

Aardappelwortelexsudaten en het wekken van aardappelcysteaaltjes: stand van zaken en mogelijke toepassingen

André Machado Bertran

HLB

Zoals beschreven in het artikel van Hans Mulder wordt al langere tijd onderzoek gedaan naar wekstoffen en het uit het ei komen van aardappelcysteaaltjes (ACA). Dit artikel bestrijkt de periode vanaf midden jaren negentig tot nu. Sinds het midden van de jaren negentig en de ontdekking van de moleculaire structuur van Solanoeclipin A (SolA) tot de publicatie van een methode om SolA volledig *de novo* (d.w.z. volledig kunstmatig, zonder gebruik van aardappelplanten of aardappellexsudaten) te synthetiseren in de jaren 2010 hebben diverse onderzoekers zich toegelegd op het zoeken naar andere wekstoffen in wortelexsudaten. Deze onderzoeken toonden een consistente rol van steróide glycoalkaloïden (SGA's) bij de wekking van aardappelcysteaaltjes (ACA). Na de chemische synthese van SolA in 2011 werd het steeds duidelijker dat SolA een behoorlijke belangrijke wekstof is voor ACA, omdat het door ACA wordt gedetecteerd en zorgt voor een sterke wekking van levensvatbare eieren bij veel lagere concentraties dan SGA's.

Ontdekkingen

Ondanks de grote impact van de ontdekking van de chemische synthese van SolA, bleek uit onderzoek dat deze synthese economisch grotendeels onhaalbaar was, aangezien er meer dan 40 chemische stappen nodig waren om SolA te produceren. Het succes van de Japanse wetenschappers had echter wel een direct effect op vervolgonderzoek in dat land en ook hier in Nederland, omdat dankzij dit onderzoek er nu een zuivere chemische standaard was voor SolA.

In de jaren 2000 en begin 2010 stelden enorme verbeteringen in DNA- en RNA-sequentietechnologieën, evenals de publicatie van de eerste genoomstructuur van aardappelcysteaaltjes, wetenschappers in staat om de effecten van wekstoffen op de (fysiologie van) aaltjes veel nauwkeuriger te onderzoeken. Deze studies hebben in grote mate eerder onderzoek naar de fysiologie van aaltjes bevestigd, waarin een duidelijke rol voor calcium, calciumdetectie en -signalering aangetoond was, evenals een wijdverbreide activering van stress-gerelateerde en ontgiftigings-gerelateerde processen bij de inductie van de wekking.

Eind 2010 begon een groep onderzoekers aan de Universiteit van Amsterdam, onder leiding van prof.

dr. Harro Bouwmeester en prof. dr. Lemeng Dong te werken aan SolA en de hormonale biologie van SolA ten opzichte van planten en aaltjes. (zie ook het interview met de onderzoekers in dit themanummer.) Dit onderzoek werd mogelijk gemaakt door de toekenning van een ERC-subsidie aan dr. Bouwmeester, een Marie-Curie-beurs aan dr. Dong en de goedkeuring van een voorstel binnen het Holland Innovative Potato (HIP) consortium. Het HIP-consortium is een initiatief van diverse toonaangevende bedrijven uit de aardappelketen om collectief pre-competitief fundamenteel en toegepast onderzoek te stimuleren. Het 'HIP-project', werd mijn enkele reis naar nematodeland als postdoc bij dr. Aska Goverse in het Laboratorium voor Nematologie aan de Wageningen Universiteit (WUR).

In de afgelopen 7-8 jaar is er veel wetenschappelijk onderzoek uitgevoerd aan het ontrafelen van werkingsmechanisme en toepassing(en) van ACA-wekstoffen. Het werk onder leiding van dr. Alessandra Guerrieri van het lab van Bouwmeester heeft geresulteerd in een zeer gevoelige methode om de concentraties SolA in wortelexsudaten te detecteren en te kwantificeren. Dit was een belangrijke stap voorwaarts voor de aardappelveredelaars om sneller en in grotere aantallen te bepalen hoe goed hun rassen het uitkomen van aaltjes induceert zonder dat ze daarvoor moeilijke en tijdrovende bioassays met de nematode hoeven uit te voeren. Door te veredelen op rassen met lage niveaus van SolA wordt een vermindering van de schadelijke effecten van aaltjes op de opbrengst verwacht, immers er zullen minder nematoden gewekt worden.

Fundamenteel onderzoek naar functie wekstof

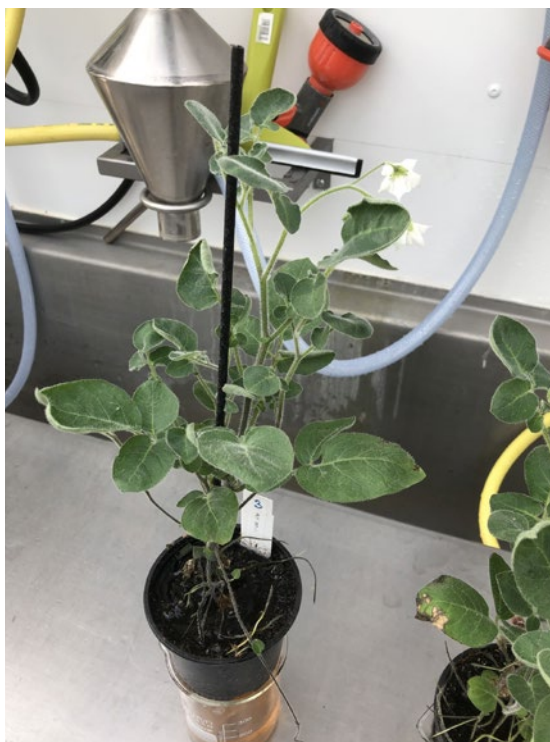
In fundamenteel onderzoek door wetenschappers in Nederland, Japan, Zwitserland en de VS is gevonden dat Solanoeclipin A niet de enige 'eclepin' is die rond de aardappelwortel wordt geproduceerd. **Solanoeclipin B** is een biologisch actieve precursor van Solanoeclipin A. **Solanoeclipin C** daarentegen is een precursor van Solanoeclipin die geen wekkende eigenschappen heeft. Onderzoek heeft aangetoond dat Solanoeclipin C en Solanoeclipin B volledig worden omgezet in SolA in de bodem, echter

niet in gesteriliseerde (bestraalde) bodem, wat erop wijst dat wekstof gevormd wordt door een combinatie van de plantenwortel en haar microbiom (meer hierover in het interview op pag. 210).

In de afgelopen jaren is ook een andere fundamentele vraag met betrekking tot Solanoeclipin A gedeeltelijk beantwoord: de functie van SolA voor de plantensoorten die ze produceren. Lieke Vlaar en anderen hebben aangetoond dat SolA inwerkt op de modelplant *Arabidopsis* en de immuunreactie in de plantenwortel tijdelijk vermindert. Deze bevinding, in samenhang met de ontdekking van de productie van SolA door een plant en zijn microbiom, wijst waarschijnlijk op een rol voor SolA bij het bevorderen van plant-microbe-interacties. Een andere publicatie liet zien dat de SolA-productie in tomatenplanten sterk wordt gestimuleerd door specifieke nutriëntstress. Al met al is er nu sterk en snel groeiend bewijs dat SolA een signaalmolecuul is in een noodkreet-overlevingsstrategie bij SolA-producerende nachtschadesoorten (Solanaceae).

Daarnaast is onderzoek gedaan naar de rol van SolA bij het uitkomen uit het ei van het aardappelcysteaaltje ('hatching'). Er is aangetoond dat door SolA getriggerd uitkomen van de aaltjes, de expressie van

genen in de dauer-signaalroute stimuleert. Het dauer stadium is een ruststadium van de nematoden om ongunstige omstandigheden te overleven, bijvoorbeeld als L1 larve in het ei. Het in rust gaan en uit rust komen wordt door diverse prikkels getriggerd. SolA is structureel verwant aan een dierlijk hormoon dat door nematoden zelf wordt geproduceerd, namelijk dafachroniczuur, dat de rustperiode van nematoden reguleert. We hebben aangetoond dat chemicaliën die het ruststadium (dauer) in het modelaaltje *C. elegans* blokkeren, het uitkomen van ACA in in-vitro-experimenten aanzienlijk kunnen verminderen. De literatuur beschrijft dat het uitkomen van cysteaaltjes kan gebeuren in reactie op uiteenlopende stimuli (eclepinen, steroïde alkaloïden met en zonder hun suikergroepen, vanadaten, wortelxudaten),. Maar er ontstaat nu een nieuw beeld van de manier waarop ACA reageert op de verschillende stimuli; de reacties kunnen variëren en zodoende de kans op infectie van de planten beïnvloeden. Een recent voorbeeld kwam uit het laboratorium van Marie Dandurand in de VS. Deze onderzoekers hebben aangetoond dat stimuli uit het vanggewas *Solanum sisymbriifolium* de infectie van planten in potproeven vermindert, terwijl wortelxudaten van de aardappelrassen Desirée (gevoelig) en Innovator (resistent) niet hetzelfde effect hadden. Dit wijst op de mogelijke



Binnen het Holland Innovative Potato (HIP)-project worden wortelxudaten gewonnen door het 'melken van aardappelplanten' (foto: André Bertran).



Eitjes van aardappelcysteaaltjes (foto: Hans Mulder).



Aardappelpcysteaaltje Globodera pallida (L2 stadium juveniel aaltje). Foto: H. van Megen, Wageningen University, Laboratory of Nematology (CC BY-NC 4.0).

aanwezigheid van andere stoffen, bijvoorbeeld natuurlijke nematiciden, in de wortellexsudaten van bepaalde Solanaceae-soorten.

Verder onderzoek naar de biodiversiteit van SolA in een grote collectie wilde aardappelgenotypen heeft aangetoond dat sommige wilde aardappelen die geen SolA produceren, andere sterke wekstoffen produceren die nog niet zo goed gekarakteriseerd zijn als SolA. Dit is een belangrijk gegeven voor veredelaars die nadenken over inbouw van nieuwe eigenschappen van wilde Solanum-soorten in commerciële aardappelrassen.

Toepassingen van wekstof

Vanuit toegepast wetenschappelijk oogpunt hebben onderzoekers in Kenia, de VS en Frankrijk drie artikelen gepubliceerd over de inzet van wortellexsudaten

bij de bescherming van gewassen tegen cysteaaltjes. In het eerste onderzoek werd inpakpapier op basis van bananenvezels ontwikkeld dat de wekking kan blokkeren en mogelijk SolA kan vasthouden, waardoor de vermeerdering van en schade door ACA aanzienlijk wordt verminderd. Deze vezel bleek in staat om chemische stoffen, uitgescheiden door de plant, te absorberen en zo schade door aaltjes verder te voorkomen. Hoewel zeer interessant, is dit een techniek die lastig op grote schaal toepasbaar is, omdat deze oorspronkelijk bedoeld was voor kleinschalige boeren als belangrijkste doelgroep.

Vanuit een meer conventioneel perspectief wees een 'proof-of-concept'-experiment uitgevoerd in potproeven in Frankrijk op de mogelijkheid van toepassing van wortellexsudaten op kale gronden besmet met cysteaaltjes. Dit onderzoek gebruikte een eenvoudige meting van het totale koolstofgehalte in wortellexsudaten als maatstaf om minimale effectieve

doses vast te stellen. Als vervolg op dit onderzoek werd een veldproef uitgevoerd in de herfst en lente op micropercelen die zwaar besmet waren met ACA. De resultaten van deze veldproef wezen op een sterke afname (70-80%) van het aantal levende nematodelarven in de grond na sproeien van aardappelwortellexsudaten. Belangrijk is dat in dit toegepaste veldonderzoek neerslag en seizoensinvloeden een duidelijk effect hadden op de effectiviteit. Deze toepassingsmethode wordt **lure and starve** genoemd (lok- en uithongermethode).

Wat mij betreft, na het afronden van mijn postdoc aan het laboratorium voor nematologie in Wageningen ben ik overgestapt naar het bedrijfsleven en ben ik R&D-manager geworden bij het Hilbrands Laboratorium (HLB). Bij HLB is, zoals eerder vermeld, sinds midden jaren 80 een omvangrijke hoeveelheid onderzoek uitgevoerd, gericht op de toepassing van wortellexsudaten als optie voor het beheersen van aardappelcystealtjes. Sinds mijn komst bij het bedrijf heb ik me gericht op het blootleggen, ordenen en verder uitbreiden van onze interne kennis over dit onderwerp. Momenteel werken we hard aan een voorstel om de haalbaarheid van de lok-en-uithongermethode binnen het Nederlandse aardappelteeltsysteem te onderzoeken en te kijken of en hoe deze deel kan uitmaken van geïntegreerd nematodenbeheer (INM) en geïntegreerde landbouwpraktijken.

Naast het gebruik van (nieuwe) resistente rassen zullen in de toekomst ook alternatieve en aanvullende teeltmethoden nodig zijn, zoals slimme gewasrotaties, het gebruik van vanggewassen of de toepassing van wortellexsudaten om de ACA-druk op de bodem te beheersen. Zie ook de andere artikelen in dit themanummer. Belangrijk hierbij is dat het gebruik van wortellexsudaten goed aansluit bij de doelstelling om minder chemicaliën te gebruiken in onze teeltsystemen. Gezien de vele functies zou het me niet verbazen als de toepassing van wortellexsudaten naast het beheersen van ACA ook andere positieve effecten heeft op de bodem- en plantgezondheid.

We zullen het zien!

Referenties

- The role of rhizosphere signalling in the plant-cyst nematode interaction – Phd Thesis Lieke Vlaar
- Solanoeclepin A: Characterization of a rhizosphere communication molecule in tomato and potato – PhD Thesis Alessandra Guerrieri
- Akiyama, Ryota, et al. “Solanoeclepin C, a root-secreted molecule converted by rhizosphere microbes to hatching factors for potato cyst nematodes.” *New Phytologist* (2025).
- Tanino, Keiji, et al. “Total synthesis of solanoeclepin A.” *Nature Chemistry* 3.6 (2011): 484-488.
- Guerrieri, Alessandra, et al. “UPLC-MS/MS analysis and biological activity of the potato cyst nematode hatching stimulant, solanoeclepin A, in the root exudate of *Solanum* spp.” *Planta* 254.6 (2021): 112.
- Shimizu, Kosuke, et al. “Solanoeclepin B, a hatching factor for potato cyst nematode.” *Science Advances* 9.11 (2023): eadf4166.
- Vlaar, Lieke E., et al. “Are the cyst nematode hatching factor eclepins rhizosphere signalling molecules? Solanoeclepin A regulates gene expression in plants.” *Open Research Europe* 2.122 (2022): 122.
- Duceppe, Marc-Olivier, et al. “Analysis of survival and hatching transcriptomes from potato cyst nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*.” *Scientific reports* 7.1 (2017): 3882.
- Palomares-Rius, Juan Emilio, et al. “Gene expression changes in diapause or quiescent potato cyst nematode, *Globodera pallida*, eggs after hydration or exposure to tomato root diffusate.” *PeerJ* 4 (2016): e1654.
- Eves-van Den Akker, Sebastian, et al. “The genome of the yellow potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, reveals insights into the basis of parasitism and virulence.” *Genome biology* 17.1 (2016): 124.
- Cotton, James A., et al. “The genome and life-stage specific transcriptomes of *Globodera pallida* elucidate key aspects of plant parasitism by a cyst nematode.” *Genome biology* 15.3 (2014): R43.
- Kud, Joanna, et al. “Belowground chemical interactions: An insight into host-specific behavior of *Globodera* spp. hatched in root exudates from potato and its wild relative, *Solanum sisymbriifolium*.” *Frontiers in Plant Science* 12 (2022): 802622.
- Ngala, Bruno, et al. “Lure and starve: Host root exudates to suppress field populations of cyst nematodes.” *Applied Soil Ecology* 201 (2024): 105490.
- Ochola, Juliet, et al. “Wrap-and-plant technology to manage sustainably potato cyst nematodes in East Africa.” *Nature Sustainability* 5.5 (2022): 425-433.
- Ruthes, Andrea Caroline, Evelin Tiralongo, and Paul Dahlin. “Revisiting steroidal glycoalkaloids as hatching stimulants for *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*.” *Pest Management Science* (2025).