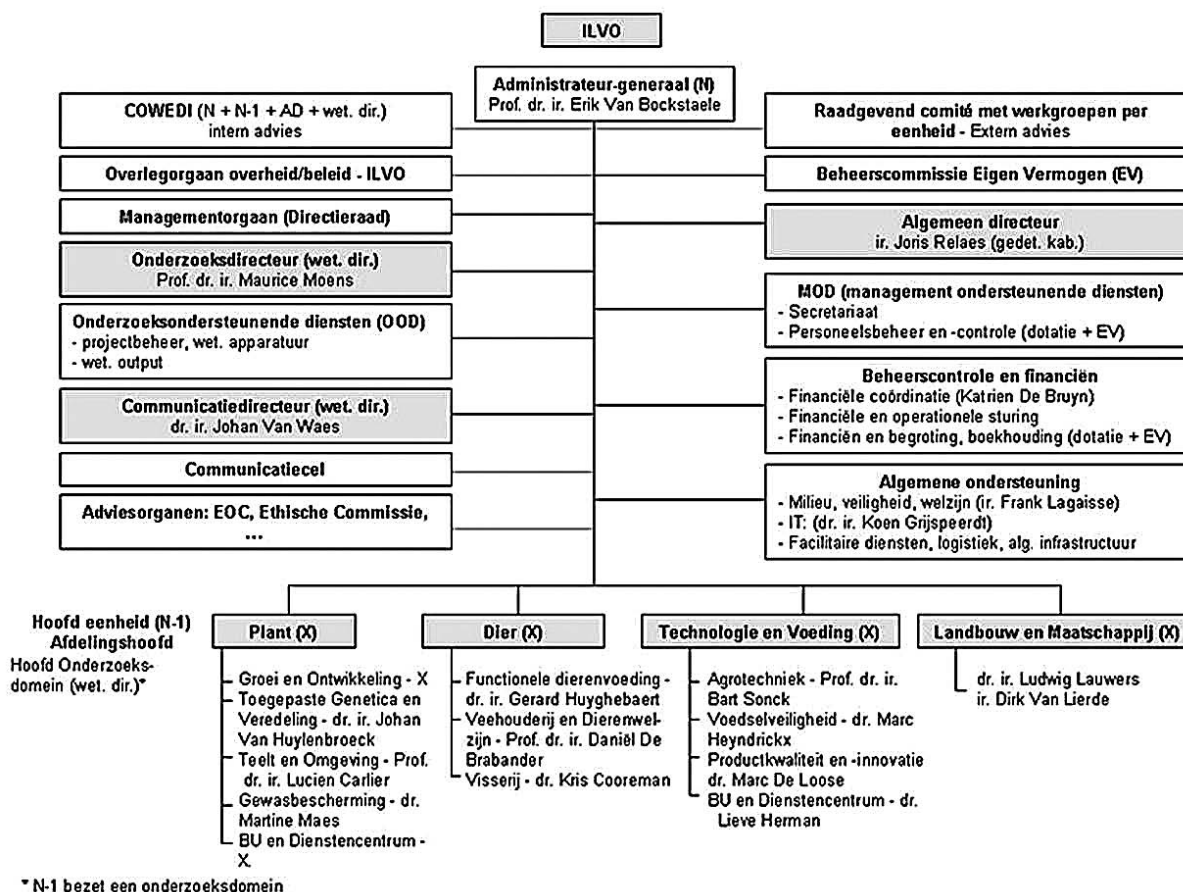
eenheden: Plant, Dier, Technologie & Voeding, Landbouw & Maatschappij. Aan het hoofd van elke afdeling komt een afdelingshoofd te staan. Elke eenheid is onderverdeeld in diverse onderzoeksdomeinen. De ILVO-onderzoekers onderhouden nauwe contacten met de basis, o.a. via het geven van voordrachten. Actieve aanwezigheid bij de activiteiten van Landbouwcentra en Proeftuinen resulteert in onderzoeksprogramma's die direct voldoen aan de noden van de praktijk en aansluiten bij grote maatschappelijke thema's van deze tijd, zoals duurzaamheid en voedselveiligheid.

In verschillende domeinen is het ILVO een belangrijk kenniscentrum voor Vlaanderen: plantenveredeling, plantengenetica, teelttechniek, ecofysiologie, gewasbescherming,

dierenvoeding, dierenwelzijn, landbouwmechanisatie, zeevisserij, zuiveltechnologie, GGO-detectie, OHB- en CGW-rassenonderzoek, diagnosecentrum voor Planten, microbiologische en chemische voedselveiligheid, microbiële compostering. Deze kenniscentra zijn een belangrijke bron van informatie voor de Vlaamse overheid bij de uitwerking en implementatie van (EU-) regelgevingen. Het kunnen onderbouwen van deze regelgevingen met onderzoeksresultaten, verkregen in Vlaamse omstandigheden, is een belangrijke troef. De opgebouwde kennis komt via zogenaamde TAD's (Technologische Adviseerdiensten) rechtstreeks ten goede van de praktijk.

Plant – Gewasbescherming

De kenniseenheid Plant omvat



Figuur 1. Organigram van het ILVO.

de onderzoeksdomeinen Toegepast Genetica & Veredeling, Groei & Ontwikkeling, Teelt & Omgeving, Gewasbescherming en een business unit-dienstencentrum. De eenheid Plant werd gecreëerd om de samenwerking tussen de onderzoeksdomeinen te bevorderen en zal geleid worden door een toekomstig afdelingshoofd. De afdelingshoofden van alle kennis-eenheden zullen samenwerken met de directie, waar naast de administrateur-generaal (prof. dr. ir. Van Bockstaele), ook de onderzoeksdirecteur (prof. dr. ir. Maurice Moens) mee het onderzoek bepaalt en leidt. De onderzoeksdirecteur was vroeger het departementshoofd Gewasbescherming en onderzoeksleider nematologie. Een troef dus voor de het onderzoeksdomein Gewasbescherming! Het huidige hoofd van Gewasbescherming is dr. Martine Maes die een achtergrond heeft in bacteriologie en mycologie. De verschillende disciplines in gewasbescherming met hun huidige onderzoeksleiders zijn: nematologie (Nicole Viaene), bacteriologie (Johan Van Vaerenbergh), mycologie (Kurt Heungens) en entomologie-acarologie (Hans Casteels). Hiermee is Gewasbescherming bijna compleet; er wordt dit jaar nog een begin gemaakt met een splinternieuwe sectie virologie.

In Gewasbescherming worden twee opdrachten uitgevoerd: een onderzoeksopdracht en een dienstverlenende opdracht via het Diagnosecentrum voor Planten. Deze twee taken zijn nauw met elkaar verbonden en

vullen elkaar aan. Het onderzoek concentreert zich op (i) een betere identificatie van plantpathogenen, (ii) een betere kennis van de relatie tussen het pathogeen en zijn waardplant, en (iii) de ontwikkeling van alternatieven voor de chemische beheersing van pathogenen in diverse teeltsystemen. Het Diagnosecentrum voor Planten heeft als belangrijke activiteiten het opsporen van quarantaine- en gereguleerde ziekten en plagen en de diagnose van teeltproblemen te wijten aan de aanwezigheid van schadelijke organismen of andere storende omgevingsfactoren. Het Diagnosecentrum staat ten dienste van de overheid, telers, praktijkorganisaties en privépersonen. Er wordt gewerkt volgens een kwaliteitssysteem: het Diagnosecentrum betracht een accreditatie volgens de ISO-norm 17025 te behalen. Meer informatie over ILVO, o.a. beschrijving van de onderzoeksthema's, kunt u vinden op de website <http://www.ilvo.vlaanderen.be>

Populatie-dynamiek van het maïswortelknobbelaaltje *Meloidogyne chitwoodi* in rotaties in de vollegrondsgroenteteelt

Wim M.L. Wesemael
 Instituut voor Landbouw- en Visserijonderzoek (ILVO), Plant-Gewasbescherming, Burg. Van Gansberghelaan 96, B-9820 Merelbeke, België

Het wortelknobbelaaltje *Meloidogyne chitwoodi* mani-

festeert zich de laatste tien jaar sterk in grove groenteteelten in de Belgische provincies Limburg en Antwerpen. *Meloidogyne chitwoodi* kan zich vermeerderen op een groot aantal planten waaronder vele land- en tuinbouwteelten (Santo *et al.*, 1980; O'Bannon *et al.*, 1982; Ferris *et al.*, 1993; Brinkman *et al.*, 1996). Bij vele wordt schade veroorzaakt. De meest spectaculaire schade treedt op bij wortelen, schorseneren en aardappelen die volledig waardeloos worden. Sinds 1998 kreeg *M. chitwoodi* de status van quarantaine-organisme en werd het probleem dus nog ernstiger. Om de vollegrondsgroenteteelt niet ernstig te compromitteren is het belangrijk om een besmetting met *M. chitwoodi* tijdig op te sporen.

Aaltjes zijn mobiel en kunnen migreren onder invloed van de waardplant (diepe wortelstelsels), de watertafel en de temperatuur. Vanuit dieper liggende bodemlagen kunnen ze volg-gewassen infecteren (Mojtahedi *et al.*, 1991; Pinkerton *et al.*, 1987). Via regelmatige bodembemonsteringen, uitgevoerd in besmette percelen, werd kennis verworven over de opbouw of afname van de bodempopulatie onder verschillende gewassen en de invloed van zwarte braak. Sinds het voorjaar van 2004 werd de populatie-dynamiek van *M. chitwoodi* gevolgd in twee besmette percelen door het uitvoeren van maandelijks diepte-bemonsteringen. De gewasrotatie op beide percelen en de bodemkarakteristieken worden weergegeven in tabel 1. Er werd bemonsterd tot op een diepte

Tabel 1: Rotatie gedurende de periode 2004-2006 en bodemkarakteristieken van de bemonsterde percelen.

| Locatie | Rotatie (2004-2006) | Bodemtype | pH | OM (%) |
|-----------|--|-----------|-----|--------|
| Perceel 1 | Zomergerst, Zwarte braak, Wortel, Zwarte braak | Zand | 5,2 | 2,3 |
| Perceel 2 | Voederbiet, Zwarte braak, Boon, Afrikaantjes, Zwarte braak | Zand | 5,2 | 4,0 |

van zeventig centimeter. Per bodemlaag van tien centimeter werden aaltjes geëxtraheerd met de geautomatiseerde zonale centrifugetechniek en geteld onder het binoculair. Op deze wijze kon gedurende het volledige teeltjaar en tijdens de winter de aaltjespopulatie (adulten + juvenielen) in kaart worden gebracht.

Na zomergerst en winterbraak op Perceel 1, was de populatie van *M. chitwoodi* zeer klein en situeerde deze zich voornamelijk in de bovenste twintig centimeter. Onder invloed van wortel nam de populatie sterk toe. De hoogste aantallen werden teruggevonden onmiddellijk na de oogst in de bodemlaag van twintig tot dertig centimeter diepte. In het voorjaar van 2006 werd, na de afname van de populatie tijdens de winter, een voorjaarspiek waargenomen in de populatie. Dit is waarschijnlijk te wijten aan het uitkomen van juvenielen uit eitjes die zijn achtergebleven in de bodem gedurende de winter. De grootste toename was er in de bodemlaag van twintig tot veertig centimeter diepte. Op Perceel 2 werd tijdens de teelt van voederbieten een grote toename van de populatie waargenomen in de diepere bodemlagen. Na de teelt van bieten gaf een klassieke bodembemonstering in de bouwvoor een ernstige onderschatting van de aanwezige aaltjespopulatie. De populatie van *M. chitwoodi* daalde sterk onder boon, cv. Polder en deze daling zette zich verder onder afrikaantjes, *Tagetes patula* cv. Single Gold. Meer dan anderhalf jaar na de teelt van voederbieten was het aantal *M. chitwoodi* nog steeds het hoogst in de bodemlaag van twintig tot veertig centimeter diepte. Om 50% van de aanwezige bodempopulatie te vinden was een bemonstering tot op 34 cm diepte noodzakelijk.

De relatieve procentuele verdeling van de populatie voor de verschillende bodemlagen werd berekend en onderworpen aan een ANOVA-analyse. Hieruit bleek dat het tijdstip van bemonstering niet significant was voor de verticale distributie. Toename en afname van de populatie gebeurde in gelijke mate in de verschillende bodemlagen. De cumulatieve procentuele verdeling op elk perceel kon worden gefit aan een logistische curve. We kunnen echter niet besluiten dat geen migratie plaatsvond. Daarvoor moet ook de aanwezigheid van eitjes en het uitkomen van juvenielen uit eitjes worden nagegaan. Opvallend is wel dat de rotatie van goede en minder goede waardplanten geen invloed had op de verticale distributie. In rotaties met gewassen die matige of geen waardplanten zijn voor *M. chitwoodi* en bij zwarte braak in de winter, is het mogelijk dat de veldperiode te kort is om de verticale distributie van een reeds langer aanwezige aaltjespopulatie te wijzigen.

Gebaseerd op de resultaten van dit onderzoek raden we telers aan om onmiddellijk na de oogst bodemmonsters te nemen, zeker na gewassen met een lange veldperiode. Naarmate er meer tijd verstrijkt na de oogst neemt het aantal juvenielen in de bodem af en verkleint de detectiekans. Door incubatie kan de detectiekans worden verhoogd maar dit is tijdrovend en verhoogt de kosten. Daarom raden we aan om dan de bemonsteringsdiepte te vergroten. Er is echter meer onderzoek nodig om de invloed van verschillende teeltrotaties, gedurende langere tijd en op percelen met verschillende bodemkarakteristieken, op de verticale distributie van *M. chitwoodi* te onderzoeken.

Literatuur

- Brinkman, H., Goossens, J.J.M. & van Riel, H.R., 1996. Comparative host suitability of selected crop plants to *Meloidogyne chitwoodi* Golden *et al.* 1980 and *M. fallax* Karssen 1996. *Anzeiger für Schadlingskunde, Pflanzenschutz und Umweltschutz* 69, 127-129.
- Ferris, H., Carlson, H.L., Viglierchio, D.R., Westerdahl, B.B., Wu, F.W., Anderson, C.E., Juurma, A. & Kirby, D.W., 1993. Host status of selected crops to *Meloidogyne chitwoodi*. *Journal of Nematology* 25, 849-857.
- O'Bannon, J.H., Santo, G.S. & Nyczepir, A.P., 1982. Host range of the Colombia root-knot nematode. *Plant Disease* 66, 1045-1048.
- Santo, G.S., O'Bannon, J.H., Finley, A.M. & Golden, A.M., 1980. Occurrence and host range of a new root-knot nematode (*Meloidogyne chitwoodi*) in the Pacific Northwest. *Plant Disease* 64, 951-952.
- Mojtahedi, H., Ingham, R.E., Santo, G.S., Pinkerton, J.N., Reed, G.L. & Wilson, J.H., 1991. Seasonal Migration of *Meloidogyne chitwoodi* and its Role in Potato Production. *Journal of Nematology* 23, 162-169.
- Pinkerton, J.N., Mojtahedi, H., Santo, G.S. & O'Bannon, J.H., 1987. Vertical Migration of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla* under Controlled Temperature. *Journal of Nematology* 19, 152-147.

Waardplantstatus en gevoeligheid vaste planten voor *M. chitwoodi*

Ivonne Elberse¹, Pieter van Daltsen¹, Johnny Visser², Gerard Korthals² en Harry Verstegen³

Praktijkonderzoek Plant en Omgeving

¹ PPO-Bollen, Bomen en Fruit, Postbus 85, 2160 AB, Lisse; e-mail: ivonne.elberse@wur.nl

² PPO-AGV, Postbus 430, 8200 AK, Lelystad

³ PPO-AGV, Vredeweg 1c, 5816 AJ, Vredepeel

Er worden vele verschillende soorten vaste planten geteeld in Nederland. Een groot gedeelte hiervan is bestemd voor de export. Aaltjes die de grootste problemen veroorzaken in vaste planten zijn het noordelijk wortelknobbelaaltje (*Meloidogyne hapla*) en het wortellesieaaltje (*Pratylenchus penetrans*). Ze vormen met name een probleem voor de export.

Er is echter nog weinig bekend over waardplantgeschiktheid en gevoeligheid voor andere plantparasitaire aaltjes in vaste planten, zoals bijvoorbeeld de quarantaine-organismen *Meloidogyne chitwoodi* (maïswortelknobbelaaltje) en *M. fallax* (bedrieglijk maïswortelknobbelaaltje). Hoewel er tot nu toe in de vaste plantenteelt nog weinig problemen zijn gemeld met deze aaltjes, vormen ze wel een potentiële bedreiging voor de handel. Voortkweekingsmateriaal, zoals vaste planten, mag namelijk niet worden verhandeld als bij inspectie symptomen van deze nematoden worden aangetroffen. Hiervoor geldt een nultolerantie. Het risico op problemen met *M. chitwoodi* is het grootst, omdat er in Nederland veel meer percelen besmet zijn met *M. chitwoodi* dan met *M. fallax*. Daarom is in 2006 een veldproef uitgevoerd om waardplantgeschiktheid en mate van symptoomvorming van diverse vaste planten voor *M. chitwoodi* te bepalen. Dit onderzoek maakt deel uit van het LNV project: "Gezonde planten in gezonde grond. Geïntegreerde strategieën voor de teelt van zomerbloemen en vaste planten".

Het experiment werd uitgevoerd op een Limburgs akkerbouwperceel, besmet met *M. chitwoodi*. Drie belangrijke gewassen, die ook in zuidoost Nederland worden geteeld, werden getest tegen braak en een vatbare referent (Italiaans raaigras). Binnen elk gewas werden meerdere soorten of cultivars gekozen, die samen een goede vertegenwoordiging van het gewas vormen. Deze waren: *Geranium sanguineum*, *Geranium* 'Orion', *Geranium himalayense*, *Hosta* 'Elegans', *Hosta* 'Aureomarginata', *Hemerocallis* 'Stella de Oro' en *Hemerocallis* 'Frans Hals'.

Bij deze besmetting (variërend van 6 tot 455 *M. chitwoodi* / honderd milliliter grond) werd geen duidelijke gewaschade waargenomen. Met *Hemerocallis* en *Hosta* worden geen problemen verwacht omdat deze geen symptomen vormden en het aaltje niet vermeerderden. Wanneer *Geranium* op een besmet perceel wordt geteeld, kunnen er wel problemen ontstaan. Binnen dit gewas waren er verschillen in vatbaarheid en mate van symptoomvorming. Hoewel *G. sanguineum* en *G. himalayense* geen vermeerdering gaven van *M. chitwoodi*, vormden ze wel veel wortelknobbels, wat dus problemen geeft in de handel. *Geranium* 'Orion' vormt minder knobbels, maar vanwege de nultolerantie voor symptomen, is dit wel een probleem. Bovendien gaf *Geranium* 'Orion' een flinke vermeerdering van *M. chitwoodi* (vergelijkbaar met Italiaans raaigras), wat natuurlijk slecht in het bouwplan past.

In 2007 zal eenzelfde proef worden uitgevoerd, waarbij de zeven te testen gewassen weer worden gekozen in overleg met de sector.

Manipulatie van bodemgezondheid tegen het maïswortelknobbelaaltje *Meloidogyne chitwoodi*

Johnny Visser & Gerard Korthals
Praktijkonderzoek Plant en Omgeving
(PPO-agv), Postbus 430, 8200 AK
Lelystad; e-mail: johnny.visser@wur.nl;
gerard.korthals@wur.nl

De aandacht voor de bodem als basis voor een gezonde, en rendabele, teelt neemt de laatste jaren sterk toe. Bodemgezondheid, plantweerstand en bodemweerbaarheid zijn termen die, ook onder agrariërs, steeds vaker te horen

zijn. Positieve en negatieve bodemorganismen, zoals bijvoorbeeld aaltjes, spelen binnen bodemgezondheid een belangrijke rol. Zo bestaan er grote verschillen in de schadelijkheid van wortelknobbelaaltjes (*Meloidogyne* spp.) in verschillende type bodems. Zowel biotische als abiotische factoren zouden hierbij een rol kunnen spelen. Binnen het LNV-programma 397-I, "weerbaarheid van gewasbescherming- en teeltsystemen" zijn meerdere projecten uitgevoerd binnen het thema bodemgezondheid. Eén van de projecten was gericht op het ontwikkelen van (teelt-) strategieën om bodemgezondheid tegen het maïswortelknobbelaaltje (*Meloidogyne chitwoodi*) te verhogen.

Binnen dit project is op een praktijkperceel in Smakt een meerjarige veldproef gestart. Op dit perceel, met een natuurlijke *M. chitwoodi*-besmetting zijn twee bouwplannen aangelegd. Het ene bouwplan heeft als doel *M. chitwoodi* te beheersen, door gewassen te telen die dit aaltje slecht vermeerderen en weinig schadegevoelig zijn. In het andere bouwplan zijn gewassen geteeld die een goede waard zijn voor *M. chitwoodi*. In dit bouwplan wordt een (zware) besmetting van *M. chitwoodi* getolereerd, waarbij mogelijk antagonisme tegen dit aaltje wordt opgebouwd. Bovenop beide bouwplannen zijn tien behandelingen uitgevoerd waarmee mogelijk de natuurlijke bodemgezondheid (weerbaarheid) van het systeem wordt beïnvloed. De factoren die zijn aangelegd zijn onder andere: toedienen van compost, chitine of lignosulfonaat, een Biologische Grondontsmetting (BGO) en een combinatie van maatregelen.

Naast opbrengst- en kwaliteitsbepalingen aan de gewassen en monitoring van de aaltjespopulatie is, met grondmonsters uit de veldproef, een aantal bio-toetsen uitgevoerd. In het laatste onderzoeksjaar zijn aardappelen, een voor *M. chitwoodi*-gevoelig gewas, geteeld.

Op basis van de voorlopige resultaten kan geconcludeerd worden dat het bouwplan en een aantal maatregelen een positief effect op de bodemgezondheid hebben gehad. In het beheersbouwplan blijft de *M. chitwoodi*-besmetting laag en kon in het laatste jaar zonder kwaliteitsverlies aardappel worden geteeld. In het bouwplan waarbij het aaltje werd getolereerd was de besmetting gemiddeld vrij hoog en de aantasting in het toetsgewas aardappel bij de meeste objecten vrij zwaar. BGO en het combinatie-object hebben de *M. chitwoodi* populatie het sterkst verlaagd, wat resulteerde in een betere kwaliteit van de gewassen. Bij het combinatie-object bleef de *M. chitwoodi* besmetting, ook na de teelt van

een goede waard, laag. Ook champost had in een aantal gevallen een positief effect op de kwaliteit van de gewassen.

Samenvattend kan gesteld worden dat we in staat zijn om bodemgezondheid te veranderen, maar onderliggende mechanismen zijn vaak nog onduidelijk. Een goede doordachte vruchtwisseling die is afgestemd op de aanwezige besmetting is (blijft) de basis voor een effectieve aaltjesbeheersing.

Veredeling van bladrammenas op resistentie tegen *M. chitwoodi* en *M. fallax*

Ir. ing. Edwin Wilken

Joordens Zaden, Postbus 7823, 5995 ZG Kessel, Info@Joordens.com

De wortelknobbelaaltjes *M. chitwoodi* en *M. fallax* vormen een steeds grotere bedreiging voor de land- en tuinbouw. Vooral gewassen als aardappel, peen en schorseneren zijn erg gevoelig voor deze aaltjes waarbij vooral de kwaliteit sterk

afneemt. Gewassen kunnen al schade oplopen als de aaltjespopulatie onder de detectiegrens ligt. Tot voor kort waren de enige opties chemische grondontsmetting en zwarte braak. Joordens Zaden, van oudsher groot in groenbemesters met resistentie tegen *Heterodera schachtii*, is begonnen met het ontwikkelen van een *M. chitwoodi*- en *M. fallax*-resistente bladrammenas om de Nederlandse land- en tuinbouw een goed alternatief te bieden voor zwarte braak. Uit dit onderzoek zijn de rassen Terranova en Doublet voortgekomen.

De larven van wortelknobbelaaltjes kruipen in het voorjaar bij toenemende bodemtemperaturen spontaan uit de eieren, onafhankelijk van de aanwezigheid van een waardplant. Dit in tegenstelling tot het bietencystenaaltje dat uit de cysten gelokt wordt door de aanwezigheid van een waardplant. Dit verklaart waarom een goed uitgevoerde zwarte braak zo effectief is tegen wortelknobbelaaltjes. De nadelen van zwarte braak, zoals verstuiwen, structuurverlies en het in de praktijk goed onkruidvrij houden van de grond maken dit geen ideale methode. De teelt van een resistente groenbemester voorkomt deze problemen en levert ook nog een positieve bijdrage aan het organische stofgehalte en de structuur van de bodem.

Tijdens het onderzoek naar de ontwikkeling van een groenbemester met resistentie tegen *M. chitwoodi* en *M. fallax*, bleek het gewas bladrammenas een aantal voordelen te bezitten t.o.v. andere groenbemesters. Het is een slechte waard voor veel andere soorten aaltjes (o.a. *Heterodera schachtii*, *H. betae* en *H. trifolii*). Het gewas vermeerdert *Paratrachodoros teres* slecht en het tabaksratelvirus

Tabel 1. Afname van de *M. chitwoodi*-populatie na een zomerteelt. Proefveld aangelegd in Smakt door PPO in 2003 en 2005. Gegeven zijn de beginbesmetting (Pi), de eindbesmetting (Pf) en de vermeerderings- of verminderingfactor (Pf/Pi).

| Meloidogyne chitwoodi-besmetting voor en na een zomerteelt (jaar 2003) | | | |
|--|--|--|---------|
| Object | Pi (24-04-2003) (larven/100 ml grond) | Pf (28-10-2003) (larven/100 ml grond) | Pf/Pi |
| Adios | 25 a | 1 a | 0,25 a |
| Terranova | 82 a | 0 a | 0,02 a |
| Italiaans raaigras | 20 a | 198 b | 10,04 b |
| Zwarte braak | 41 a | 0 a | 0,05 a |
| F-prob. | 0,428 | < 0,001 | < 0,001 |
| Meloidogyne chitwoodi-besmetting voor en na een zomerteelt (jaar 2005) | | | |
| Object | Pi (24-04-2005) (larven/100 ml grond) | Pf (28-10-2005) (larven/100 ml grond) | Pf/Pi |
| Terranova | 1238 a | 6 a | 0,01 a |
| Doublet | 474 a | 2 a | 0,01 a |
| Italiaans raaigras | 311 a | 7020 b | 22,5 b |
| Zwarte braak | 599 a | 5 a | 0,01 a |
| F-prob. | 0,586 | < 0,001 | 0,004 |

helemaal niet. Bladrammenas bezit de mogelijkheid om opnieuw uit te lopen na maaaien (dit is nodig om zaadvorming te voorkomen). In de mate van hergroei zitten echter genetische verschillen, zodat de mate van hergroei is tijdens het veredelingsproces een belangrijk selectie criterium was. Ook een zeer late bloei is voordelig omdat er dan pas later gemaaid hoeft te worden.

Als belangrijkste eigenschap bezit bladrammenas voldoende genetische variatie in resistentie tegen *M. fallax* en *M. chitwoodi* om een veredelingsprogramma op te starten. Het veredelingsprogramma kan in twee delen gesplitst worden: in de winter wordt de resisten-

tie tegen diverse nematoden getoetst en in het voorjaar, de zomer en de herfst de landbouwkundige eigenschappen.

De resistentie tegen diverse nematoden wordt getoetst m.b.v. kas- en laboratoriumproeven. Een voorwaarde voor het gebruik van deze toetsen is dat de genotypen die in deze toets als resistent aangemerkt worden dit onder veldomstandigheden ook zijn. In 1999 is in samenwerking met het PPO een veldproef in Smakt aangelegd. Hieruit kwam naar voren dat genotypen met een goede resistentie *in vitro* ook in het veld een Pf/Pi ver onder de 1 hadden. Daarom is besloten de *in vitro*-methode te gebruiken om nieuwe rassen te creëren.

Dit heeft de rassen Terranova (BCA2 – met een Pf/Pi-waarde voor bietencystenaaltje tussen de 0,1 en 0,3) en Doublet (BCA1 – Pf/Pi < 0,1) opgeleverd. Deze rassen zijn in 2003 (Terranova) en 2005 (Terranova en Doublet) door het PPO in Smakt onder veldomstandigheden getoetst (Tabel 1). Uit deze veldtoetsen kwam naar voren dat beide rassen een Pf/Pi hadden die vergelijkbaar is met zwarte braak.

Conclusie

Het is mogelijk om met de *M. chitwoodi* en *M. fallax* resistente bladrammenasrassen Terranova en Doublet hetzelfde effect te bereiken als met zwarte braak, maar zonder de nadelen van zwarte braak.

Aangeboden aan Gewasbescherming
29 mei 2007

Adolf Mayer (1843-1942) en zijn betekenis voor de virologie als wetenschap

J.M. Vlak

Corrigendum

De inleiding van de bijdrage over Adolf Mayer¹ bevat gedeeltelijk onjuiste informatie over de vroege jaren van zijn carrière en dus is een correctie nodig. Mayer begon zijn universitaire studie in Karlsruhe in de Chemie en verhuisde ergens halverwege naar Heidelberg, waar hij zijn studie afmaakte onder leiding van de chemicus Robert Bunsen (1811-1899),

en de fysici Gustav Kirchhoff (1824-1887) en Hermann von Helmholtz (1821-1894). In 1864 promoveerde hij bij de twee eerstgenoemden en de wiskundige Otto Hesse (1811-1874). Na een kort en weinig succesvol verblijf in Gent bij de organisch-chemicus August Kekulé (1829-1896), vertrok hij in 1866 naar Halle om assistent te worden van de chemicus Wilhelm Heintz van de Universiteit van Halle. Een bezoek aan het land-

bouwkundig instituut aldaar wekte Mayer's interesse voor de landbouwchemie, die hij bleef koesteren voor de rest van zijn leven². Via een assistentschap in Karlsruhe, keerde hij in 1868 als docent terug naar de Universiteit van Heidelberg en werd daar in 1870 buitengewoon hoogleraar.

¹ Vlak, J.M., 2007. Gewasbescherming 38: 81-85

² Mayer, A.E., 1924. Die Naturwissenschaften 44: 905-911