

Wekstof als gewasbeschermingsmiddel tegen aardappelvormingsaaltjes

Hans Mulder

Aardappelvormingsaaltjes (*Globodera rostochiensis* en *G. pallida*) zijn verantwoordelijk voor grote verliezen in de aardappelteelt en er wordt al ruim honderd jaar gezocht naar efficiënte mogelijkheden van bestrijding. Aardappelvormingsaaltjes kunnen in de grond jaren overleven, wachtend tot een aardappelwaardeplant beschikbaar is. Onder invloed van de aardappelplant worden de aaltjes uit hun rust gewekt. Het onderzoek van de afgelopen 100 jaar heeft zich niet alleen toegespitst op de praktische bestrijding van de nematoden, maar ook naar de opheldering van dit proces van wekking. Reeds in de jaren dertig van de vorige eeuw vonden diverse onderzoekers dat bepaalde stoffen die de aardappelwortels uitscheiden, een prominente rol spelen bij deze wekking en het infectieproces. Duidelijk werd dat de wortel-exsudaten van de aardappel en diverse andere Solanaceae een positief effect hadden op de werking, waarbij gemiddeld 80% van de populatie gewekt kon worden. In onder andere Engeland (vanaf de jaren 1930 tot nu), Nederland (jaren 1950-1965, 1985-1995 en momenteel), en Frankrijk (jaren 1980) is er uitgebreid onderzoek gedaan naar het ophelderen van het werkingsmechanisme van de wekstoffen en de opheldering van de structuur van deze wekstoffen.

In 1977 hebben Clarke en Perry een uitgebreide review geschreven over wat er destijds bekend was over de diverse factoren die van invloed waren op de wekking van vormingsaaltjes. Lag de focus van het onderzoek in de beginjaren nog vooral op de biologische bestrijding, met de komst van de zeer goed werkende chemische grondontsmettingsmiddelen, zoals onder andere 1,3-dichloorpropeen (DD) en metam natrium (Monam) verschoof de focus. Langzaam realiseerde men zich echter dat het veelvuldig en op grote schaal gebruiken van deze middelen nadelige invloeden kon hebben op mens en milieu. In de jaren 80 van de vorige eeuw begon men, gezien deze nadelige gevolgen en in het kader van veranderende regelgeving (Nota Gewasbescherming, 1983 gevolgd door het Meerjarenplan Gewasbescherming, 1992), te kijken naar alternatieve mogelijkheden voor de bestrijding van het aardappelvormingsaaltje. Medio jaren 80 heeft Luxan BV een meerjarig project opgestart met het doel de chemische structuur van de wekstoffen te ontrafelen, vervolgens deze stoffen te synthetiseren en toe te passen in de periodes dat er geen aardappelen op het veld staan. Projectleider hierbij was TNO-Zeist, met medewerking van het H.L. Hilbrands Laboratorium voor Bodemziekten

(HLB) en het Nederlands Instituut voor Koolhydraat Onderzoek van TNO (NIKO-TNO). TNO-Zeist was verantwoordelijk voor het zuiveren van de wekstoffen, de karakterisering van de structuurformules, de synthese en de ontwikkeling van de grootschalige, biotechnologische productie hiervan. Het H.L. Hilbrands Laboratorium voor Bodemziekten was verantwoordelijk voor de productie van het wortel-exsudaat (aardappel en tomaat) waaruit de wekstoffen gewonnen zouden worden, de biologische toetsing van de wekking van de fracties en de kas- en veldproeven. NIKO-TNO was o.a. verantwoordelijk voor een deel van de zuivering en toegepast onderzoek. Het project liep uiteindelijk van 1986 tot 1994.

Productie van wekstoffen

In eerste instantie is gekeken naar de productie van wekstoffen door Solanaceae soorten en aardappelrassen. Hierbij werd bevestigd dat sommige Solanaceae geen wekstoffen produceren en er tevens verschil in mate van wekstofproductie was tussen diverse rassen. Opvallend in het geheel was dat er duidelijke verschillen waren tussen de reactie van *G. rostochiensis* en *G. pallida* op de wekstoffen. Teneinde het optimale moment van toepassing van wekstoffen te bepalen is er over een periode van 2 jaar gekeken welk effect de seizoenen hebben op de mate van wekking van de nematoden. Er was een duidelijke trend van periodiciteit te zien. Gelijktijdig met deze bevindingen kwam een Engelse onderzoeksgroep met resultaten die dit onderschreven. Teneinde de wekstofproductie te verhogen is er gekeken naar de productie en het wegvangen van wekstoffen in een commerciële tomatenteelt van ongeveer anderhalve hectare. Hierbij bleek dat er in het recirculatiewater een aanzienlijke hoeveelheid wekstof aanwezig was. Zoals al verwacht waren er meerdere componenten met een meer of mindere mate van wekking. Dit leek een veelbelovende manier van productie, maar het was erg bewerkelijk omdat per tomatenteler een aparte installatie nodig was. Er werd daarom tevens gezocht naar een meer gecontroleerde productiewijze; productie van wekstoffen met behulp van celcultures van Solanaceae (met name aardappel of tomaat). In laboratoriumopstellingen bleek dit een succesvolle methode en er kon, zei het op kleine schaal, wekstof geproduceerd worden. Het voert te ver om hier het hele productie- en zuiveringsproces van de wekstof te beschrijven, deze methode is in detail beschreven in het patent US5585505A:

Method of producing potato cyst nematode hatching stimulus (1994).

Zoals aangegeven was een van doelstellingen het ophelderen van de structuurformule van de wekstof of wekstoffen. Dit heeft de nodige hoofdbreken en vruchtloze pogingen gekost. Uiteindelijk is het het laboratorium van TNO-Zeist gelukt om kristallen van de wekstof te zuiveren die stabiel waren voor Röntgen Diffractie analyse. Het gevonden molecuul werd Solanoeclepin A genoemd, in navolging van de gezuiverde wekstof van soja (Glycinoeclepin A). Er bleken veel overeenkomsten te zijn in de structuren. Solanoeclepin A bleek een groot en zeer complex molecuul te zijn ($C_{27}H_{30}O_9$) met drie-, vijf-, zes- en zevenringen (zie figuur 1.).

Gedurende het gehele project zijn er uitgebreide werkingsproeven in het laboratorium en in het veld uitgevoerd onder diverse omstandigheden, met ruw wortellexsudaat en gezuiverde wekstof, waaruit bleek dat zowel ruw wortellexsudaat als gezuiverde wekstof een goede werking hadden in de laboratorium- en kasexperimenten. De veldexperimenten gaven een iets ander beeld te zien, waarbij, met name op gronden met hoog organisch gehalte een veel hogere dosering noodzakelijk was. Al met al is het raadsel

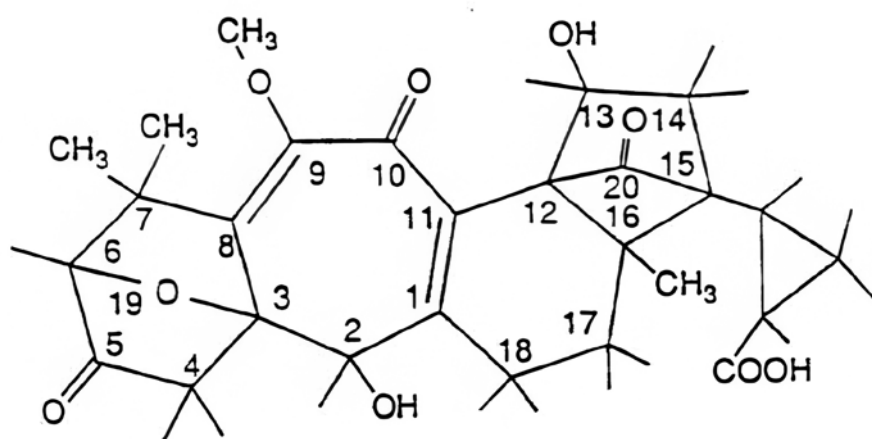
van de belangrijkste wekstof van het aardappel-cysteaaltje opgelost, maar werd destijds vanwege de complexiteit en de benodigde investeringen het project afgesloten. Het was een mooi voorbeeld van multidisciplinaire samenwerking van industrie en onderzoeksinstituten waarbij een volgende stap in de oplossing van het aardappelmoeheidsprobleem was gezet. In de opvolgende jaren is dit onderzoek verder opgepakt en uitgediept, waar in het artikel van André Machado Bertran (pag. 206) en het interview met Roland Berdaguer en Lemeng Dong (pag. 210) verder op in wordt gegaan. Af en toe heeft onderzoek tijd nodig om te rijpen.

Voor meer informatie zie:

A.J. Clarke en R.N. Perry (1977): Hatching of cyst-nematodes. *Nematologica* 23 (1977): 350-368.

J.G. Mulder, P. Diepenhorst, P. Plieger and I.E.M. Brüggemann-Rotgans (1993). *PCT Int Appl.*, WO93/02,083; *Chem Abstracts* 118 (1993) 185844z.

H. Schenk, R.A.J. Driessen, R.A.J. de Gelder, K.Goubitz, H.Nieboer, i.E.M. Brüggemann-Rotgans en P. Diepenhorst (1999). Elucidation of the structure of Solanoeclepin A, a natural hatching factor of potato and tomato cyst nematodes, by single-crystal x-ray diffraction. *Croatia chemica acta*, 72(2-3), 593-606.



Figuur 1: Structuurformule van Solanoeclepin A.



Aardappelcysteaaltje (juvenile stadium 2) naast een leeg ei (foto: Hans Mulder).